

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni
Ústav fyziologie

Dizertační práce

**Elektrofysiologie myokardu
ve zdraví a nemoci**

**Myocardial Electrophysiology
in Health and Disease**

Školitel: doc. MUDr. Milan Štengl, Ph.D.

Plzeň 2017

Ing. Dagmar Jarkovská

Abstrakt

Tato dizertační práce sestává ze tří částí, které popisují elektrofyziologické a kontraktilní změny myokardu při sepsi, acidóze a anestezii vyvolané propofolem.

První část se zaměřuje na analýzu variability srdeční frekvence v klinicky relevantním modelu prasečí sepse/septického šoku. Během několika málo hodin vykazovala variabilita srdeční frekvence rychlý pokles, který předcházel změnám klinických parametrů běžně používaných v diagnostice sepse. Stejně rychlá kinetika variability srdeční frekvence se projevila jak u septického šoku, tak u sepse bez závažného multiorgánového selhání. Na základě těchto výsledků se zdá, že by variabilita srdeční frekvence mohla sloužit jako nástroj pro včasnou diagnostiku u pacientů ohrožených sepsí.

Ve druhé části této práce je analyzován vliv acidózy na kardiovaskulární systém. Na prasatech domácích byla studována metabolická a hyperkapnická acidóza za použití hemodynamických měření *in vivo* i experimentů *in vitro*, které charakterizovaly elektrofyziologii a kontraktilitu srdečního svalu. Oba typy acidózy ovlivnily cirkulaci krve a snížily kontraktilitu myokardu, což by mohlo omezovat terapeutické využití hyperkapnické acidózy.

Práci uzavírá studie tkáňových účinků propofolu, anestetika použitého ve dvou výše zmíněných studiích. Na komorové tkáni potkana *in vitro* nebyla zaregistrována žádná změna tvaru akčního napětí, ale nastal výrazný pokles síly kontrakce, který vzrůstal se zvyšující se koncentrací propofolu. Nicméně pokles síly kontrakce byl pozorován až při koncentracích, jež překračovaly pravděpodobnou hladinu propofolu v krvi septických a acidotických prasat.

Abstract

This dissertation consists of three parts describing electrophysiological and contractile changes of the myocardium in sepsis, acidosis, and propofol-induced anaesthesia.

The first part is focused on heart rate variability analysis in a clinically relevant porcine model of sepsis/septic shock. Heart rate variability showed fast decrease few hours after sepsis induction which preceded changes in clinical parameters commonly used for sepsis diagnosis. The same fast kinetics of heart rate variability were demonstrated in progressive septic shock and in sepsis without serious multiorgan failure. Based on these results, it seems that heart rate variability could represent an early diagnostic tool in patients threatened with sepsis.

In the second part of this thesis acidosis and its effects on the cardiovascular system are analysed. Metabolic and hypercapnic acidoses were examined in domestic pigs using hemodynamic *in vivo* measurements and *in vitro* experiments focused on electrophysiology and contractility of the heart. Both types of acidosis affected circulation and reduced myocardial contractility; hence it could limit therapeutic use of hypercapnic acidosis.

The thesis is completed by a study of the effect of propofol, an anaesthetic used in two above mentioned studies. In rat ventricular tissue *in vitro*, no changes in action potential shape were detected but there was a marked reduction in contraction force, which was concentration-dependent. However, this contraction force decrease was observed only at propofol concentrations higher than the probable propofol blood levels in septic and acidotic pigs.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto dizertační práci vypracovala samostatně a veškeré převzaté údaje řádně citovala. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Plzni, 22. 5. 2017

Ing. Dagmar Jarkovská

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala především svému školiteli, přednostovi Ústavu fyziologie doc. MUDr. Milanu Štenglovi, Ph.D., lepšího vedoucího dizertační práce si ani neumím představit. Samozřejmě jsem mu vděčná za mnohé odborné rady a za to, že jsem se od něj naučila i spoustu praktických dovedností. Chtěla bych ale ocenit především úžasné inspirující, přátelskou a pohodovou atmosféru, kterou na našem pracovišti vytvořil. A tím se dostávám ke svým kolegům, z nichž bych v první řadě ráda poděkovala všem členům Laboratoře pro experimentální kardiologii. MUDr. Elišce Mistrové, Ph.D. děkuji za její přátelství, neutuchající podporu a za to, že mi vždycky zvedne náladu, i když je ta její třeba na bodu mrazu. Doc. MUDr. Jitce Švíglerové, Ph.D. děkuji za pomoc s přípravou na průběžnou i státní zkoušku a za to, že mi vždycky řekne přesně to, co potřebuji slyšet. Ing. Františku Bartákovi, jedinému „opravdovému inženýrovi“ v našem týmu, vděčím za jeho schopnost popasovat se všemi dráty, jimiž oplývají přístroje v naší laboratoři. MUDr. Lukáši Nalosovi, Ph.D. děkuji za jeho nezníčitelný smysl pro humor, jímž odlehčí každou obtížnou situaci, kterou před tím způsobil. A nakonec děkuji snad nejdůležitějšímu člověku v laboratoři, paní Jarce Hesové, laborantce schopné splnit naše přání dřív než je vyslovíme.

Za podporu během celého doktorského studia jsem samozřejmě vděčná i všem ostatním kolegům z Ústavu fyziologie. Jmenovitě zejména MUDr. Mirce Čedíkové, Ph.D., protože je i nadále ochotná sdílet se mnou kancelář, přestože si neustále dělám legraci z jejího zdravého životního stylu. Děkuji i doc. Jitce Kuncové, Ph.D., která mě (alespoň v rámci mých možností) uvedla do tajů biochemie, a MUDr. Martině Grundmanové za to, že za mě převezme výuku, kdykoliv potřebuji, a že mi vždycky, když mě vidí, řekne, jak mi to sluší.

Kromě pracovníků Ústavu fyziologie přirozeně děkuji i další kolegům z LF UK a FN Plzeň. Pro vznik předkládané práce byla důležitá hlavně pomoc týmu Experimentální laboratoře intenzivní medicíny vedeného prof. MUDr. Martinem Matějovičem, Ph.D. Byli to právě oni, kdo trávili dlouhé dny a noci s prasaty ve zvěřinci a sbírali cenná experimentální data, mimo jiné i pro analýzu variability srdeční frekvence.

Ale nebyli to jenom kolegové, kdo mi během mého studia poskytoval podporu. Velkou posilou pro mě byli mí přátelé, Adélka, Jana, Zuzka a Drahoš. Děkuji, že mě vždycky vyslechli a nikdy neodešli zvracet, když jsem jim nadšeně líčila detaily našich experimentů.

Žádný vědec se neobejde bez rodinného zázemí, takže děkuji i svojí rodině. Svému otci za touhu po poznání a vzdělání, kterou mi vnukl, a svojí matce za to, že mi dala odvalu a sílu tuto touhu naplnit.

Předkládaná práce byla finančně podpořena Grantovou agenturou České republiky (projekt č. 15-15716S), Národním programem udržitelnosti I (projekt č. LO1503) poskytovaným Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, Ministerstvem zdravotnictví české republiky (grant č. 15-32801A), Programem rozvoje vědních oborů Univerzity Karlovy (projekt P36), projektem Specifického vysokoškolského výzkumu č. 260281/2016 a Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (projekt č. 2090214).

Obsah

Seznam použitých zkratk	12
1 Úvod	16
1.1 Elektrická aktivita srdce a její měření.....	16
1.1.1 Regulace elektrické srdeční aktivity.....	18
1.1.2 Elektrokardiografie.....	19
1.2 Variabilita srdeční frekvence.....	22
1.2.1 Předzpracování dat (preprocessing).....	23
1.2.2 Metody hodnocení variability srdeční frekvence.....	26
1.2.3 Faktory ovlivňující variabilitu srdeční frekvence.....	32
2 Cíle dizertace	38
3 Experimentální metody	40
3.1 Experimentální model sepse.....	40
3.2 Experimentální model acidózy.....	42
3.3 Experiment na myokardu potkana.....	45
3.4 Analýza variability srdeční frekvence.....	45
3.5 Měření akčního napětí a síly kontrakce.....	48
3.5.1 Příprava preparátu a vlastní měření.....	48
3.5.2 Roztoky a chemikálie.....	50
3.5.3 Off-line analýza signálu.....	50
3.6 Statistické zhodnocení výsledků.....	51
4 Výsledky a diskuze	54
4.1 Vliv sepse na kardiovaskulární systém.....	54
4.1.1 Úvod.....	54
4.1.2 Výsledky – těžká sepse/septický šok.....	58
4.1.3 Výsledky – sepse bez těžkého multiorgánového selhání.....	65

4.1.4	Diskuze	71
4.2	Vliv acidózy na kardiovaskulární systém.....	76
4.2.1	Úvod	76
4.2.2	Výsledky	77
4.2.3	Diskuze	87
4.3	Účinky propofolu na srdeční tkáň <i>in vitro</i>	92
4.3.1	Úvod	92
4.3.2	Výsledky	92
4.3.3	Diskuze	95
5	Závěr.....	98
5.1	Shrnutí výsledků dizertační práce.....	98
5.2	Cíle do budoucna.....	99
6	Literatura.....	102
	Seznam publikací autorky	132

Seznam použitých zkratek

AN	akční napětí
APA	amplituda akčního napětí (z angl. Action Potential Amplitude)
APD50	doba od začátku depolarizace do 50% repolarizace (z angl. Action Potential Duration)
APD90	doba od začátku depolarizace do 90% repolarizace
ApEn	aproximovaná entropie
BEa	přebytek bazí v arteriální krvi (z angl. Base Excess)
BEv	přebytek bazí ve venózní krvi
CF	maximální síla kontrakce (z angl. Contraction Force)
CO	srdeční výdej (z angl. Cardiac Output)
DFA	detrendovaná analýza fluktuace
EC50	efektivní koncentrace pro 50% účinek
FiO ₂	inspirační frakce kyslíku
FFT	rychlá Fourierova transformace (z angl. Fast Fourier Transformation)
GEDV	globální end-diastolický objem (z angl. Global End-Diastolic Volume)
HCA	hyperkapnická acidóza
HCO ₃ ⁻ _a	koncentrace hydrogen uhličitanů v arteriální krvi
HCO ₃ ⁻ _v	koncentrace hydrogen uhličitanů ve venózní krvi
HF	výkonová spektrální hustota v pásmu vysoké frekvence v absolutních jednotkách
HF norm	výkonová spektrální hustota v pásmu vysoké frekvence v normalizovaných jednotkách
HR	srdeční frekvence (z angl. Heart Rate)
HRV	variabilita srdeční frekvence (z angl. Heart Rate Variability)
HRV TI	HRV trojúhelníkový index (z angl. HRV Triangular Index)
HVSWtot	tepová práce srdečních komor za minutu (z angl. Heart Ventricle Stroke Work)
I _{CaL}	vápníkový proud typu L

I_f	hyperpolarizací aktivovaný proud
I_{K1}	draslíkový proud pozadí
I_{Kr}	rychlý opožděný draslíkový proud
I_{Ks}	pomalý opožděný draslíkový proud
I_{Na}	rychlý sodíkový proud
I_{to}	přechodný proud draslíku z buňky
IL-6	interleukin 6
ITBV	objem krevního kompartmentu v hrudníku (z angl. Intrathoracic Blood Volume)
KMN	klidové membránové napětí
LF	výkonová spektrální hustota v pásmu nízké frekvence v absolutních jednotkách
LF norm	výkonová spektrální hustota v pásmu nízké frekvence v normalizovaných jednotkách
LK	levá srdeční komora
LVSW	tepová práce levé komory (z angl. Left Ventricle Stroke Work)
LVSWtot	tepová práce levé komory za minutu
MAC	metabolická acidóza
MAP	střední arteriální tlak (z angl. Mean Arterial Pressure)
MPAP	střední tlak v plicní arterii (z angl. Mean Pulmonary Artery Pressure)
PaCO ₂	parciální tlak oxidu uhličitého v arteriální krvi
PaO ₂	parciální tlak kyslíku v arteriální krvi
PAOP	tlak v zaklínění plicní tepny (z angl. Pulmonary Artery Occlusion Pressure)
PCWP	tlak v plicních kapilárách v zaklínění (z angl. Pulmonary Capillary Wedge Pressure)
PEEP	pozitivní tlak na konci výdechu (z angl. Positive End-Expiratory Pressure)
pHa	pH v arteriální krvi
pHv	pH ve venózní krvi
PK	pravá srdeční komora
pNN50	podíl sousedních normálních RR intervalů s rozdílem větším než 50 ms

PSD	výkonová spektrální hustota (z angl. Power Spectral Density)
PvCO ₂	parciální tlak oxidu uhličitého ve venózní krvi
PvO ₂	parciální tlak kyslíku ve venózní krvi
PVR	plicní cévní rezistence (z angl. Pulmonary Vascular Resistance)
Qcarot/kg	průtok krve karotickou tepnou za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti
Qhep/kg	průtok krve jaterní tepnou za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti
Qliver/kg	celkový průtok krve játry za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti
Qren/kg	renální průtok krve za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti
Qport/kg	průtok krve portální žílou za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti
QTc	QT interval korigovaný dle srdeční frekvence
R50	doba od vrcholu kontrakce do 50% relaxace
R90	doba od vrcholu kontrakce do 90% relaxace
RMSSD	kvadratický průměr rozdílů mezi sousedními intervaly
RVSW	tepová práce pravé komory (z angl. Right Ventricle Stroke Work)
RVSWtot	tepová práce pravé komory za minutu
S	plocha elipsy Poincarého grafu
Sata	saturace hemoglobinu kyslíkem v arteriální krvi
Satv	saturace hemoglobinu kyslíkem ve venózní krvi
SD1	vedlejší poloosa elipsy Poincarého grafu
SD2	hlavní poloosa elipsy Poincarého grafu
SDANN	směrodatná odchylka normální RR intervalů v 5minutovém okně
SDNN	směrodatná odchylka normálních RR intervalů
SDSD	směrodatná odchylka rozdílů mezi sousedními normálními RR intervaly
SOFA	hodnocení úrovně sepsí způsobeného orgánového selhání (z angl. Sepsis-related Organ Failure Assessment Score)
SV	systolický objem (z angl. Stroke Volume)
SVR	systémová cévní rezistence (z angl. Systemic Vascular Resistance)
TINN	trojúhelníková interpolace normálních RR intervalů

TNF- α faktor nádorové nekrózy α (z angl. Tumor Necrosis Factor α)
TTP doba od začátku do vrcholu kontrakce (z angl. Time to Peak)

1 Úvod

1.1 Elektrická aktivita srdce a její měření

Lidské srdce funguje jako dvojitá pumpa, která zajišťuje oběh krve v organismu. Impulsem pro tuto mechanickou činnost je elektrická aktivita, jež vychází ze samotného srdce, hovoříme o tzv. autonomii srdce. Buňky srdečního svalu jsou navzájem elektricky propojené, což umožňuje rychlé šíření vzruchu a synchronizaci srdeční činnosti. Můžeme je rozdělit do dvou skupin, přičemž buňky pracovního myokardu zajišťují především mechanickou práci, zatímco buňky převodního systému srdečního zprostředkují vznik a šíření akčního napětí (AN).

Převodní systém srdce zahrnuje sinoatriální uzel, kde za fyziologických okolností vzniká akční napětí, je tedy primárním pacemakerem srdeční činnosti. Z něj se signál dále šíří preferenčními drahami v síních až do atrioventrikulárního uzlu, z něhož dochází k převodu akčního napětí ze síní na komory, které jsou od sebe jinak elektricky izolované. Z atrioventrikulárního uzlu pak akční napětí postupuje Hisovým svazkem, Tawarovými raménky a Purkyňovými vlákny a dále se šíří svalovinou srdečních komor.

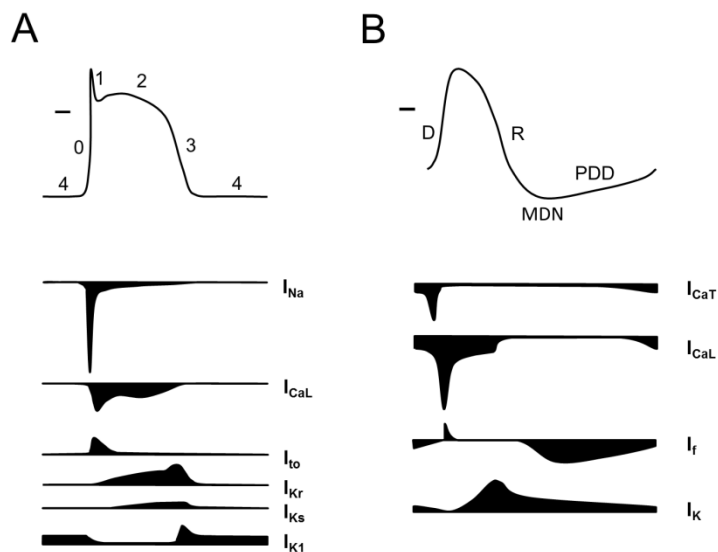
Obecně lze v srdci pozorovat dva typy AN, s rychlou nebo pomalou depolarizací. Pro buňky pracovního myokardu je typické AN s rychlou depolarizací, které můžeme rozdělit do několika fází (Obr. 1.1 A). Buňky pracovního myokardu vykazují stabilní klidové membránové napětí (KMN) o hodnotě přibližně -80 mV, za něž je odpovědný především draslíkový proud pozadí (I_{K1}). Pokud je však membrána podrážděna do té míry, že se její napětí posune až k -60 mV, otevřou se napětím vrátkované rychlé sodíkové kanály a do buňky začnou po svém koncentračním gradientu proudit sodíkové ionty (I_{Na}). Zároveň dochází k napěťově závislému bloku kanálů I_{K1} polyaminy a intracelulárními ionty hořčíku. Tyto děje společně umožní prudký nárůst napětí až na hodnotu cca $+30$ mV během pouhých asi 3 ms. Zde nastává konec depolarizace, jednak procesem inaktivace rychlých sodíkových kanálů, vlivem sníženého řídicího napětí I_{Na} (tj. membránové napětí se

přiblíží elektrochemickému rovnovážnému napětí I_{Na}) a v důsledku aktivace přechodného proudu draslíkových iontů z buňky, I_{to} (řídící napětí pro draslíkový proud se naopak během depolarizace zvyšuje). Rychlá depolarizace je následována fází časně repolarizace, za niž je zodpovědný především I_{to} . Ta rychle přechází do fáze plató, kdy nastává rovnováha mezi proudy draslíkových iontů z buňky (rychlý a pomalý opožděný draslíkový proud, I_{Kr} , I_{Ks}) a vápníkovým proudem typu L (I_{CaL}). Během fáze plató je srdeční buňka refrakterní, což znamená, že jejím podrážděním nemůže dojít ke vzniku dalšího AN. Je to dáno skutečností, že rychlé sodíkové kanály potřebují ke svému zotavení, aby hodnota membránového napětí klesla pod -40 mV. Fáze plató je ukončena postupným nárůstem draslíkových proudů z buňky (I_{Kr} , I_{Ks}) a poklesem proudu I_{CaL} , jenž je dominantně inaktivován zvýšenou koncentrací vápníku v buňce. Pokles membránového napětí během fáze pozdní repolarizace pak vede k uzavření zbytku vápníkových kanálů, nárůstu I_{Kr} a otevření kanálů pro I_{K1} . Membránové napětí se tak opět vrátí na hladinu KMN (Carmeliet a Vereecke, 2002).

Vstup vápníku do buněk pracovního myokardu prostřednictvím I_{CaL} je impulzem pro otevření ryanodinových kanálů v membráně sarkoplazmatického retikula, což vede ke skokovému zvýšení intracelulární koncentrace vápníku. Zvýšení koncentrace vápníku přibližně na hodnotu 10^{-5} mmol/l a jeho vazba na troponin umožňuje interakci kontraktilních bílkovin aktinu a myozinu. Kontrakce srdečního svalu je tedy vyvolána akčním napětím, tento jev označujeme jako elektromechanickou vazbu (Bers, 2002).

Pro kardiomyocyty sinoatriálního a atrioventrikulárního uzlu je typické AN s pomalou depolarizací (Obr. 1.1 B), za niž je zodpovědný proud vápenatých iontů, na rozdíl od buněk s rychlou depolarizací, kde depolarizaci způsobuje I_{Na} (Kohlhardt et al., 1976). Další odlišnost představuje skutečnost, že buňky s pomalou depolarizací vzhledem k absenci I_{K1} neudrží stabilní KMN. Vykazují pouze tzv. maximální diastolické napětí, což je nejnižší membránové napětí (přibližně -60 mV), jehož jsou schopny dosáhnout. Po jeho dosažení se začínají otevírat vápníkové kanály typu T a proud vápenatých iontů do buňky (I_{CaT}) způsobí pomalou diastolickou depolarizaci, na níž se podílí i hyperpolarizací aktivovaný proud I_f (Brown et al., 1979). U buněk sinoatriálního uzlu je pomalá diastolická

depolarizace rychlejší než u buněk atrioventrikulárního uzlu, takže tvoří AN s vyšší frekvencí a stává se tak primárním pacemakerem. V okamžiku, kdy membránové napětí dospěje k hodnotě přibližně -40 mV, se otevřou vápníkové kanály typu L a rychlost depolarizace se zvýší. Následná repolarizace je pak způsobená postupným zavíráním vápníkových kanálů a otevřením kanálů pro draslík (Shih, 1994).



Obr. 1.1. Membránové napětí kardiomyocytu.

A. Akční napětí s rychlou depolarizací a jeho jednotlivé fáze, rychlá depolarizace (0), časná repolarizace (1), plató (2), fáze pozdní repolarizace (3) a klidové membránové napětí (4). Dole, iontové proudy, které se podílejí na výsledném tvaru membránového napětí komorového kardiomyocytu, rychlý sodíkový proud (I_{Na}), vápníkový proud typu L (I_{CaL}), přechodný proud draslíku z buňky (I_{to}), rychlý opožděný draslíkový proud (I_{Kr}), pomalý opožděný draslíkový proud (I_{Ks}) a draslíkový proud pozadí (I_{K1}). B. Akční napětí s pomalou depolarizací a jeho jednotlivé fáze, maximální diastolické napětí (MDN), pomalá diastolická depolarizace (PDD), depolarizace (D) a repolarizace (R). Dole, iontové proudy, které se podílí na výsledném tvaru membránového napětí nodálního kardiomyocytu, vápníkový proud typu T (I_{CaT}), vápníkový proud typu L (I_{CaL}), hyperpolarizací aktivovaný proud (I_f) a opožděný draslíkový proud (I_K).

1.1.1 Regulace elektrické srdeční aktivity

Srdce je sice schopné pracovat autonomně, ovšem v lidském těle jeho činnost podléhá mnoha regulačním vlivům, především působení autonomního nervového

systému. Elektrickou aktivitu srdce lze ovlivnit z hlediska srdeční frekvence (chronotropie), rychlosti vedení vzruchu (dromotropie) a vzrušivosti (bathmotropie). S použitím těchto pojmů můžeme popsat vliv parasympatiku jako chronotropně, dromotropně a bathmotropně negativní a vliv sympatiku jako pozitivní ve všech těchto aspektech. Srdce je pod vlivem autonomního nervového systému neustále, přičemž za klidových podmínek převládá vliv parasympatiku.

Postgangliová vlákna parasympatiku inervují dominantně tkáň srdečních síní, na funkci komor má tedy převážně pouze nepřímý vliv. Při jeho zvýšené aktivitě dochází k uvolnění acetylcholinu a jeho navázání na M_2 receptory, které následně aktivují G-protein, jehož $G\beta\gamma$ podjednotky stimulují kanály $I_{K_{ACh}}$ (na acetylcholinu závislý draslíkový proud) přímou interakcí s intracelulárními doménami kanálu (Kunkel a Peralta, 1995). Tento proud způsobuje hyperpolarizaci a zároveň zpomalení pomalé diastolické depolarizace, což snižuje frekvenci tvorby AN v sinoatriálním uzlu. Vlivem acetylcholinu dochází také k inhibici hyperpolarizací aktivovaného proudu I_f (DiFrancesco a Tromba, 1987) a částečně i I_{CaL} (Hartzell, 1988), takže se zpomaluje depolarizace nodálních buněk, v důsledku toho dochází ke zpomalení vedení vzruchu.

Sympatikus inervuje srdeční síně i komory. Působí na ně prostřednictvím noradrenalinu a jeho navázání na β_1 adrenergní receptory. Jejich aktivací dochází ke zvýšené fosforylaci kanálů I_f a I_{CaL} , což urychluje jak pomalou diastolickou depolarizaci, tak depolarizaci vlastního AN. Noradrenalin zvyšuje i aktivitu draslíkového proudu I_K . Výsledkem pak je zvýšení frekvence tvorby AN v sinoatriálním uzlu a zrychlení převodu vzruchů v atrioventrikulárním uzlu (DiFrancesco, 1993).

Kromě autonomního nervového systému, který má na elektrickou aktivitu srdce zásadní vliv, vykazuje určitý efekt ještě celá řada látek (např. hormony, farmaka, množství kyslíku dostupného srdeční tkáni) nebo i tělesná teplota.

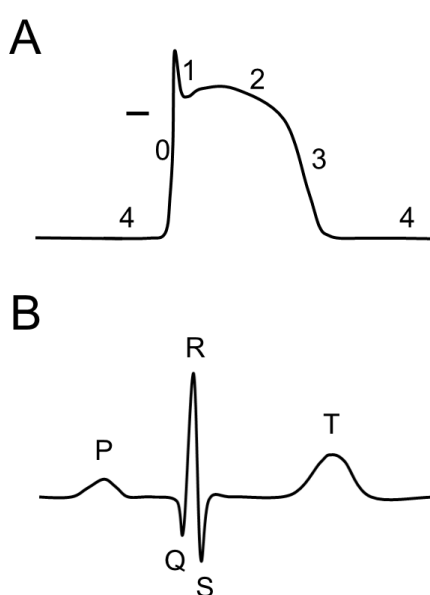
1.1.2 Elektrokardiografie

V moderní diagnostice kardiovaskulárních onemocnění hraje elektrokardiografie (EKG) významnou roli. Jedná se o jednoduchou neinvazivní metodu, která na

základě snímání změny elektrického pole srdce z povrchu těla poskytuje informaci o elektrické aktivitě srdečního svalu. Již v 18. století italský lékař a fyzik Luigi Galvani zaznamenal elektrickou aktivitu kosterního svalu (AlGhatrif a Lindsay, 2012). Roku 1842 pak jiný italský vědec, Carlo Matteucci, prokázal, že elektrický proud provází každý srdeční tep žáby (Matteucci, 1842). Až o 35 let později publikoval britský fyziolog Augustus Waller první záznam elektrické aktivity lidského srdce (Waller, 1887). Na něj navázal Holanďan Einthoven (Einthoven, 1895), který poprvé použil termín elektrokardiogram, zavedl dodnes používané označení výchylek EKG (PQRST) a roku 1924 za svou práci obdržel Nobelovu cenu. Během druhé světové války představil Goldberger augmentované unipolární svody (Goldberger, 1942) a v roce 1954 pak bylo konečně definováno standardní 12svodové EKG (Wilson et al., 1954).

V současnosti se tedy EKG měří pomocí 12 svodů, 3 bipolárních končetinových svodů (I, II, III), 3 unipolárních zesílených končetinových svodů (aVR, aVL, aVF) a 6 unipolárních hrudních svodů ($V_1 - V_6$). V klinické praxi se na záznamu EKG hodnotí srdeční akce, frekvence, rytmus, sklon elektrické osy srdeční a nakonec se přistupuje k popisu jednotlivých částí EKG křivky (vln, kmitů, intervalů a segmentů). Rozlišuje se pravidelná a nepravidelná srdeční akce. Frekvence srdce se stanovuje jako převrácená hodnota délky RR intervalu, obvykle se udává v počtu tepů za minutu (bpm, z anglického Beat per Minute). Její fyziologické rozmezí se pohybuje mezi 60 a 90 bpm, hodnota nižší než 60 bpm se označuje jako bradykardie, naopak zvýšení srdeční frekvence za klidových podmínek se nazývá tachykardie. Rytmus se stanovuje podle lokalizace primárního pacemakeru. Za fyziologické situace je jím sinoatriální uzel, proto takový rytmus nazýváme sinusový. Za některých patologických stavů mohou elektrické vzruchy vznikat primárně v atrioventrikulárním uzlu (nodální rytmus) nebo v Purkyňových vlákních (idioventrikulární rytmus). Elektrická osa srdeční je průmět osy QRS komplexu do frontální roviny, její sklon se obvykle pohybuje mezi -30° a $+110^\circ$. Jednotlivé vlny, kmity, intervaly a segmenty EKG se posuzují ve všech svodech, hodnotí se jejich amplituda, délka trvání i tvar. Vlna P je výchylka EKG zobrazující depolarizaci síní (Obr. 1.2). Následuje komplex tří kmitů, Q, R a S, který je výsledkem depolarizace komor. Repolarizace komor je popsána vlnou T,

zatímco obraz repolarizace síní je na EKG překryt QRS komplexem. Interval PQ označuje čas od zahájení depolarizace síní (počátek vlny P) do začátku depolarizace komor (kmit Q). Izoelektrický segment PQ je úsek mezi koncem vlny P a kmitem Q, jedná se o dobu mezi ukončením depolarizace síní a zahájením depolarizace komor. Segment ST představuje úsek mezi kmitem S a počátkem vlny T. Fyziologicky ho lze interpretovat jako dobu mezi ukončením depolarizace komor a zahájením jejich repolarizace. Interval QT pak zahrnuje čas mezi počátkem depolarizace a koncem repolarizace komorového myokardu.



Obr. 1.2. Časový vztah membránového napětí a EKG.

A. Membránové napětí komorového kardiomyocytu a jeho jednotlivé fáze, rychlá depolarizace (0), časná repolarizace (1), plató (2), fáze pozdní repolarizace (3) a klidové membránové napětí (4). B. Křivka EKG s označením vln a kmitů.

Kromě klasického klinického popisu lze EKG analyzovat také matematicky a vytěžit z něj další užitečné informace (viz podkapitola 1.2). Klasické EKG navíc není jedinou možností, jak registrovat elektrickou aktivitu srdce. Lze například implantovat měřicí elektrody dovnitř těla, což je metoda rozšířená ve výzkumu na zvířatech. Takzvané telemetrické měření EKG umožňuje zaznamenávat elektrickou aktivitu srdce, aniž by bylo nutné uvádět pokusné zvíře do anestezie nebo ho stresovat pobytem v měřicí komůrce.

Další postupy hojně používané v kardioelektrofyzilogii se zaměřují na získání elektrického signálu z jednotlivých buněk, případně dokonce jednotlivých iontových kanálů. Již v roce 1949 byla představena metoda měření membránového napětí pomocí ostré skleněné elektrody (Ling a Gerard, 1949). Spočívá v aplikaci ostré skleněné mikropipety do měřené buňky. Skleněná mikropipeta vyplněná elektrolytem (nejčastěji 3molárním roztokem KCl) slouží jako intracelulární elektroda, protože povrch buňky se kolem jejího úzkého hrotu uzavře a intra- a extracelulární prostředí tak zůstávají oddělené. Tato metoda se dodnes používá pro měření membránového napětí celých buněk, ovšem nepodává informaci o chování jednotlivých iontových proudů a kanálů. To umožnila až metoda napěťového a následně terčíkového zámku (patch-clamp; Neher et al., 1978), za jejíž objevení obdrželi v roce 1991 Erwin Neher a Bert Sakmann Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství.

1.2 Variabilita srdeční frekvence

V historii dlouho převládala idea, že lidské srdce tluče pravidelně jako metronom. Za prvního, kdo tuto představu rozporoval, je považován anglický vědec Stephen Hales (Ferreira et al., 2016). Ve své práci (Hales, 1733) popsal změnu krevního tlaku a délky srdečního cyklu spojenou s dechovým cyklem u koně. O více než sto let později publikoval německý fyziolog Carl Ludwig výsledky svých měření na psech s použitím kymografu (Ludwig, 1847), což bylo jím vyvinuté zařízení, které mimo jiné umožňovalo měření arteriálního tlaku. Povšiml si, že během nádechu a výdechu pravidelně dochází ke změně amplitudy a časového průběhu křivky krevního tlaku (Ludwig, 1847). Jednalo se o jev později popsáný jako respirační sinusová arytmie.

Hans Eppinger (Eppinger et al., 1915) byl zřejmě první, kdo navrhl, že analýza variability srdeční frekvence (HRV, z anglického Heart Rate Variability) by mohla poskytnout informaci o dysfunkci autonomního nervového systému (Billman, 2011). Ovšem první doložené použití HRV analýzy v klinické praxi spadá až do 60. let 20. století, kdy Hon a Lee popsali snížení HRV plodu, které předcházelo klinickým projevům fetální tísně včetně změny průměrné srdeční frekvence (Hon

a Lee, 1963). Později se postupně začaly objevovat práce zaměřené na změny HRV v různých dalších patologických stavech, např. při diabetu (Murray et al., 1975) nebo po infarktu myokardu (Wolf et al., 1978).

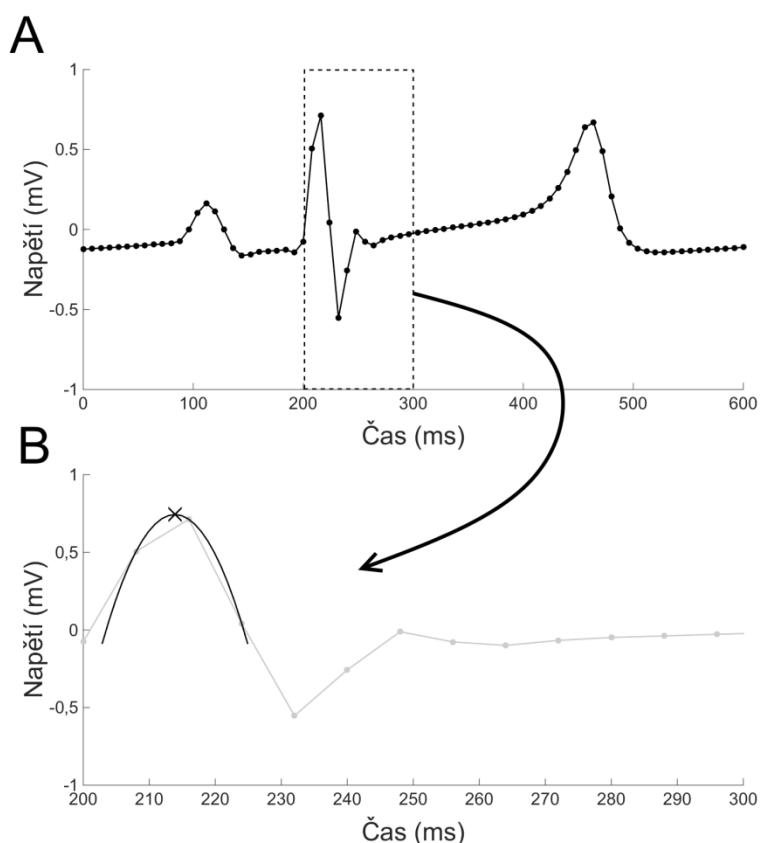
Za výrazným nárůstem zájmu o problematiku variability srdeční frekvence stál mimo jiné i rozvoj měřicí techniky. V šedesátých letech 20. století představil Norman Holter malý přenosný přístroj, který umožňoval nahrávání dlouhých EKG záznamů, aniž by pacient musel být upoután na lůžko (Holter, 1961). Zároveň došlo k prudkému rozmachu digitálních technologií potřebných k analýze velkých souborů dat.

1.2.1 Předzpracování dat (preprocessing)

V roce 1996 byly publikovány standardy pro měření a hodnocení variability srdeční frekvence tak, jak se na nich shodla společná pracovní skupina Evropské kardiologické společnosti a Severoamerické společnosti pro kardiostimulaci a elektrofyziologii (Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996). Hlavním cílem tohoto úsilí bylo přesné vymezení a sjednocení jednotlivých pojmů a výpočetních metod tak, aby bylo možné srovnání výsledků jednotlivých studií, jejichž počet exponenciálně vzrostl s rychlým rozvojem techniky pro nahrávání EKG a analýzu HRV. A přestože se stále objevují nové metody HRV analýzy, základní principy definované v těchto standardech zůstávají stále platné.

Co se týče technických předpokladů zařízení používaných pro záznam EKG, důležitá je především vzorkovací frekvence. Podle již zmíněných standardů by se měla pohybovat minimálně v rozmezí 250 – 500 Hz (Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996). Existují ale i studie (Ellis et al., 2015) dokládající, že některé HRV parametry se významně neliší, ať jsou stanoveny na základě EKG záznamu s vysokou vzorkovací frekvencí, nebo s ještě nižší než standardně doporučenou (až 125 Hz). V takových případech už se ovšem časový interval mezi jednotlivými vzorky pohybuje v jednotkách milisekund. Například pro 125 Hz je to 8 ms, což vzhledem k šířce QRS komplexu může významně ovlivnit výsledek analýzy. Otázka nízké vzorkovací frekvence se vztahuje hlavně k pořizování EKG záznamů

dle Holtera, kde vyšší vzorkovací frekvence znamená i vyšší nároky na velikost baterie a paměťové karty přístroje. Řešení v takových případech může představovat postup, kdy se po nalezení kmitu R proloží daná část křivky parabolou, jejíž vrchol pak reprezentuje zpřesněný odhad polohy kmitu R (Obr. 1.3; Bianchi et al., 1993).



