

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

DISERTAČNÍ PRÁCE

Doktorský studijní program

Chirurgie

**Vliv selektivní ventilace na koncentraci
antibiotika v plicní tkáni
(mikrodialyzační studie)**

**The influence of selective ventilation
on the concentration of antibiotics in
lung tissue
(microdialysis study)**

MUDr. Martin Děrgel

Školitel: prof. MUDr. Jiří Mand'ák, Ph.D.

Prohlášení autora

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy.

Hradec Králové, 2022

MUDr. Martin Děrgel

Poděkování

Na úvod si dovoluji poděkovat svému školiteli prof. MUDr. Jiřímu Mandřákovi, Ph.D., za vedení mé vědecké činnosti a za cenné poznatky a zkušenosti, které byly přínosem při mém postgraduálním studiu.

Za vytvoření vhodných vědeckých podmínek k uskutečnění časově náročné studie děkuji přednostovi Kardiochirurgické kliniky Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové prof. MUDr. Janu Vojáčkovi, Ph.D., a emeritnímu přednostovi prof. MUDr. J. Harrerovi, Ph.D.

Děkuji taktéž PharmDr. Janě Malákové za pomoc při analýze a vyhodnocení vzorků. Za statistickou analýzu dat a cenné zkušenosti a rady z oblasti farmakologie děkuji doc. Ing. Jaroslavu Chládkovi, Ph.D.

Za spolupráci a pomoc při pokusech na zvířecím modelu bych rád poděkoval MUDr. Martinu Voborníkovi, Ph.D., MUDr. Zdeňku Turkovi, Ph.D., a MVDr. Věře Radochové.

Všem spolupracovníkům děkuji za trpělivost a shovívavost při realizaci této studie.

Obsah

1	Použité zkratky	7
2	Souhrn	10
3	Úvod.....	14
4	Miniinvazivní přístupy v kardiouchirurgii	16
5	Experimentální model.....	20
6	Atelektáza plicní tkáně.....	22
6.1	Patofyziologické faktory způsobující atelektázu	24
6.1.1	Absorpční atelektáza	24
6.1.2	Komprese plicní tkáně.....	25
6.1.3	Dysfunkce surfaktantu.....	25
6.2	Klinický dopad pooperační atelektázy	26
6.2.1	Snížená plicní poddajnost.....	27
6.2.2	Hypoxémie	27
6.2.3	Zvýšení plicní vaskulární rezistence	27
6.2.4	Pooperační pneumonie	28
6.2.5	Zhoršení průniku antibiotika do plicní tkáně	28
6.2.6	Ventilátorem způsobené poškození plic	29
6.2.7	Akutní respirační tíseň (ARDS).....	30
6.2.8	Akutní respirační selhání.....	32
6.3	Rizikové faktory vzniku pooperačních plicních komplikací	32
6.4	Prevence vzniku pooperačních plicních komplikací	34
6.5	Řízená ventilace jednou plící - „One lung ventilation“	36
7	Intersticiální mikrodialýza	42
7.1	Historie.....	42
7.2	Princip.....	42
7.3	Recovery	44
7.4	Aplikace mikrodialýzy ve studii antimikrobiálních léčiv	46
8	Cefalosporiny.....	48
8.1	Obecný úvod.....	48
8.2	Mechanismus působení	49

8.3	Rezistence	51
8.4	Cefalosporiny 1. generace	53
8.5	Cefalosporiny 2. generace	53
8.6	Cefalosporiny 3. generace	54
8.7	Cefalosporiny 4. generace	54
8.8	Nežádoucí účinky cefalosporinů	55
8.9	Kontraindikace cefalosporinů	56
8.10	Cefuroxim	56
8.10.1	Struktura.....	57
8.10.2	Farmakokinetika a farmakodynamika	58
9	Cíl práce	62
10	Metodika a materiál	62
10.1	Experimentální zvíře	62
10.2	Provedení experimentu	63
10.3	Analýza vzorku.....	70
10.4	Farmakokinetika a statistika.....	70
11	Výsledky	71
11.1	Hemodynamika a okysličení krve	71
11.2	Relativní výtěžnost tkáňového cefuroximu mikro- dialýzou.....	73
11.3	Vazba cefuroximu na plazmatické bílkoviny.....	74
11.4	Nekompartmentová analýza.....	80
11.5	Populační kompartmentové modelování farmako- kinetiky.....	83
11.6	PK/PD analýza.....	89
12	Diskuse	92
13	Závěr	97
14	Literatura	98

1 Použité zkratky

ACP	– American College of Physicians – Americká asociace lékařů
ALi	– acute lung injury – akutní poškození plic
ARDS	– acute respiratory distress syndrom – syndrom akutní dechové tísně
ARF	– acute respiratory failure – akutní dechové selhání
AUC	– area under curve – plocha pod křivkou
BB	– bronchial blocker – bronchiální blokátor
BMI	– body mass index – index tělesné hmotnosti
C_{in}	– koncentrace v perfuzátu
C_k	– kalibrační koncentrace
C_{max}	– maximální koncentrace
C_{out}	– koncentrace v dialyzátu
CL	– clearance
CO ₂	– carbon dioxide – oxid uhličitý
Cs	– systémová clearance
Da	– dalton
DLT	– double lumen tube – endobronchiální trubice s dvojitým lumenem
EDTA	– ethylenediamintetraacid – ethylendiamintetraoctová kyselina
ESBL	– extended spectrum β – lactamases
FRC	– functional residual capacity – funkční reziduální kapacita
f_U	– frakce navázaná na plazmatické proteiny
G-	– gram negative bacteria – gramnegativní bakterie
G+	– gram positive bacteria – grampozitivní bakterie
Glu	– Glutathion
HPLC	– high – performance liquid chromatography – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPV	– hypoxic pulmonary vasoconstriction – hypoxická plicní vasokonstrikce
IL-1	– interleukin 1
IL-6	– interleukin 6

ISF	– interstitial fluid – intersticiální tekutina (IST)
IST	– intersticiální tekutina
JIP	– jednotka intenzivní péče
LPF	– lung penetrating factor – penetrační plicní faktor
Lys	– Lysin
MIC	– minimal inhibitory concentration – minimální inhibiční koncentrace
MIC90	– minimal inhibitory concentration – minimální inhibiční koncentrace inhibující 90 % daného bakteriálního druhu
MRSA	– methicillin – resistant Staphylococcus aureus – meticilin rezistentní zlatý stafylokok
MSSA	– methicillin – susceptible Staphylococcus aureus – meticilin citlivý zlatý stafylokok
NIPPV	– non invasive positive pressure ventilation – přetlaková neinvazivní ventilace pozitivním tlakem
NVL	– non-ventilated lung – neventilovaná plíce
O ₂	– oxygen – kyslík
OLV	– one lung ventilation – ventilace na