Obr. 1.3. Parabolická interpolace kmitu R.

A. Nahrávka EKG pořízená přístrojem se vzorkovací frekvencí 125 Hz. B. Detail QRS komplexu (šedě), zpřesnění polohy R kmitu (označené křížkem) pomocí parabolické interpolace (černě).

Samotná detekce kmitu R, potažmo QRS komplexu je významně ovlivněná kvalitou EKG záznamu. Případný šum nebo nežádoucí artefakty mohou pramenit ze špatného kontaktu elektrody s pokožkou pacienta, rušivého působení elektrické rozvodné sítě, jiných vnějších zdrojů (např. mobilní telefon v kapse) nebo samotného organismu pacienta (elektrický potenciál kosterních svalů, pohyb hrudního koše při dýchání), (Friesen et al., 1990). Moderní elektrokardiografy už jsou často schopny tyto rušivé vlivy automaticky odfiltrovat.

Pro detekci QRS komplexu bylo vyvinuto velké množství algoritmů, většina z nich vykazuje velkou míru úspěšnosti při testování na standardním EKG signálu pořízeném na zdravých pacientech. Určitou výzvu představují záznamy s vysokou mírou rušení nebo data obsahující EKG křivky nestandardního tvaru ovlivněné různými patologickými stavy (Köhler et al., 2002). Jednotlivé algoritmy jsou založené na různých principech. Využívají například faktu, že derivace EKG křivky zvýrazní QRS komplex, protože se jedná o část EKG s nejstrmější změnou signálu. Předzpracovaný signál je pak porovnáván s prahovou hodnotou, která se většinou přizpůsobuje jeho změnám (Ahlstrom a Tompkins, 1983). Existují ovšem i sofistikovanější metody, které využívají celou řadu digitálních filtrů (Pan a Tompkins, 1985; Keselbrener et al., 1997). Další často aplikované algoritmy jsou založené na vlnkové transformaci (Bahoura et al., 1997; Li et al., 1995) nebo rozkladu signálu bankou filtrů (Afonso et al., 1999). Složitější metody na bázi neuronových sítí mohou být po „natrénování“ schopné pracovat i s EKG nahrávkami obsahujícími velké množství nestandardních tvarů vzniklých rozličnými patologickými procesy (Bishop a Hinton, 1995).

HRV analýza by měla být prováděna pouze na EKG záznamu se sinusovým rytmem. RR intervaly získané z takové nahrávky můžeme nazvat normální (rozuměj sinusové) RR intervaly, proto se v literatuře zabývající se HRV často hovoří o tzv. NN intervalech (z anglického normal-to-normal beat). Před samotným výpočtem parametrů HRV analýzy je tudíž nutné soubor RR intervalů zkontrolovat a označit případné ektopické stahy. Ty mohou mít jak fyziologický, tak uměle vytvořený původ spojený s technickými aspekty nahrávání EKG (Peltola, 2012). Jejich detekci lze provést ručně, což je u velkého množství dlouhých nahrávek časově velmi náročné, nebo automatickou filtrací. Zatím nepanuje všeobecná shoda, jak přesně definovat ektopický stah pro potřeby automatického vyřazení ze souboru. Obvykle se postupně prochází RR intervaly a porovnávají se s určitým počtem předcházejících a někdy i následujících intervalů a ty, jež se procentuálně liší od průměru více než je předem stanovená hodnota (často 20 %), jsou vyřazeny. Existují ale i komplexnější algoritmy, například Karlsson navrhl určovat hranici pro vyřazení RR intervalu na základě věku pacienta, kdy od jednoho roku do 15 let lineárně roste od 20 % do 40 % a následně zase lineárně klesá k 20 % v 75 letech

(Karlsson et al., 2012). Vycházel přitom z přirozené změny HRV v závislosti na věku.

Různé přístupy se používají i při dalším zpracování nalezených ektopických RR intervalů. Nejjednodušší z nich představuje prosté vymazání ektopického intervalu ze souboru. Častěji se však volí jeho nahrazení, například metodou lineární interpolace nebo interpolací kubickým splinem (Lippman et al., 1994). Byla navržena i celá řada mnohem sofistikovanějších a komplikovanějších metod. Jednotlivé přístupy byly mezi sebou porovnávány, ovšem se značně rozdílnými výsledky (Peltola, 2012), což mohlo být dáno odlišností populací studovaných pacientů nebo různými parametry HRV, které byly sledovány. Většina prací se však shoduje v tom, že pokud EKG záznam obsahuje příliš velké množství ektopických stahů, měl by být úplně vyřazen. Ať už je totiž vymazeme, nebo nahradíme některou ze zmíněných metod, vždy vneseme do analýzy chybu. Kritická mez se liší podle délky EKG nahrávky a podle parametrů použitých pro popis HRV. Všeobecně se uvádí, že míra ektopických stahů by neměla překročit 5 % (Salo et al., 2001), někdy však i 1 % (Storck et al., 2001).

1.2.2 Metody hodnocení variability srdeční frekvence

Dle standardů používaných pro analýzu variability srdeční frekvence lze metody hodnocení HRV rozdělit na lineární a nelineární. Lineární metody jsou mnohem lépe popsány, především co se fyziologické interpretace týká, a lze je dále rozdělit podle toho, zda spadají do časové nebo frekvenční oblasti (Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996). Nelineární metody jsou naproti tomu hůře interpretovatelné, avšak v případech některých patologií se ukazují jako velmi efektivní. Jedná se například o studium různých srdečních arytmií (Acharya et al., 2006).

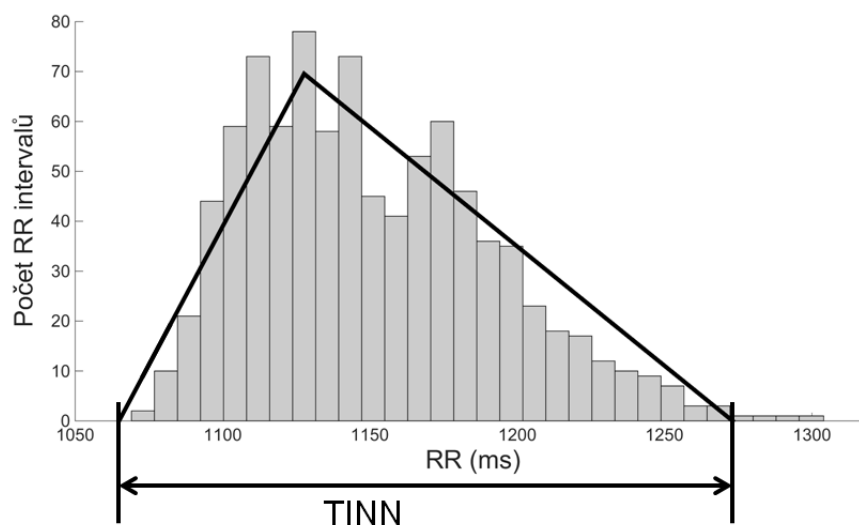
Analýza variability srdeční frekvence v časové oblasti

První velkou skupinou parametrů, jimiž lze popsat HRV, představují **statistické** veličiny. Ty jsou určovány buď na základě celého souboru normálních RR intervalů, nebo z rozdílů mezi sousedními RR intervaly. Z celých RR intervalů

je možné vypočítat například směrodatnou odchylku (SDNN) nebo střední chybu průměru (SENN). U delších EKG nahrávek se někdy určuje směrodatná odchylka v 5minutovém okně (SDANN) a jejich průměr v rámci celé nahrávky se pak nazývá SDNN index. Všechny tyto parametry popisují dlouhodobější změny variability srdeční frekvence (Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996).

Naproti tomu parametry definované na bázi rozdílů mezi sousedními RR intervaly odráží okamžité fluktuace HRV. Jedná se například o směrodatnou odchylku rozdílů mezi sousedními intervaly (SDSD) nebo kvadratický průměr rozdílů mezi sousedními intervaly (RMSSD). Spadá sem i podíl intervalů, které se od sousedního intervalu liší o více než 50 ms (pNN50), který je ovšem výrazně závislý na srdeční frekvenci, což je třeba mít na zřeteli především při experimentech prováděných na laboratorních potkanech a jiných drobných hlodavcích. Potkani totiž vykazují mnohem vyšší klidovou srdeční frekvenci než člověk (300-350 bpm), takže je nutné počítat s modifikovaným parametrem, pNN10 nebo pNN5 (Aubert et al., 1999).

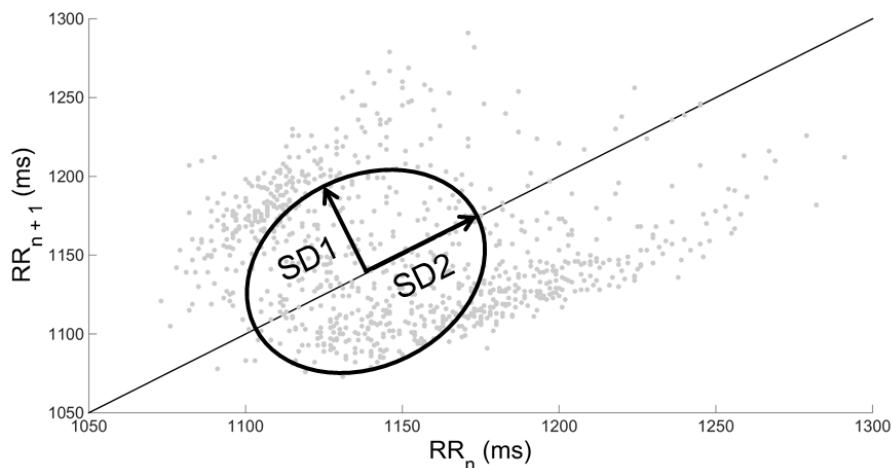
Geometrické metody jsou založené na vykreslení analyzovaného souboru RR intervalů do geometrického obrazce a jeho následném popisu. Nejčastěji se k tomuto účelu používá histogram se sloupcem o standardní šířce 1/128 sekundy (tj. 7,8125 ms). HRV trojúhelníkový index pak představuje celkový počet RR intervalů vydělený výškou histogramu. Další parametr, TINN reprezentuje velikost základny trojúhelníka získaného interpolací histogramu pomocí metody nejmenších čtverců (Obr. 1.4). Pro vytvoření histogramu nejsou vhodné krátké (5minutové) nahrávky EKG, doporučuje se použít spíše delší záznamy (Günther et al., 2010). Tato skutečnost může sice představovat určitou nevýhodu, je však vyvážena poměrně velkou robustností dané metody a její odolností vůči chybě vnesené přítomností ektopických RR intervalů a tedy i nižšími nároky na preprocessing (Malik et al., 1989). Oba zmíněné parametry charakterizují spíše dlouhodobé změny HRV (Acharya et al., 2006).



Obr. 1.4. Frekvenční histogram.

RR intervaly zobrazené formou frekvenčního histogramu se sloupcem o šířce 1/128 Hz. Černé úsečky získané metodou lineární interpolace představují ramena trojúhelníka aproximovaného histogramu, délka jeho základny je pak jeden z geometrických parametrů – TINN.

Geometrické metody reprezentuje i Poincarého graf. Jedná se o graf, kde je trvání každého RR intervalu vyneseno v závislosti na trvání předcházejícího RR intervalu. Za fyziologických okolností by se mělo jednat o shluk bodů rovnoměrně rozptýlených kolem osy 1. kvadrantu (Obr. 1.5). Poincarého graf umožňuje již pouhým pohledem odhalit některé patologie, například vysoký počet ektopických RR intervalů. Obvykle se ale k jeho popisu volí exaktnější postupy. Nejčastěji se Poincarého graf aproximuje elipsou (Obr. 1.5), jejíž kratší poloosa reflektuje okamžitou změnu variability založenou na změnách rozdílů mezi sousedními RR intervaly, zatímco její delší poloosa popisuje dlouhodobou variabilitu (Kamen et al., 1996). Vztah mezi těmito parametry, a potažmo i krátkodobou a dlouhodobou variabilitou, pak vyjadřuje jejich poměr (SD1/SD2) nebo obsah elipsy (S).



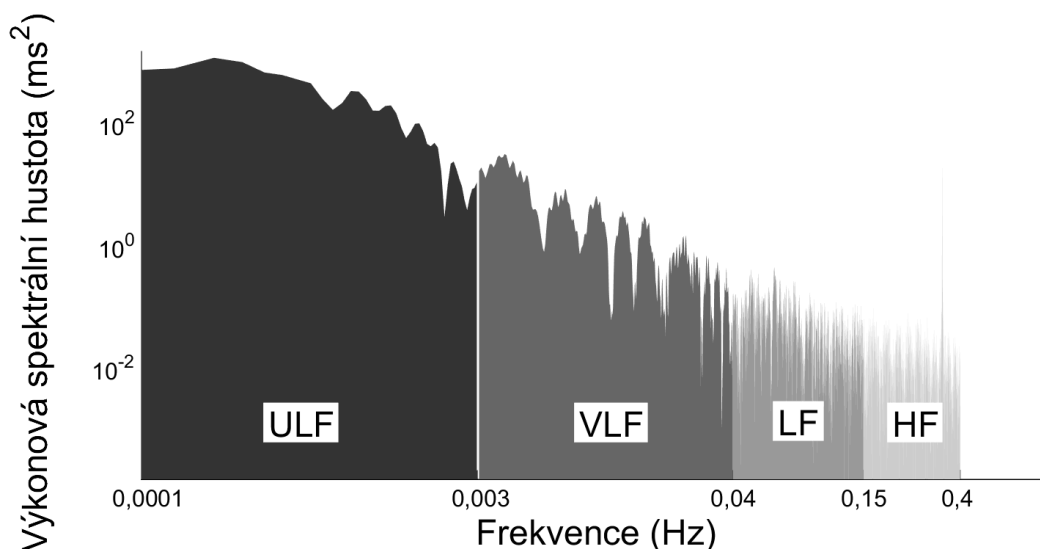
Obr. 1.5. Poincarého graf.

RR intervaly zobrazené formou Poincarého grafu (šedé body) a elipsa, jíž lze graf aproximovat (černá křivka). Parametry SD1 a SD2 pak představují délky poloos této elipsy.

Analýza variability srdeční frekvence ve frekvenční oblasti

Analýzou série RR intervalů ve spektrální oblasti lze získat informaci o vlivu autonomního nervového systému na srdeční činnost. Do hodnocení směřjí být zahrnuti pouze RR intervaly zobrazující srdeční stahy sinusového původu. Pokud před vlastním odhadem výkonové spektrální hustoty (PSD) nedojde k eliminaci ektopických stahů, vnáší se do výpočtu nezanedbatelná chyba (Colak, 2009).

Pro odhad PSD existuje několik metod. Velmi často se používá tzv. rychlá Fourierova transformace (FFT), kterou lze realizovat např. pomocí algoritmu představeného Cooleyem a Tukeyem (Cooley a Tukey, 1965). Další, autoregresní metoda (Baselli et al., 1987; Burr a Cowan, 1992) stanovení odhadu spektra se neukázala jako vhodná pro srdeční frekvenci (Christini et al., 1993). Obě výše zmíněné metody jsou určeny pro stejnoměrně vzorkovaný signál, takže jejich použití na sérii RR intervalů vyžaduje převzorkování, což samozřejmě vnáší do výpočtu další nepřesnost. Pro neekvidistantní posloupnosti, tedy pro posloupnost RR intervalů, je vhodnější spektrální analýza s užitím metody nejmenších čtverců (Laguna et al., 1998; Obr. 1.6). Tato metoda je rovněž známa jako Vaníčková (Vaníček, 1971), Lombova (Lomb, 1976), případně Lombova-Scarglova (Scargle, 1982) podle vědců, kteří se zasloužili o její uvedení do praxe.



Obr. 1.6. Odhad výkonové spektrální hustoty provedený Lombovou-Scarglovou metodou.

Jednotlivé složky výkonového spektra jsou znázorněny různými odstíny šedé, jedná se o pásmo ultra nízké (ULF; $<0,003\text{ Hz}$), velmi nízké (VLF; $0,003\text{--}0,04\text{ Hz}$), nízké (LF; $0,04\text{--}0,15$) a vysoké frekvence (HF; $0,15\text{--}0,4\text{ Hz}$).

Všeobecně se má za to, že spektrální výkon v pásmu vysoké frekvence (HF; $0,15\text{--}0,4\text{ Hz}$) lze spojit s aktivitou parasympatiku (Berntson et al., 1997). Ovšem interpretace dalších složek výkonového spektra je již mnohem složitější a zatím ohledně ní nepanuje všeobecná shoda. Výkon v oblasti nízké frekvence (LF; $0,04\text{--}0,15\text{ Hz}$) zřejmě reflektuje jak sympatickou, tak parasympatickou aktivitu autonomního nervového systému a zdá se, že je ovlivněn ještě dalšími, dosud neidentifikovanými, faktory (Billman, 2013). Tato skutečnost pak problematizuje výklad poměru výkonu v pásmu nízké a vysoké frekvence (LF/HF). Někteří autoři jej považují za ukazatel sympatovagální rovnováhy (Pagani et al., 1984), což jiní rozporují s argumentem, že LF není exkluzivně ovlivněna činností sympatiku a že vztah mezi variabilitou srdeční frekvence a aktivitou autonomního nervového systému není čistě lineární (Billman, 2013).

Význam dalších dvou složek výkonového spektra nebyl v minulosti tak detailně studován a dostává se do centra pozornosti až s rozvojem technologií, které umožňují snazší analýzu dlouhých (24hodinových) EKG záznamů. Spektrální výkon v pásmu velmi nízké frekvence (VLF; $0,003\text{--}0,04\text{ Hz}$) je pravděpodobně ovlivněn nejen autonomním nervovým systémem, ale například i činností systému

renin-angiotenzin a dalšími humorálními faktory (Shaffer et al., 2014). Složka výkonového spektra v oblasti ultra nízké frekvence (ULF; $<0,003$ Hz) je hodnotitelná výhradně na dlouhých nahrávkách (min. 24 hodin; Kleiger et al., 2005). Její velikost souvisí patrně s cirkadiánním rytmem, termoregulačními mechanismy, činností metabolismu nebo systému renin-angiotenzin a dalšími, dosud často nepopsanými, jevy (Shaffer et al., 2014).

Nelineární metody

Jak již bylo napsáno výše, interpretace parametrů získaných nelineární analýzou HRV ještě v některých případech není zcela vyjasněná. Může však zachytit děje, které lineární analýza není schopná postihnout. Mezi nelineární metody v podstatě spadá i Poincarého graf. Většinou se však řadí mezi metody lineární, protože se k jeho charakterizaci používají lineární parametry (rozměry jemu aproximované elipsy).

Nelineární metody vychází z nelineární podstaty biologických signálů, řadí se k nim například metody fraktální analýzy, jako metoda fraktální dimenze nebo detrendovaná analýza fluktuace (DFA). DFA představil Peng v 90. letech (Peng et al., 1995). Lze ji využít k popisu krátkodobé i dlouhodobé fluktuace časové řady. Výsledný exponent α se pro zdravého jedince blíží hodnotě 1, jeho snížení může značit například fibrilace komor nebo síní či blok Tawarova raménka. Naopak vyšší exponent je příznačný pro ischemickou chorobu srdeční (Acharya et al., 2006)

Maximální Lyapunovův exponent popisuje citlivost systému na počáteční podmínky a udává míru jeho prediktability. Charakterizuje chování systému především z dlouhodobého hlediska. V rámci analýzy HRV dochází k jeho výraznému snížení například u pacientů s ischemickou chorobou srdeční (Acharya et al., 2004).

Aproximovaná entropie (ApEn) je definována mírou nepředvídatelnosti srdečního rytmu. Za fyziologických podmínek odráží komplexitu regulace variability srdeční frekvence (Pincus, 1991). Některé patologické procesy mohou ApEn snižovat a poukazovat tak na změnu regulace elektrické aktivity myokardu. Pokles ApEn

byl prokázán například u plodů postižených acidózou (Pincus a Viscarello, 1992). Existuje ještě celá řada metod nelineární dynamiky, jež lze aplikovat na HRV. Jejich detailní popis je však mimo zaměření této práce.

Kromě variability RR intervalu lze analyzovat i variabilitu QT intervalu, k níž se v současné době obrací stále více pozornosti (Baumert et al., 2016). Její zvýšení bylo prokázáno například u pacientů postižených diabetickou neuropatií (Khandoker et al., 2012) nebo syndromem dlouhého QT intervalu (Hinterseer et al., 2008). Analýza variability QT ovšem ještě není standardizovaná, včetně fyziologického významu jednotlivých parametrů a způsobu samotné detekce intervalu QT. Identifikace konce vlny T totiž kvůli jejímu pozvolnému poklesu představuje výpočetní výzvu (Porta et al., 1998). Na podobný problém naráží i analýza variability PR intervalu, která by mohla poskytnout informaci o variabilitě atrioventrikulárního zpoždění (Leffler et al., 1994), ale o níž bylo zatím publikováno velmi málo prací.

1.2.3 Faktory ovlivňující variabilitu srdeční frekvence

Fyziologické faktory

Variabilita srdeční frekvence je ovlivňována celou řadou faktorů. První skupinu tvoří fyziologické faktory jako pohlaví, věk nebo poloha těla a denní doba, v níž je záznam EKG pořizován. Jejich význam je třeba brát v úvahu především při přípravě experimentů, které by měly být prováděny vždy ve stejnou denní dobu, a rovněž poloha pacientů při nahrávání EKG by měla být stejná (pokud se ovšem nejedná o dlouhodobé monitorování dle Holtera). Pečlivě je nutné posuzovat i složení skupin zkoumaných pacientů z hlediska pohlaví a věku.

Voss a kolektiv realizovali měření na více než 2000 zdravých jedincích (25-74 let), aby zhodnotili vliv **věku** na různé parametry HRV (Voss et al., 2012). Popsali signifikantní pokles variability, který progredoval s každým dalším desetiletím, o něž se zvýšil věk účastníků studie, avšak v posledních dvou věkových skupinách (55-64 a 65-74 let) se toto snižování HRV prakticky zastavilo. Moodithaya

analyzoval účinek věku v souvislosti s **pohlavím**, přičemž se zaměřil hlavně na analýzu ve frekvenční oblasti (Moodithaya a Avadhany, 2012). Rozdíly objevil především v adolescentním věku, kdy se u mužů již objevil signifikantní pokles v pásmu vysoké frekvence, zatímco u žen byl pozorovatelný až v mladém dospělém věku. Pohlavní rozdíly byly popsány například i v účinku kouření a pití alkoholu nebo kávy na variabilitu srdeční frekvence (Kumar et al., 2006).

Změnu HRV lze vyvolat také změnou **polohy** sledovaného pacienta. Například při postavení ze sedu nastává pokles statistických veličin HRV i parametrů stanovených ve frekvenční oblasti, kde navíc dochází k výraznějšímu vychýlení poměru LF/HF ve prospěch LF, což by mohlo naznačovat pokles aktivity parasymptiku (de Souza et al., 2014).

Jak již bylo dříve napsáno, na variabilitu srdeční frekvence má vliv také **cirkadiánní rytmus**, který reflektuje především ultra nízká složka spektrální výkonové hustoty (ULF). I další parametry HRV však vykazují závislost na cirkadiánním rytmu. U zdravých jedinců obvykle během noci dochází k nárůstu variability srdeční frekvence. Stejný cyklický průběh HRV byl však pozorován i u pacientů postižených neuropatií vagu, což může naznačovat, že cirkadiánní rytmus HRV je zapříčiněn fluktuacemi aktivity sympatiku (Malpas a Purdie, 1990).

Patologické faktory

Velkou skupinou patologických faktorů ovlivňujících variabilitu srdeční frekvence jsou logicky **kardiovaskulární onemocnění**. Například HRV u pacientů s infarktem myokardu je intenzivně zkoumána již od konce 70. let 20. století (Wolf et al., 1978). Velká multicentrická studie prokázala, že analýza HRV může sloužit jako nástroj pro hodnocení rizika úmrtí v měsících následujících po infarktu myokardu. Konkrétně byla pro stratifikaci pacientů použita směrodatná odchylka normálních NN intervalů stanovená na základě 24hodinového záznamu EKG (La Rovere et al., 1998). Někteří dokonce navrhují aplikaci HRV analýzy při zkoumání vlivu jednotlivých rizikových faktorů na vznik a průběh kardiovaskulárních chorob všeobecně (Thayer et al., 2010).

Přestože je většina parametrů analýzy HRV definována pro normální RR intervaly a tedy pro sinusový rytmus, lze některé nelineární metody využít i k automatické detekci a klasifikaci arytmií (Ge et al., 2002; Acharya et al., 2003). Další možností uplatnění HRV analýzy v oblasti srdečních arytmií je studium úseků bez arytmií na EKG záznamech pacientů, kteří trpí arytmií nebo k ní mají genetickou predispozici jako například nositelé mutace A341V genu KCNQ1 postižení syndromem dlouhého QT intervalu. V jejich případě bylo možné odlišit symptomatickou a asymptomatickou skupinu pacientů pomocí analýzy ve frekvenční oblasti (Porta et al., 2015).

Využití HRV analýzy se však neomezuje pouze na choroby kardiovaskulárního systému, dlouhou tradici má i v rámci výzkumu **cukrovky**. Od doby, kdy Wheeler a Watkins poprvé popsali snížení HRV u diabetiků s kardiovaskulární autonomní neuropatií (Wheeler a Watkins, 1973), si tato metoda našla cestu do diagnostické praxe a je využívána k časnému odhalení neuropatie, což umožňuje včasné zahájení léčby (Vinik et al., 2003). Bylo totiž doloženo, že pokles HRV předchází klinickým projevům diabetické autonomní neuropatie (Singh et al., 2000).

Jako diagnostický nástroj by mohla HRV analýza sloužit i v případě **septických stavů**, kde bylo popsáno snížení většiny parametrů HRV, a to jak u dospělých pacientů (Pontet et al., 2003; Korach et al., 2001; Barnaby et al., 2002), tak u novorozenců (Griffin et al., 2005; Bohanon et al., 2015). Na rozdíl od jiných, standardně v klinice používaných, způsobů diagnostiky sepse, by HRV analýza mohla představovat rychlý, levný a neinvazivní nástroj k jejímu včasnému odhalení. Především u dospělých pacientů však její využití může komplikovat přítomnost jiného onemocnění, které také ovlivňuje HRV (viz např. předchozí odstavec). Samotná patofyziologická příčina změny variability srdeční frekvence v sepsi není dosud známa. Mohla by souviset s cholinergní protizánětlivou dráhou, jejímž prostřednictvím může parasymptikus inhibovat uvolňování cytokinů. Právě analýza HRV totiž odhalila pokles v pásmu vysoké frekvence, což může naznačovat pokles aktivity parasymptiku při sepsi (Borovikova et al., 2000; Wang et al., 2013).

Rovněž u **selhání ledvin** byl prokázán pokles HRV (Ranpuria et al., 2008). Pacienti s chronickým selháním ledvin vykazovali snížení všech parametrů ve frekvenční oblasti (HF i LF), které bylo obdobné u hemodialýzy a peritoneální dialýzy, ale menší u pacientů, kteří dialýzu ještě nepodstupovali (Axelrod et al., 1987). Některé studie naznačují, že by bylo možné použít HRV analýzu i jako prognostický nástroj ke stanovení míry rizika úmrtí u pacientů v terminálním stadiu selhání ledvin (Hayano et al., 1999).

Jednotně charakterizovat HRV u pacientů postižených **nádorovými onemocněními** je prakticky nemožné vzhledem k heterogenitě této skupiny chorob. Výsledky jednotlivých studií jsou navíc často protichůdné. Například u karcinomu prsu bylo popsáno jak snížení HRV (Vigo et al., 2015), tak nezměněná HRV (Bettermann et al., 2001). Výzkum HRV v případě nádorových onemocnění dále problematizuje fakt, že je obtížné určit, zda za případnou změnou HRV stojí vlastní onemocnění nebo jeho léčba (Arab et al., 2016). HRV analýza se však může uplatnit v predikci přežití pacientů, kteří nádorové onemocnění prodělali. Nedávná metaanalýza šesti studií ukázala, že pacienti s vyšší HRV mají i vyšší šanci na delší přežití (Zhou et al., 2016).

Na variabilitu srdeční frekvence mohou mít vliv i některá **dušení onemocnění**. Například u schizofreniků byl v mnoha studiích prokázán pokles HRV v pásmu vysoké frekvence (Montaquila et al., 2015). Změna HRV byla opakovaně popsána i u depresivních poruch (Bassett, 2016). Například Kemp a kolektiv (Kemp et al., 2012) popsali snížení statistických parametrů HRV a výkonové spektrální hustoty v pásmu vysoké frekvence u pacientů s depresivní poruchou, přičemž ještě větší pokles byl zaznamenán u těch, co navíc trpěli generalizovanou úzkostnou poruchou. K podobným výsledkům dospěla i další studie, která navíc prokázala lineární vztah mezi stupněm závažnosti deprese a změnami HRV (Wang et al., 2013). V nedávné době se zjistilo, že deprese má vliv i na přirozenou změnu HRV při změně postoje (konkrétně ze sedu do stoje), která je u pacientů s depresivní poruchou potlačena (Jiang et al., 2015).

HRV je ovlivněna také **životním stylem**. Opakovaně byl popsán efekt fyzické aktivity (především aerobního cvičení), který u pacientů po infarktu myokardu

dokázal pozitivně ovlivnit HRV (Oliveira et al., 2013). Na druhou stranu byl zkoumán také účinek dlouhodobé závislosti na alkoholu. U pacientů byly prováděny standardní testy (např. Valsavův manévr nebo test sinokarotického reflexu), které u části závislých odhalily autonomní neuropatii. Tato skupina měla sníženou HRV dle očekávání, k významnému poklesu proti kontrolám však došlo i u skupiny, kde standardními klinickými testy neuropatie odhalena nebyla (Malpas et al., 1991). Snížení HRV může vzniknout i na základě kouření, a to včetně pasivního (Pope et al., 2001). Analýzou fetálního EKG bylo dokonce prokázáno snížení HRV již u plodů ve třetím trimestru v případě, že matka během těhotenství kouřila (Zeskind a Gingras, 2006).

Roli možná hraje i **životní prostředí**. Již po několika dnech pobytu v oblasti se zvýšenou úrovní znečištění vzduchu byl zaznamenán statisticky významný pokles HRV (Shutt et al., 2017). Tato zjištění ovšem rozporují autoři nedávné metaanalýzy, podle nichž nebyl zatím vliv znečištěného prostředí na HRV přesvědčivě prokázán (Buteau a Goldberg, 2016). Jejich hlavní argument spočívá v metodologické nedostatečnosti analyzovaných studií.

Dalším faktorem, který je třeba brát v úvahu při provádění HRV analýzy, je případné **farmakologické ovlivnění** (Acharya U et al., 2004). Vzhledem k tomu, že HRV reflektuje aktivitu autonomního nervového systému, jedná se především o přípravky, které ovlivňují jeho činnost. V kardiologii jsou to například inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu (Kontopoulos et al., 1997), blokátory vápníkových kanálů (Ogura et al., 2012) nebo betablokátory, které byly schopné zvýšit HRV u pacientů trpících onemocněním koronárních tepen (Niemelä et al., 1994) či dekompenzovaným srdečním selháním (Aronson a Burger, 2001). Po akutním infarktu myokardu potlačily betablokátory ranní nárůst spektrálního výkonu v pásmu nízké frekvence, což může přispívat k prevenci náhlé srdeční smrti u těchto pacientů (Sandrone et al., 1994). Z přípravků pro léčbu depresivních onemocnění ovlivňují HRV především tricyklická antidepresiva, která snižují většinu jejích parametrů. Efekt antidepresiv inhibujících zpětné vychytávání serotoninu je už jasný méně, většina studií žádný neprokázala (van Zyl et al., 2008). Žádná antidepresiva také nebyla schopná normalizovat pokles HRV způsobený samotnou depresí (Kemp et al., 2010). Velkou skupinu látek

účinkujících na variabilitu srdeční činnosti představují anestetika. Bylo prokázáno, že celková anestezie snižuje HRV (Matchett a Wood, 2014; Tarvainen et al., 2012), což by mohlo potenciálně negativně ovlivňovat pacienty s již přítomnou poruchou regulace HRV. Některé práce se zmiňují i o případné možnosti využít analýzu HRV jako nástroj pro předoperační stratifikaci pacientů ohrožených náhlou srdeční smrtí během anestezie (Mazzeo et al., 2011).

2 Cíle dizertace

Záměrem této dizertační práce byla analýza elektrofyziologie myokardu za různých patofyziologických podmínek, a to na úrovni jednotlivých buněk, multicelulárního preparátu i celého srdce. Případné změny v elektrofyziologických vlastnostech myokardu byly sledovány v souvislosti s dalšími parametry vypovídajícími o stavu kardiovaskulárního systému (hemodynamická měření) i celého organismu (acidobazická rovnováha).

První cíl představovala charakteristika účinků sepse na variabilitu srdeční frekvence. Otázkou nebyl pouze její případný pokles, ale i jeho kinetika ve vztahu k systémové hemodynamice. Byla rovněž prověřována citlivost analýzy HRV v závislosti na stupni závažnosti experimentálně navozeného septického stavu.

Další část práce se věnuje studiu acidózy na prasečím modelu s úmyslem popsat co nejkompexněji její vliv na kardiovaskulární systém. Uvedené experimenty zahrnovaly sledování systémové, plicní i regionální hemodynamiky, ale i měření na izolované srdeční tkáni, aby bylo možné odlišit přímý efekt acidózy na myokard od sekundárních účinků způsobených změnami v cévní soustavě.

V experimentálním prasečím modelu sepse i acidózy byl k anestezii a sedaci použit (mimo jiné) propofol. Cílem pokusů popisovaných v posledním úseku této práce bylo popsat jeho účinek na kontrakci a elektrofyziologii myokardu. Získané informace měly určit, nakolik mohlo podávání propofolu ovlivnit výsledky předchozích experimentů.

3 Experimentální metody

Všechny experimenty na zvířatech zmiňované v této dizertační práci byly prováděny v souladu se směrnicí Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely a byly schváleny Odbornou komisí pro práci s laboratorními zvířaty Lékařské fakulty v Plzni, Univerzity Karlovy.

3.1 Experimentální model sepse

Pro experimentální modelování sepse v pokusech popisovaných v této práci byla použita prasata domácí. Zvířata byla 18 hodin před začátkem experimentu držena na lačno s neomezeným přístupem k pitné vodě. Anestezie byla zahájena podáním ketaminu i.m. (2 mg/kg), azaperonu i.m. (2-4 mg/kg) a 2% propofolu i.v. (1-2 mg/kg). Po navození anestezie byla provedena orotracheální intubace a zahájena mechanická ventilace (FiO_2 0,3; PEEP 6 cm H_2O , dechový objem 8 ml/kg), přičemž koncentrace vdechovaného kyslíku byla upravována tak, aby se $PaCO_2$ pohyboval v rozmezí 4-5 kPa.

Ještě před instrumentací byla započata kontinuální anestezie za použití propofolu i.v. (1-4 mg/kg/h) a fentanylu i.v. (10-15 μ g/kg/h), která byla stejným způsobem udržována po celou dobu pokusu. Svalová relaxace byla zajištěna norcuroniem i.v. (na úvod 4 mg, pak průběžně 0,2-0,4 mg/kg/h). Instrumentace spočívala v zavedení katetru do femorální tepny, což umožnilo kontinuální měření krevního tlaku a odběr vzorků krve. Pro monitorování hemodynamiky byly přes jugulární žílu zavedeny trojcestný (triple lumen) centrální žilní katetr a katetr do plicní tepny. Do Morrisonova a Douglasova anatomického prostoru byly vloženy dva silikonové drény. Pro zachování normovolémie byl během operace zvířatům podáván roztok Ringerfundin® (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Německo), a to 10 ml/kg/h. Po dokončení instrumentace byla rychlost jeho podávání snížena na 7 ml/kg/h. Normoglykémie, jež byla definována jako hladina glukózy v arteriální

krvi mezi 4,5-7 mmol/l, bylo dosaženo podáváním 20% roztoku glukózy i.v., pokud bylo potřeba.

Instrumentace umožňovala monitorování nejrůznějších parametrů. Pro účely této práce byly využity především hodnoty srdečního výdeje (CO), systolického objemu (SV), systémové (SVR) i plicní cévní rezistence (PVR), středního arteriálního tlaku (MAP) a hladiny cytokinů, interleukinu 6 (IL-6) a faktoru nádorové nekrózy (TNF- α), v průběžně odebírané krvi.

Po provedení instrumentace následovala šestihodinová zotavovací fáze. Po jejím skončení byla realizována všechna měření, jimiž bylo možné charakterizovat stav prasete ještě před vyvoláním septického stavu. Bylo také zahájeno kontinuální měření EKG, které pokračovalo až do úplného závěru experimentu.

Samotná sepse byla způsobena aplikací autologních exkrementů (0,5-1 g/kg) do peritonea prostřednictvím drénu, připraveného během instrumentace. Exkrementy byly získány před operací a rozpuštěny v 200 ml fyziologického roztoku ohřátého na 37°C. Se zvířetem bylo poté zacházeno jako s pacientem na jednotce intenzivní péče, čemuž odpovídalo i vybavení experimentální jednotky intenzivní péče, kde se experimenty odehrávaly (Obr. 3.1). Standardní terapeutické postupy zahrnovaly (kromě udržování normovolémie a normoglykémie) i podávání noradrenalinu i.v., pokud MAP poklesl pod 65 mmHg.

Všechny experimenty byly ukončeny buď eutanázií 48 hodin po vyvolání sepse, nebo úhynem zvířete následkem septického šoku.



Obr. 3.1. Experimentální jednotka intenzivní péče, Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova.

3.2 Experimentální model acidózy

Pro experimentální model acidózy byla použita prasata domácí, jimž byla navozována buď metabolická (MAC), nebo hyperkapnická acidóza (HCA). Vždy 18 hodin před začátkem pokusu byla zvířata držena o hladu s neomezeným přístupem k vodě. Experiment byl pak zahájen podáním úvodní anestezie, která sestávala z ketaminu i.m. (2 mg/kg), azaperonu i.m. (2 mg/kg) a 2% propofolu i.v. (1-2 mg/kg). Zvířata byla během pokusu mechanicky ventilována (FiO_2 0,4; PEEP 5 cm H_2O , dechový objem 10 ml/kg). Koncentrace vdechovaného kyslíku byla přitom upravována tak, aby se $PaCO_2$ pohyboval v rozmezí 4-5 kPa, kromě skupiny HCA, v níž byla koncentrace kyslíku neměnná v čase a FiO_2 byl přizpůsobován tak, aby saturace arteriální krve kyslíkem zůstala nad 90 %.

Během instrumentace byla průběžná anestezie zajišťována kontinuálním intravenózním podáváním thiopentalu (10 mg/kg/h) a fentanylu (10-15 μ g/kg/h). Dávka anestetik byla po provedení instrumentace snížena na 5 mg/kg/h

u thiopentalu a 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ u fentanylu tak, aby zajistila anestezii až do úplného konce experimentu. Svalová relaxace byla zabezpečena průběžnou aplikací pancuronia (0,2 mg/kg/h) během celého pokusu. Normovolémie byla udržována infuzí roztoku Plasma-Lyte (Baxter Healthcare, Deerfield, IL, USA) rychlostí 15 ml/kg/h, která byla po zákroku snížena na 7 ml/kg/h.

Výše zmíněná instrumentace zahrnovala umístění centrální žilního katetru (Certofix Trio V715; B Braun, Melsungen, Německo) přes levou jugulární žílu, který umožňoval aplikaci farmak a tekutin. Termodiluční katetr (Corodyn Thermodilution Infusion Catheter; B Braun, Melsungen, Německo) byl zaveden do plicní arterie přes pravou jugulární žílu. Další katetr, tentokrát ve femorální arterii, byl použit ke sledování krevního tlaku a odběru vzorků krve. Fibrooptický katetr (COLD Z-021; Pulsion Medical, Mnichov, Německo) byl aplikován pro termodiluční metodu se dvěma indikátory. Pro sledování regionálního průtoku byla provedena střední laparotomie a na portální žílu, jaterní tepnu, levou renální tepnu a levou karotickou tepnu byly umístěny předem kalibrované ultrazvukové sondy (Transonic Systems, Ithaca, NY, USA). Do portální, renální, jaterní a jugulární žíly byly vloženy žilní katetry, které umožňovaly stanovení pH, parciálního tlaku kyslíku a oxidu uhličitého a saturace hemoglobinu kyslíkem.

Měření srdečního výdeje probíhalo termodiluční metodou (66S Monitor; Hewlett Packard, Paolo Alto, CA, USA). Výsledný údaj byl získán jako aritmetický průměr ze tří měření provedených v různých fázích dechového cyklu pomocí aplikace 10 ml ledově studeného fyziologického roztoku. Objem krevního kompartmentu v hrudníku (ITBV) a globální end-diastolický objem (GEDV) byly stanoveny diluční metodou s použitím dvou indikátorů – chladu a indocyaninové zeleně (10 ml; 2,5 mg/ml). Další hemodynamické parametry byly dopočítávány, viz Tab. 3.1.

Název	Zkratka	Vzorec pro výpočet
Systolický objem	SV (ml)	$CO / HR \cdot 1000$
Systémová cévní rezistence	SVR (dyn·s/cm ⁵)	$(MAP - CVP) \cdot 80 / CO$
Plicní cévní rezistence	PVR (dyn·s/cm ⁵)	$(MPAP - PAOP) \cdot 80 / CO$
Tepová práce levé komory	LVS _W (cJ)	$(MAP - PAOP) \cdot SV \cdot 0,0136$
Tepová práce pravé komory	RVS _W (cJ)	$(MPAP - CVP) \cdot SV \cdot 0,0136$

Tab. 3.1. Vzorce použité pro dopočítání některých hemodynamických parametrů.

CO (l/min) představuje srdeční výdej, HR (bpm) srdeční frekvenci, MAP (mmHg) střední arteriální tlak, CVP (mmHg) centrální venózní tlak, MPAP (mmHg) střední tlak v plicní arterii, PAOP (mmHg) tlak v zaklínění plicní arterie.

Po provedení instrumentace následovala šestihodinová pauza pro zotavení zvířete. Po získání výchozích hodnot, což zahrnovalo hemodynamická i biochemická měření a nahrání prvního 5minutového záznamu EKG, byla vyvolána acidóza. Hyperkapnické acidózy bylo dosaženo ve dvou krocích. Nejprve byla snížena frakce vdechovaného CO₂ tak, aby pH arteriální krve pokleslo na hodnotu 7,25. To odpovídalo zvýšení PaCO₂ z výchozích 4-5 kPa na přibližně 10 kPa. Tento stav byl udržován dalších 60 minut, než bylo přikročeno k druhé fázi snížení pH. Opět byl zvýšen poměr vdechovaného CO₂, tentokrát cca na 15 kPa. Cílem bylo dosáhnout hodnoty pH 7,1. Stejně jako po prvním poklesu pH i nyní následovala 60minutová stabilizační fáze. Až po jejím uplynutí byla provedena závěrečná hemodynamická a biochemická měření a nahráno EKG.

Metabolická acidóza byla zprostředkována kontinuální infuzí HCl (2 mol/l) rychlostí 10 ml/h. Na rozdíl od hyperkapnické acidózy, frakce vdechovaného CO₂ zůstala po celou dobu experimentu nezměněna (4-5 kPa). Pokus byl opět realizován ve dvou fázích, pH bylo sníženo nejprve na 7,25 a za hodinu na výsledných 7,1. Po další hodině byla uskutečněna měření podobně jako v případě hyperkapnické acidózy.

3.3 Experiment na myokardu potkana

Pro zkoumání účinků propofolu na srdeční tkáň bylo použito celkem 37 šestiměsíčních samců laboratorního potkana kmene Wistar (VELAZ, Praha, ČR). Zvířata byla vždy v den experimentu omráčena a dekapitována bez použití farmakologické anestezie, jež by mohla způsobit případné zkreslení výsledků pokusu. Z těla zvířete bylo rychle vyjmuto srdce a byl odebrán preparát z levé a pravé srdeční komory. Vzhledem k stejnosměrnému uspořádání svalových vláken byl volen papilární sval nebo trabekula. Preparát byl následně umístěn do lázně (viz podkapitola 3.5.2), kde bylo změřeno membránové napětí a síla kontrakce (viz podkapitola 3.5.1) nejprve v kontrolním roztoku, následně i v roztoku s propofolem, jehož koncentrace byla zvyšována tak, aby postupně dosahovala hodnot: 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 mmol/l. Ve všech uvedených koncentracích bylo provedeno měření vždy při čtyřech různých stimulačních frekvencích (1, 2, 3 a 5 Hz).

3.4 Analýza variability srdeční frekvence

Všechny nahrávky EKG (svod II), jejichž analýza byla zahrnuta do této práce, byly pořízeny pomocí měřicí jednotky Biopac (Biopac Systems Inc., Santa Barbara, CA, USA). Ve všech případech byla použita vzorkovací frekvence 1000 Hz. Analýza byla prováděna buď na 5minutových nahrávkách, nebo na hodinových úsecích, na něž byl rozdělen kontinuální záznam. Pro off-line analýzu byl zvolen software MATLAB 2014b (MathWorks Inc., Natick, MA, USA, 2014). Nejprve byly detekovány R kmity (algoritmus Pan-Tompkins; Pan a Tompkins, 1985), z nichž byly vypočítány RR intervaly. Ještě před samotnou analýzou byly ze série automaticky vyloučeny ektopické RR intervaly. Byly za ně považovány ty intervaly, jež se od aritmetického průměru z okolních 50 intervalů (25 předcházejících a 25 následujících) lišily o více než 20 %. Tento algoritmus byl opakován, dokud nebyly vyřazeny všechny ektopické intervaly. Celá nahrávka byla vyřazena z další analýzy, pokud obsahovala více než 5 % ektopických RR intervalů. V sériích RR intervalů zahrnutých do analýzy variability srdeční frekvence byly ektopické

RR intervaly nahrazeny odpovídajícím počtem normálních RR intervalů s využitím metody lineární interpolace.

Takto připravená série RR intervalů byla podrobena analýze variability srdeční frekvence, jejímž výsledkem byly hodnoty parametrů, které lze rozřadit do několika skupin (Tab. 3.2). Parametry v časové oblasti zahrnovaly statistické parametry a geometrické parametry založené na frekvenčním histogramu o standardní šířce sloupce 1/128 s. RR intervaly byly také vyneseny do tzv. Poincarého grafu, kde je každý RR interval vykreslen v závislosti na předcházejícím RR intervalu. Výsledný obrazec lze aproximovat elipsou, jejíž rozměry představují další parametry HRV.

Provedení frekvenční analýzy série RR intervalů umožnilo získat obraz o autonomní nervové regulaci srdeční činnosti. Odhad spektrální výkonové hustoty byl uskutečněn na základě Lombova-Scarglova periodogramu (Lomb, 1976; Scargle, 1982), jenž byl do výpočetního programu implementován s užitím algoritmu Presse a Rybického (Press a Rybicki, 1989). Spektrální výkonová hustota byla stanovena v pásmu nízké (0,04-0,15 Hz) a vysoké frekvence (0,15-0,4 Hz), viz Tab. 3.2.

Parametry v časové oblasti	
Statistické parametry	
SDNN (ms)	Směrodatná odchylka normálních RR intervalů.
SDSD (ms)	Směrodatná odchylka rozdílů mezi sousedními normálními RR intervaly.
pNN50 (%)	Podíl sousedících normálních RR intervalů, které se od sebe liší o více než 50 ms.
Geometrické parametry	
HRV TI (-)	Celkový počet normálních RR intervalů dělený výškou frekvenčního histogramu normálních RR intervalů.
TINN (ms)	Základna trojúhelníku získaného interpolací frekvenčního histogramu normálních RR intervalů.
Parametry Poincarého grafu	
SD1 (ms)	Směrodatná odchylka bodů Poincarého grafu kolmo vůči ose 1. kvadrantu.
SD2 (ms)	Směrodatná odchylka bodů Poincarého grafu podél osy 1. kvadrantu.
SD1/SD2 (-)	Poměr SD1 vůči SD2.
S (ms ²)	Plocha elipsy aproximující Poincarého graf.
Parametry ve frekvenční oblasti	
TP (ms ²)	Celková výkonová spektrální hustota.
LF (ms ²)	Výkonová spektrální hustota v pásmu nízké frekvence (0,04-0,15 Hz) v absolutních jednotkách.
HF (ms ²)	Výkonová spektrální hustota v pásmu vysoké frekvence (0,15-0,4 Hz) v absolutních jednotkách.
LF norm (n. u.)	Výkonová spektrální hustota v pásmu nízké frekvence (0,04-0,15 Hz) normalizovaná podle vzorce LF norm = LF / (LF + HF).
HF norm (n. u.)	Výkonová spektrální hustota v pásmu vysoké frekvence (0,15-0,4 Hz) normalizovaná podle vzorce HF norm = HF / (LF + HF).
LF/HF (-)	Poměr výkonové spektrální hustoty v pásmu nízké frekvence vůči výkonové spektrální hustotě v pásmu vysoké frekvence.

Tab. 3.2. Parametry variability srdeční frekvence.

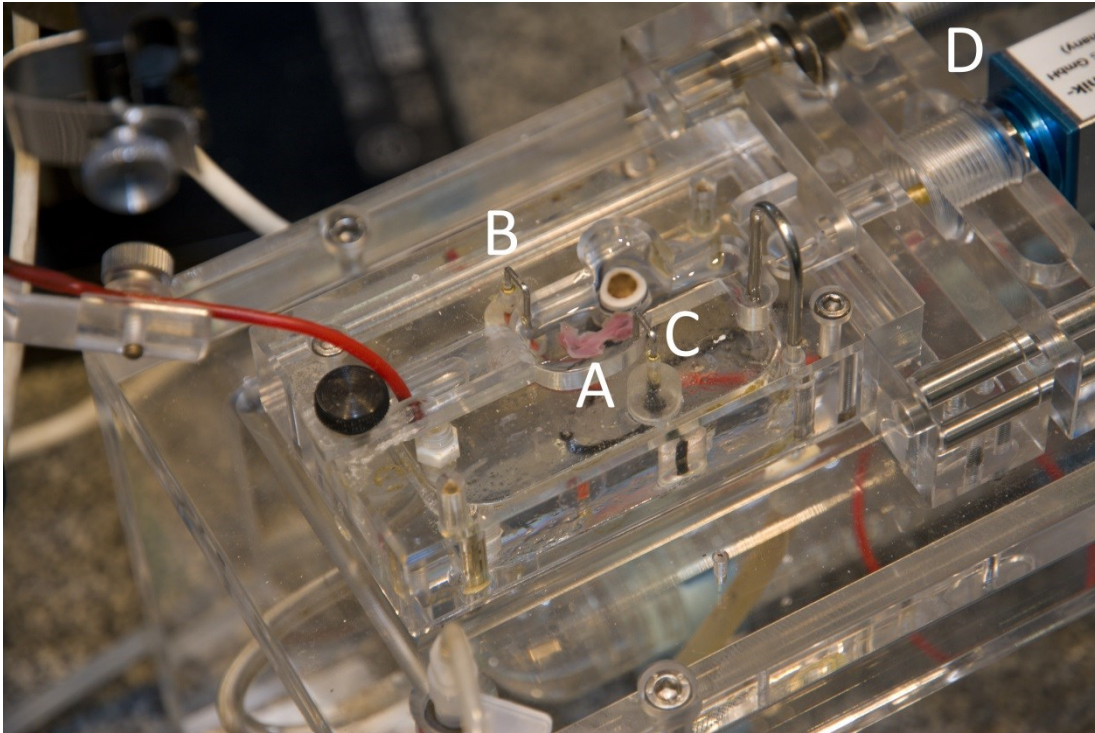
3.5 Měření akčního napětí a síly kontrakce

3.5.1 Příprava preparátu a vlastní měření

Měření akčního napětí a síly kontrakce byla prováděna na multiceulárních preparátech z prasete nebo potkana. Ihned po usmrcení daného zvířete bylo rychle vyjmuto srdce, z něhož byla vypreparována trabekula, resp. papilární sval. Preparát byl okamžitě přemístěn do lázně promývané okysličeným Tyrodovým roztokem (viz podkapitola 3.5.2) ohřátým na teplotu 37°C, kde byl napnut mezi dva háčky, z nichž jeden byl statický a druhý pohyblivý (Obr. 3.2). Ten byl připojen k mechano-elektrickému převodníku (model F30; Hugo Sachs Electronik – Harvard Apparatus, GmbH, March-Hugstetten, Německo), který umožnil převod měřené síly kontrakce na elektrický, počítačem registrovaný signál. Po umístění preparátu do lázně následovala třicetiminutová fáze stabilizace, kdy byl preparát stimulován frekvencí 1 Hz. Stimulace byla zajišťována komerčním stimulatorem (Pulsmaster A300; World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL, USA), jehož obdélníkové pulsy (o délce 20 ms a amplitudě o 50 % vyšší než nalezený stimulační práh) byly přiváděny prostřednictvím izolační jednotky.

Při vlastním měření byl preparát stimulován po řadě několika frekvencemi. V případě preparátů z prasečího srdce se jednalo o frekvence 0,5; 1 a 2 Hz, u laboratorního potkana 1; 2; 3 a 5 Hz. Zároveň se silou kontrakce bylo pomocí vysokoodporových elektrod zaznamenáváno membránové napětí buněk komorového myokardu. Elektrody byly vyrobeny ze skleněných kapilár pomocí tahače elektrod (Obr. 3.3; Microelectrode Puller P-1000, Sutter Instrument, Novato, CA, USA) a následně naplněny roztokem 3M KCl.

Jak průběh síly kontrakce, tak membránového napětí byly nahrávány v prostředí softwaru SignalExpress 2013 (National Instruments, Austin, TX, USA) a uloženy pro následnou off-line analýzu.



Obr. 3.2. Uspořádání měření na multiceulárním preparátu.

A. Trabekula z pravé srdeční komory prasete domácího. B, C. Stimulační elektrody. D. Mechano-elektrický převodník (model F30; Hugo Sachs Elektronik – Harvard Apparatus, GmbH, March Hugstetten, Německo).



Obr. 3.3. Tahač elektrod.

Vlevo tahač elektrod Microelectrode Puller P 1000, Sutter Instrument, Novato, CA, USA. Vpravo vysokoodporová elektroda v čelistech tahače.

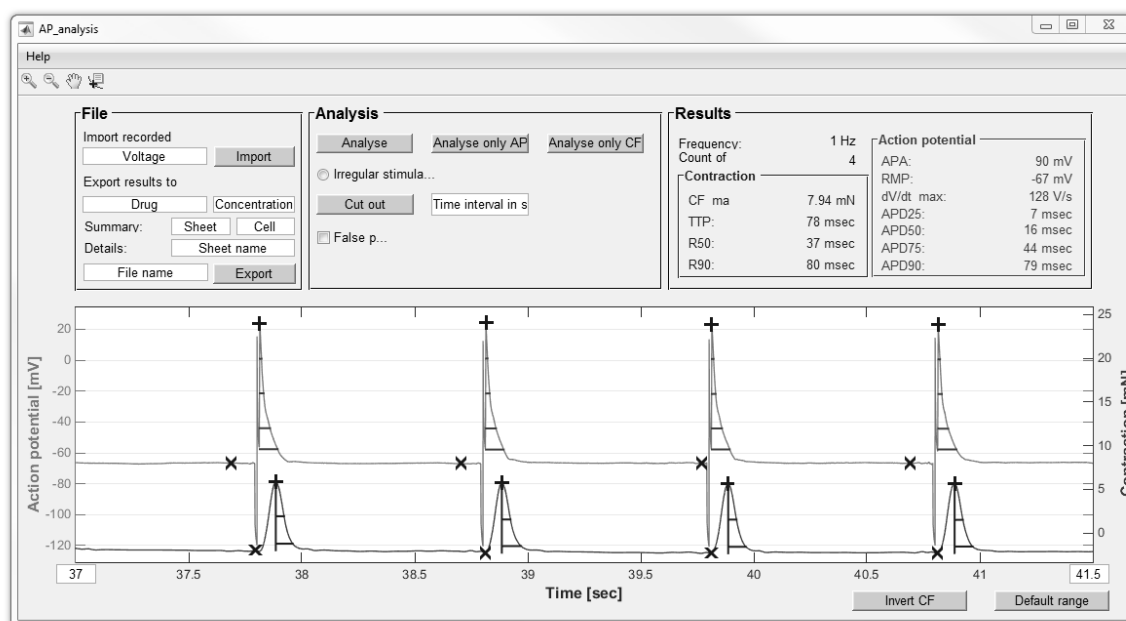
3.5.2 Roztoky a chemikálie

Při měření akčního napětí a síly kontrakce byl preparát umístěn v lázni promývané Tyrodovým roztokem o následujícím složení (v mmol/l): NaCl 137; KCl 4,5; MgCl₂ 1; CaCl₂ 2; glukóza 10; HEPES 5. Pomocí NaOH bylo následně upraveno pH na hodnotu 7,4, respektive 7,1 v případě experimentů zabývajících se vlivem acidózy na kardiovaskulární systém.

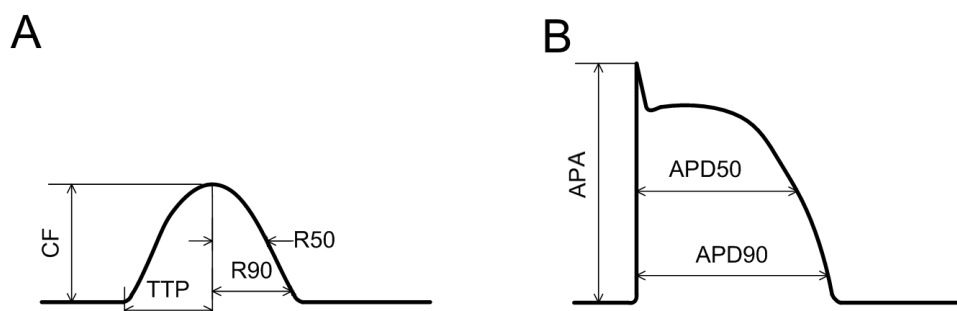
Při studiu vlivu propofolu na průběh akčního napětí a síly kontrakce *in vitro* byl do Tyrodova roztoku přidáván propofol předem rozpuštěný v 96% etanolu. Výsledná koncentrace propofolu v Tyrodově roztoku činila 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; resp. 0,5 mmol/l.

3.5.3 Off-line analýza signálu

Záznamy membránového napětí a síly kontrakce byly exportovány ve formátu ASCII a analyzovány v softwaru, který byl v rámci této práce pro daný účel speciálně vyvinut v prostředí programu MATLAB 2014b (MathWorks Inc., Natick, MA, USA, 2014). Jeho součástí bylo i uživatelské rozhraní (Obr. 3.4), jež umožňovalo zobrazit oba signály a ručně vybrat úseky zahrnující alespoň 10 srdečních cyklů, na nichž pak byly měřeny požadované parametry. V této práci byly konkrétně použity parametry popsané na Obr. 3.5. V případě síly kontrakce bylo stanovováno její maximum (CF), doba od začátku do vrcholu kontrakce (TTP), doba od vrcholu kontrakce do 50% relaxace (R50) a doba od vrcholu kontrakce do 90% relaxace (R90). Pro akční napětí byla určována jeho amplituda (APA) a na jejím základu doba od začátku depolarizace do 50% repolarizace (APD50) a doba od začátku depolarizace do 90% repolarizace (APD90). Hodnoty byly změřeny vždy pro každý ze zobrazených srdečních cyklů zvlášť, jejich aritmetický průměr byl automaticky exportován do tabulkového procesoru MS Excel 2010 (Microsoft, Praha, ČR). Kromě zmíněných parametrů byla k datům vždy přidána informace o počtu analyzovaných srdečních cyklů, stimulační frekvenci použité na daném úseku nahrávky a roztoku, kterým byla promývána měřicí lázeň.



Obr. 3.4. Ukázka prostředí softwaru pro analýzu průběhu akčního napětí a síly kontrakce.



Obr. 3.5. Parametry stanovované při off-line analýze.

A. Parametry síly kontrakce, maximální síla kontrakce (CF), doba od začátku do vrcholu kontrakce (TTP), doba od vrcholu kontrakce do 50% relaxace (R50), doba od vrcholu kontrakce do 90% relaxace (R90). B. Parametry membránového napětí, amplituda akčního napětí (APA), doba od začátku depolarizace do 50% repolarizace (APD50), doba od začátku depolarizace do 90% repolarizace (APD90).

3.6 Statistické zhodnocení výsledků

Všechny výsledky jsou v této práci prezentovány jako průměr \pm směrodatná odchylka. Data získaná pro jednotlivé skupiny experimentálních objektů byla

nejprve testována z hlediska normality rozdělení (Shapiro-Wilkův test) a porovnávána analýzou variance jednoduchého třídění (tj. jednocestná ANOVA) s následnou post-hoc analýzou (Bonferroniho nebo Dunnettův test). Rozdíly na hladině významnosti $p < 0,05$ byly považovány za statisticky významné a označeny hvězdičkou (*). Statistická analýza byla prováděna v komerčních softwarech STATISTICA Cz 8 (StatSoft ČR, s r. o., Praha, CZ, 2008) a Origin 8.5 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA, 2011), v němž byly vytvořeny i všechny grafy.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Vliv sepse na kardiovaskulární systém

4.1.1 Úvod

Samotné slovo sepse pochází již ze starověké řečtiny a označuje hnilobný proces, přesto první moderní definice sepse pochází až z počátku 20. století. Hugo Schottmüller ji popsal jako stav: „..., kdy se uvnitř těla vytvoří ložisko, z něhož se kontinuálně nebo periodicky dostávají patogenní bakterie do krevního oběhu, a to v takové míře, že jsou touto invazí vyvolány subjektivní a objektivní symptomy onemocnění,“ (Schottmüller, 1914). Poslední revize této definice byla provedena v roce 2016 pracovní skupinou ustavenou Evropskou společností intenzivní medicíny (European Society of Intensive Care Medicine) a Společností intenzivní medicíny (Society of Critical Care Medicine). Sepsu vymezuje jako život ohrožující orgánovou dysfunkci způsobenou porušenou regulací hostitelské reakce na infekci (Singer et al., 2016). Septický šok je pak podmnožinou sepse, v které jsou zásadní oběhové a buněčné/metabolické změny dostatečně závažné na to, aby podstatně zvýšily úmrtnost (Singer et al., 2016).

Sepsa představuje chorobu s dalekosáhlými socioekonomickými důsledky a rostoucí incidencí (Martin et al., 2003). Střízlivé odhady, které neberou v úvahu nižší úroveň zdravotní péče v rozvojových zemích, hovoří až o 20 milionech případů diagnostikované sepse v celosvětové populaci ročně (Adhikari et al., 2010). I přes velkou pozornost a vědecké úsilí, které byly sepsi věnovány nejen v posledních letech, je úmrtnost pacientů v důsledku tohoto onemocnění stále vysoká, a to především v případě septického šoku. Například studie EPOSS (Data-based Evaluation and Prediction of Outcome in Severe Sepsis) prováděná na jednotkách intenzivní péče v několika fakultních nemocnicích v ČR v letech 2011-2013 vykázala 40,7% mortalitu nemocných s těžkou sepsí (Uvizl et al., 2015).

Pro úspěšný výsledek terapie septických pacientů, zahrnující hemodynamickou optimalizaci a léčbu antibiotiky, je zásadní včasná diagnóza (Kumar et al., 2006; Rivers et al., 2001). Zatím ovšem nebyl nalezen spolehlivý nástroj, který by ji umožňoval. Velká pozornost je například věnována biomarkerům (Faix, 2013; Tschaikowsky et al., 2002), jejichž použití v diagnostice však komplikuje vysoká interindividuální variabilita a omezená schopnost odlišit sepsi od jiných zánětlivých onemocnění (Osuchowski et al., 2007; Pierrakos a Vincent, 2010). Další potenciální indikátor sepse, na nějž je zaměřena i tato práce, představuje analýza variability srdeční frekvence (Seely a Christou, 2000). HRV totiž umožňuje sledovat autonomní nervovou regulaci srdeční činnosti a její případné ovlivnění různými patologickými podmínkami (Gang a Malik, 2002). Pokles HRV během sepse byl již popsán jak u dospělých (Barnaby et al., 2002; Godin et al., 1996; Korach et al., 2001), tak u novorozenců (Bohanon et al., 2015; Griffin et al., 2005).

V současnosti je pro identifikaci septických pacientů doporučováno tzv. SOFA skóre (z anglického Sepsis-related Organ Failure Assessment Score; Vincent et al., 1996), které hodnotí úroveň sepsí způsobeného orgánového selhání (viz Tab. 4.1). Jeho základní hodnota je nula, ovšem pouze v případě, že pacient netrpěl dysfunkcí některého z hodnocených orgánových systémů. O sepsi hovoříme, pokud hodnota SOFA skóre stoupne na dva nebo více bodů (Singer et al., 2016). Pacient se septickým šokem by pak měl splňovat ještě dvě další kritéria, a to nutnost podávání vazopresorů k udržení středního arteriálního tlaku nad hodnotou 65 mmHg a zároveň sérová hladina laktátu vyšší než 2 mmol/l (Singer et al., 2016). Protože však SOFA skóre vyžaduje poměrně velké množství laboratorních vyšetření, bylo vyvinuto ještě tzv. qSOFA skóre (rychlé SOFA skóre, z anglického quick SOFA). QSOFA skóre sestává pouze ze tří bodů:

- Dechová frekvence ≥ 22 /min.
- Zhoršení neurologického stavu.
- Systolický krevní tlak ≤ 100 mmHg.

Pokud má pacient alespoň dva body je vysoká pravděpodobnost, že by mohl trpět sepsí a měly by být provedeny další testy nutné k provedení hodnocení podle SOFA skóre (Singer et al., 2016).

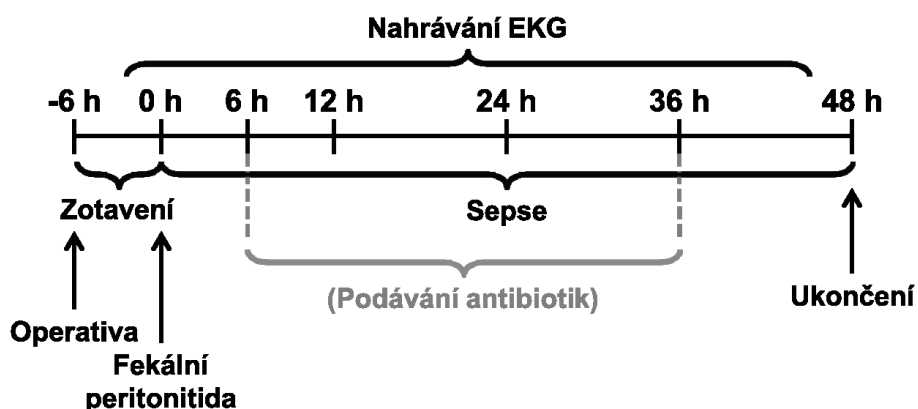
Orgánová soustava	Skóre				
	0	1	2	3	4
Respirace					
PaO ₂ /FiO ₂ mmHg	≥400	<400	<300	<200	<100
Koagulace					
Trombocyty (10 ³ /μl)	≥150	<150	<100	<50	<20
Játra					
Bilirubin (μmol/l)	<20	20-32	33-101	102-204	>204
Kardiovaskulární systém					
	MAP ≥70 mmHg	MAP <70 mmHg	Dopamin <5 mg/kg/min n. dobutain (jakákoliv dávka) podáván déle než 1 hodinu	Dopamin 5,1-15 mg/kg/min n. adrenalin ≤0,1 μg/kg/min n. noradrenalin ≤0,1 μg/kg/min	Dopamin >15 mg/kg/min n. adrenalin >0,1 μg/kg/min n. noradrenalin >0,1 μg/kg/min
Centrální nervový systém					
Glasgowská stupnice bezvědomí	15	13-14	10-12	6-9	<6
Ledviny					
Kreatinin (μmol/l)	<110	110-170	171-299	300-440	>440
Výdej moči (ml/den)				<500	<200

Tab. 4.1. SOFA skóre.

Hodnocení úrovně sepsí způsobeného orgánového selhání (z anglického Sepsis-related Organ Failure Assessment Score). Upravené dle Vincent et al., 1996.

Cílem pokusů představených v následující podkapitole bylo nejen popsat změny HRV během sepse, ale i jejich kinetiku. Tyto výsledky pak byly interpretovány v souvislosti s dalšími sledovanými parametry (hemodynamika, hladina zánětlivých cytokinů) a rychlostí jejich změny při rozvoji sepse. Dalším záměrem bylo určit, zda se pokles HRV týká i septických stavů, kdy nedochází k multiorgánovému selhání. Proto byly pokusy navrženy tak, aby bylo dosaženo různého stupně závažnosti sepse.

Do experimentů prováděných podle metodiky popsané v podkapitole 3.1 bylo zařazeno celkem 27 prasat domácích (40 ± 6 kg). První skupině zvířat, jež sestávala z 11 prasat (z toho 6 samců a 5 samic), byl podán 1 g/kg exkrementů do dutiny břišní. Druhé skupině (celkem 11 prasat, z toho 9 samců a 2 samice) bylo aplikováno jen poloviční množství, tedy 0,5 g/kg, navíc zde byla 6 hodin po vyvolání sepse zahájena antibiotická léčba (piperacilin/tazobactam 2,5 g každých 8 hodin; Obr. 4.1). Cílem bylo dosáhnout u první skupiny těžké sepse s multiorgánovým selháním, potažmo septického šoku a u druhé skupiny sepse s mírnějším průběhem bez multiorgánového selhání. Zbýlých pět experimentů bylo prováděno bez vyvolání sepse, aby bylo možné vyloučit nespecifické účinky zvolených metod (chirurgický zákrok, anestezie, odběr vzorků) na sledované parametry.

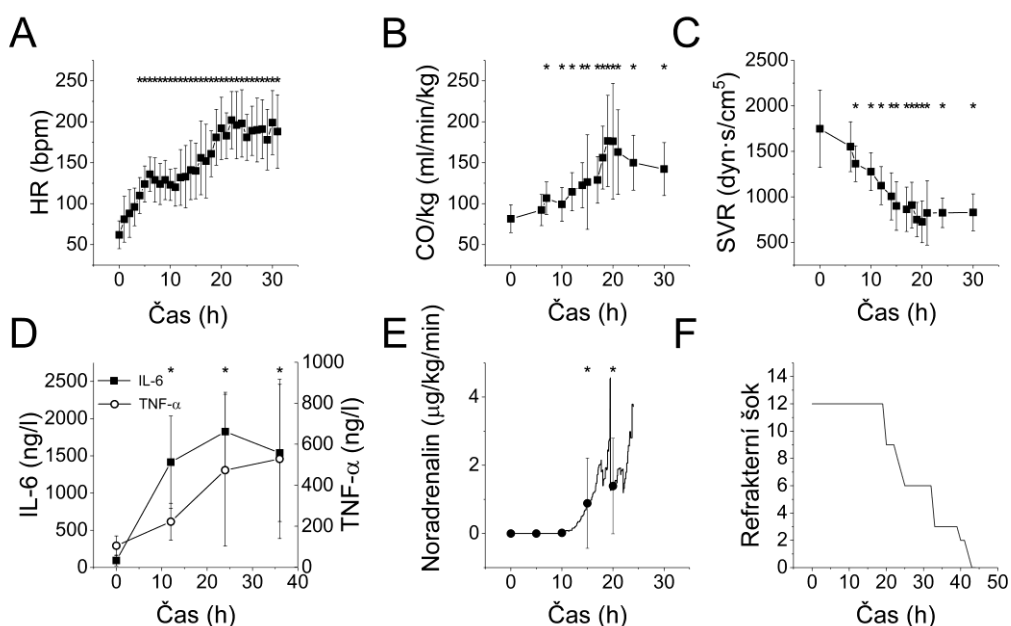


Obr. 4.1. Schematické znázornění průběhu experimentů.

Šedou barvou je znázorněna léčba antibiotiky, která probíhala pouze ve skupině zvířat se sepsí bez orgánového selhání.

4.1.2 Výsledky – těžká sepse/septický šok

U všech zvířat ve skupině s vysokou dávkou exkrementů a bez antibiotické léčby byla pozorována typická hyperdynamická cirkulace, jež se projevila zvýšenou srdeční frekvencí a srdečním výdejem a zároveň sníženou systémovou vaskulární resistencí (Obr. 4.2 A, B, C). Hladina prozánětlivých cytokinů IL-6 a TNF- α byla po vyvolání sepse významně zvýšená (Obr. 4.2 D). Všem prasatům s těžkou sepsí musel být během pokusu podáván noradrenalin, aby se jejich střední arteriální tlak udržel nad hodnotou 65 mmHg (Obr. 4.2 E). Celá skupina vykazovala známky septického šoku a všechna zvířata uhynula ještě před plánovaným ukončením experimentu (Obr. 4.2 F).

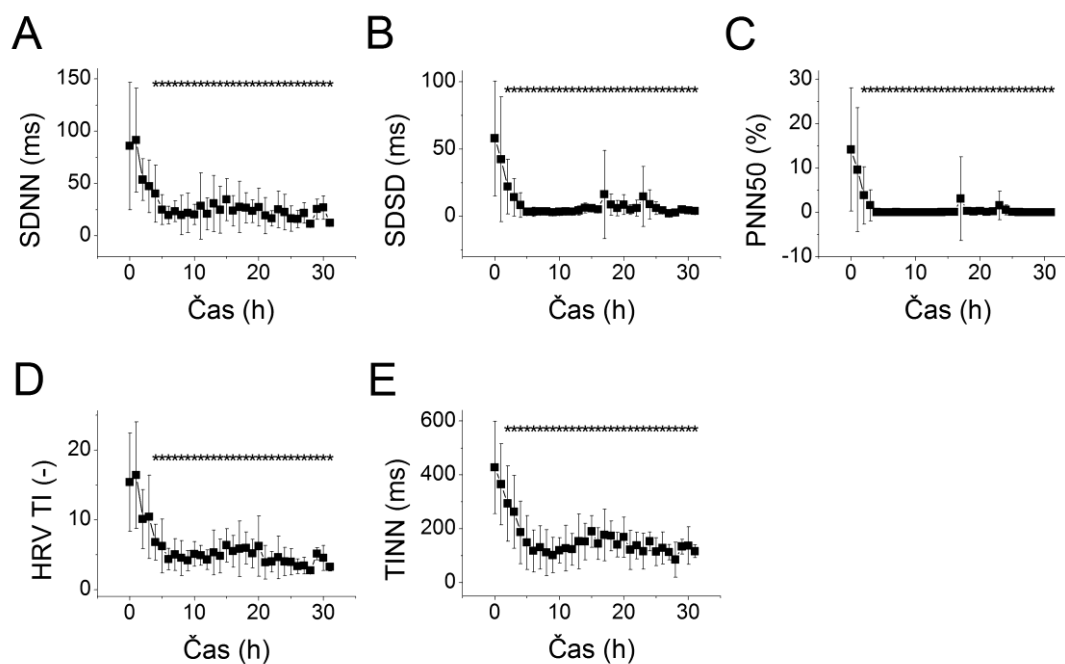


Obr. 4.2. Hodnoty vybraných parametrů sledovaných během rozvoje sepse/septického šoku.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Srdeční frekvence (HR) vyjádřená v počtu tepů za minutu. B. Srdeční výdej (CO) přepočítaný na jednotku hmotnosti. C. Systémová cévní rezistence (SVR). D. Hladina interleukinu-6 (IL-6) a faktoru nádorové nekrózy α (TNF- α) v plazmě. E. Terapeutická dávka noradrenalinu přepočítaná na jednotku hmotnosti. F. Rozvoj refrakterního šoku, resp. úhyn zvířete.

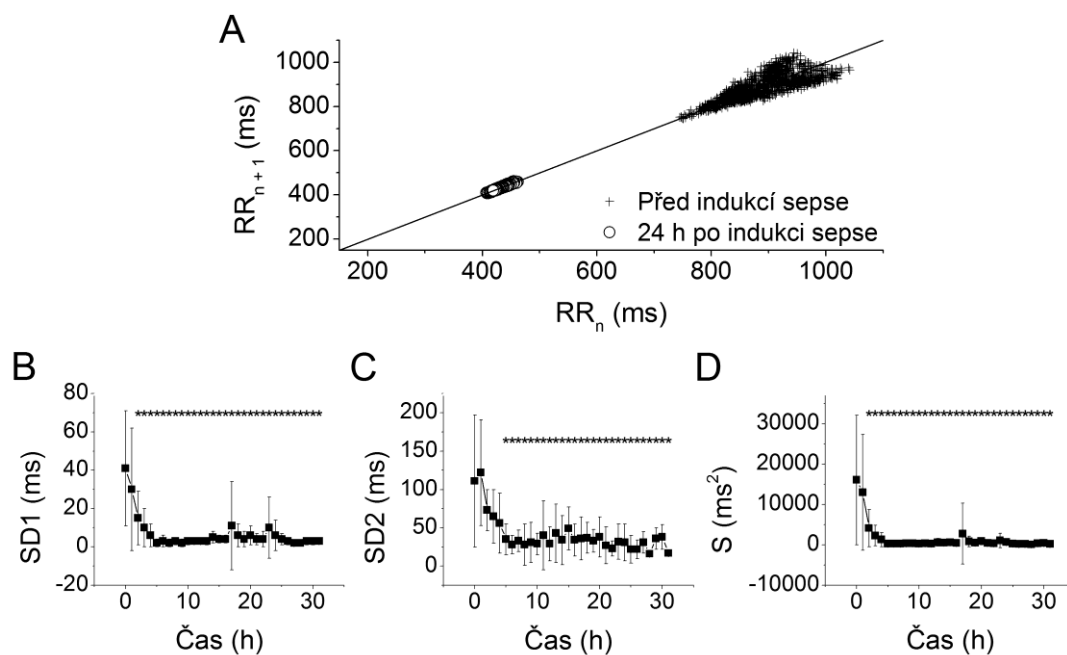
Analýza variability srdeční frekvence mapovala rozvoj těžké sepse (septického šoku) pomocí několika skupin parametrů. Byl pozorován významný pokles v hodnotách všech statistických parametrů, SDNN (Obr. 4.3 A), SDSD (Obr. 4.3 B) i pNN50 (Obr. 4.3 C). Snížení vykazovaly rovněž geometrické parametry stanovené na základě frekvenčního histogramu, HRV TI (Obr. 4.3 D) a TINN (Obr. 4.3 E). Další skupina grafů (Obr. 4.4) zobrazuje vliv sepse na parametry založené na Poincarého grafu, jehož názorná ukázka je na Obr. 4.4 A. Jedná se o Poincarého graf RR intervalů získaných pouze ze dvou hodinových úseků EKG jednoho konkrétního zvířete postiženého sepsí. Můžeme si všimnout, že před indukcí sepse tvořily jednotlivé body poměrně rozsáhlý shluk, zatímco jeden den po vyvolání sepse byly všechny soustředěné v těsném okolí osy 1. kvadrantu. Tato změna prostorového uspořádání bodů v Poincarého grafu byla popsána délkami poloos a obsahem elipsy, již byl shluk bodů aproximován, SD1 (Obr. 4.4 B), SD2 (Obr. 4.4 C) a S (Obr. 4.4 C).

HRV analýza ve frekvenční oblasti odhalila výrazné snížení výkonové spektrální hustoty v pásmu vysoké frekvence (Obr. 4.5 A), které bylo navíc velmi rychlé, 50% pokles nastal za $1,77 \pm 1,35$ h. Naopak spektrální hustota v pásmu nízké frekvence (Obr. 4.5 B) vzrostla jen mírně, statisticky významně pouze 14 hodin po vyvolání sepse. Když byly hodnoty v pásmu vysoké i nízké frekvence normalizovány, byl pozorován zřetelný pokles v HF a nárůst v LF s podobnou dynamikou (Obr. 4.5 C). Poměr obou frekvencí ukázal přechodný nárůst mezi 9. a 13. hodinou po indukci fekální peritonitidy (Obr. 4.5 D).



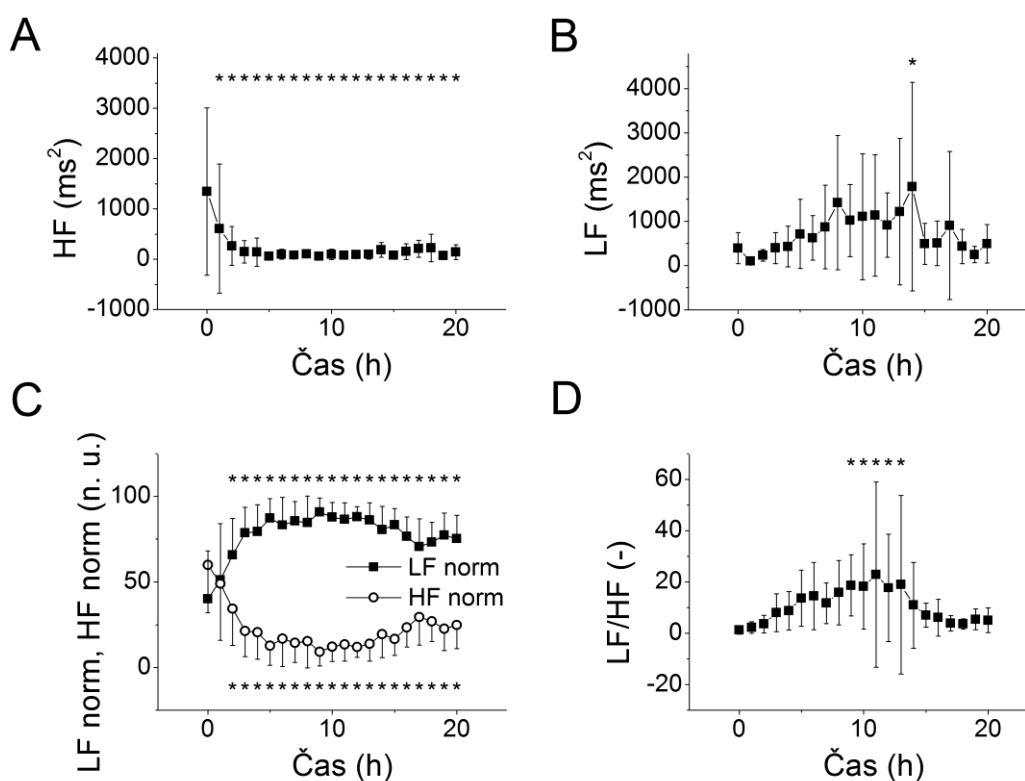
Obr. 4.3. Statistické a geometrické parametry HRV.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Směrodatná odchylka RR intervalů (SDNN). B. Směrodatná odchylka rozdílů mezi sousedními RR intervaly (SDSD). C. Podíl sousedících RR intervalů, které se od sebe liší o více než 50 ms, na celkovém počtu RR intervalů (pNN50). D. Celkový počet RR intervalů vydělený výškou frekvenčního histogramu RR intervalů (HRV TI). E. Základna trojúhelníka získaného interpolací frekvenčního histogramu RR intervalů s použitím metody nejmenších čtverců (TINN).



Obr. 4.4. Poincarého graf.

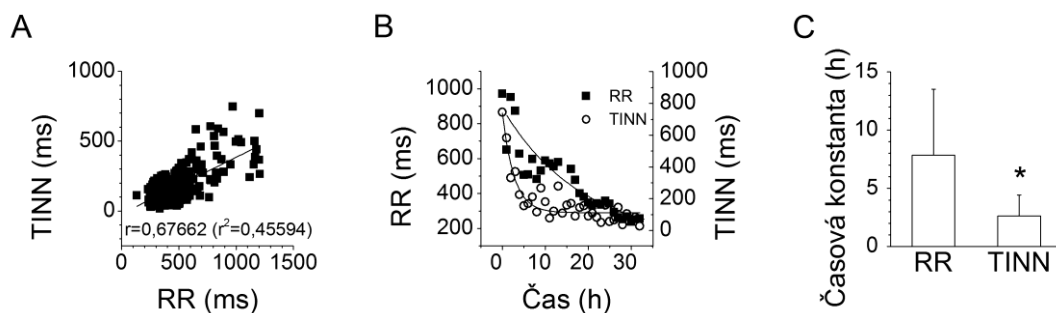
* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Poincarého graf RR intervalů před vyvoláním sepse (křížky) a jeden den po indukcí sepse (kroužky). B. Směrodatná odchylka bodů Poincarého grafu kolmo vůči ose 1. kvadrantu (SD1). C. Směrodatná odchylka bodů Poincarého grafu podél osy 1. kvadrantu (SD2). D. Plocha elipsy aproximující Poincarého graf (S).



Obr. 4.5. HRV analýza ve frekvenční oblasti.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Výkonová spektrální hustota v pásmu vysoké frekvence v absolutních jednotkách (HF). B. Výkonová spektrální hustota v pásmu nízké frekvence v absolutních jednotkách (LF). C. Výkonová spektrální hustota v pásmu nízké (plné čtverce) a vysoké frekvence (prázdné kroužky) v normalizovaných jednotkách (LF norm, HF norm). D. Poměr výkonové spektrální hustoty v pásmu nízké a vysoké frekvence (LF/HF).

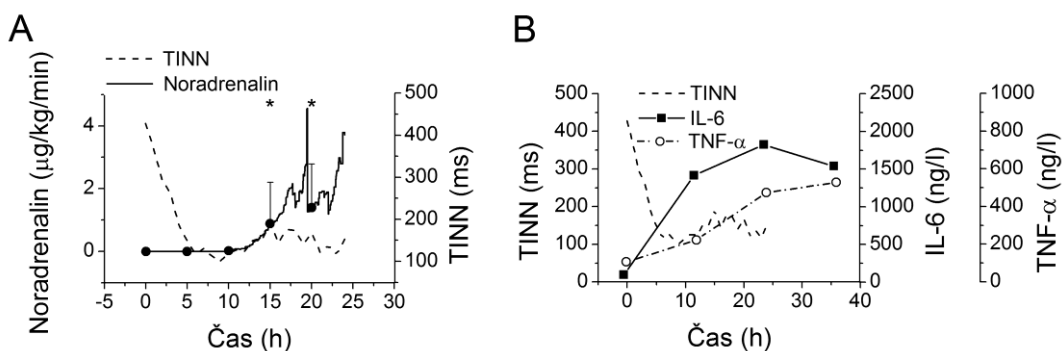
Jelikož je HRV úzce spjata se srdeční frekvencí a zatím není zřejmé, která z nich hraje hlavní roli v prognostické schopnosti HRV (Sacha et al., 2013), byl jejich vztah v rámci tohoto experimentu zkoumán podrobněji. Byla skutečně nalezena výrazná korelace mezi délkou RR intervalu a vybraným parametrem HRV, TINN ($r = 0,677$, $R_2 = 0,456$, $p = 0,026$; Obr. 4.6 A). Nicméně analýza kinetiky obou veličin prokázala, že snižování hodnoty TINN bylo signifikantně rychlejší. Časová konstanta označující čas 50% poklesu křivky aproximované průběhu dané veličiny byla v případě všech HRV parametrů (např. $2,63 \pm 1,81$ h pro TINN; $2,17 \pm 1,23$ h pro SDNN nebo $2,07 \pm 1,36$ h pro SD1) významně menší než pro délku RR intervalu ($7,86 \pm 5,64$ h; Obr. 4.6 B, C).



Obr. 4.6. Vztah mezi HRV a srdeční frekvencí.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami RR intervalů. A. Korelace TINN (geometrického parametru HRV) a RR intervalu. B. Časový vývoj délky RR intervalu (plné čtverce) a TINN (prázdné kroužky). Křivky reprezentují exponenciální aproximaci daných parametrů. C. Časová konstanta vyjadřující kinetiku délky RR intervalu a TINN.

Podávání noradrenalinu může výrazně ovlivnit kardiovaskulární systém a potažmo i snižovat HRV (Tulppo et al., 2001). Ovšem Obr. 4.7 A ukazuje, že pokles variability srdeční frekvence proběhl ještě před začátkem aplikace noradrenalinu. Obdobně se zdá, že nárůst hladiny IL-6 a TNF- α v krvi nastal až po redukcí HRV (Obr. 4.7 B), což by ovšem bylo nutné potvrdit častějšími stanovováními koncentrace prozánětlivých cytokinů v krvi během experimentu.

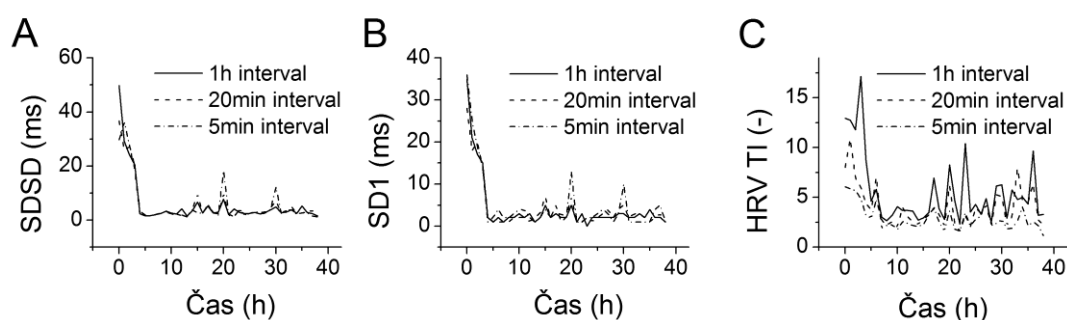


Obr. 4.7. Podávání noradrenalinu a plazmatická hladina cytokinů v průběhu sepsy.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepsy. A. Terapeutická dávka noradrenalinu (plná křivka) a TINN (přerušovaná křivka) v průběhu sepsy. B. TINN (přerušovaná křivka), plazmatické hladiny interleukinu 6 (IL-6; plná křivka) a faktoru nádorové nekrózy α (TNF- α ; čerchovaná křivka).

Všechny parametry HRV byly vypočítány na základě RR intervalů z úseku EKG, který trval 1 hodinu. Při hledání kompromisu mezi výpočtovou náročností analýzy

a fyziologickou relevancí, byly testovány i kratší úseky (5 a 20 min). Hodnoty statistických parametrů a parametrů získaných na základě Poincarého grafu byly pro všechny testované délky EKG záznamu obdobné (Obr. 4.8 A, B), což ovšem neplatilo v případě geometrických parametrů (Obr. 4.8 C), pro něž ostatně ani literatura nedoporučuje používat kratší než třicetiminutový záznam (Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996).

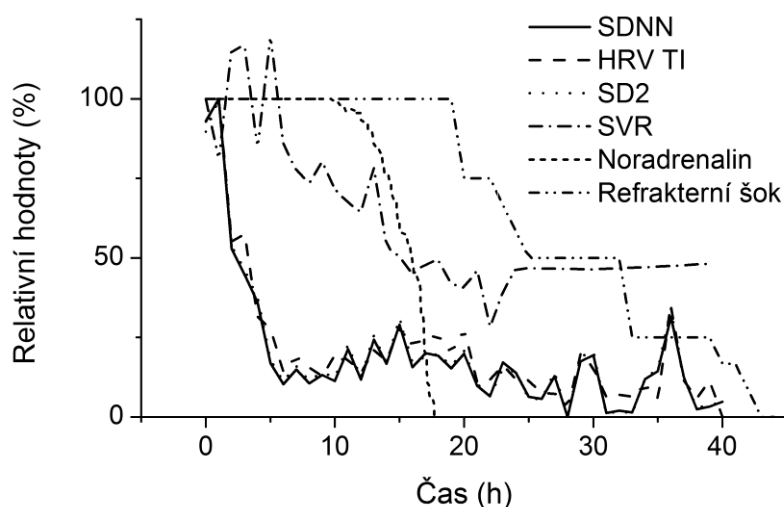


Obr. 4.8. Délka analyzovaného úseku EKG záznamu.

A. SDSD stanovená pro 1h (plná křivka), 20min (přerušovaná křivka), resp. 5min úseky EKG záznamu (čerchovaná křivka). B. SD1 stanovená pro 1h (plná křivka), 20min (přerušovaná křivka), resp. 5min úseky EKG záznamu (čerchovaná křivka). C. HRV TI stanovený pro 1h (plná křivka), 20min (přerušovaná křivka), resp. 5min úseky EKG záznamu (čerchovaná křivka).

Aby bylo možné zhodnotit prediktivní potenciál analýzy HRV, byly vybrané veličiny normalizovány a zobrazeny v jednom grafu (Obr. 4.9). Je z něj jasně patrné, že k poklesu variability srdeční frekvence došlo o několik hodin dříve než k hemodynamické nestabilitě a než bylo nutné zahájit podávání noradrenalinu z důvodu kritického poklesu krevního tlaku.

U zvířat z kontrolní skupiny, kde byl do peritonea aplikován pouze fyziologický roztok bez exkrementů, nedošlo během experimentu podle očekávání ke změně žádného ze sledovaných parametrů. Jak hemodynamické parametry, tak parametry variability srdeční frekvence zůstaly nezměněny.



Obr. 4.9. Časové vztahy mezi HRV, hemodynamikou a rozvojem refrakterního šoku.

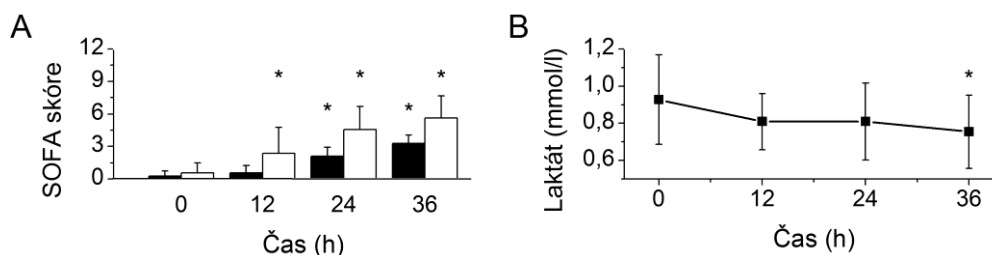
Všechny zobrazené veličiny jsou vyjádřeny relativně, přičemž 100 % představuje hodnotu před indukcí sepse. Parametry HRV jsou zastoupeny SDNN (plná křivka), HRV TI (dlouze čárkovaná křivka) a SD2 (tečkovaná křivka). Hemodynamická nestabilita je doložena SVR (čerchovaná křivka), terapeutickou dávkou noradrenalinu (krátce čárkovaná křivka), respektive hodnotou získanou jako rozdíl příslušné terapeutické dávky a počáteční hodnoty (100%), a refrakterním šokem (čerchovaná křivka se dvěma tečkami).

4.1.3 Výsledky – sepse bez těžkého multiorgánového selhání

Funkce jednotlivých orgánových systémů byla hodnocena pomocí SOFA skóre. Jeho hodnota s rozvojem sepse postupně stoupala, k čemuž přispívalo hlavně hodnocení kardiovaskulárního systému (Obr. 4.10 A), založené na případné nutnosti podání noradrenalinu při poklesu hodnoty MAP pod 65 mmHg. Hladina laktátu, jež je doporučována jako jeden z hlavních indikátorů septického šoku (Singer et al., 2016), se během experimentů nezvýšila, při posledním měření byla dokonce nižší než před vyvoláním sepse (Obr. 4.10 B).

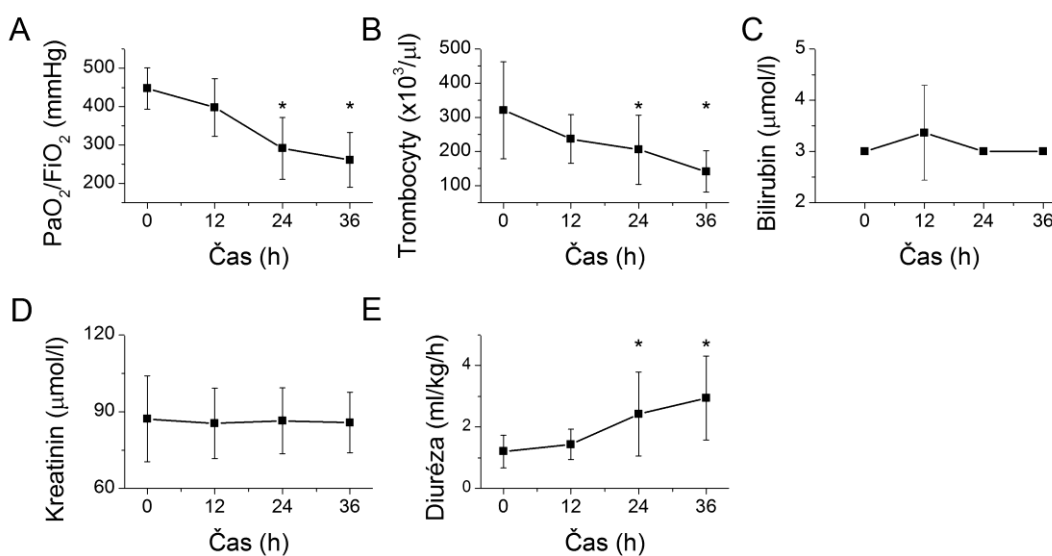
Respirační a koagulační parametry, představované poměrem $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ (Obr. 4.11 A) a počtem trombocytů (Obr. 4.11 B), se postupně snižovaly, 24 hodin po indukcii sepse už statisticky významně. Hodnoty popisující funkci jater a ledvin, hladina bilirubinu (Obr. 4.11 C) a kreatininu v plazmě (Obr. 4.11 D), zůstaly po celou dobu experimentů nezměněny. Diuréza (Obr. 4.11 E) byla dokonce zvýšená,

což bylo zřejmě způsobeno objemovou substitucí. SOFA skóre zahrnuje rovněž hodnocení centrálního nervového systému pomocí tzv. Glasgowské stupnice bezvědomí, již ovšem nebylo možné použít vzhledem k celkové anestezii zvířat.



Obr. 4.10. Klasifikace septického stavu.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. SOFA skóre hodnotící úroveň orgánového selhání bez (plně sloupce) a se zahrnutím kardiiovaskulárního systému (prázdné sloupce). B. Hladina laktátu v séru.

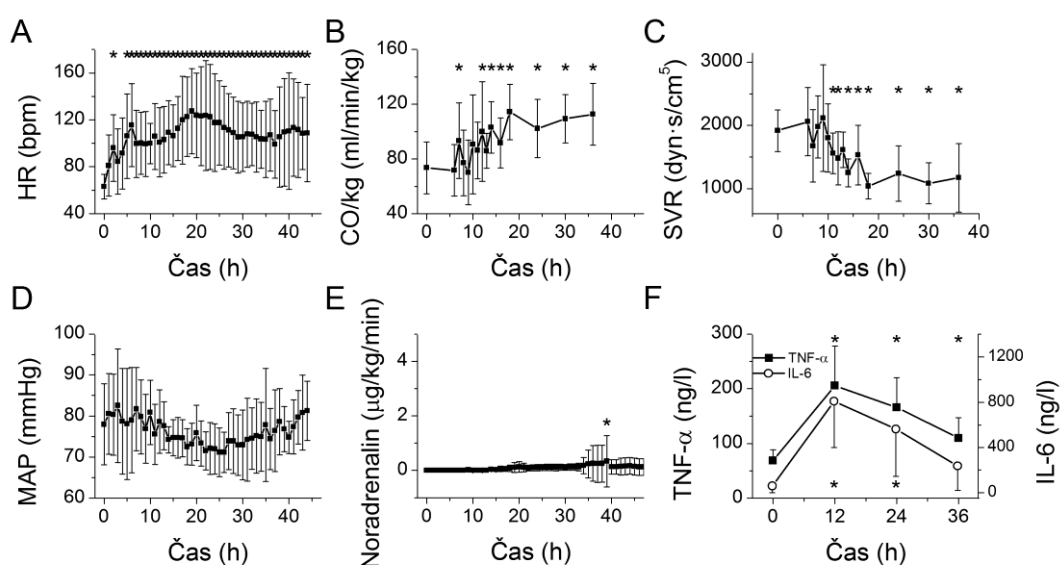


Obr. 4.11. Hodnoty vybraných parametrů sledovaných během rozvoje sepse.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Poměr parciálního tlaku kyslíku v arteriální krvi (PaO₂) vůči frakci vdechovaného kyslíku (FiO₂). B. Hladina trombocytů v krvi. C. Hladina bilirubinu v plazmě. D. Hladina kreatininu v plazmě. E. Vylučování moči přepočtené na jednotku hmotnosti (ml/kg/h).

U všech prasat došlo k rozvoji hyperdynamické cirkulace, která se projevovala zvýšením srdeční frekvence (Obr. 4.12 A) a srdečního výdeje (Obr. 4.12 B)

a poklesem systémové vaskulární rezistence (Obr. 4.12 C). Udržení hodnoty středního arteriálního tlaku nad 65 mmHg (Obr. 4.12 D) vyžadovalo ve většině případů (9 z 11) podávání noradrenalinu (Obr. 4.12 E). Jeho dávka byla ovšem velmi nízká, navíc u 6 z 9 zvířat bylo podávání noradrenalinu pouze přechodné a ukončené před koncem experimentu. Hladina zánětlivých cytokinů (IL-6 a TNF- α) v plazmě stoupla 12 hodin po indukci fekální peritonitidy, ale pak vykazovala setrvalý pokles (Obr. 4.12 F). Hodnota IL-6 na konci experimentu nebyla dokonce signifikantně odlišná od hodnoty před vyvoláním sepse.

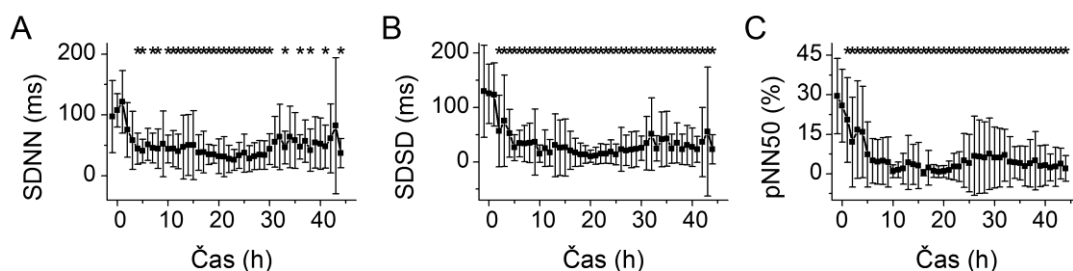


Obr. 4.12. Hemodynamické parametry a zánětlivé markery během rozvoje sepse.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Srdeční frekvence (HR) vyjádřená v počtu tepů za minutu. B. Srdeční výdej (CO) přepočítaný na jednotku hmotnosti. C. Systémová cévní rezistence (SVR). D. Střední arteriální tlak (MAP). E. Terapeutická dávka noradrenalinu přepočítaná na jednotku hmotnosti. F. Hladina interleukinu-6 (IL-6) a faktoru nádorové nekrózy α (TNF- α) v plazmě.

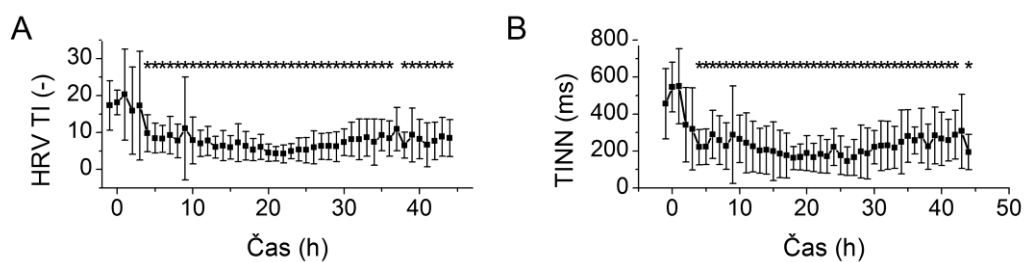
Statistické parametry HRV (SDNN, SDSD, pNN50) se významně snížily během několika hodin po indukci sepse (Obr. 4.13) a na nízkých hodnotách setrvaly až do konce pokusu. Podobné chování vykazovaly i geometrické parametry (HRV TI a TINN) vycházející z frekvenčního histogramu RR intervalů (Obr. 4.14). V rámci charakteristik Poincarého grafu (ukázka viz Obr. 4.15 A) byl analogický vzorec

pozorován u parametrů SD1 (Obr. 4.15 B) a S (Obr. 4.15 D), avšak nikoliv u SD2 (Obr. 4.15 C).



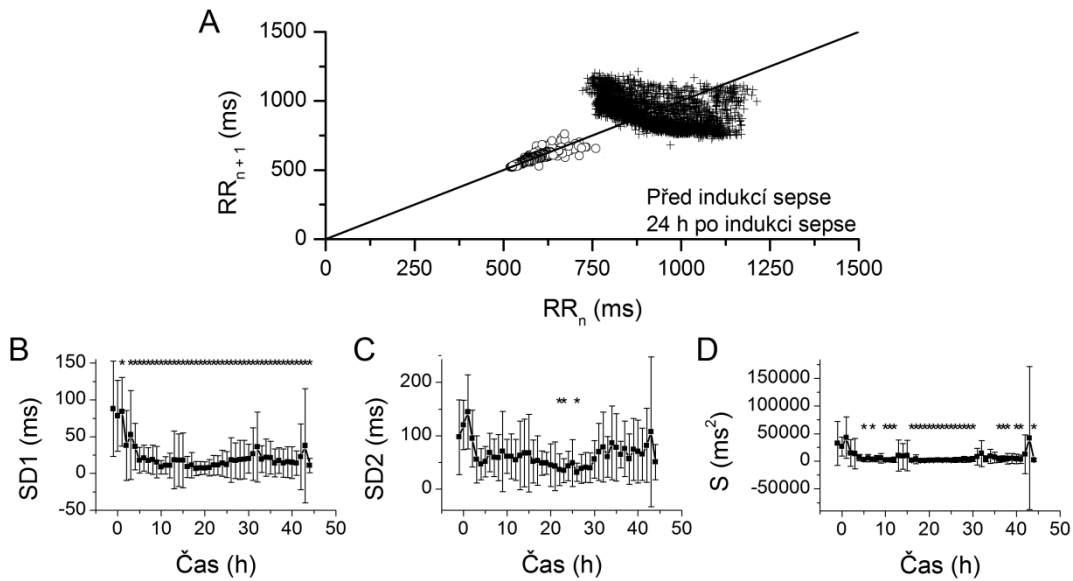
Obr. 4.13. Statistické parametry HRV.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Směrodatná odchylka RR intervalů (SDNN). B. Směrodatná odchylka rozdílů mezi sousedními RR intervaly (SDDS). C. Podíl sousedících RR intervalů, které se od sebe liší o více než 50 ms, na celkovém počtu RR intervalů (pNN50).



Obr. 4.14. Geometrické parametry HRV.

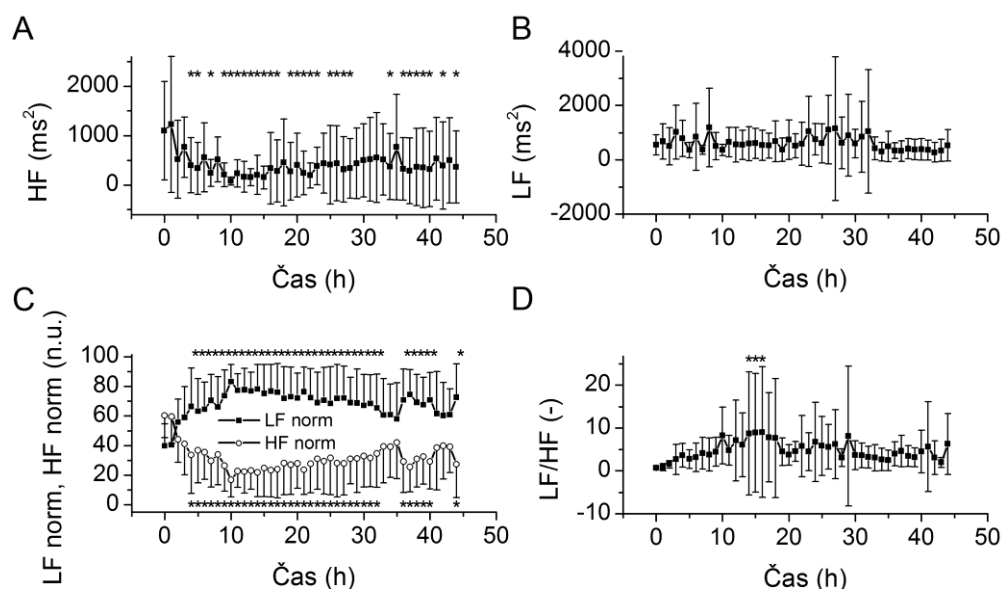
* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Celkový počet RR intervalů vydělený výškou frekvenčního histogramu RR intervalů (HRV TI). B. Základna trojúhelníka získaného interpolací frekvenčního histogramu RR intervalů s použitím metody nejmenších čtverců (TINN).



Obr. 4.15. Poincarého graf.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Poincarého graf RR intervalů před vyvolání sepse (křížky) a jeden den po indukcí sepse (kroužky). B. Směrodatná odchylka bodů Poincarého grafu kolmo vůči ose 1. kvadrantu (SD1). C. Směrodatná odchylka bodů Poincarého grafu podél osy 1. kvadrantu (SD2). D. Plocha elipsy aproximující Poincarého graf (S).

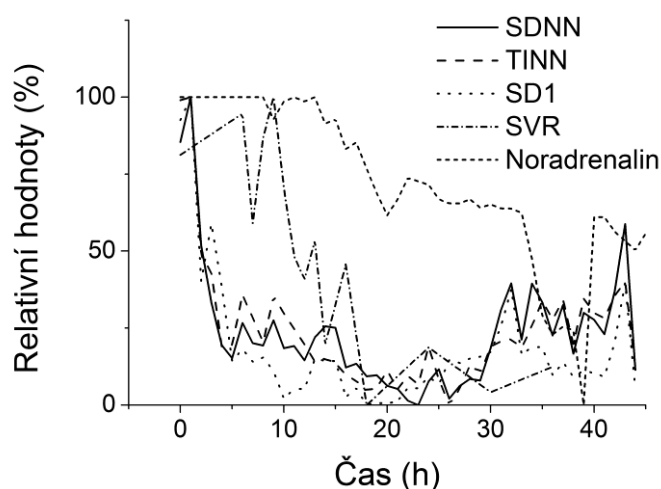
Analýza HRV ve frekvenční oblasti odhalila pokles vysokofrekvenční komponenty (Obr. 4.16 A), zatímco nízkofrekvenční zůstala nezměněna (Obr. 4.16 B). Když byly jejich hodnoty vyjádřeny v normalizovaných jednotkách, byl pokles HF doprovázen růstem LF (Obr. 4.16 C). Poměr LF/HF vykázal významný vzestup pouze mezi 14. a 16. hodinou pokusu (Obr. 4.16 D).



Obr. 4.16. HRV analýza ve frekvenční oblasti.

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním sepse. A. Výkonová spektrální hustota v pásmu vysoké frekvence v absolutních jednotkách (HF). B. Výkonová spektrální hustota v pásmu nízké frekvence v absolutních jednotkách (LF). C. Výkonová spektrální hustota v pásmu nízké (plné čtverce) a vysoké frekvence (prázdné kroužky) v normalizovaných jednotkách (LF norm, HF norm). D. Poměr výkonové spektrální hustoty v pásmu nízké a vysoké frekvence (LF/HF).

Poslední obrázek, stejně jako v případě pokusů vedoucích k septickému šoku (viz podkapitola 4.1.2), ukazuje shrnutí časového průběhu nejdůležitějších parametrů v jednom grafu (Obr. 4.17). Všechny jsou vyjádřeny relativně, přičemž 100 % vždy představuje hodnotu před vyvoláním sepse. Statistické, geometrické a Poincarého parametry (na ukázkou zobrazeny SDNN, TINN, SD1) vykazovaly obdobnou kinetiku, zatímco hemodynamické změny, reprezentované SVR, nastaly až o několik hodin později. Terapeutická aplikace noradrenalinu, vyjádřená jako rozdíl příslušné dávky a počáteční hodnoty (100 %), byla zpožděná ještě o několik dalších hodin. Žádné zvíře v této skupině neuhynulo v důsledku septického šoku, u všech byla provedena eutanázie podle plánu průběhu experimentů (Obr. 4.1).



Obr. 4.17. Časové vztahy mezi HRV a hemodynamikou.

Všechny zobrazené veličiny jsou vyjádřeny relativně, přičemž 100 % představuje hodnotu před indukcí sepse. Parametry HRV jsou zastoupeny SDNN (plná křivka), TINN (dlouze čárkovaná křivka) a SD1 (tečkovaná křivka). Hemodynamická nestabilita je doložena SVR (čérchovaná křivka) a terapeutickou dávkou noradrenalinu (krátce čárkovaná křivka), respektive hodnotou získanou jako rozdíl příslušné terapeutické dávky a počáteční hodnoty (100 %).

4.1.4 Diskuze

V klinicky relevantním prasečím modelu sepse došlo k výraznému propadu variability srdeční frekvence v obou modifikacích experimentálního protokolu. Jeho příčinou byl zřejmě pokles aktivity parasymptiku, který způsobil přesun sympatovagální rovnováhy směrem k sympatické modulaci srdeční činnosti. Propad HRV byl zaznamenán několik hodin před zpozorováním hemodynamických změn, což by v praxi mohlo poskytnout širší prostor pro včasné zahájení terapie a tím i vyšší šanci na přežití pacientů.

O samotném poklesu HRV již hovořily některé předchozí studie (Ahmad et al., 2009; Barnaby et al., 2002; Chen a Kuo, 2007; Godin et al., 1996; Griffin et al., 2005; Korach et al., 2001). Pozornost byla věnována především diagnostice tzv. pozdní novorozenecké sepse, která se objevuje po 3. dni od narození dítěte (Griffin et al., 2007a). Jedná se o onemocnění s nespecifickými a variabilními projevy. Zlatým standardem sice stále zůstává vyšetření krevních kultur, které

však často poskytuje falešně pozitivní i falešně negativní výsledky (Dong a Speer, 2015). U dětí trpících sepsí byl však opakovaně popisován pokles HRV (Griffin a Moorman, 2001). Na základě tohoto pozorování byl proto vyvinut index charakteristiky srdeční frekvence, který už byl opakovaně validován a prokázal schopnost podávat informace nezávislé na klinických známkách neonatální sepse (Bohanon et al., 2015; Griffin et al., 2003, 2004, 2005, 2007b; Moorman et al., 2011). U dospělých byla rovněž prokázána změna HRV (Barnaby et al., 2002; Korach et al., 2001) a některé studie hodnotily i možnost použití analýzy HRV ke stanovení prognózy septických pacientů (Ahmad et al., 2009; Chen a Kuo, 2007; Chen et al., 2008; Ellenby et al., 2001). Ovšem ohledně její případné implementace do klinické praxe v rámci diagnostiky sepse, existuje zatím pouze malé množství studií provedených na omezeném počtu pacientů (Bravi et al., 2012).

Frekvenční analýza HRV odhalila v obou septických skupinách statisticky významný pokles v oblasti vysoké frekvence, zatímco v případě nízké frekvence byla změna statisticky signifikantní pouze u zvířat se septickým šokem, a to jen v rámci jedné hodiny. Když byly hodnoty LF a HF normalizovány, byl vzestup v HF komponentě doprovázen snížením LF, což bylo dáno faktem, že ve vzorci pro výpočet normalizované LF je zahrnuta i HF (Tab. 3.2). Poměr LF/HF se zvýšil během experimentů pouze přechodně, v případě septického šoku mezi 9. a 13. hodinou, u sepse s mírnějším průběhem ve 14. - 16. hodině. Výsledky analýzy HRV ve frekvenční oblasti lze shrnout do konstatování, že sympatovagální rovnováha se vlivem sepse přesunula směrem k sympatické modulaci činnosti srdce. V tomto ohledu však v literatuře nepanuje shoda. Existují studie dokládající pokles poměru LF/HF u septických pacientů (Barnaby et al., 2002; Korach et al., 2001). Naproti tomu jiné práce popisují jeho vzestup u dětí postižených sepsí (Ellenby et al., 2001), pacientů v septickém šoku (Papaioannou et al., 2009) nebo u potkanů s endotoxemií (Huang et al., 2010). Endotoxemičtí králíci (Goldstein et al., 1995) vykazovali nejprve nárůst hodnoty nízko- i vysokofrekvenční komponenty, který byl následován jejich poklesem, jenž nastal zároveň s hypotenzí. Tyto rozporuplné výsledky mohly být dány jednak metodikou (stupeň

závažnosti sepse, objekt experimentu a jeho věk, způsob indukování sepse aj.), ale také časovým rozvrhem pokusů.

Změna sympatovagální rovnováhy pozorovaná při našich pokusech je velice zajímavá v souvislosti s pracemi skupiny prof. Traceyho (Tracey, 2007, 2009). Tato skupina představuje koncept cholinerní protizánětlivé dráhy, který propojuje nervovou a humorální odpověď na infekci. Na základě této teorie byla testována stimulace n. vagus (Borovikova et al., 2000) a bylo prokázáno, že potlačuje produkci mediátorů zánětu (např. TNF- α). Z toho lze vyvozovat, že pokles HF komponenty, který nastal u septických prasat a který odrážel inhibici aktivity n. vagus, mohl vést k nedostatečné aktivaci nebo inhibici cholinerní protizánětlivé dráhy a přispět tak k rozvoji sepse.

Statistické, geometrické i nelineární (Poincarého) parametry HRV vykazovaly během pokusu velmi rychlý pokles, který byl dokončen během přibližně 5 hodin od navození sepse. Obdobná kinetika byla pozorována u vysokofrekvenční komponenty spektrální výkonové hustoty. Ovšem hodnota její nízkofrekvenční složky se v případě sepse bez multiorgánového selhání statisticky významně nezměnila a při těžké sepsi/septickém šoku signifikantně stoupla až po 14 hodinách. Můžeme tedy předpokládat, že inhibice parasymptiku byla převažujícím mechanismem způsobujícím snížení variability srdeční frekvence u prasat postižených sepsí. Ke zvýšení aktivity sympatiku zřejmě došlo až sekundárně vlivem hemodynamických změn a terapeutického podávání noradrenalinu kvůli udržení MAP nad 65 mmHg.

Inhibice parasymptiku však nemusí být jedinou příčinou snížení parametrů HRV během rozvoje sepse. Vedle autonomní nervové regulace srdce zde může hrát roli například i změna pacemakerové aktivity způsobená inhibicí hyperpolarizací aktivovaného proudu I_f (Barbuti a DiFrancesco, 2014; Papaioannou et al., 2013). Na izolovaných buňkách bylo totiž zdokumentováno, že aplikace endotoxinu vyvolala snížení proudu I_f (Klößner et al., 2014; Zorn-Pauly et al., 2007).

Na HRV mohlo mít efekt i podávání noradrenalinu, což lze alespoň na počátku pokusů vyloučit, protože k poklesu variability došlo dříve, než byla zahájena jeho aplikace (Obr. 4.9 a Obr. 4.17). Jeho vliv však nemůžeme vyloučit v pozdějších

fázích experimentu, kdy byly ve skupině prasat se septickým šokem používány poměrně vysoké dávky. Podobně nelze opominout ani možný vliv zvýšené hladiny prozánětlivých cytokinů (IL-6 a TNF- α), který nebylo možné detailněji popsat, jelikož daná měření byla z technických důvodů prováděna s dlouhými rozestupy (12 hodin). Mohl tak být zmeškán vrchol vzestupu jejich koncentrace v krvi, což se týká hlavně IL-6. Bylo zdokumentováno, že nárůst jeho hladiny vrcholí po 2 - 4 hodinách od vyvolání sepse a že koreluje s parametry HRV (Durosier et al., 2015; Fong et al., 1989).

Už ze samotného názvu vyplývá, že variabilita srdeční frekvence úzce souvisí i se srdeční frekvencí (Sacha et al., 2013). Tento fakt se potvrdil i v případě prasečího modelu sepse, HRV a HR vykazovaly korelaci ($r = 0,68$). Byla tedy podrobně zkoumána i kinetika jejich změny a ukázalo se, že pokles HRV nastal ještě před změnou srdeční frekvence. To znamená, že se při sepsi na snížení HRV samotná srdeční frekvence významně nejspíš nepodílí. K podobnému zjištění došel i prof. Hoover u myší s polymikrobiální sepsí (Hoover et al., 2015), kde změna HRV rovněž předstihla změnu srdeční frekvence.

Při analýze HRV hraje jistou roli i délka úseku EKG, na němž jsou stanovovány její parametry. Je třeba volit kompromis tak, aby byl v daném segmentu dostatečný počet RR intervalů (například pro sestavení frekvenčního histogramu) a zároveň příliš nestoupla výpočetní náročnost celého procesu. U statistických parametrů a parametrů Poincarého grafu bylo možné snížit délku analyzovaného intervalu až na 5 min bez výrazné změny jejich hodnoty. Ovšem pro HRV TI a TINN, parametry založené na frekvenčním histogramu, již nebylo 5 ani 20 minut dostačujících, což odpovídá i doporučením v literatuře (Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996). Proto byla u rozsáhlých kontinuálních nahrávek zvolena 1 hodina jako optimální délka analyzovaného úseku, kdy během sepse poklesnou parametry HRV bez ohledu na to, do jaké skupiny patří (statistické, geometrické atd.).

Otázkou však nebylo pouze samotné snížení variability srdeční frekvence, ale i její citlivost vzhledem k míře závažnosti septického stavu. Proto byl experimentální

model sepse použit ve dvou modifikacích. V první bylo cílem dosáhnout těžké sepse, resp. septického šoku, což se zdařilo. Všechna zvířata v této skupině uhynula následkem refrakterního šoku a nedožila se plánovaného ukončení pokusu (Obr. 4.2 F). U druhé skupiny prasat jsme se snažili o vyvolání sepse s mírnějším průběhem tak, aby nedošlo k multiorgánovému selhání. K popisu stavu zvířat bylo použito SOFA skóre (Vincent et al., 1996), které umožňuje číselně ohodnotit vliv sepse na jednotlivé orgánové soustavy. Hodnotí respiraci, koagulaci, stav jater, kardiovaskulární a centrální nervové soustavy a funkci ledvin.

Podle tohoto systému sepse během experimentu nevyvolala selhání ledvin ani jater, jak ukazují nezměněné hodnoty kreatininu a bilirubinu. Diuréza se dokonce zvýšila, což bylo zřejmě dáno objemovou resuscitací. Posouzení stavu centrálního nervového systému pomocí Glasgowské stupnice bezvědomí nebylo vzhledem k celkové anestezii zvířat možné. K mírnému zhoršení došlo v rámci dýchání a koagulace, ovšem až 24 hodin po vyvolání sepse. Kardiovaskulární systém se tak stal jedinou orgánovou soustavou, která významně přispěla ke zvýšení SOFA skóre během rozvoje sepse. U zvířat se objevila hyperdynamická cirkulace s periferní vazodilatací. U 9 z 11 zvířat byla nutná aplikace noradrenalinu k udržení MAP nad 65 mmHg, ovšem většinou pouze nízká dávka a u 6 prasat jen po přechodnou dobu. V současnosti je septický šok klinicky definován dlouhodobě přetrvávající hypotenzí (MAP <65 mmHg) vyžadující léčbu vazopresory a zároveň hyperlaktémií (>2 mmol/l) odolávající objemové resuscitaci (Singer et al., 2016). Hodnota laktátu však v našem případě nepřesáhla 1,2 mmol/l, což naznačuje dostatečné okysličení tkání.

Lze tedy říci, že minimálně prvních 24 hodin nedošlo k multiorgánovému selhání ani septickému šoku, přesto i zde vykazovala variabilita srdeční frekvence výrazný pokles podobně jako u experimentů, kde nastal septický šok. Mohlo by se tedy jednat o citlivý nástroj v diagnostice sepse, který projevuje významnou změnu již při méně závažných stavech.

4.2 Vliv acidózy na kardiovaskulární systém

4.2.1 Úvod

Acidóza je definována jako porucha acidobazické rovnováhy, kdy hodnota pH klesá pod fyziologickou mez. Jedná se o stav, který ovlivňuje řadu procesů v lidském těle včetně regulace a funkce kardiovaskulárního systému (Curley et al., 2010; Ijland et al., 2010). Snižuje kontraktilitu komorového myokardu, která je kompenzována zvýšením srdeční frekvence a poklesem systémové vaskulární rezistence, což vede ke zvýšení srdečního výdeje (Ijland et al., 2010). Negativně inotropní efekt acidózy byl odhalen již velmi dávno (Gaskell, 1880) a bylo navrženo množství mechanismů, jež by mohly být jeho příčinou. Obecně se má za to, že snížení kontraktility myokardu při acidóze je důsledkem poklesu citlivosti kontraktiních proteinů vůči vápníku (Fabiato a Fabiato, 1978; Orchard a Kentish, 1990; Solaro et al., 1989). Je ovšem třeba dodat, že většina experimentů v tomto směru byla prováděna na izolované tkáni nebo buňkách a při velmi nízkém pH (6-6,5), které odpovídá lokální acidóze v srdeční tkáni postižené ischemií (Park et al., 1999).

V rámci plicního oběhu bylo opakovaně pozorováno zvýšení plicní vaskulární rezistence při hyperkapnické acidóze (HCA). Tento jev je tradičně vysvětlován vazokonstrikčním efektem samotné acidózy, jenž převládne nad vazodilatačním účinkem CO₂ (Balanos et al., 2003; Barer a Shaw, 1971; Viles a Shepherd, 1968). V posledních letech jsou hodně diskutovány terapeutické možnosti HCA u pacientů se syndromem akutní dechové tísně (ARDS, z angl. Acute Respiratory Distress Syndrome). Použití protektivní ventilace snížilo mortalitu i morbiditu nemocných s ARDS (Valta et al., 1999; Hickling et al., 1994; Amato et al., 1998). Tato protektivní ventilace je doprovázena právě hyperkapnickou acidózou, která byla původně považována za vedlejší účinek, jež je možno tolerovat (Laffey et al., 2004). V poslední době se ovšem zjišťuje, že možná sama HCA vykazuje jistý terapeutický účinek (Ijland et al., 2010).

Naším cílem bylo sledovat systémové i regionální hemodynamické změny vyvolané acidózou na velkém zvířecím modelu. Na rozdíl od většiny studií byl

zkoumán čistě efekt acidózy samotné nikoliv acidózy jako stavu, který doprovází jinou patologii. Na zdravých prasatech byl zkoumán vliv metabolické (MAC) a hyperkapnické acidózy na různé orgánové soustavy. HCA byla porovnávána s MAC, protože zatím není zcela jasné, zda její účinek spočívá převážně v hyperkapnii, nebo ve vlastní acidóze, přičemž některé práce naznačují, že hlavní roli hraje právě acidóza (Laffey et al., 2000). Experimenty uskutečněné *in vivo* byly doplněny měřeními *in vitro*, aby bylo možné odlišit přímý vliv acidózy na srdce od sekundárního efektu v důsledku ovlivnění cévního systému.

Naše studie byla provedena na 24 prasatech domácích obou pohlaví (37 ± 1 kg), jež byla rozdělena do tří skupin, kontrolní, metabolická acidóza a hyperkapnická acidóza. Acidóza byla zvířatům způsobena podle popisu v podkapitole 3.2. Před navozením acidózy byla realizována měření acidobazické rovnováhy, systémové i regionální hemodynamiky a registrován pětiminutový EKG záznam. Po vyvolání a ustálení acidózy (resp. v kontrolní skupině ve stejném čase, ale bez navození acidózy) byla všechna měření zopakována. Část pokusu prováděná *in vivo* byla ukončena vyjmutím srdce, jež bylo použito k následnému *in vitro* experimentu.

Z pravé srdeční komory byla vždy vypreparována trabekula, která byla umístěna do lázně promývané Tyrodovým roztokem. Zde byla nahrávána síla kontrakce a membránové napětí za stimulace frekvencemi 0,5; 1 a 2 Hz (viz podkapitola 3.5). Poté byl vyměněn kontrolní Tyrodův roztok (pH 7,4) za svou kyselou variantu (pH 7,1; viz podkapitola 3.5.2) a měření byla zopakována při stejných stimulačních frekvencích. Získaná data byla analyzována off-line spolu s nahrávkami EKG. Ze záznamu průběhu síly kontrakce a membránového napětí byly určovány parametry popsané v podkapitole 3.5.3. V rámci EKG nahrávek byly měřeny délky RR a QT intervalů, jež byly korigovány podle Fridericia ($QT_c = QT / RR^{1/3}$; Fridericia, 1920). Na základě získaných RR intervalů byla provedena HRV analýza (viz podkapitola 3.4).

4.2.2 Výsledky

V kontrolní skupině nedošlo během experimentu ke změně pH, zatímco ve skupinách zvířat s hyperkapnickou a metabolickou acidózou poklesla jeho hodnota

v arteriální krvi na 7,1 (Tab. 4.2). U HCA vzrostl parciální tlak CO₂ jak v arteriální, tak venózní krvi, u MAC pouze ve venózní (Tab. 4.2).

Malý, avšak statisticky významný nárůst MAP byl zaznamenán u HCA, ovšem nikoliv u MAC (Tab. 4.3). MPAP vzrostl v obou acidotických skupinách (Tab. 4.3). Systémová cévní rezistence se snížila pouze u HCA (Tab. 4.3, Obr. 4.18 C), kdežto plicní cévní rezistence stoupla, a to v obou skupinách s acidózou (Tab. 4.3, Obr. 4.18 E). U MAC i HCA klesl tepový objem (Tab. 4.3, Obr. 4.18 D), což bylo kompenzováno zvýšenou srdeční frekvencí (Tab. 4.3, Obr. 4.18 A), takže globální end-diastolický objem (GEDV) nebyl ovlivněn (Tab. 4.3). Stejně tak zůstal zachován srdeční výdej, v případě HCA dokonce vzrostl (Obr. 4.18 B). Práce jednotlivých srdečních komor v rámci jednoho tepu se nezměnila ani u jednoho typu acidózy, když byla ale spočítána práce za jednu minutu, hodnota pro pravou komoru vzrostla u MAC i HCA, pro levou komoru pouze u HCA (Tab. 4.3).

Z měření regionální hemodynamiky vyplynulo, že acidóza nezpůsobila změnu průtoku krve ledvinami, a to ani při přepočtu na podíl srdečního výdeje (Tab. 4.4). Změna nebyla zaznamenána ani v případě jaterní tepny, ovšem průtok portální žílou a současně celkový průtok krve játry stouply u hyperkapnické acidózy (Tab. 4.4). Když byl průtok játry přepočítán na podíl na celkovém srdečním výdeji, byla jeho hodnota významně nižší u MAC i HCA (Tab. 4.4). Průtok karotickou arterií stoupl pouze v případě HCA a po přepočtu na srdeční výdej se jeho hodnota nelišila od stavu před navozením acidózy (Tab. 4.4).

Parametr	Kontrola		Metabolická acidóza		Hyperkapnická acidóza	
	Začátek	Konec	Před acidózou	S acidózou	Před acidózou	S acidózou
PaCO ₂ (kPa)	5,39 ± 0,85	5,17 ± 0,68	5,34 ± 0,79	5,80 ± 1,08	5,04 ± 0,50	15,57 ± 1,37 *
PvCO ₂ (kPa)	7,09 ± 1,40	6,46 ± 0,83	6,73 ± 0,66	7,97 ± 1,15 *	6,14 ± 0,38	17,19 ± 1,89 *
PaO ₂ (kPa)	16,70 ± 3,72	14,85 ± 2,85	16,71 ± 3,70	16,61 ± 4,11	17,74 ± 6,38	15,17 ± 1,20
PvO ₂ (kPa)	4,01 ± 0,38	3,94 ± 0,52	3,96 ± 0,43	6,03 ± 0,80 *	4,21 ± 0,88	7,74 ± 0,88 *
pHa	7,52 ± 0,06	7,53 ± 0,05	7,52 ± 0,03	7,10 ± 0,01 *	7,56 ± 0,01	7,10 ± 0,02 *
pHv	7,45 ± 0,06	7,47 ± 0,04	7,46 ± 0,02	7,03 ± 0,02 *	7,50 ± 0,02	7,06 ± 0,02 *
HCO ₃ ⁻ a (mmol/l)	31,68 ± 2,53	29,84 ± 7,29	34,14 ± 4,18	13,1 ± 2,17 *	33,5 ± 3,21	34,7 ± 2,32
HCO ₃ ⁻ v (mmol/l)	35,88 ± 2,45	31,52 ± 7,52	35,11 ± 2,9	15,19 ± 1,64 *	34,84 ± 2,26	35,8 ± 2,47
Hb (g/l)	86,63 ± 10,20	85,63 ± 13,55	80,5 ± 12,97	89,5 ± 13,93 *	81,75 ± 8,38	103,5 ± 9,87 *
Sata (%)	99,26 ± 1,46	98,7 ± 2,99	99,18 ± 1,27	95,8 ± 3,81 *	98,94 ± 1,32	94,38 ± 2,80 *
Satv (%)	49,26 ± 7,48	47,13 ± 4,06	49,11 ± 8,44	49,11 ± 6,25	50,13 ± 7,76	63,75 ± 2,18 *
BEa (mmol/l)	9,53 ± 2,67	9,83 ± 2,04	10,48 ± 4,07	16,56 ± 2,26 *	11,73 ± 3,06	5,71 ± 2,19 *
BEv (mmol/l)	12,30 ± 2,39	10,29 ± 3,76	11,89 ± 3,12	15,5 ± 1,76 *	12,11 ± 2,22	6,08 ± 2,26 *

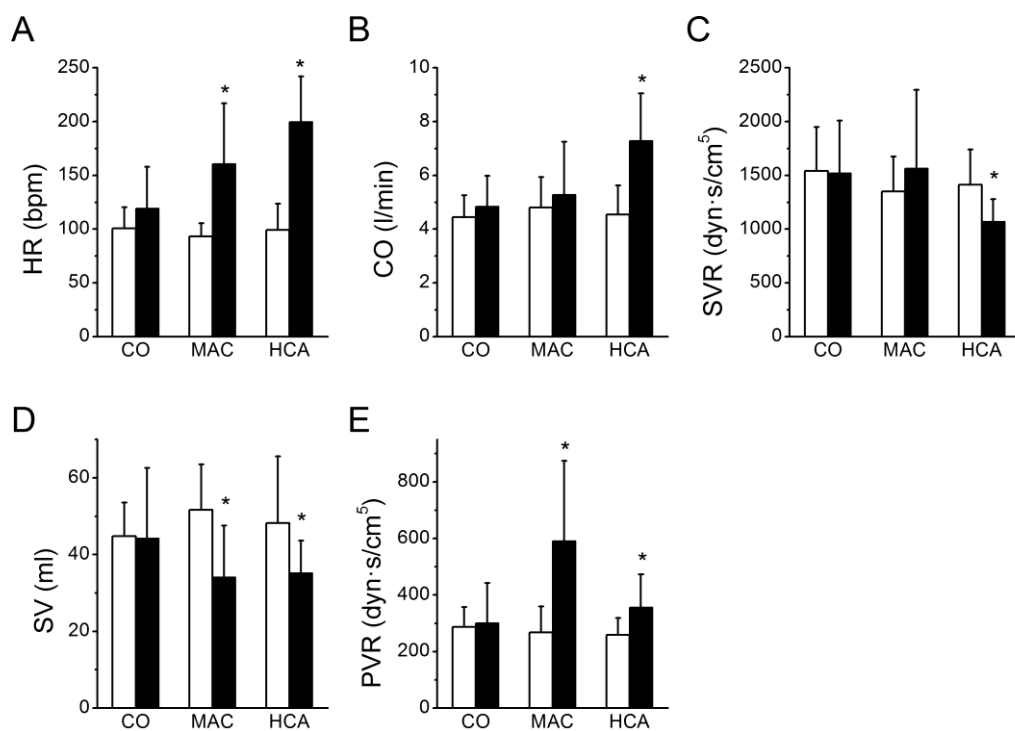
Tab. 4.2. Laboratorní vyšetření acidobazické rovnováhy před vyvoláním acidózy a po něm (resp. v ekvivalentních časech v kontrolní skupině).

Parciální tlak oxidu uhličitého v arteriální (PaCO₂), resp. venózní krvi (PvCO₂). Parciální tlak kyslíku v arteriální (PaO₂), resp. venózní krvi (PvO₂). Hodnota pH v arteriální (pHa), resp. venózní krvi (pHv). Koncentrace hydrogenuhličitanů v arteriální (HCO₃⁻a), resp. venózní krvi (HCO₃⁻v). Koncentrace hemoglobinu v krvi (Hb). Saturace hemoglobinu kyslíkem v arteriální (Sata), resp. venózní krvi (Satv). Přebytek bazí v arteriální (BEa), resp. venózní krvi (BEv). * P < 0,05, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním acidózy.

Parametr	Kontrola		Metabolická acidóza		Hyperkapnická acidóza	
	Začátek	Konec	Před acidózou	S acidózou	Před acidózou	S acidózou
HR (bpm)	101 ± 20	119 ± 39	93 ± 12	161 ± 56 *	99 ± 25	200 ± 42 *
SV (ml)	44,8 ± 8,7	44,2 ± 18,4	51,6 ± 11,9	34,1 ± 13,4 *	48,2 ± 17,4	35,2 ± 8,4 *
GEDV (ml)	660,4 ± 116,2	691,1 ± 123,6	620,3 ± 136,6	571,8 ± 125,1	709,1 ± 152,9	693,7 ± 113,6
CO (l/min)	4,5 ± 0,8	4,8 ± 1,2	4,8 ± 1,1	5,3 ± 2,0	4,5 ± 1,1	7,3 ± 1,8 *
MAP (mmHg)	94,5 ± 15,6	97,3 ± 16,9	87,4 ± 15,3	99,7 ± 18,4	88,7 ± 5,6	105,6 ± 9,4 *
CVP (mmHg)	11,1 ± 2,1	10,6 ± 2,6	9,0 ± 2,6	9,3 ± 2,4	12,1 ± 3,8	12,1 ± 1,1
MPAP (mmHg)	25,1 ± 5,2	26,1 ± 3,9	23,1 ± 3,1	42,9 ± 8,4 *	24,4 ± 1,7	40,3 ± 6,7 *
PCWP (mmHg)	9,5 ± 1,9	9,3 ± 2,4	7,9 ± 2,5	9,3 ± 2,7	10,9 ± 1,2	9,3 ± 2,4
SVR (dyn·s/cm ⁵)	1 539 ± 409	1 520 ± 489	1 350 ± 327	1 564 ± 729	1 412 ± 327	1 068 ± 209 *
PVR (dyn·s/cm ⁵)	287 ± 71	301 ± 142	268 ± 92	591 ± 283 *	259 ± 60	356 ± 116 *
ITBV (ml)	825,5 ± 145,3	863,9 ± 154,5	796,0 ± 173,3	715,9 ± 168,9 *	886,4 ± 191,1	867,1 ± 142,0
LVS _W (cJ)	59,5 ± 17,2	52,8 ± 20,0	61,8 ± 17,9	45,6 ± 18,0	58,4 ± 24,9	55,4 ± 12,4
LVS _W tot (cJ/min)	6 056 ± 1 606	6 183 ± 1 783	5 784 ± 1 924	7 179 ± 2 835	5 788 ± 1 368	11 124 ± 2 968 *
RVS _W (cJ)	15,5 ± 4,5	13,7 ± 4,5	16,3 ± 5,6	20,4 ± 10,8	16,7 ± 7,9	21,1 ± 7,3
RVS _W tot (cJ/min)	1 606 ± 541	1 618 ± 419	1 492 ± 420	3 088 ± 1 414 *	1 650 ± 539	4 166 ± 1 313 *
HVS _W tot (cJ/min)	7 662 ± 2 041	7 801 ± 2 146	7 276 ± 2 201	10 267 ± 4 086	7 438 ± 1 874	15 290 ± 4 135 *

Tab. 4.3. Hemodynamické parametry před vyvoláním acidózy a po něm (resp. v ekvivalentních časech v kontrolní skupině).

Srdeční frekvence (HR) vyjádřená v počtu tepů za minutu. Systolický objem (SV). Globální end-diastolický objem (GEDV). Srdeční výdej (CO). Střední arteriální tlak (MAP). Centrální žilní tlak (CVP). Střední tlak v plicní tepně (MPAP). Tlak v plicních kapilárách v zaklínění (PCWP). Systémová (SVR) a plicní vaskulární rezistence (PVR). Objem krevního kompartmentu v hrudníku (ITBV). Tepová práce levé (LVS_W), resp. pravé komory (RVS_W) a tepová práce levé (LVS_Wtot), resp. pravé komory za minutu (RVS_Wtot). Tepová práce srdečních komor za minutu (HVS_Wtot). * P < 0,05, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním acidózy.



Obr. 4.18. Vliv acidózy na hemodynamiku.

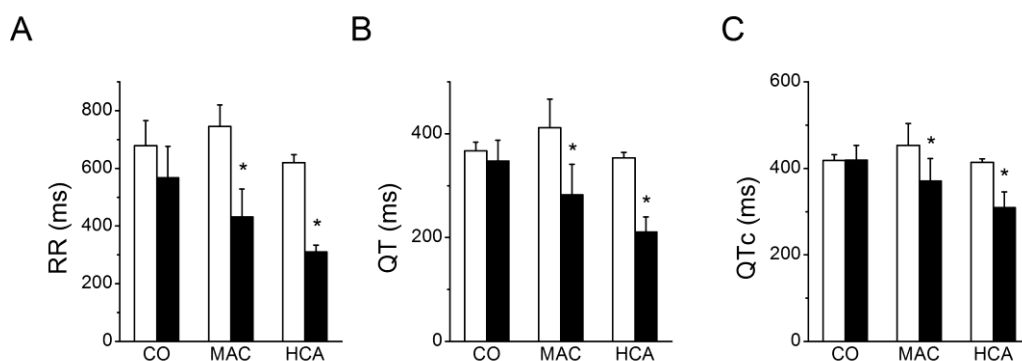
Prázdné sloupce označují stav před vyvoláním acidózy, plné sloupce acidózu, případně odpovídající čas v kontrolním experimentu. * $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním acidózy. A. Srdeční frekvence (HR) vyjádřená v počtu tepů za minutu. B. Srdeční výdej (CO). C. Systémová vaskulární rezistence (SVR). D. Systolický objem (SV). E. Plicní cévní rezistence (PVR).

Parametr	Kontrola		Metabolická acidóza		Hyperkapnická acidóza	
	Začátek	Konec	Před acidózou	S acidózou	Před acidózou	S acidózou
Qren/kg (ml/kg/min)	5,5 ± 2,3	5,9 ± 2,4	5,1 ± 1,5	4,5 ± 1,1	4,7 ± 2,7	5,7 ± 3,5
Qren/Qtot (%)	4,5 ± 3,2	4,5 ± 3,2	3,6 ± 1,0	3,4 ± 2,1	3,4 ± 1,7	2,6 ± 1,3
Qhep/kg (ml/kg/min)	2,9 ± 1,5	3,0 ± 1,6	2,8 ± 1,8	3,5 ± 1,8	4,8 ± 3,0	4,3 ± 2,1
Qport/kg (ml/kg/min)	27,4 ± 5,8	28,7 ± 6,1	30,0 ± 4,6	27,0 ± 5,5	25,5 ± 5,7	30,3 ± 6,7 *
Qliver/kg (ml/kg/min)	30,2 ± 6,3	31,7 ± 6,5	32,9 ± 5,4	30,4 ± 6,4	29,8 ± 7,5	34,0 ± 7,2 *
Qliver/Qtot (%)	23,6 ± 9,3	23,2 ± 9,4	23,4 ± 5	20,7 ± 5,8 *	21,8 ± 3,5	16,1 ± 5,1 *
Qcarot/kg (ml/kg/min)	4,6 ± 1,5	4,3 ± 1,2	5,3 ± 3,5	3,8 ± 1,2	5,0 ± 2,4	8,4 ± 3,7 *
Qcarot/Qtot (%)	3,5 ± 1,1	3,1 ± 1,0	4,0 ± 3,1	2,8 ± 1,9	3,5 ± 1,3	3,6 ± 0,9

Tab. 4.4. Regionální hemodynamika před vyvoláním acidózy a po něm (resp. v ekvivalentních časech v kontrolní skupině).

Renální průtok krve za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti (Qren/kg). Podíl renálního průtoku krve na srdečním výdeji (Qren/Qtot). Průtok krve jaterní tepnou za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti (Qhep/kg). Průtok krve portální žílou za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti (Qport/kg). Celkový průtok krve játry za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti (Qliver/kg). Podíl průtoku krve játry na srdečním výdeji (Qliver/Qtot). Průtok krve karotickou tepnou za minutu přepočítaný na jednotku hmotnosti (Qcarot/kg). Podíl průtoku krve karotickou tepnou na srdečním výdeji (Qcarot/Qtot). * P < 0,05, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním acidózy.

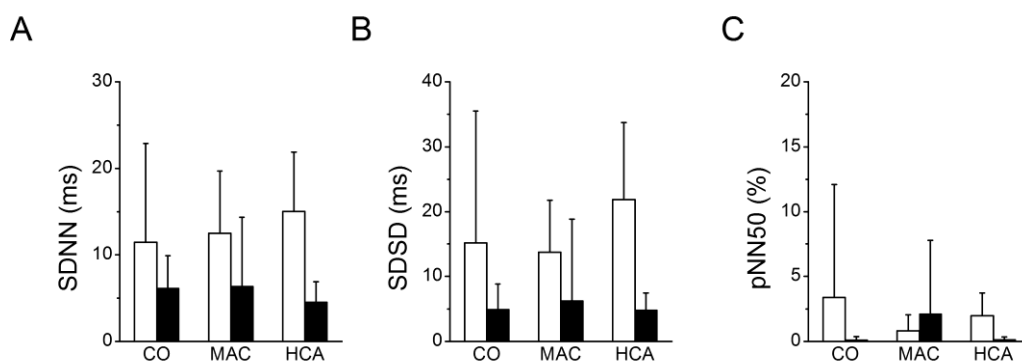
Z výpočtu délky RR a QT intervalů vyplynulo, že se QT interval výrazně zkrátil u obou acidotických skupin, k čemuž částečně přispěla i zvýšená srdeční frekvence, tzn. zkrácený RR interval (Obr. 4.19 A, B). Ovšem zkrácení QT intervalu bylo statisticky významné i po korekci na srdeční frekvenci (Obr. 4.19 C). V žádné z pořízených EKG nahrávek nebyla pozorována srdeční arytmie.



Obr. 4.19. Vliv acidózy na EKG.

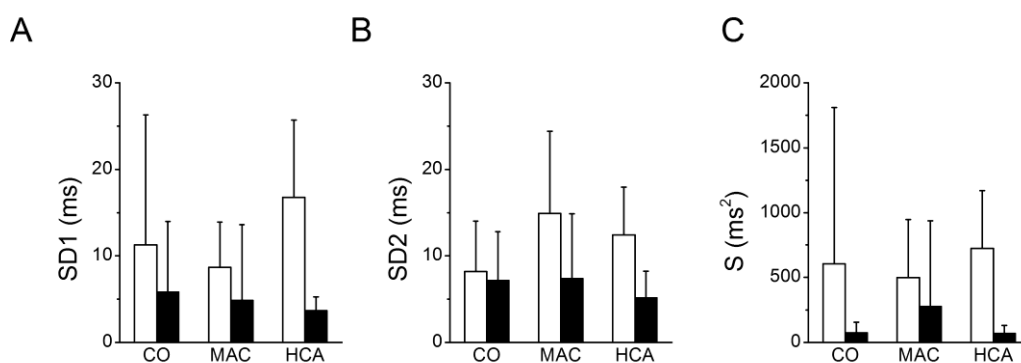
Prázdné sloupce označují stav před vyvoláním acidózy, plné sloupce acidózu, případně odpovídající čas v kontrolním experimentu. * $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými před vyvoláním acidózy. A. Délka RR intervalu. B. Délka QT intervalu. C. Délka korigovaného QT intervalu (QTc) stanoveného dle Fridericia.

V rámci variability srdeční frekvence nebyly odhaleny změny vlivem acidózy ve statistických parametrech (Obr. 4.20) ani parametrech Poincarého grafu (Obr. 4.21). Důležitý je výsledek analýzy ve frekvenční oblasti, která reprezentuje změny v sympatovagální rovnováze. Zde nedošlo ke změnám v hodnotě spektrální výkonové hustoty v pásmu nízké a vysoké frekvence ani v jedné z acidotických skupin (Obr. 4.22).



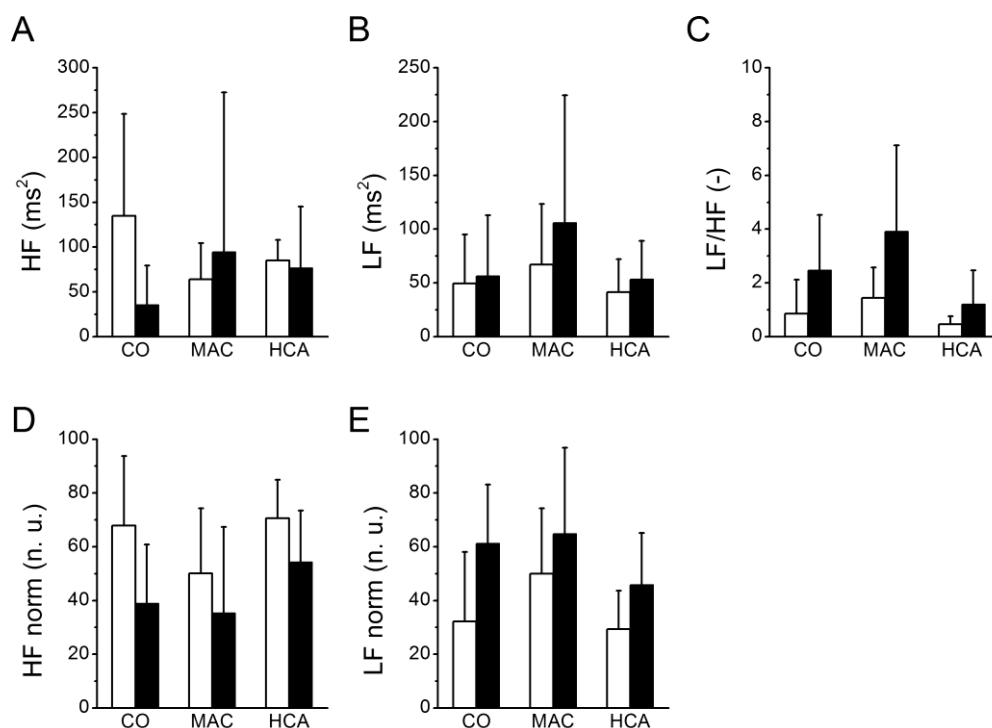
Obr. 4.20. Statistické parametry HRV.

Prázdné sloupce označují stav před vyvoláním acidózy, plné sloupce acidózu, případně odpovídající čas v kontrolním experimentu. A. Směrodatná odchylka RR intervalů (SDNN). B. Směrodatná odchylka rozdílů mezi sousedními RR intervaly (SDSD). C. Podíl sousedících RR intervalů, které se od sebe liší o více než 50 ms, na celkovém počtu RR intervalů (pNN50).



Obr. 4.21. Poincarého graf.

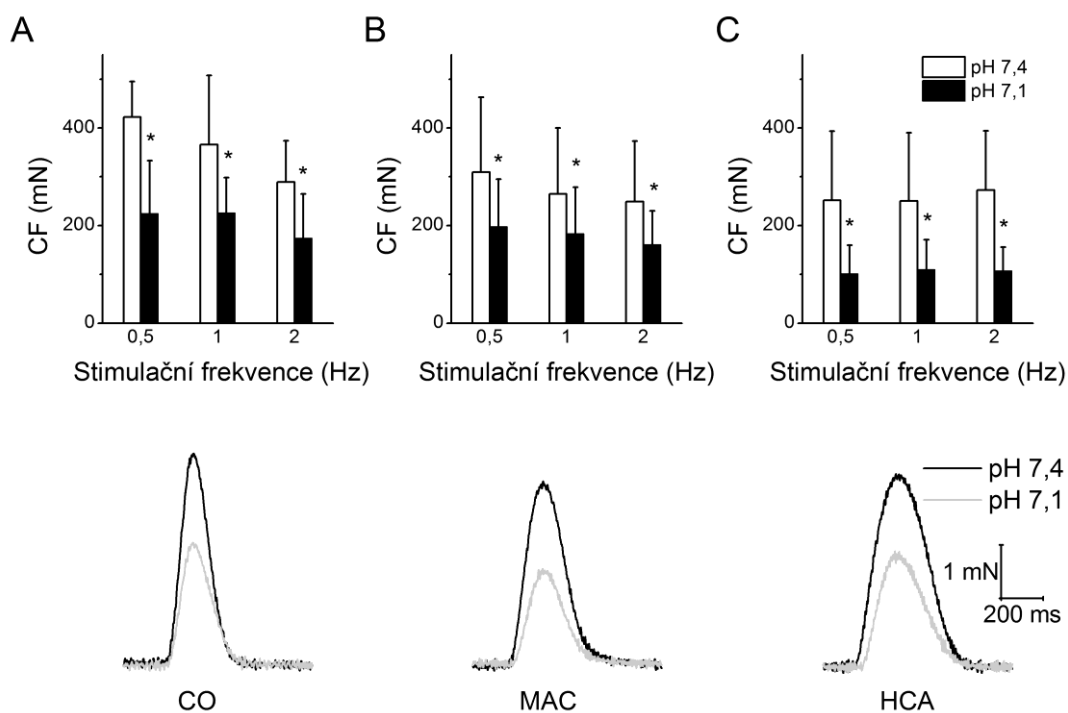
Prázdné sloupce označují stav před vyvoláním acidózy, plné sloupce acidózu, případně odpovídající čas v kontrolním experimentu. A. Směrodatná odchylka bodů Poincarého grafu kolmo vůči ose 1. kvadrantu (SD1). B. Směrodatná odchylka bodů Poincarého grafu podél osy 1. kvadrantu (SD2). C. Plocha elipsy aproximující Poincarého graf (S).



Obr. 4.22. HRV analýza ve frekvenční oblasti.

Prázdné sloupce označují stav před vyvoláním acidózy, plné sloupce acidózu, případně odpovídající čas v kontrolním experimentu. A. Výkonová spektrální hustota v pásmu vysoké frekvence v absolutních jednotkách (HF). B. Výkonová spektrální hustota v pásmu nízké frekvence v absolutních jednotkách (LF). C. Poměr výkonové spektrální hustoty v pásmu nízké a vysoké frekvence (LF/HF). D. Výkonová spektrální hustota v pásmu vysoké frekvence v normalizovaných jednotkách (HF norm). E. Výkonová spektrální hustota v pásmu nízké frekvence v normalizovaných jednotkách (LF norm).

Další část experimentu prováděná *in vitro* na trabekule z pravé komory neodkryla v kontrolním roztoku (pH 7,4) žádné rozdíly ve velikosti síly kontrakce mezi kontrolní a acidotickými skupinami, bez ohledu na použitou stimulační frekvenci (Obr. 4.23). Při následném měření v kyselém roztoku (pH 7,1) došlo ve všech třech skupinách ke snížení síly kontrakce, což odpovídá snížení systolického objemu při acidóze *in vivo*. Rovněž kinetika cyklu kontrakce-relaxace acidózou ovlivněna nebyla. Měřené parametry, které zahrnovaly TTP, R50 a R90 (viz podkapitola 3.5.3), se nezměnily ani při aplikaci kyselého roztoku (pH 7,1).

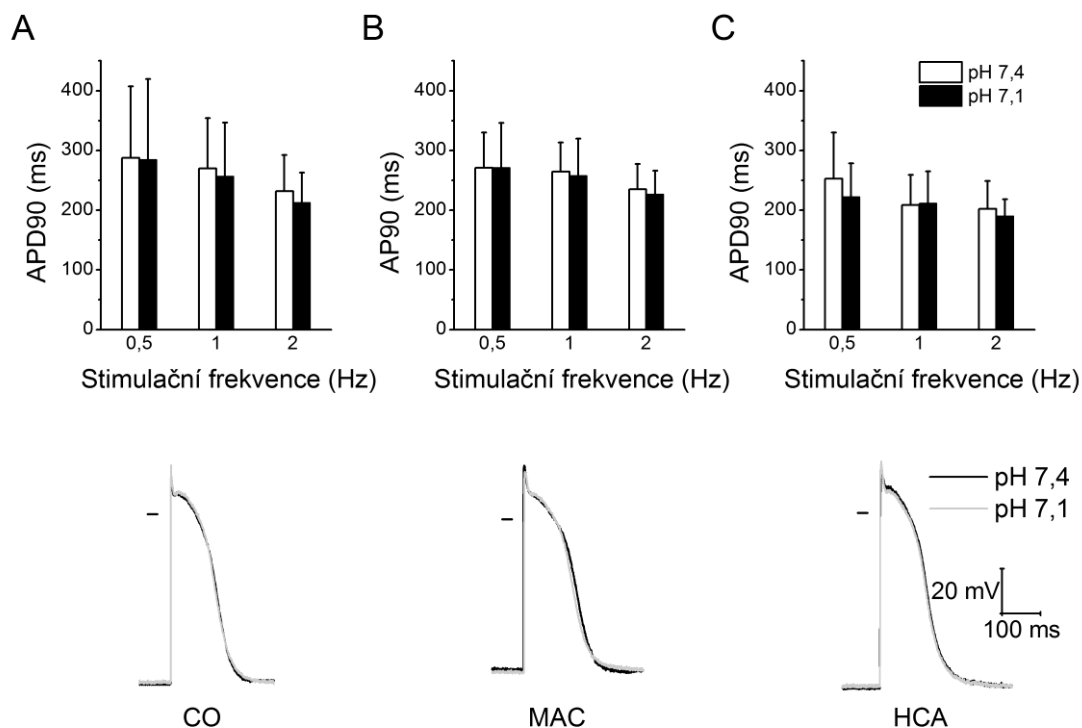


Obr. 4.23. Vliv acidózy na sílu kontrakce komorového myokardu.

Prázdné sloupce zobrazují sílu kontrakce (CF) změřenou v kontrolním roztoku (pH 7,4), plné sloupce v kyselém roztoku (pH 7,1). * $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými v kontrolním roztoku (pH 7,4). A. Velikost síly kontrakce změřené na preparátech ze zvířat z kontrolní skupiny (CO). B Velikost síly kontrakce změřené na preparátech ze zvířat s metabolickou acidózou (MAC). C. Velikost síly kontrakce změřené na preparátech ze zvířat s hyperkapnickou acidózou (HCA). Spodní panel, ukázky průběhu síly kontrakce v kontrolním (pH 7,4, černá křivka) a v kyselém roztoku (pH 7,1, šedá křivka) změřené na preparátu ze zvířete z příslušné skupiny (CO, MAC, resp. HCA).

Při rozboru záznamů membránového napětí rovněž nebyl pozorován žádný efekt acidózy, a to jak na hodnotu klidového membránového napětí, tak na délku trvání akčního napětí nebo jeho amplitudu (Obr. 4.24). Všechny hodnoty zůstaly nezměněny i při snížení pH roztoku, v němž byl umístěn preparát během měření. Stejný výsledek, tedy žádný statisticky významný účinek acidózy, poskytly záznamy pořízené při všech aplikovaných stimulačních frekvencích (0,5; 1 a 2 Hz). Nebyly zjištěny ani žádné potenciálně proarytmické jevy

(např. prodloužení akčního napětí, zvýšená variabilita repolarizace, časná nebo opožděná následná depolarizace), což bylo v souladu s částí experimentu probíhající *in vivo*.



Obr. 4.24. Vliv acidózy na trvání akčního napětí v buňkách komorového myokardu.

Prázdné sloupce zobrazují trvání akčního napětí v 90% repolarizace (APD90) změřeného v kontrolním roztoku (pH 7,4), plné sloupce v kyselém roztoku (pH 7,1). A. Trvání akčního napětí změřeného na preparátech ze zvířat z kontrolní skupiny (CO). B. Trvání akčního napětí změřeného na preparátech ze zvířat s metabolickou acidózou (MAC). C. Trvání akčního napětí změřeného na preparátech ze zvířat s hyperkapnickou acidózou (HCA). Spodní panel, ukázky průběhu akčního napětí v kontrolním (pH 7,4, černá křivka) a v kyselém roztoku (pH 7,1, šedá křivka) změřeného na preparátu ze zvířete z příslušné skupiny (CO, MAC, resp. HCA).

4.2.3 Diskuze

Prezentovaná studie prokázala, že jak hyperkapnická (HCA), tak metabolická acidóza (MAC) mají vliv na kardiovaskulární systém. V plicním oběhu byl jejich účinek podobný, zvýšená plicní vaskulární rezistence i střední tlak v plicní tepně. Systémová cirkulace však byla ovlivněna rozdílně. Po vyvolání MAC se její

parametry nezměnily, zatímco působením HCA došlo ke zvýšení MAP i přes snížení systémové cévní rezistence. Oba typy acidózy vykazovaly pokles systolického objemu a vzestup srdeční frekvence.

Podobné výsledky udávala studie prováděná na psech (Andersen a Mouritzen, 1966), kde byl u respirační acidózy pozorován zvýšený srdeční výdej a snížená periferní rezistence. Avšak na rozdíl od naší práce popisovala obdobnou změnu i u metabolické acidózy. Tento rozpor může být způsoben například použitím jiného pokusného zvířete nebo také jinou metodou vyvolání metabolické acidózy (aplikací kyseliny mléčné). U lidí způsobila aplikace CO₂ nárůst srdečního výdeje, tepového objemu a srdeční frekvence, který byl doprovázen poklesem periferního odporu (Cullen a Eger, 1974). Výsledky našeho experimentu tomu odpovídaly s výjimkou systolického objemu, což mohlo být dáno nižší úrovní hyperkapnie. PaCO₂ ve zmiňované studii vzrostl přibližně o 1,5 kPa, zatímco v našem případě cca o 10 kPa.

V plicním oběhu byla zřejmě určující koncentrace vodíkových iontů, protože efekt HCA i MAC byl obdobný. Podobnou interpretaci nabízí i několik předchozích studií plic kočky (Viles a Shepherd, 1968), potkana (Barer a Shaw, 1971) i lidí (Balanos et al., 2003). Nicméně zde mohou existovat značné mezidruhové rozdíly, neboť na izolovaných plicích z králíka nebyl pozorován žádný efekt HCA na cévní tonus (Ketabchi et al., 2009). V případě naší studie nemůže být zanedbán ani vliv oxidu uhličitého, protože došlo k významnému nárůstu PCO₂, i když u MAC byl mnohem menší než u HCA. V systémovém oběhu naopak zřejmě převládá vliv CO₂, jak naznačuje změna parametrů u HCA, a nikoliv u MAC. Samotné srdce se zdá být postiženo hromaděním vodíkových iontů, protože oba typy acidózy vykazovaly podobné změny v jeho činnosti.

Aby bylo možné odlišit přímý efekt acidózy na funkci srdce od účinků primárně zapříčiněných změnami v oběhovém systému, byla prováděna měření *in vitro*. Ukázalo se, že kontraktilita preparátu z pravé srdeční komory byla v kyselém prostředí snížena, což odpovídá poklesu systolického objemu v *in vivo* situaci. Podobný efekt na sílu kontrakce byl pozorován u izolovaného potkaního srdce s hyperkapnickou acidózou (Tang et al., 1991). Na rozdíl od naší studie však byl

připisován spíše hyperkapnii než acidóze. Existují ale další práce, které dokládají negativně inotropní účinek samotné acidózy (Fabiato a Fabiato, 1978; Orchard a Kentish, 1990; Solaro et al., 1989; Teplinsky et al., 1990). Různorodost výsledků ohledně účinků hyperkapnie a acidózy na sílu kontrakce je nejspíše dána odlišným schématem experimentů (např. jiný časový průběh) a druhem pokusného zvířete.

Fakt, že ke snížení síly kontrakce myokardu *in vitro* v kyselém roztoku došlo při všech použitých stimulačních frekvencích (0,5; 1 a 2 Hz), naznačuje, že nárůst srdeční frekvence nemusel hrát hlavní roli v poklesu systolického objemu *in vivo*. Nicméně hodnoty srdeční frekvence byly výrazně vyšší (200 bpm by odpovídalo stimulační frekvenci 3,3 Hz), což významně zkrátilo plnicí fázi a mohlo přispět i k nižšímu SV. Na druhou stranu globální end-diastolický objem se při acidóze nezměnil, takže plnění srdce nebylo ovlivněno.

Vzhledem k tomu, že v obou acidotických skupinách bylo pozorováno statisticky významné zkrácení korigovaného QT intervalu, dalo by se předpokládat, že při *in vitro* pokusech v kyselém prostředí se objeví zkrácení akčního napětí spojené se sníženým přítokem vápenatých iontů kanály typu L, což by mohlo představovat jednu z příčin snížené kontraktility. Ovšem trvání akčního napětí se nezměnilo, takže se membránová elektrogenese nejeví jako hlavní příčina změny síly kontrakce *in vitro*. Výše zmíněný rozpor v ovlivnění repolarizace acidózou *in vivo* (kratší QTc) a *in vitro* (nezměněné trvání AP) mohl být způsoben přítomností humorální a nervové regulace srdeční činnosti, k níž dochází pouze *in vivo*, ale i samotnou metodou korekce QT intervalu, která vždy vykazuje určitou chybu bez ohledu na použitý vzorec (Funck-Brentano a Jaillon, 1993).

V obou acidotických skupinách, MAC i HCA, se objevilo zvýšení srdeční frekvence, jehož příčinou mohla být autonomní nervová regulace, ale i přímý efekt acidózy na sinoatriální uzel. Při experimentech na buňkách izolovaných ze sinoatriálního uzlu psa (Satoh a Hashimoto, 1983) a králíka (Satoh a Seyama, 1986) byl však popsán negativně chronotropní efekt prostředí s nižším pH, takže zvýšení srdeční frekvence lze spíše připsat změnám v autonomní nervové regulaci. U prasat s akutní acidózou byla pozorována aktivace sympatiku doložená zvýšenou hladinou noradrenalinu a adrenalinu (Brofman et al., 1990). Ovšem při

elektrické stimulaci uvolňování noradrenalinu bylo prokázáno, že výrazná acidóza (pH 6-6,4) může snížit jeho množství (Haunstetter et al., 2002; Seyfarth et al., 1993). Nicméně při pH 7, které se blíží hodnotě dosažené v našem experimentu, nedošlo k poklesu uvolňování noradrenalinu, ale zároveň nastalo omezení presynaptické inhibice uvolňování noradrenalinu zprostředkované muskarinovými receptory (Haunstetter et al., 2002). Zvýšení srdeční frekvence vyvolané acidózou by tak mohlo být objasněno právě na základě změny presynaptické inhibice uvolňování noradrenalinu a/nebo zvýšení hladiny katecholaminů v krvi. Analýza variability srdeční frekvence v naší práci neodhalila změnu sympatovagální rovnováhy, což hovoří ve prospěch komplexního zpětnovazebního mechanismu jako je například presynaptická inhibice. Podobná teorie byla navržena i ve studii, v níž bylo popsáno paradoxní snížení hodnoty nízkofrekvenční komponenty (spojované s aktivitou sympatiku) při zvýšené hladině noradrenalinu v krevním oběhu (Tulppo et al., 2005). Kromě periferního působení acidózy musíme brát v úvahu také její vliv na centrální chemoreceptory, které jsou velice citlivé na parciální tlak CO₂ v krvi a které mohly přispět ke zvýšení CO při HCA, ale nikoliv při MAC.

Inotropní efekt acidózy popsáný *in vitro* na izolované tkáni naznačuje, že autonomní regulace srdeční činnosti nebyla jeho hlavní příčinou. Nebylo odhaleno ani ovlivnění membránové elektrogenese (při pH 7,1), takže ke snížení kontraktility srdečního svalu nepřispělo zřejmě ani snížení I_{CaL}. Nejspíše se vyvinula intracelulární acidóza, která narušila např. vazbu vápníku na troponin C, interakci troponinu a tropomyozinu nebo aktinu a myozinu (Li et al., 2001; Kohmoto et al., 1990; Orchard a Kentish, 1990). Ovšem nutno podotknout, že výše popsané změny byly pozorovány při acidóze s hodnotou pH kolem 6,5, což je mnohem méně než klinicky relevantní acidóza vyvolaná v naší studii (pH 7,1).

Tepová práce pravé srdeční komory za jednu minutu byla zvýšená u obou typů acidózy, ovšem u levé komory měla tento efekt pouze HCA. Toto zjištění by mělo být vzato do úvahy při případném terapeutickém využití HCA. Byly sice popsány pozitivní účinky HCA (včetně protizánětlivých, Curley et al., 2010), ovšem v případě srdečního selhání nebo plicní hypertenze by se vzhledem k jejímu inotropnímu efektu mělo dbát zvýšené opatrnosti. Také tachykardie by mohla hrát

negativní roli, především v situacích, kdy acidóza doprovází jiné onemocnění, jež samo o sobě zvyšuje srdeční frekvenci (např. sepse, viz podkapitola 4.1).

Zatímco v rámci plicního oběhu vykazovaly oba typy acidózy podobné změny hemodynamických parametrů, v dalších regionech již byly výsledky heterogenní. V průtoku renální tepnou nebyl zaznamenán žádný statisticky významný efekt, což je v kontrastu s literaturou, kde byl pozorován jak zvýšený (Cardenas et al., 1996), tak snížený (Fujii et al., 1985) průtok krve ledvinami. V průtoku krve játry a karotickou tepnou byly zjištěny rozdíly mezi MAC a HCA, kde byly naměřeny signifikantně vyšší hodnoty pro HCA. Zde tedy pravděpodobně dominoval vazodilatační efekt oxidu uhličitého nad eventuálním vazokonstrikčním účinkem acidózy.

4.3 Účinky propofolu na srdeční tkáň *in vitro*

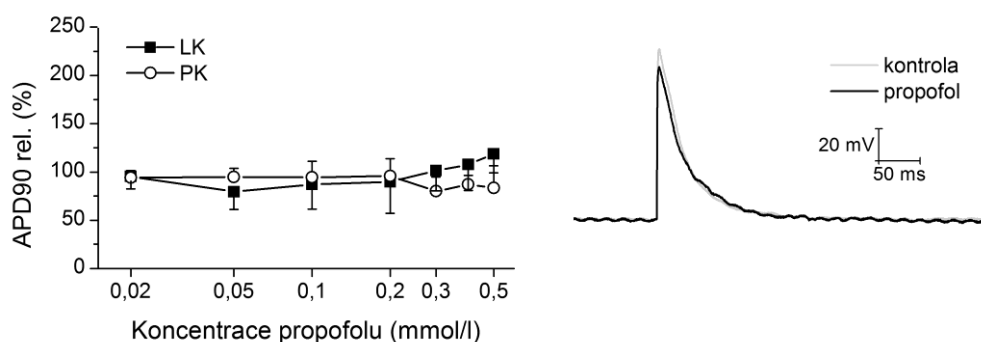
4.3.1 Úvod

Propofol (2,6-diisopropylfenol) je rychlé a krátce účinkující hypnotikum, které je používáno na úvod i udržení anestezie nebo sedaci u ventilovaných pacientů během resuscitační péče (Bryson et al., 1995). Jeho podávání může být spojeno se závažnými vedlejšími účinky na kardiovaskulární systém, včetně poklesu krevního tlaku a srdečního výdeje (Yang et al., 2015). Ve výjimečných případech může dokonce způsobit tzv. propofolový infuzní syndrom, který se projevuje bradykardií, arytmiemi, rhabdomyolýzou srdečního i kosterního svalstva, selháním srdce, renální insuficiencí, hepatomegalíí nebo metabolickou acidózou (Krajčová et al., 2015).

Propofol však není používán pouze v humánní medicíně, je rutinně aplikován i pokusným zvířatům. Byl podáván všem prasatům ve studiích popisovaných na předchozích stránkách této práce. Cílem bylo stanovit, jaký má propofol vliv na membránové napětí a sílu kontrakce v srdci potkana, které byly měřeny stejnou metodou jako v případě experimentů prováděných na prasatech. Výsledky měly pomoci určit, do jaké míry mohla být měření ovlivněna použitou anestezií.

4.3.2 Výsledky

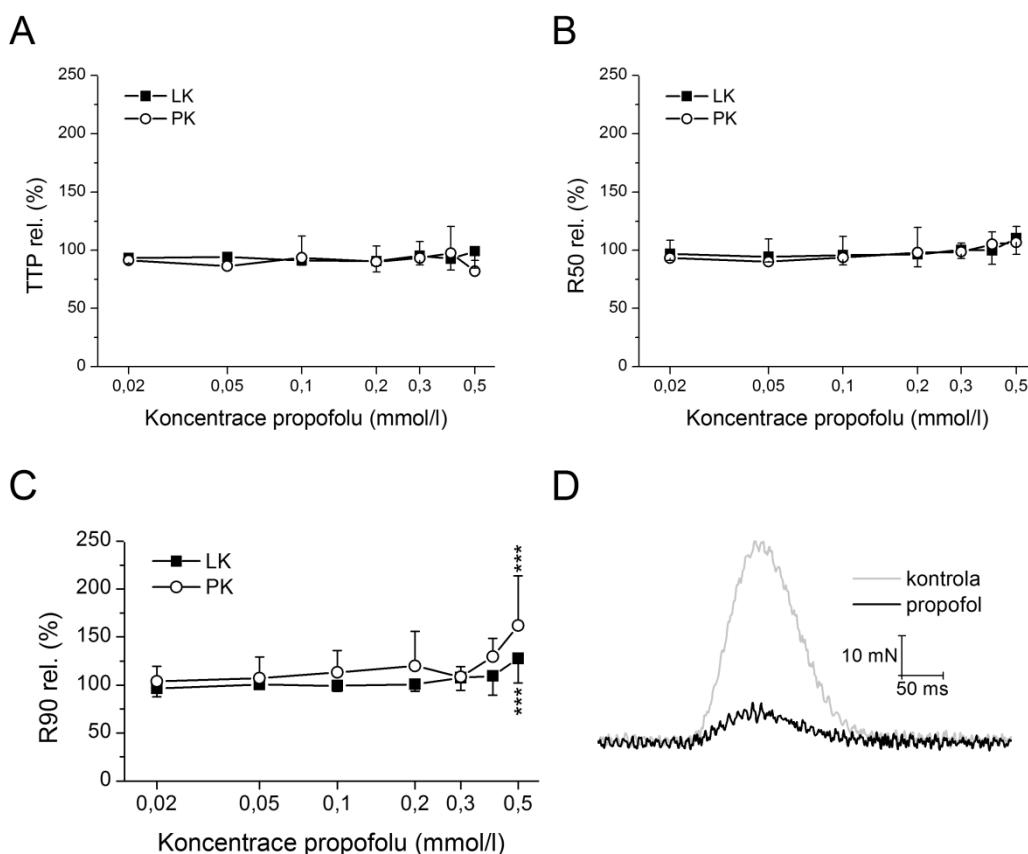
V levé ani v pravé srdeční komoře nebyl odhalen statisticky významný vliv propofolu v testovaných koncentracích na trvání akčního napětí, bez ohledu na zvolenou stimulační frekvenci (např. 1 Hz viz Obr. 4.25). Propofol neovlivnil ani parametry popisující časový průběh kontrakce a relaxace (Obr. 4.26). Výjimku představovala pouze doba od okamžiku dosažení maximální síly kontrakce do 90% relaxace (R90), a to při nejvyšší použité koncentraci (0,5 mmol/l), kdy v obou srdečních komorách došlo ke statisticky významnému prodloužení (Obr. 4.26 C).



Obr. 4.25. Vliv propofolu na trvání akčního napětí v buňkách komorového myokardu.

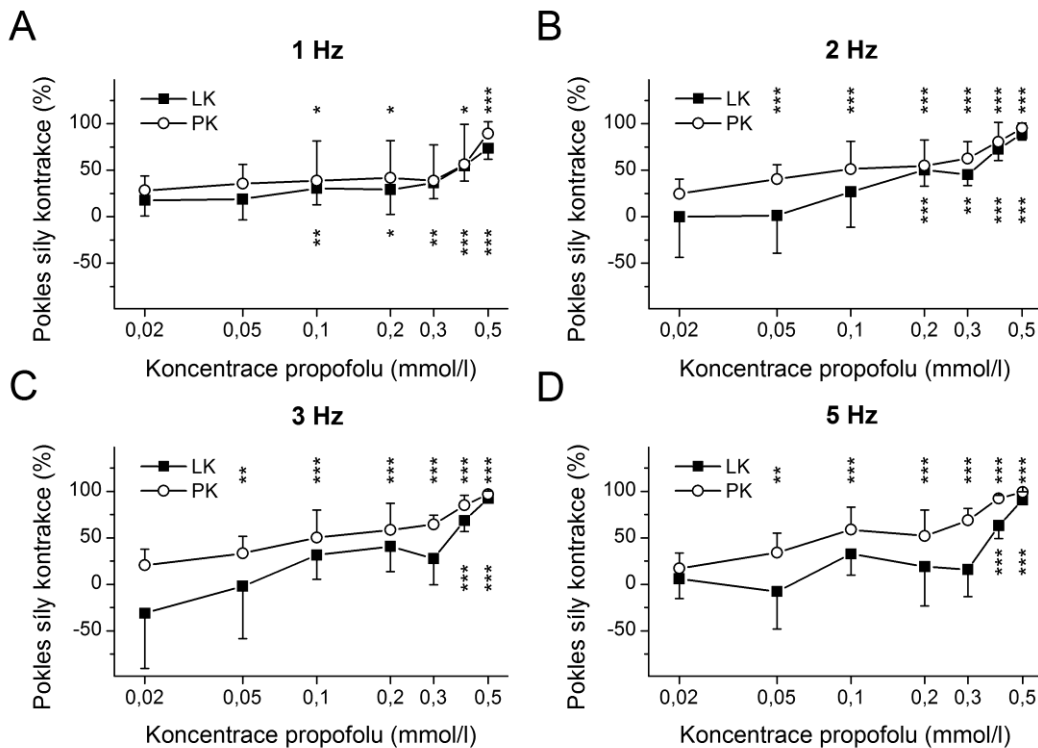
Vlevo, vliv propofolu v různých koncentracích na trvání akčního napětí v 90% repolarizace v levé (LK; plné čtverce) a pravé srdeční komoře (PK; prázdné kroužky) při stimulační frekvenci 1 Hz vyjádřený jako procento hodnoty získané při nahrávce v kontrolním roztoku bez propofolu. Vpravo, ukázka akčního napětí v levé srdeční komoře při stimulační frekvenci 1 Hz v kontrolním roztoku bez propofolu (šedá křivka) a v roztoku s propofolem o koncentraci 0,5 mmol/l (černá křivka).

Aplikace propofolu *in vitro* způsobila snížení síly kontrakce při všech použitých stimulačních frekvencích (Obr. 4.27 A-D). Za stimulace frekvencí vyšší než 1 Hz byl tento pokles v pravé komoře v porovnání s levou signifikantní při nižších koncentracích propofolu. V obou komorách byla tedy provedena podrobnější analýza pomocí křivky závislosti odpovědi na dávce (dose-response curve), jejímž výsledkem byla efektivní hodnota pro 50% pokles síly kontrakce (EC50) pro dané stimulační frekvence (Tab. 4.5). Z těchto hodnot významný rozdíl mezi srdečními komorami pozorovat nelze, vyjma stimulační frekvence 5 Hz, kdy byla EC50 pro pravou komoru signifikantně nižší.



Obr. 4.26. Vliv propofolu na trvání kontrakce a relaxace komorového myokardu.

Parametry (TTP, R50, R90) v levé (LK; plné čtverce) a pravé srdeční komoře (PK; prázdné kroužky) při stimulační frekvenci 1 Hz vyjádřené jako procento hodnoty získané při nahrávce v kontrolním roztoku bez propofolu. A. Doba od počátku do vrcholu kontrakce (TTP). B. Doba od vrcholu kontrakce do 50% relaxace (R50). C. Doba od vrcholu kontrakce do 90% relaxace (R90). D. Ukázka průběhu síly kontrakce preparátu z levé srdeční komory při stimulační frekvenci 1 Hz v kontrolním roztoku bez propofolu (šedá křivka) a v roztoku s propofolem o koncentraci 0,5 mmol/l (černá křivka). *** $P < 0,001$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými v kontrolním roztoku bez propofolu.



Obr. 4.27. Vliv propofolu na sílu kontrakce komorového myokardu.

Pokles síly kontrakce v levé (LK; plné čtverce) a pravé srdeční komoře (PK; prázdné kroužky) při stimulačních frekvencích 1 (A), 2 (B), 3 (C) a 5 Hz (D) vyjádřený jako procentuální hodnota síly kontrakce naměřené v kontrolním roztoku bez propofolu odečtená od 100 %. * $P < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, statisticky významný rozdíl ve srovnání s hodnotami naměřenými v kontrolním roztoku bez propofolu.

Stimulační frekvence (Hz)	EC50 v LK (mmol/l)	EC50 v PK (mmol/l)
1	0,33 ± 0,02	0,39 ± 0,03
2	0,24 ± 0,03	0,23 ± 0,03
3	0,21 ± 0,04	0,22 ± 0,03
5	0,31 ± 0,05	0,20 ± 0,03 *

Tab. 4.5. Efektivní koncentrace propofolu pro 50% pokles síly kontrakce preparátu z levé (LK) nebo pravé srdeční komory (PK).

* $P < 0,05$, statisticky významný rozdíl mezi levou a pravou komorou.

4.3.3 Diskuze

Propofol v žádné z koncentrací použitých v této práci neovlivňoval průběh akčního napětí v preparátech z obou srdečních komor laboratorního potkana. Publikací popisujících účinek propofolu na elektrofyzilogii myokardu potkana není mnoho.

Pouze jediná dokumentovala statisticky významnou změnu v trvání akčního napětí v multicelulárním preparátu z levé komory, ale až při koncentraci propofolu 600 $\mu\text{mol/l}$ (Azuma et al., 1993). Ovšem práce na izolovaných kardiomyocytech ukázaly výraznou inhibici vápníkového proudu typu L (I_{CaL}) již při koncentraci 100 $\mu\text{mol/l}$ (Liu et al., 2008), a dokonce 25 $\mu\text{mol/l}$ (Zhou et al., 1997). Navíc byl prokázán i účinek propofolu na draslíkové proudy v buňkách komorového myokardu. Rychlý opožděný draslíkový proud (I_{Kr}), měřený na buňkách H9c2 derivovaných z embryonálních komor potkana, poklesl při koncentraci propofolu 36 $\mu\text{mol/l}$ (Liu et al., 2008). Při koncentracích bližších klinickým hodnotám (2,5 $\mu\text{mol/l}$) však na buňkách izolovaných z potkaního srdce změny draslíkových proudů pozorovány nebyly (Carnes et al., 1997). Jelikož draslíkové a vápníkové proudy mají protichůdný účinek na trvání akčního napětí v buňkách srdečních komor (Lee et al., 2016), je možné, že i přes ovlivnění iontových kanálů propofolem výsledné trvání akčního napětí zůstane nezměněno (Obr. 4.25).

Předkládaná práce prokázala významný inotropní efekt propofolu na komorový myokard potkana při koncentraci propofolu 50 $\mu\text{mol/l}$. Účinná koncentrace pro 50% pokles síly kontrakce (EC_{50}) při 3Hz stimulaci, jež se nejvíce blíží situaci *in vivo*, byla 210 a 230 $\mu\text{mol/l}$ v levé, resp. pravé komoře. Publikací popisujících vliv propofolu na kontrakci myokardu lze najít poměrně velké množství, ovšem jejich výsledky se často značně liší. Je to dáno jak rozdílnými metodami (např. stimulační frekvence, teplota), tak použitým preparátem (izolované kardiomyocyty nebo multicelulární preparát) a v neposlední řadě i druhem a věkem zvířete, na němž byl experiment prováděn. Například (Azuma et al., 1993) popisoval statisticky významný účinek na kontrakci papilárního svalu z levé komory až při koncentraci propofolu 600 $\mu\text{mol/l}$. Jeho výsledky byly však získány za jiných podmínek, než jaké byly aplikovány v naší práci. Teplota během experimentů byla pouze 30°C a stimulační frekvence 0,5 Hz, což je pro potkana velmi nízká hodnota, i když se bere v úvahu případná bradykardie, kterou může propofol v klinických podmínkách způsobovat. Studie prováděné na izolovaných buňkách různých druhů včetně potkana většinou uvádí EC_{50} kolem 50 $\mu\text{mol/l}$ (Hamilton et al., 2000; Puttick a Terrar, 1992).

Zatím nepanuje obecná shoda na příčině poklesu síly kontrakce v důsledku působení propofolu. Bylo prokázáno, že ho nelze plně vysvětlit inhibicí vápníkového proudu I_{CaL} (Hamilton et al., 2000). Pravděpodobně zde hraje roli více faktorů ovlivňujících vápníkový metabolismus srdeční buňky. Příspěvajícím mechanismy mohou být změněná aktivita sodíko-vápníkového výměníku, pokles čerpání vápenatých iontů do sarkoplazmatického retikula nebo snížená citlivost kontraktálních bílkovin vůči vápníku (Hamilton et al., 2000; Sprung et al., 2001; Wickley et al., 2006, 2007).

Koncentrace propofolu, používaná k anestezii pacientů, se pohybuje v rozmezí 5-50 $\mu\text{mol/l}$. V lidské plazmě se propofol ve velké míře váže na albumin a erytrocyty, jeho volná frakce činí jen 1-5 % z celkové koncentrace, tedy 0,05-2,5 $\mu\text{mol/l}$ (Dawidowicz et al., 2008; Mazoit a Samii, 1999). Koncentrace propofolu použité v této práci byly vybrány s ohledem na hodnoty, při nichž jsou udávány významné změny ve funkci srdce (Grounds et al., 1985). Nicméně je lze stále považovat za klinicky relevantní, a to ze dvou důvodů. Za prvé, při úvodu anestezie může koncentrace volného propofolu až několikanásobně překročit hodnoty, jakých je dosaženo v ustáleném stavu při udržování anestezie (Bienert et al., 2012). Za druhé, volná frakce propofolu je navyšována přítomností dalších farmak, která se rovněž váží na albumin, konformační změnou molekuly albuminu nebo změnou koncentrace plazmatických proteinů, jež omezuje vazbu propofolu na albumin (Dawidowicz et al., 2008).

5 Závěr

5.1 Shrnutí výsledků dizertační práce

Předkládaná dizertační práce se zabývá analýzou elektrofyziologie myokardu při sepsi, acidóze a anestezii indukované propofolem. Její hlavní část je zaměřená na popis variability srdeční frekvence během rozvoje sepse, případně septického šoku u prasete domácího. Bylo zjištěno, že dochází k markantnímu snížení HRV, a to bez ohledu na stupeň závažnosti sepse. Stejně rychlý pokles byl pozorován jak u těžké sepse následované refrakterním šokem, tak u sepse bez těžkého multiorgánového selhání. Významné změny hemodynamických parametrů se navíc objevily až o několik hodin později. Analýza HRV by tak mohla představovat nástroj pro včasnou diagnostiku septických pacientů. Užití frekvenční analýzy HRV zároveň umožnilo popsat autonomní nervovou regulaci srdeční činnosti během sepse. Byl zjištěn výrazný pokles ve vysokofrekvenční komponentě spektrální výkonové hustoty, který ukazoval na snížení parasympatické aktivity a přesun sympatovagální rovnováhy ve prospěch sympatické regulace, což může souviset s konceptem cholinergní protizánětlivé dráhy (Tracey, 2007).

Druhá část této práce se věnuje sledování účinků hyperkapnické a metabolické acidózy na kardiovaskulární systém prasete, přičemž *in vivo* experimenty, zahrnující komplexní měření systémové i regionální hemodynamiky, byly doplněny o *in vitro* měření kontraktility a membránového napětí komorového myokardu. Zatímco MAC ovlivňovala především plicní oběh, HCA se projevovala i změnou systémových a regionálních hemodynamických parametrů. Oba typy acidózy snižovaly kontraktilitu srdečního svalů a kladly tak zvýšené nároky na jeho práci, což by mohlo představovat potenciální omezení v terapeutickém využití HCA.

V obou předchozích částech předkládané práce byl v rámci anestezie zvířat použit propofol. Studium jeho účinku na komorový myokard potkana se zabýval poslední díl práce. Nebyl sledován žádný vliv na tvar a trvání akčního napětí, ovšem byl zaznamenán statisticky významný pokles síly kontrakce. Koncentrace, při nichž se tento efekt projevil, ale řádově přesahovaly hodnoty, jakých bylo pravděpodobně

dosahováno během experimentů na septických a acidotických prasatech, a to i při úvodu do anestezie.

5.2 Cíle do budoucna

Téma sepse zůstává i nadále v centru pozornosti našeho vědeckého týmu v Laboratoři experimentální kardiologie Biomedicínského centra Lékařské fakulty v Plzni. V současnosti probíhají dokonce dvě studie zaměřené na léčebné postupy v boji proti tomuto onemocnění. První z nich, podpořená Agenturou pro zdravotnický výzkum České republiky (grant č. 15-32801A), se zabývá terapeutickým potenciálem mezenchymálních kmenových buněk v klinicky relevantním prasečím modelu sepse. Aplikace těchto buněk by mohla představovat naději pro septické pacienty. Nicméně studie, které popisovaly jejich příznivý účinek na vývoj sepse, byly prováděny pouze na hlodavcích. Je tedy třeba ověřit jejich působení na velkém zvířecím modelu. Analýza HRV bude v této studii použita jako nástroj k detailnímu sledování rozvoje sepse a případné optimalizaci velikosti dávky kmenových buněk a jejího načasování.

Další projekt financovaný Grantovou agenturou České republiky (grant č. 15-157) má za cíl testovat roli autonomního nervového systému v rozvoji sepse. Podle hypotézy představené profesorem Traceym (Tracey, 2007) je nervový systém schopen inhibovat uvolňování cytokinů díky zánětlivému reflexu bloudivého nervu a tím zabránit rozvoji sepse. Dosud publikované práce zaměřené na terapeutický potenciál cholinergní protizánětlivé dráhy, byly realizovány na myších a potkaních modelech. Testování stimulace vagu jako nové možnosti v léčbě sepse bude tedy nově provedeno na prasatech. Vzhledem k tomu, že HRV analýza poskytuje informaci o chování autonomního nervového systému, jeví se jako ideální prostředek ke sledování průběhu daných experimentů.

V rámci případného využití HRV analýzy jako nástroje k včasné diagnostice sepse představuje další logický krok translace experimentálních poznatků na klinickou úroveň. Zkoumání reálných patientských dat bude dalším krokem k implementaci analýzy HRV do klinické praxe. Na základě našich výsledků předpokládáme, že

nasazení analýzy HRV bude cenné zejména v časných fázích onemocnění, kdy sledování HRV může významně rozšířit okno pro časné terapeutické intervence. Velmi zajímavou a dosud nezkoumanou otázkou představuje chování HRV ve fázích zotavování a rekonvalescence ze septického onemocnění včetně pacientů s chronickým průběhem nemocí se zánětlivou a infekční etiologií.

6 Literatura

ADHIKARI, Neill K. J., Robert A. FOWLER, Satish BHAGWANJEE a Gordon D. RUBENFELD. Critical care and the global burden of critical illness in adults. *Lancet* [online]. 2010, **376**(9749), 1339–1346. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(10)60446-1.

AFONSO, V. X., W. J. TOMPKINS, T. Q. NGUYEN a Shen LUO. ECG beat detection using filter banks. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* [online]. 1999, **46**(2), 192–202. ISSN 0018-9294. Dostupné z: doi:10.1109/10.740882.

AHLSTROM, M. L. a W. J. TOMPKINS. Automated high-speed analysis of Holter tapes with microcomputers. *IEEE transactions on bio-medical engineering*. 1983, **30**(10), 651–657. ISSN 0018-9294.

AHMAD, Saif, Tim RAMSAY, Lothar HUEBSCH, Sarah FLANAGAN, Sheryl MCDIARMID, Izmail BATKIN, Lauralyn MCINTYRE, Sudhir R. SUNDARESAN, Donna E. MAZIAK, Farid M. SHAMJI, Paul HEBERT, Dean FERGUSON, Alan TINMOUTH a Andrew J E. SEELY. Continuous multi-parameter heart rate variability analysis heralds onset of sepsis in adults. *PLoS One* [online]. 2009, **4**(8), e6642. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0006642.

ACHARYA, U. Rajendra, P. Subbanna BHAT, S. Sitharama IYENGAR, Ashok RAO a Sumeet DUA. Classification of heart rate data using artificial neural network and fuzzy equivalence relation. *Pattern recognition*. 2003, **36**(1), 61–68.

ACHARYA U, Rajendra, N. KANNATHAL a S. M. KRISHNAN. Comprehensive analysis of cardiac health using heart rate signals. *Physiological Measurement*. 2004, **25**(5), 1139–1151. ISSN 0967-3334.

ACHARYA, U. Rajendra, K. PAUL JOSEPH, N. KANNATHAL, Choo Min LIM a Jasjit S. SURJ. Heart rate variability: a review. *Medical & Biological Engineering & Computing* [online]. 2006, **44**(12), 1031–1051. ISSN 0140-0118. Dostupné z: doi:10.1007/s11517-006-0119-0.

ALGHATRIF, Majd a Joseph LINDSAY. A brief review: history to understand fundamentals of electrocardiography. *Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives* [online]. 2012, **2**(1) [vid. 2017-05-01]. ISSN 2000-9666. Dostupné z: doi:10.3402/jchimp.v2i1.14383.

AMATO, M. B., C. S. BARBAS, D. M. MEDEIROS, R. B. MAGALDI, G. P. SCHETTINO, G. LORENZI-FILHO, R. A. KAIRALLA, D. DEHEINZELIN, C. MUNOZ, R. OLIVEIRA, T. Y. TAKAGAKI a C. R. CARVALHO. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *The New England Journal of Medicine* [online]. 1998, **338**(6), 347–354. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199802053380602.

ANDERSEN, M. N. a C. MOURITZEN. Effect of acute respiratory and metabolic acidosis on cardiac output and peripheral resistance. *Annals of Surgery*. 1966, **163**(2), 161–168. ISSN 0003-4932.

ARAB, Claudia, Daniel Penteado Martins DIAS, Renata Thaís de Almeida BARBOSA, Tatiana Dias de CARVALHO, Vitor Engrácia VALENTI, Tânia Brusque CROCETTA, Marcelo FERREIRA, Luiz Carlos de ABREU a Celso FERREIRA. Heart rate variability measure in breast cancer patients and survivors: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology* [online]. 2016, **68**, 57–68. ISSN 1873-3360. Dostupné z: doi:10.1016/j.psyneuen.2016.02.018.

ARONSON, D. a A. J. BURGER. Effect of beta-blockade on heart rate variability in decompensated heart failure. *International Journal of Cardiology*. 2001, **79**(1), 31–39. ISSN 0167-5273.

AUBERT, André E., Dirk RAMAEKERS, Frank BECKERS, Rik BREEM, Carl DENEFF, Frans VAN DE WERF a Hugo ECTOR. The analysis of heart rate variability in unrestrained rats. Validation of method and results. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* [online]. 1999, **60**(3), 197–213. ISSN 0169-2607. Dostupné z: doi:10.1016/S0169-2607(99)00017-6.

AXELROD, S., M. LISHNER, O. OZ, J. BERNHEIM a M. RAVID. Spectral analysis of fluctuations in heart rate: an objective evaluation of autonomic nervous control in chronic renal failure. *Nephron*. 1987, **45**(3), 202–206. ISSN 1660-8151.

AZUMA, M., C. MATSUMURA a O. KEMMOTSU. Inotropic and electrophysiologic effects of propofol and thiamylal in isolated papillary muscles of the guinea pig and the rat. *Anesthesia and Analgesia*. 1993, **77**(3), 557–563. ISSN 0003-2999.

BAHOURA, M., M. HASSANI a M. HUBIN. DSP implementation of wavelet transform for real time ECG wave forms detection and heart rate analysis. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 1997, **52**(1), 35–44. ISSN 0169-2607.

BALANOS, George M., Nicholas P. TALBOT, Keith L. DORRINGTON a Peter A. ROBBINS. Human pulmonary vascular response to 4 h of hypercapnia and hypocapnia measured using Doppler echocardiography. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* [online]. 2003, **94**(4), 1543–1551. ISSN 8750-7587. Dostupné z: doi:10.1152/jappphysiol.00890.2002.

BARBUTI, Andrea a Dario DIFRANCESCO. The ‘funny’ side of sepsis. *The Journal of Physiology* [online]. 2014, **592**(Pt 6), 1171. ISSN 0022-3751. Dostupné z: doi:10.1113/jphysiol.2014.271171.

BARER, G. R. a J. W. SHAW. Pulmonary vasodilator and vasoconstrictor actions of carbon dioxide. *The Journal of Physiology*. 1971, **213**(3), 633–645. ISSN 0022-3751.

BARNABY, Douglas, Kevin FERRICK, Daniel T. KAPLAN, Sachin SHAH, Polly BIJUR a E John GALLAGHER. Heart rate variability in emergency department patients with sepsis. *Acad Emerg Med*. 2002, **9**(7), 661–670.

BASELLI, G., S. CERUTTI, S. CIVARDI, F. LOMBARDI, A. MALLIANI, M. MERRI, M. PAGANI a G. RIZZO. Heart rate variability signal processing: a quantitative approach as an aid to diagnosis in cardiovascular pathologies. *International Journal of Bio-Medical Computing*. 1987, **20**(1-2), 51–70. ISSN 0020-7101.

BASSETT, Darryl. A literature review of heart rate variability in depressive and bipolar disorders. *The Australian and New Zealand Journal of Psychiatry* [online]. 2016, **50**(6), 511–519. ISSN 1440-1614. Dostupné z: doi:10.1177/0004867415622689.

BAUMERT, Mathias, Alberto PORTA, Marc A. VOS, Marek MALIK, Jean-Philippe COUDERC, Pablo LAGUNA, Gianfranco PICCIRILLO, Godfrey L. SMITH, Larisa G. TERESHCHENKO a Paul G. A. VOLDERS. QT interval variability in body surface ECG: measurement, physiological basis, and clinical value: position statement and consensus guidance endorsed by the European Heart Rhythm Association jointly with the ESC Working Group on Cardiac Cellular Electrophysiology. *Europace: European Pacing, Arrhythmias, and Cardiac Electrophysiology: Journal of the Working Groups on Cardiac Pacing, Arrhythmias, and Cardiac Cellular Electrophysiology of the European Society of Cardiology* [online]. 2016, **18**(6), 925–944. ISSN 1532-2092. Dostupné z: doi:10.1093/europace/euv405.

BERNTSON, G. G., J. T. BIGGER, D. L. ECKBERG, P. GROSSMAN, P. G. KAUFMANN, M. MALIK, H. N. NAGARAJA, S. W. PORGES, J. P. SAUL, P. H. STONE a M. W. VAN DER MOLEN. Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology*. 1997, **34**(6), 623–648. ISSN 0048-5772.

BERS, Donald M. Cardiac excitation–contraction coupling. *Nature* [online]. 2002, **415**(6868), 198–205. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/415198a.

BETTERMANN, H., M. KRÖZ, M. GIRKE a C. HECKMANN. Heart rate dynamics and cardiorespiratory coordination in diabetic and breast cancer patients. *Clinical Physiology* [online]. 2001, **21**(4), 411–420. ISSN 1365-2281. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2281.2001.00342.x.

BIANCHI, A. M., L. MAINARDI, E. PETRUCCI, M. G. SIGNORINI, M. MAINARDI a S. CERUTTI. Time-variant power spectrum analysis for the detection of transient episodes in HRV signal. *IEEE transactions on bio-medical engineering* [online]. 1993, **40**(2), 136–144. ISSN 0018-9294. Dostupné z: doi:10.1109/10.212067.

BIENERT, Agnieszka, Paweł WICZLING, Edmund GRZEŚKOWIAK, Jacek CYWIŃSKI a Krzysztof KUSZA. Potential pitfalls of propofol target controlled infusion delivery related to its pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacological reports: PR*. 2012, **64**(4), 782–795. ISSN 1734-1140.

BILLMAN, George E. Heart rate variability - a historical perspective. *Frontiers in Physiology* [online]. 2011, **2**, 86. ISSN 1664-042X. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2011.00086.

BILLMAN, George E. The LF/HF ratio does not accurately measure cardiac sympatho-vagal balance. *Frontiers in Physiology* [online]. 2013, **4**, 26. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2013.00026.

BISHOP, C. M. a G. HINTON. *Neural Networks for Pattern Recognition*. New York: Clarendon Press, 1995.

BOHANON, Fredrick J., Amy A. MRAZEK, Mohamed T. SHABANA, Sarah MIMS, Geetha L. RADHAKRISHNAN, George C. KRAMER a Ravi S. RADHAKRISHNAN. Heart rate variability analysis is more sensitive at identifying neonatal sepsis than conventional vital signs. *Am J Surg* [online]. 2015, **210**(4), 661–667. Dostupné z: doi:10.1016/j.amjsurg.2015.06.002.

BOROVIKOVA, L. V., S. IVANOVA, M. ZHANG, H. YANG, G. I. BOTCHKINA, L. R. WATKINS, H. WANG, N. ABUMRAD, J. W. EATON a K. J. TRACEY. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* [online]. 2000, **405**(6785), 458–462. Dostupné z: doi:10.1038/35013070.

BRAVI, Andrea, Geoffrey GREEN, André LONGTIN a Andrew J E. SEELY. Monitoring and identification of sepsis development through a composite measure of heart rate variability. *PLoS One* [online]. 2012, **7**(9), e45666. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0045666.

BROFMAN, J. D., A. R. LEFF, N. M. MUNOZ, C. KIRCHHOFF a S. R. WHITE. Sympathetic secretory response to hypercapnic acidosis in swine. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*. 1990, **69**(2), 710–717. ISSN 8750-7587.

BROWN, H. F., D. DIFRANCESCO a S. J. NOBLE. How does adrenaline accelerate the heart? *Nature*. 1979, **280**(5719), 235–236. ISSN 0028-0836.

BRYSON, H. M., B. R. FULTON a D. FAULDS. Propofol. An update of its use in anaesthesia and conscious sedation. *Drugs*. 1995, **50**(3), 513–559. ISSN 0012-6667.

BURR, Robert L. a Marie J. COWAN. Autoregressive spectral models of heart rate variability. *Journal of Electrocardiology* [online]. 1992, **25**, 224–233. ISSN 00220736. Dostupné z: doi:10.1016/0022-0736(92)90108-C.

BUTEAU, Stephane a Mark S. GOLDBERG. A structured review of panel studies used to investigate associations between ambient air pollution and heart rate variability. *Environmental Research* [online]. 2016, **148**, 207–247. ISSN 1096-0953. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2016.03.013.

CARDENAS, V. J., J. B. ZWISCHENBERGER, W. TAO, P. D. NGUYEN, T. SCHROEDER, L. D. TRABER, D. L. TRABER a A. BIDANI. Correction of blood pH attenuates changes in hemodynamics and organ blood flow during permissive hypercapnia. *Critical Care Medicine*. 1996, **24**(5), 827–834. ISSN 0090-3493.

CARMELIET, E. a J. VEREECKE. *Cardiac cellular electrophysiology*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2002. ISBN 978-1-4615-1715-3.

CARNES, C. A., W. W. MUIR a D. R. VAN WAGONER. Effect of intravenous anesthetics on inward rectifier potassium current in rat and human ventricular myocytes. *Anesthesiology*. 1997, **87**(2), 327–334. ISSN 0003-3022.

COLAK, Omer H. Preprocessing effects in time–frequency distributions and spectral analysis of heart rate variability. *Digital Signal Processing*. 2009, **19**(4), 731–739.

COOLEY, James W. a John W. TUKEY. An algorithm for the machine calculation of complex Fourier series. *Mathematics of computation*. 1965, **19**(90), 297–301.

CULLEN, D. J. a E. I. EGER. Cardiovascular effects of carbon dioxide in man. *Anesthesiology*. 1974, **41**(4), 345–349. ISSN 0003-3022.

CURLEY, Gerard, Maya M. B. CONTRERAS, Alistair D. NICHOL, Brendan D. HIGGINS a John G. LAFFEY. Hypercapnia and acidosis in sepsis: a double-edged sword? *Anesthesiology* [online]. 2010, **112**(2), 462–472. ISSN 1528-1175. Dostupné z: doi:10.1097/ALN.0b013e3181ca361f.

DAWIDOWICZ, Andrzej L., Mateusz KOBIELSKI a Jaroslaw PIENIADZ. Anomalous relationship between free drug fraction and its total concentration in drug-protein systems I. Investigation of propofol binding in model HSA solution. *Eur J Pharm Sci* [online]. 2008, **34**(1), 30–36. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejps.2008.02.004.

DE SOUZA, Ana Ca, José R. CISTERNAS, Luiz Carlos DE ABREU, Adriano L. ROQUE, Carlos Bm MONTEIRO, Fernando ADAMI, Luiz Carlos M. VANDERLEI, Fernando H. SOUSA, Lucas L. FERREIRA a Vitor E. VALENTI. Fractal correlation property of heart rate variability in response to the postural change maneuver in healthy women. *International Archives of Medicine* [online]. 2014, **7**, 25. Dostupné z: doi:10.1186/1755-7682-7-25.

DIFRANCESCO, D. Pacemaker mechanisms in cardiac tissue. *Annual Review of Physiology* [online]. 1993, **55**, 455–472. ISSN 0066-4278. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.ph.55.030193.002323.

DIFRANCESCO, D. a C. TROMBA. Acetylcholine inhibits activation of the cardiac hyperpolarizing-activated current, if. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*. 1987, **410**(1-2), 139–142. ISSN 0031-6768.

DONG, Ying a Christian P. SPEER. Late-onset neonatal sepsis: recent developments. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition* [online]. 2015, **100**(3), F257–F263. ISSN 1359-2998. Dostupné z: doi:10.1136/archdischild-2014-306213.

DUROSIER, Lucien D., Christophe L. HERRY, Marina CORTES, Mingju CAO, Patrick BURNS, André DESROCHERS, Gilles FECTEAU, Andrew J E. SEELY a Martin G. FRASCH. Does heart rate variability reflect the systemic inflammatory response in a fetal sheep model of lipopolysaccharide-induced sepsis? *Physiol*

Meas [online]. 2015, **36**(10), 2089–2102. Dostupné z: doi:10.1088/0967-3334/36/10/2089.

EINTHOVEN, W. Ueber die Form des menschlichen Electrocardiogramms. *Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere* [online]. 1895, **60**(3-4), 101–123. ISSN 0365-267x, 1432-2013. Dostupné z: doi:10.1007/BF01662582.

ELLENBY, M. S., J. MCNAMES, S. LAI, B. A. MCDONALD, D. KRIEGER, R. J. SCLABASSI a B. GOLDSTEIN. Uncoupling and recoupling of autonomic regulation of the heart beat in pediatric septic shock. *Shock*. 2001, **16**(4), 274–277.

ELLIS, Robert J., Bilei ZHU, Julian KOENIG, Julian F. THAYER a Ye WANG. A careful look at ECG sampling frequency and R-peak interpolation on short-term measures of heart rate variability. *Physiological Measurement* [online]. 2015, **36**(9), 1827–1852. ISSN 1361-6579. Dostupné z: doi:10.1088/0967-3334/36/9/1827.

EPPINGER, Hans, Leo HESS, Walter Max KRAUS a Smith Ely JELLIFFE. *Vagotonia; a clinical study in vegetative neurology* [online]. B.m.: New York, The Nervous and Mental Disease Publishing Company, 1915 [vid. 2017-05-01]. Dostupné z: <http://archive.org/details/vagotoniacclinic00eppi>.

FABIATO, A. a F. FABATO. Effects of pH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from cardiac and skeletal muscles. *The Journal of Physiology*. 1978, **276**, 233–255. ISSN 0022-3751.

FAIX, James D. Biomarkers of sepsis. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* [online]. 2013, **50**(1), 23–36. ISSN 1549-781X. Dostupné z: doi:10.3109/10408363.2013.764490.

FERREIRA, Maycon Jr, Angelina ZANESCO, Maycon Jr FERREIRA a Angelina ZANESCO. Heart rate variability as important approach for assessment autonomic modulation. *Motriz: Revista de Educação Física* [online]. 2016, **22**(2), 3–8. ISSN 1980-6574. Dostupné z: doi:10.1590/S1980-65742016000200001.

FONG, Y., L. L. MOLDAWER, M. MARANO, H. WEI, S. B. TATTER, R. H. CLARICK, U. SANTHANAM, D. SHERRIS, L. T. MAY a P. B. SEHGAL. Endotoxemia elicits increased circulating beta 2-IFN/IL-6 in man. *J Immunol*. 1989, **142**(7), 2321–2324.

FRIDERICIA, L. Die systolendauer im Elektrokardiogramm bei normalen menschen und bei herzkranken. *Acta Med Scand*. 1920, **53**, 469.

FRIESEN, G. M., T. C. JANNETT, M. A. JADALLAH, S. L. YATES, S. R. QUINT a H. T. NAGLE. A comparison of the noise sensitivity of nine QRS detection algorithms. *IEEE transactions on bio-medical engineering* [online]. 1990, **37**(1), 85–98. ISSN 0018-9294. Dostupné z: doi:10.1109/10.43620.

FUJII, H., J. E. ZEHR, T. MITSUYAMA, H. TAKAGI, Y. NAKASHIMA, K. SUNADA a R. KUSUKAWA. The influence of renal sympathetic nerves on renal hemodynamic and renin responses during hypercapnia in dogs. *Japanese Circulation Journal*. 1985, **49**(11), 1185–1189. ISSN 0047-1828.

FUNCK-BRENTANO, C. a P. JAILLON. Rate-corrected QT interval: techniques and limitations. *The American Journal of Cardiology*. 1993, **72**(6), 17B–22B. ISSN 0002-9149.

GANG, Yi a Marek MALIK. Heart rate variability in critical care medicine. *Curr Opin Crit Care*. 2002, **8**(5), 371–375.

GASKELL, W. H. On the Tonicity of the Heart and Blood Vessels. *The Journal of Physiology*. 1880, **3**(1), 48–92.16. ISSN 0022-3751.

GE, Dingfei, Narayanan SRINIVASAN a Shankar M. KRISHNAN. Cardiac arrhythmia classification using autoregressive modeling. *Biomedical Engineering Online*. 2002, **1**, 5. ISSN 1475-925X.

GODIN, P. J., L. A. FLEISHER, A. EIDSATH, R. W. VANDIVIER, H. L. PREAS, S. M. BANKS, T. G. BUCHMAN a A. F. SUFFREDINI. Experimental human endotoxemia increases cardiac regularity: results from a prospective, randomized, crossover trial. *Crit Care Med*. 1996, **24**(7), 1117–1124.

GOLDBERGER, E. A simple, indifferent, electrocardiographic electrode of zero potential and a technique of obtaining augmented, unipolar, extremity leads. *Am Heart J.* 1942, **23**(4), 483–492.

GOLDSTEIN, B., M. H. KEMPSKI, D. STAIR, R. B. TIPTON, D. DEKING, D. J. DELONG, R. DEASLA, C. COX, N. LUND a P. D. WOOLF. Autonomic modulation of heart rate variability during endotoxin shock in rabbits. *Crit Care Med.* 1995, **23**(10), 1694–1702.

GRIFFIN, M Pamela, Douglas E. LAKE, Eric A. BISSONETTE, Frank E HARRELL Jr, T Michael O'SHEA a J Randall MOORMAN. Heart rate characteristics: novel physiomarkers to predict neonatal infection and death. *Pediatrics* [online]. 2005, **116**(5), 1070–1074. Dostupné z: doi:10.1542/peds.2004-2461.

GRIFFIN, M. Pamela, Douglas E. LAKE, T. Michael O'SHEA a J. Randall MOORMAN. Heart rate characteristics and clinical signs in neonatal sepsis. *Pediatr Res* [online]. 2007a, **61**(2), 222–227. Dostupné z: doi:10.1203/01.pdr.0000252438.65759.af

GRIFFIN, M. Pamela, Douglas E. LAKE, T. Michael O'SHEA aj. Randall MOORMAN. Heart rate characteristics and clinical signs in neonatal sepsis. *Pediatr Res* [online]. 2007b, **61**(2), 222–227. Dostupné z: doi:10.1203/01.pdr.0000252438.65759.af.

GRIFFIN, M. Pamela, T. Michael O'SHEA, Eric A. BISSONETTE, Frank E. HARRELL Jr, Douglas E. LAKE a J Randall MOORMAN. Abnormal heart rate characteristics are associated with neonatal mortality. *Pediatr Res* [online]. 2004, **55**(5), 782–788. Dostupné z: doi:10.1203/01.PDR.0000119366.21770.9E.

GRIFFIN, M. Pamela, T. Michael O'SHEA, Eric A. BISSONETTE, Frank E. HARRELL Jr, Douglas E. LAKE a J Randall MOORMAN. Abnormal heart rate characteristics preceding neonatal sepsis and sepsis-like illness. *Pediatr Res* [online]. 2003, **53**(6), 920–926. Dostupné z: doi:10.1203/01.PDR.0000064904.05313.D2.

GRIFFIN, M. P. a J. R. MOORMAN. Toward the early diagnosis of neonatal sepsis and sepsis-like illness using novel heart rate analysis. *Pediatrics*. 2001, **107**(1), 97–104.

GROUNDS, R. M., A. J. TWIGLEY, F. CARLI, J. G. WHITWAM a M. MORGAN. The haemodynamic effects of intravenous induction. Comparison of the effects of thiopentone and propofol. *Anaesthesia*. 1985, **40**(8), 735–740. ISSN 0003-2409.

GÜNTHER, A., O. W. WITTE a D. HOYER. Autonomic dysfunction and risk stratification assessed from heart rate pattern. *Open Neurol J* [online]. 2010, **4**, 39–49. Dostupné z: doi:10.2174/1874205X01004010039.

HALES, Stephen. *Statical Essays: Containing Haemastaticks: Or, an Account of Some Hydraulick and Hydrostatical Experiments Made on the Blood and Blood Vessels of Animals*. London: W. Innys a R. Manby, 1733.

HAMILTON, D. L., M. R. BOYETT, S. M. HARRISON, L. A. DAVIES a P. M. HOPKINS. The concentration-dependent effects of propofol on rat ventricular myocytes. *Anesth Analg*. 2000, **91**(2), 276–282.

HARTZELL, H. C. Regulation of cardiac ion channels by catecholamines, acetylcholine and second messenger systems. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 1988, **52**(3), 165–247. ISSN 0079-6107.

HAUNSTETTER, Armin, Babette SCHULZE ICKING, Johannes BACKS, Carsten KRÜGER a Markus HAASS. Differential effects of acidosis, high potassium concentrations, and metabolic inhibition on noradrenaline release and its presynaptic muscarinic regulation. *Pharmacological Research* [online]. 2002, **45**(3), 221–228. ISSN 1043-6618. Dostupné z: doi:10.1006/phrs.2001.0943.

HAYANO, J., H. TAKAHASHI, T. TORIYAMA, S. MUKAI, A. OKADA, S. SAKATA, A. YAMADA, N. OHTE a H. KAWAHARA. Prognostic value of heart rate variability during long-term follow-up in chronic haemodialysis patients with end-stage renal disease. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 1999, **14**(6), 1480–1488. ISSN 0931-0509.

HICKLING, K. G., J. WALSH, S. HENDERSON a R. JACKSON. Low mortality rate in adult respiratory distress syndrome using low-volume, pressure-limited ventilation with permissive hypercapnia: a prospective study. *Critical Care Medicine*. 1994, **22**(10), 1568–1578. ISSN 0090-3493.

HINTERSEER, Martin, Morten B. THOMSEN, Britt-Maria BECKMANN, Arne PFEUFER, Rainer SCHIMPF, H-Erich WICHMANN, Gerhard STEINBECK, Marc A. VOS a Stefan KAAB. Beat-to-beat variability of QT intervals is increased in patients with drug-induced long-QT syndrome: a case control pilot study. *Eur Heart J* [online]. 2008, **29**(2), 185–190. Dostupné z: doi:10.1093/eurheartj/ehm586.

HOLTER, N. J. New method for heart studies. *Science (New York, N.Y.)*. 1961, **134**(3486), 1214–1220. ISSN 0036-8075.

HON, E. H. a S. T. LEE. Electronic Evalutaion of the Fetal Heart Rate. VIII. Patterns Preceding Fetal Death, Further Observatoins. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1963, **87**, 814–826. ISSN 0002-9378.

HOOVER, Donald B., Tammy R. OZMENT, Robert WONDERGEM, Chuanfu LI a David L. WILLIAMS. Impaired heart rate regulation and depression of cardiac chronotropic and dromotropic function in polymicrobial sepsis. *Shock* [online]. 2015, **43**(2), 185–191. Dostupné z: doi:10.1097/SHK.0000000000000272.

HUANG, Jian, Yaoli WANG, Dongbo JIANG, Jian ZHOU a Xiankai HUANG. The sympathetic-vagal balance against endotoxemia. *J Neural Transm* [online]. 2010, **117**(6), 729–735. Dostupné z: doi:10.1007/s00702-010-0407-6.

CHEN, Wei-Lung, Jiann-Hwa CHEN, Chien-Cheng HUANG, Cheng-Deng KUO, Chun-I. HUANG a Liang-Shong LEE. Heart rate variability measures as predictors of in-hospital mortality in ED patients with sepsis. *Am J Emerg Med* [online]. 2008, **26**(4), 395–401. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajem.2007.06.016.

CHEN, Wei-Lung a Cheng-Deng KUO. Characteristics of heart rate variability can predict impending septic shock in emergency department patients with sepsis.

Acad Emerg Med [online]. 2007, **14**(5), 392–397. Dostupné z: doi:10.1197/j.aem.2006.12.015.

CHRISTINI, D. J., A. KULKARNI, S. RAO, E. R. STUTMAN, F. M. BENNETT, J. M. HAUSDORFF, N. ORIOL a K. R. LUTCHEN. Uncertainty of AR spectral estimates. In: *Computers in Cardiology 1993, Proceedings.: Computers in Cardiology 1993, Proceedings.* [online]. s. 451–454. Dostupné z: doi:10.1109/CIC.1993.378406.

IJLAND, Marloes M., Leo M. HEUNKS a Johannes G. VAN DER HOEVEN. Bench-to-bedside review: hypercapnic acidosis in lung injury--from „permissive" to „therapeutic". *Critical Care (London, England)* [online]. 2010, **14**(6), 237. ISSN 1466-609X. Dostupné z: doi:10.1186/cc9238.

JIANG, Xiao-ling, Zheng-gang ZHANG, Yuanyuan CHEN, Cui-Ping YE, Ying LEI, Lei WU, Ying ZHANG a Zhong-ju XIAO. A blunted sympathetic and accentuated parasympathetic response to postural change in subjects with depressive disorders. *Journal of Affective Disorders* [online]. 2015, **175**, 269–274. ISSN 1573-2517. Dostupné z: doi:10.1016/j.jad.2015.01.009.

KAMEN, P. W., H. KRUM a A. M. TONKIN. Poincaré plot of heart rate variability allows quantitative display of parasympathetic nervous activity in humans. *Clinical Science (London, England: 1979)*. 1996, **91**(2), 201–208. ISSN 0143-5221.

KARLSSON, Marcus, Rolf HÖRNSTEN, Annika RYDBERG a Urban WIKLUND. Automatic filtering of outliers in RR intervals before analysis of heart rate variability in Holter recordings: a comparison with carefully edited data. *Biomed Eng Online* [online]. 2012, **11**, 2. Dostupné z: doi:10.1186/1475-925X-11-2.

KEMP, Andrew H., Daniel S. QUINTANA, Kim L. FELMINGHAM, Slade MATTHEWS a Herbert F. JELINEK. Depression, comorbid anxiety disorders, and heart rate variability in physically healthy, unmedicated patients: implications for cardiovascular risk. *PloS One* [online]. 2012, **7**(2), e30777. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0030777.

KEMP, Andrew H., Daniel S. QUINTANA, Marcus A. GRAY, Kim L. FELMINGHAM, Kerri BROWN a Justine M. GATT. Impact of depression and antidepressant treatment on heart rate variability: a review and meta-analysis. *Biological Psychiatry* [online]. 2010, **67**(11), 1067–1074. ISSN 1873-2402. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopsych.2009.12.012.

KESELBRENER, L., M. KESELBRENER a S. AKSELROD. Nonlinear high pass filter for R-wave detection in ECG signal. *Medical Engineering & Physics*. 1997, **19**(5), 481–484. ISSN 1350-4533.

KETABCHI, Farzaneh, Bakytbek EGEMNAZAROV, Ralph T. SCHERMULY, Hossein A. GHOFrani, Werner SEEGER, Friedrich GRIMMINGER, Mostafa SHID-MOOSAVI, Gholam A. DEGHANI, Norbert WEISSMANN a Natascha SOMMER. Effects of hypercapnia with and without acidosis on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* [online]. 2009, **297**(5), L977–983. ISSN 1522-1504. Dostupné z: doi:10.1152/ajplung.00074.2009.

KHANDOKER, Ahsan H., Mohammad Hasan IMAM, Jean-Philippe COUDERC, Marimuthu PALANISWAMI a Herbert F. JELINEK. QT variability index changes with severity of cardiovascular autonomic neuropathy. *IEEE transactions on information technology in biomedicine: a publication of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society* [online]. 2012, **16**(5), 900–906. ISSN 1558-0032. Dostupné z: doi:10.1109/TITB.2012.2205010.

KLEIGER, Robert E., Phyllis K. STEIN a J. Thomas BIGGER. Heart rate variability: measurement and clinical utility. *Annals of Noninvasive Electrocardiology: The Official Journal of the International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology, Inc* [online]. 2005, **10**(1), 88–101. ISSN 1082-720X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1542-474X.2005.10101.x.

KLÖCKNER, Udo, Uwe RUECKSCHLOSS, Claudia GROSSMANN, Saskia MATZAT, Katja SCHUMANN, Henning EBELT, Ursula MÜLLER-WERDAN, Harald LOPPNOW, Karl WERDAN a Michael GEKLE. Inhibition of cardiac pacemaker channel hHCN2 depends on intercalation of lipopolysaccharide into

channel-containing membrane microdomains. *J Physiol* [online]. 2014, **592**(Pt 6), 1199–1211. Dostupné z: doi:10.1113/jphysiol.2013.268540.

KÖHLER, Bert-Uwe, Carsten HENNIG a Reinhold ORGLMEISTER. The principles of software QRS detection. *IEEE engineering in medicine and biology magazine: the quarterly magazine of the Engineering in Medicine & Biology Society*. 2002, **21**(1), 42–57. ISSN 0739-5175.

KOHLHARDT, M., H. R. FIGULLA a O. TRIPATHI. The slow membrane channel as the predominant mediator of the excitation process of the sinoatrial pacemaker cell. *Basic Research in Cardiology*. 1976, **71**(1), 17–26. ISSN 0300-8428.

KOHMOTO, O., K. W. SPITZER, M. A. MOVSESIAN a W. H. BARRY. Effects of intracellular acidosis on $[Ca^{2+}]_i$ transients, transsarcolemmal Ca^{2+} fluxes, and contraction in ventricular myocytes. *Circulation Research*. 1990, **66**(3), 622–632. ISSN 0009-7330.

KONTOPOULOS, A. G., V. G. ATHYROS, A. A. PAPAGEORGIU, V. M. SKEBERIS, E. C. BASAYIANNIS a H. BOUDOULAS. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on the power spectrum of heart rate variability in post-myocardial infarction patients. *Coronary Artery Disease*. 1997, **8**(8-9), 517–524. ISSN 0954-6928.

KORACH, M., T. SHARSHAR, I. JARRIN, J. P. FOUILLOT, J. C. RAPHAËL, P. GAJDOS a D. ANNANE. Cardiac variability in critically ill adults: influence of sepsis. *Crit Care Med*. 2001, **29**(7), 1380–1385.

KRAJČOVÁ, Adéla, Petr WALDAUF, Michal ANDĚL a František DUŠKA. Propofol infusion syndrome: a structured review of experimental studies and 153 published case reports. *Critical Care (London, England)* [online]. 2015, **19**, 398. ISSN 1466-609X. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-015-1112-5.

KUMAR, Anand, Daniel ROBERTS, Kenneth E. WOOD, Bruce LIGHT, Joseph E. PARRILLO, Satendra SHARMA, Robert SUPPES, Daniel FEINSTEIN, Sergio ZANOTTI, Leo TAIBERG, David GURKA, Aseem KUMAR a Mary CHEANG. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the

critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* [online]. 2006, **34**(6), 1589–1596. Dostupné z: doi:10.1097/01.CCM.0000217961.75225.E9.

KUNKEL, M. T. a E. G. PERALTA. Identification of domains conferring G protein regulation on inward rectifier potassium channels. *Cell*. 1995, **83**(3), 443–449. ISSN 0092-8674.

LAFHEY, J. G., D. ENGELBERTS a B. P. KAVANAGH. Buffering hypercapnic acidosis worsens acute lung injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. 2000, **161**(1), 141–146. ISSN 1073-449X. Dostupné z: doi:10.1164/ajrccm.161.1.9905080.

LAFHEY, John G., Donall O’CROININ, Paul MCLOUGHLIN a Brian P. KAVANAGH. Permissive hypercapnia--role in protective lung ventilatory strategies. *Intensive Care Medicine* [online]. 2004, **30**(3), 347–356. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-003-2051-1.

LAGUNA, P., G. B. MOODY a R. G. MARK. Power spectral density of unevenly sampled data by least-square analysis: performance and application to heart rate signals. *IEEE transactions on bio-medical engineering* [online]. 1998, **45**(6), 698–715. ISSN 0018-9294. Dostupné z: doi:10.1109/10.678605.

LA ROVERE, Rovere, Jr. BIGGER, F. I. MARCUS, A. MORTARA a P. J. SCHWARTZ. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. *Lancet* [online]. 1998, **351**(9101), 478–484. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(97)11144-8.

LEE, Young-Seon, Minki HWANG, Jun-Seop SONG, Changyong LI, Boyoung JOUNG, Eric A. SOBIE a Hui-Nam PAK. The Contribution of Ionic Currents to Rate-Dependent Action Potential Duration and Pattern of Reentry in a Mathematical Model of Human Atrial Fibrillation. *PloS One* [online]. 2016, **11**(3), e0150779. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0150779.

LEFFLER, C. T., J. P. SAUL a R. J. COHEN. Rate-related and autonomic effects on atrioventricular conduction assessed through beat-to-beat PR interval and cycle

length variability. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 1994, **5**(1), 2–15. ISSN 1045-3873.

LI, C., C. ZHENG a C. TAI. Detection of ECG characteristic points using wavelet transforms. *IEEE transactions on bio-medical engineering*. 1995, **42**(1), 21–28. ISSN 0018-9294.

LI, G., A. F. MARTIN a R. J. SOLARO. Localization of regions of troponin I important in deactivation of cardiac myofilaments by acidic pH. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* [online]. 2001, **33**(7), 1309–1320. ISSN 0022-2828. Dostupné z: doi:10.1006/jmcc.2000.1392.

LING, G. a R. W. GERARD. The normal membrane potential of frog sartorius fibers. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*. 1949, **34**(3), 383–396. ISSN 0095-9898.

LIPPMAN, N., K. M. STEIN a B. B. LERMAN. Comparison of methods for removal of ectopy in measurement of heart rate variability. *Am J Physiol*. 1994, **267**(1 Pt 2), H411–H418.

LIU, Yen-Ching, Ya-Jean WANG a Sheng-Nan WU. The mechanisms of propofol-induced block on ion currents in differentiated H9c2 cardiac cells. *European Journal of Pharmacology* [online]. 2008, **590**(1-3), 93–98. ISSN 0014-2999. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejphar.2008.05.040.

LOMB, Nicholas R. Least-squares frequency analysis of unequally spaced data. *Astrophysics and space science*. 1976, **39**(2), 447–462.

LUDWIG, Carl. Beiträge zur Kenntniss des Einflusses der Respirationsbewegungen auf den Blutlauf im Aortensystem. *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin*. 1847, **1847**(13), 242–302.

MALIK, M., T. FARRELL, T. CRIPPS a A. J. CAMM. Heart rate variability in relation to prognosis after myocardial infarction: selection of optimal processing techniques. *European Heart Journal*. 1989, **10**(12), 1060–1074. ISSN 0195-668X.

MALPAS, S. C. a G. L. PURDIE. Circadian variation of heart rate variability. *Cardiovascular Research*. 1990, **24**(3), 210–213. ISSN 0008-6363.

MALPAS, S. C., E. A. WHITESIDE a T. J. MALING. Heart rate variability and cardiac autonomic function in men with chronic alcohol dependence. *British Heart Journal*. 1991, **65**(2), 84–88. ISSN 0007-0769.

MARTIN, Greg S., David M. MANNINO, Stephanie EATON a Marc MOSS. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* [online]. 2003, **348**(16), 1546–1554. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa022139.

MATCHETT, Gerald a Philip WOOD. General anesthesia suppresses normal heart rate variability in humans. *Chaos (Woodbury, N.Y.)* [online]. 2014, **24**(2), 023129. ISSN 1089-7682. Dostupné z: doi:10.1063/1.4882395.

MATTEUCCI, C. Sur un phenomene physiologique produit par les muscles en contraction. *Ann Chim Phys*. 1842, **6**, 339–341.

MAZOIT, Jean Xavier a Kamran SAMII. Binding of propofol to blood components: implications for pharmacokinetics and for pharmacodynamics. *British Journal of Clinical Pharmacology* [online]. 1999, **47**(1), 35–42. ISSN 0306-5251. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2125.1999.00860.x.

MAZZEO, Anna Teresa, E. LA MONACA, R. DI LEO, G. VITA a L. B. SANTAMARIA. Heart rate variability: a diagnostic and prognostic tool in anesthesia and intensive care. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* [online]. 2011, **55**(7), 797–811. ISSN 1399-6576. Dostupné z: doi:10.1111/j.1399-6576.2011.02466.x.

MONTAQUILA, Julian M., Benjamin J. TRACHIK a Jeffrey S. BEDWELL. Heart rate variability and vagal tone in schizophrenia: A review. *Journal of Psychiatric Research* [online]. 2015, **69**, 57–66. ISSN 1879-1379. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpsychires.2015.07.025.

MOODITHAYA, Shailaja a Sandhya T. AVADHANY. Gender differences in age-related changes in cardiac autonomic nervous function. *Journal of Aging Research* [online]. 2012, **2012**, 679345. ISSN 2090-2212. Dostupné z: doi:10.1155/2012/679345.

MOORMAN, Joseph Randall, Waldemar A. CARLO, John KATTWINKEL, Robert L. SCHELONKA, Peter J. PORCELLI, Christina T. NAVARRETE, Eduardo BANCALARI, Judy L. ASCHNER, Marshall WHIT WALKER, Jose A. PEREZ, Charles PALMER, George J. STUKENBORG, Douglas E. LAKE a Thomas MICHAEL O'SHEA. Mortality reduction by heart rate characteristic monitoring in very low birth weight neonates: a randomized trial. *The Journal of Pediatrics* [online]. 2011, **159**(6), 900–906.e1. ISSN 1097-6833. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpeds.2011.06.044.

MURRAY, A., D. J. EWING, I. W. CAMPBELL, J. M. NEILSON a B. F. CLARKE. RR interval variations in young male diabetics. *British Heart Journal*. 1975, **37**(8), 882–885. ISSN 0007-0769.

NEHER, E., B. SAKMANN a J. H. STEINBACH. The extracellular patch clamp: a method for resolving currents through individual open channels in biological membranes. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*. 1978, **375**(2), 219–228. ISSN 0031-6768.

NIEMELÄ, M. J., K. E. AIRAKSINEN a H. V. HUIKURI. Effect of beta-blockade on heart rate variability in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 1994, **23**(6), 1370–1377. ISSN 0735-1097.

OGURA, Chika, Koh ONO, Shoichi MIYAMOTO, Akiko IKAI, Satoko MITANI, Naozo SUGIMOTO, Shiro TANAKA a Masatoshi FUJITA. L/T-type and L/N-type calcium-channel blockers attenuate cardiac sympathetic nerve activity in patients with hypertension. *Blood Pressure* [online]. 2012, **21**(6), 367–371. ISSN 1651-1999. Dostupné z: doi:10.3109/08037051.2012.694200.

OLIVEIRA, Nórton Luís, Fernando RIBEIRO, Alberto Jorge ALVES, Madalena TEIXEIRA, Fátima MIRANDA a José OLIVEIRA. Heart rate variability in

myocardial infarction patients: effects of exercise training. *Revista Portuguesa De Cardiologia: Orgao Oficial Da Sociedade Portuguesa De Cardiologia = Portuguese Journal of Cardiology: An Official Journal of the Portuguese Society of Cardiology* [online]. 2013, **32**(9), 687–700. ISSN 2174-2030. Dostupné z: doi:10.1016/j.repc.2013.02.010.

ORCHARD, C. H. a J. C. KENTISH. Effects of changes of pH on the contractile function of cardiac muscle. *The American Journal of Physiology*. 1990, **258**(6 Pt 1), C967–981. ISSN 0002-9513.

OSUCHOWSKI, Marcin F., Kathy WELCH, Huan YANG, Javed SIDDIQUI a Daniel G. REMICK. Chronic sepsis mortality characterized by an individualized inflammatory response. *J Immunol*. 2007, **179**(1), 623–630.

PAGANI, M., F. LOMBARDI, S. GUZZETTI, G. SANDRONE, O. RIMOLDI, G. MALFATTO, S. CERUTTI a A. MALLIANI. Power spectral density of heart rate variability as an index of sympatho-vagal interaction in normal and hypertensive subjects. *Journal of Hypertension. Supplement: Official Journal of the International Society of Hypertension*. 1984, **2**(3), S383–385. ISSN 0952-1178.

PAN, J. a W. J. TOMPKINS. A real-time QRS detection algorithm. *IEEE transactions on bio-medical engineering* [online]. 1985, **32**(3), 230–236. ISSN 0018-9294. Dostupné z: doi:10.1109/TBME.1985.325532.

PAPAIOANNOU, Vasilios E., Christos DRAGOUMANIS, Vasiliki THEODOROU, Christos GARGARETAS a Ioannis PNEUMATIKOS. Relation of heart rate variability to serum levels of C-reactive protein, interleukin 6, and 10 in patients with sepsis and septic shock. *J Crit Care* [online]. 2009, **24**(4), 625.e1–625.e7. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcrc.2008.11.010.

PAPAIOANNOU, Vasilios E., Arie O. VERKERK, Ahmed S. AMIN a Jaques M. T. DE BAKKER. Intracardiac origin of heart rate variability, pacemaker funny current and their possible association with critical illness. *Curr Cardiol Rev*. 2013, **9**(1), 82–96.

PARK, C. O., X. H. XIAO a D. G. ALLEN. Changes in intracellular Na⁺ and pH in rat heart during ischemia: role of Na⁺/H⁺ exchanger. *The American Journal of Physiology*. 1999, **276**(5 Pt 2), H1581–1590. ISSN 0002-9513.

PELTOLA, Mirja A. Role of editing of R-R intervals in the analysis of heart rate variability. *Frontiers in Physiology* [online]. 2012, **3**, 148. ISSN 1664-042X. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2012.00148.

PENG, C. K., S. HAVLIN, H. E. STANLEY a A. L. GOLDBERGER. Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. *Chaos (Woodbury, N.Y.)* [online]. 1995, **5**(1), 82–87. ISSN 1054-1500. Dostupné z: doi:10.1063/1.166141.

PIERRAKOS, Charalampos a Jean-Louis VINCENT. Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care (London, England)* [online]. 2010, **14**(1), R15. ISSN 1466-609X. Dostupné z: doi:10.1186/cc8872.

PINCUS, S. M. Approximate entropy as a measure of system complexity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1991, **88**(6), 2297–2301. ISSN 0027-8424.

PINCUS, S. M. a R. R. VISCARELLO. Approximate entropy: a regularity measure for fetal heart rate analysis. *Obstetrics and Gynecology*. 1992, **79**(2), 249–255. ISSN 0029-7844.

PONTET, Julio, Paola CONTRERAS, Andrea CURBELO, Julio MEDINA, Sylvia NOVERI, Solveig BENTANCOURT a Eduardo R. MIGLIARO. Heart rate variability as early marker of multiple organ dysfunction syndrome in septic patients. *Journal of Critical Care*. 2003, **18**(3), 156–163. ISSN 0883-9441.

POPE, C. A., D. J. EATOUGH, D. R. GOLD, Y. PANG, K. R. NIELSEN, P. NATH, R. L. VERRIER a R. E. KANNER. Acute exposure to environmental tobacco smoke and heart rate variability. *Environmental Health Perspectives*. 2001, **109**(7), 711–716. ISSN 0091-6765.

PORTA, A., G. BASELLI, F. LAMBARDI, S. CERUTTI, R. ANTOLINI, M. DEL GRECO, F. RAVELLI a G. NOLLO. Performance assessment of standard algorithms for dynamic RT interval measurement: comparison between R-Tapex and R-Tend approach. *Medical and Biological Engineering and Computing*. 1998, **36**(1), 35–42.

PORTA, Alberto, Giulia GIRARDENGO, Vlasta BARI, Alfred L GEORGE Jr, Paul A. BRINK, Althea GOOSEN, Lia CROTTI a Peter J. SCHWARTZ. Autonomic control of heart rate and QT interval variability influences arrhythmic risk in long QT syndrome type 1. *J Am Coll Cardiol* [online]. 2015, **65**(4), 367–374. Dostupné z: doi:10.1016/j.jacc.2014.11.015.

PRESS, William H. a George B. RYBICKI. Fast algorithm for spectral analysis of unevenly sampled data. *The Astrophysical Journal*. 1989, **338**, 277–280.

PUTTICK, R. M. a D. A. TERRAR. Effects of propofol and enflurane on action potentials, membrane currents and contraction of guinea-pig isolated ventricular myocytes. *British Journal of Pharmacology*. 1992, **107**(2), 559–565. ISSN 0007-1188.

RANPURIA, Reena, Martica HALL, Chris T. CHAN a Mark UNRUH. Heart rate variability (HRV) in kidney failure: measurement and consequences of reduced HRV. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* [online]. 2008, **23**(2), 444–449. ISSN 1460-2385. Dostupné z: doi:10.1093/ndt/gfm634.

RIVERS, E., B. NGUYEN, S. HAVSTAD, J. RESSLER, A. MUZZIN, B. KNOBLICH, E. PETERSON, M. TOMLANOVICH a Early Goal-Directed Therapy Collaborative Group. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2001, **345**(19), 1368–1377.

SACHA, Jerzy, Jacek SOBON, Krzysztof SACHA a Szymon BARABACH. Heart rate impact on the reproducibility of heart rate variability analysis. *Int J Cardiol* [online]. 2013, **168**(4), 4257–4259. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijcard.2013.04.160.

SALO, M. A., H. V. HUIKURI a T. SEPPÄNEN. Ectopic beats in heart rate variability analysis: effects of editing on time and frequency domain measures. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2001, **6**(1), 5–17.

SANDRONE, Giulia, Andrea MORTARA, Daniela TORZILLO, Maria Teresa LA ROVERE, Alberto MALLIANI a Federico LOMBARDI. Effects of beta blockers (atenolol or metoprolol) on heart rate variability after acute myocardial infarction. *The American Journal of Cardiology* [online]. 1994, **74**(4), 340–345. ISSN 0002-9149. Dostupné z: doi:10.1016/0002-9149(94)90400-6.

SATOH, H. a K. HASHIMOTO. Effect of pH on the sino-atrial node cells and atrial muscle of dog. *Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Thérapie.* 1983, **261**(1), 67–78. ISSN 0003-9780.

SATOH, H. a I. SEYAMA. On the mechanism by which changes in extracellular pH affect the electrical activity of the rabbit sino-atrial node. *The Journal of Physiology.* 1986, **381**, 181–191. ISSN 0022-3751.

SCARGLE, Jeffrey D. Studies in astronomical time series analysis. II-Statistical aspects of spectral analysis of unevenly spaced data. *The Astrophysical Journal.* 1982, **263**, 835–853.

SEELY, A. J. a N. V. CHRISTOU. Multiple organ dysfunction syndrome: exploring the paradigm of complex nonlinear systems. *Crit Care Med.* 2000, **28**(7), 2193–2200.

SEYFARTH, M., Y. FENG, S. HAGL, F. SEBENING, G. RICHARDT a A. SCHÖMIG. Effect of myocardial ischemia on stimulation-evoked noradrenaline release. Modulated neurotransmission in rat, guinea pig, and human cardiac tissue. *Circulation Research.* 1993, **73**(3), 496–502. ISSN 0009-7330.

SHAFFER, Fred, Rollin MCCRATY a Christopher L. ZERR. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Frontiers in Psychology* [online]. 2014, **5**, 1040. ISSN 1664-1078. Dostupné z: doi:10.3389/fpsyg.2014.01040.

SHIH, H. T. Anatomy of the action potential in the heart. *Texas Heart Institute Journal*. 1994, **21**(1), 30–41. ISSN 0730-2347.

SHUTT, Robin H., Lisa Marie KAURI, Scott WEICHENTHAL, Premkumari KUMARATHASAN, Renaud VINCENT, Errol M. THOMSON, Ling LIU, Mamun MAHMUD, Sabit CAKMAK a Robert DALES. Exposure to air pollution near a steel plant is associated with reduced heart rate variability: a randomised crossover study. *Environmental Health: A Global Access Science Source* [online]. 2017, **16**(1), 4. ISSN 1476-069X. Dostupné z: doi:10.1186/s12940-016-0206-0.

SCHOTTMÜLLER, Hugo. Wesen und Behandlung der Sepsis. *Inn. Med.* 1914, **31**, 257–280.

SINGER, Mervyn, Clifford S. DEUTSCHMAN, Christopher Warren SEYMOUR, Manu SHANKAR-HARI, Djillali ANNANE, Michael BAUER, Rinaldo BELLOMO, Gordon R. BERNARD, Jean-Daniel CHICHE, Craig M. COOPERSMITH, Richard S. HOTCHKISS, Mitchell M. LEVY, John C. MARSHALL, Greg S. MARTIN, Steven M. OPAL, Gordon D. RUBENFELD, Tom VAN DER POLL, Jean-Louis VINCENT a Derek C. ANGUS. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* [online]. 2016, **315**(8), 801–810. ISSN 1538-3598. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2016.0287.

SINGH, J. P., M. G. LARSON, C. J. O'DONNELL, P. F. WILSON, H. TSUJI, D. M. LLOYD-JONES a D. LEVY. Association of hyperglycemia with reduced heart rate variability (The Framingham Heart Study). *The American Journal of Cardiology*. 2000, **86**(3), 309–312. ISSN 0002-9149.

SOLARO, R. J., S. C. EL-SALEH a J. C. KENTISH. Ca²⁺, pH and the regulation of cardiac myofilament force and ATPase activity. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1989, **89**(2), 163–167. ISSN 0300-8177.

SPRUNG, J., M. L. OGLETREE-HUGHES, B. K. MCCONNELL, D. R. ZAKHARY, S. M. SMOLSKY a C. S. MORAVEC. The effects of propofol on the contractility of failing and nonfailing human heart muscles. *Anesthesia and Analgesia*. 2001, **93**(3), 550–559. ISSN 0003-2999.

STORCK, N., M. ERICSON, L. LINDBLAD a M. JENSEN-URSTAD. Automatic computerized analysis of heart rate variability with digital filtering of ectopic beats. *Clin Physiol*. 2001, **21**(1), 15–24.

TANG, W. C., M. H. WEIL, R. J. GAZMURI, J. BISERA a E. C. RACKOW. Reversible impairment of myocardial contractility due to hypercarbic acidosis in the isolated perfused rat heart. *Critical Care Medicine*. 1991, **19**(2), 218–224. ISSN 0090-3493.

TARVAINEN, Mika P., Stefanos GEORGIADIS, Timo LAITIO, Jukka A. LIPPONEN, Pasi A. KARJALAINEN, Kimmo KASKINORO a Harry SCHEININ. Heart rate variability dynamics during low-dose propofol and dexmedetomidine anesthesia. *Annals of Biomedical Engineering* [online]. 2012, **40**(8), 1802–1813. ISSN 1573-9686. Dostupné z: doi:10.1007/s10439-012-0544-1.

TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING ELECTROPHYSIOLOGY. Heart Rate Variability Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use. *Circulation* [online]. 1996, **93**(5), 1043–1065. ISSN 0009-7322, 1524-4539. Dostupné z: doi:10.1161/01.CIR.93.5.1043.

TEPLINSKY, K., M. O'TOOLE, M. OLMAN, K. R. WALLEY a L. D. WOOD. Effect of lactic acidosis on canine hemodynamics and left ventricular function. *The American Journal of Physiology*. 1990, **258**(4 Pt 2), H1193–1199. ISSN 0002-9513.

THAYER, Julian F., Shelby S. YAMAMOTO a Jos F. BROSSCHOT. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *International Journal of Cardiology* [online]. 2010, **141**(2), 122–131. ISSN 1874-1754. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijcard.2009.09.543.

TRACEY, Kevin J. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J Clin Invest* [online]. 2007, **117**(2), 289–296. Dostupné z: doi:10.1172/JCI30555.

TRACEY, Kevin J. Reflex control of immunity. *Nature Reviews. Immunology* [online]. 2009, **9**(6), 418–428. ISSN 1474-1741. Dostupné z: doi:10.1038/nri2566.

TSCHAIKOWSKY, Klaus, Monika HEDWIG-GEISSING, Albert SCHIELE, Frank BREMER, Michael SCHYWALSKY a Jürgen SCHÜTTLER. Coincidence of pro- and anti-inflammatory responses in the early phase of severe sepsis: Longitudinal study of mononuclear histocompatibility leukocyte antigen-DR expression, procalcitonin, C-reactive protein, and changes in T-cell subsets in septic and postoperative patients. *Crit Care Med.* 2002, **30**(5), 1015–1023.

TULPPO, Mikko P., Heikki V. HUIKURI, Elli TUTUNGI, Derek S. KIMMERLY, Adrian W. GELB, Richard L. HUGHSON, Timo H. MÄKIKALLIO a J. Kevin SHOEMAKER. Feedback effects of circulating norepinephrine on sympathetic outflow in healthy subjects. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* [online]. 2005, **288**(2), H710–715. ISSN 0363-6135. Dostupné z: doi:10.1152/ajpheart.00540.2004.

TULPPO, M. P., T. H. MÄKIKALLIO, T. SEPPÄNEN, K. SHOEMAKER, E. TUTUNGI, R. L. HUGHSON a H. V. HUIKURI. Effects of pharmacological adrenergic and vagal modulation on fractal heart rate dynamics. *Clinical Physiology (Oxford, England)*. 2001, **21**(5), 515–523. ISSN 0144-5979.

UVIZL, Radovan, Milan ADAMUS, Vladimir CERNY, Ladislav DUSEK, Jiri JARKOVSKY, Vladimir SRAMEK, Martin MATEJOVIC, Petr STOURAC, Roman KULA, Jan MALASKA a Pavel SEVCIK. Patient survival, predictive factors and disease course of severe sepsis in Czech intensive care units: a multicentre, retrospective, observational study. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia* [online]. 2015. ISSN 1213-8118. Dostupné z: doi:10.5507/bp.2015.052.

VALTA, P., A. UUSARO, S. NUNES, E. RUOKONEN a J. TAKALA. Acute respiratory distress syndrome: frequency, clinical course, and costs of care. *Critical Care Medicine*. 1999, **27**(11), 2367–2374. ISSN 0090-3493.

VANÍČEK, Petr. Further development and properties of the spectral analysis by least-squares. *Astrophysics and Space Science* [online]. 1971, **12**(1), 10–33. ISSN 0004-640X, 1572-946X. Dostupné z: doi:10.1007/BF00656134.

VAN ZYL, Louis T, Takuya HASEGAWA a Katsutaro NAGATA. Effects of antidepressant treatment on heart rate variability in major depression: A quantitative review. *Biopsychosocial Medicine* [online]. 2008, **2**, 12. ISSN 1751-0759. Dostupné z: doi:10.1186/1751-0759-2-12.

VIGO, Chiara, Wolfgang GATZEMEIER, Roberto SALA, Mara MALACARNE, Armando SANTORO, Massimo PAGANI a Daniela LUCINI. Evidence of altered autonomic cardiac regulation in breast cancer survivors. *Journal of Cancer Survivorship* [online]. 2015, **9**(4), 699–706. ISSN 1932-2259, 1932-2267. Dostupné z: doi:10.1007/s11764-015-0445-z.

VILES, P. H. a J. T. SHEPHERD. Evidence for a dilator action of carbon dioxide on the pulmonary vessels of the cat. *Circulation Research*. 1968, **22**(3), 325–332. ISSN 0009-7330.

VINCENT, J. L., R. MORENO, J. TAKALA, S. WILLATTS, A. DE MENDONÇA, H. BRUINING, C. K. REINHART, P. M. SUTER a L. G. THIJIS. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Medicine*. 1996, **22**(7), 707–710. ISSN 0342-4642.

VINIK, Aaron I., Raelene E. MASER, Braxton D. MITCHELL a Roy FREEMAN. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care*. 2003, **26**(5), 1553–1579. ISSN 0149-5992.

VOSS, A., A. HEITMANN, R. SCHROEDER, A. PETERS a S. PERZ. Short-term heart rate variability--age dependence in healthy subjects. *Physiological Measurement* [online]. 2012, **33**(8), 1289–1311. ISSN 1361-6579. Dostupné z: doi:10.1088/0967-3334/33/8/1289.

WALLER, Augustus D. A Demonstration on Man of Electromotive Changes accompanying the Heart's Beat. *The Journal of Physiology*. 1887, **8**(5), 229–234. ISSN 0022-3751.

WANG, Yiming, Xun ZHAO, Adrienne O'NEIL, Alyna TURNER, Xingde LIU a Michael BERK. Altered cardiac autonomic nervous function in depression. *BMC psychiatry* [online]. 2013, **13**, 187. ISSN 1471-244X. Dostupné z: doi:10.1186/1471-244X-13-187.

WHEELER, T. a P. J. WATKINS. Cardiac denervation in diabetes. *British Medical Journal*. 1973, **4**(5892), 584–586. ISSN 0007-1447.

WICKLEY, Peter J., Toshiya SHIGA, Paul A. MURRAY a Derek S. DAMRON. Propofol decreases myofilament Ca²⁺ sensitivity via a protein kinase C-, nitric oxide synthase-dependent pathway in diabetic cardiomyocytes. *Anesthesiology*. 2006, **104**(5), 978–987. ISSN 0003-3022.

WICKLEY, Peter J., Toshiya SHIGA, Paul A. MURRAY a Derek S. DAMRON. Propofol modulates Na⁺-Ca²⁺ exchange activity via activation of protein kinase C in diabetic cardiomyocytes. *Anesthesiology*. 2007, **106**(2), 302–311. ISSN 0003-3022.

WILSON, F. N., C. E. KOSSMANN, G. E. BURCH, E. GOLDBERGER, A. GRAYBIEL a H. H. HECHT. Recommendations for standardization of electrocardiographic and vectorcardiographic leads. *Circulation*. 1954, **10**(4), 564–573. ISSN 0009-7322.

WOLF, M. M., G. A. VARIGOS, D. HUNT a J. G. SLOMAN. Sinus arrhythmia in acute myocardial infarction. *The Medical Journal of Australia*. 1978, **2**(2), 52–53. ISSN 0025-729X.

YANG, Xiao-Yu, Zhi-Bin ZHOU, Lu YANG, Xue ZHOU, Li-Jun NIU a Xia FENG. Hemodynamic responses during induction: comparison of Marsh and Schnider pharmacokinetic models. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* [online]. 2015, **53**(1), 32–40. ISSN 0946-1965. Dostupné z: doi:10.5414/CP202141.

ZESKIND, Philip Sanford a Jeannine L. GINGRAS. Maternal cigarette-smoking during pregnancy disrupts rhythms in fetal heart rate. *Journal of Pediatric Psychology* [online]. 2006, **31**(1), 5–14. ISSN 0146-8693. Dostupné z: doi:10.1093/jpepsy/jsj031.

ZHOU, W., H. J. FONTENOT, S. LIU a R. H. KENNEDY. Modulation of cardiac calcium channels by propofol. *Anesthesiology*. 1997, **86**(3), 670–675. ISSN 0003-3022.

ZHOU, Xin, Zhaolai MA, Lingfu ZHANG, Shuzhe ZHOU, Jilian WANG, Bingyan WANG a Wei FU. Heart rate variability in the prediction of survival in patients with cancer: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Psychosomatic Research* [online]. 2016, **89**, 20–25. ISSN 1879-1360. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpsychores.2016.08.004.

ZORN-PAULY, Klaus, Brigitte PELZMANN, Petra LANG, Heinrich MÄCHLER, Hendrik SCHMIDT, Henning EBELT, Karl WERDAN, Bernd KOIDL a Ursula MÜLLER-WERDAN. Endotoxin impairs the human pacemaker current *I_f*. *Shock*. 2007, **28**(6), 655–661.

Seznam publikací autorky

JARKOVSKA, Dagmar, Monika BLUDOVSKA, Eliska MISTROVA, Vera KRIZKOVA, Dana KOTYZOVA, Tereza KUBIKOVA, Jana SLAVIKOVA, Sumeyye Nur EREK, Aleksandar DJORDJEVIC a Magdalena CHOTTOVA-DVORAKOVA. Expression of classical mediators in hearts of rats with hepatic dysfunction. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2017a. (IF₂₀₁₅ = 1,704; přijato k otištění)

JARKOVSKA, Dagmar, Lenka VALESOVA, Jiri CHVOJKA, Jan BENES, Vojtech DANIHEL, Jitka SVIGLEROVA, Lukas NALOS, Martin MATEJOVIC a Milan STENGL. Heart-rate variability depression in porcine peritonitis-induced sepsis without organ failure. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)* [online]. 2017b, **242**(9), 1005–1012. ISSN 1535-3699. Dostupné z: doi:10.1177/1535370217700521. (IF₂₀₁₅ = 2,542)

GRUNDMANOVÁ, M., D. JARKOVSKÁ, A. SÜß, Z. TŮMA, M. MARKOVÁ, Z. GRUNDMAN, A. EL-KADI, M. ČEDÍKOVÁ, M. ŠTENGL a J. KUNCOVÁ. Propofol-induced mitochondrial and contractile dysfunction of the rat ventricular myocardium. *Physiological Research*. 2016, **65**(Supplementum 5), 601–609. ISSN 1802-9973. (IF₂₀₁₅ = 1,643)

JARKOVSKA, Dagmar, Lenka VALESOVA, Jiri CHVOJKA, Jan BENES, Jitka SVIGLEROVA, Blanka FLOROVA, Lukas NALOS, Martin MATEJOVIC a Milan STENGL. Heart Rate Variability in Porcine Progressive Peritonitis-Induced Sepsis. *Frontiers in Physiology* [online]. 2016, **6**, 412. ISSN 1664-042X. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2015.00412. (IF₂₀₁₅ = 4,031)

MIKLÍKOVÁ, Michaela, Dagmar JARKOVSKÁ, Miroslava ČEDÍKOVÁ, Jitka ŠVIGLEROVÁ, Jitka KUNCOVÁ, Lukáš NALOS, Alena KOŘÍNKOVÁ, Václav LIŠKA, Daniel LYSÁK, Milena KRÁLÍČKOVÁ, Lucie VIŠTEJNOVÁ a Milan ŠTENGL. Vliv mesenchymálních kmenových buněk na in vitro kulturu dospělých prasečích kardiomyocytů. *Plzeňský lékařský sborník*. 2016, **82**, 35–48.

STENGL, Milan, Lenka LEDVINOVA, Jiri CHVOJKA, Jan BENES, Dagmar JARKOVSKA, Jaromir HOLAS, Patrik SOUKUP, Jitka SVIGLEROVÁ a Martin MATEJOVIC. Effects of clinically relevant acute hypercapnic and metabolic acidosis on the cardiovascular system: an experimental porcine study. *Critical Care (London, England)* [online]. 2013, **17**(6), R303. ISSN 1466-609X. Dostupné z: doi:10.1186/cc13173. (IF₂₀₁₃ = 5,035)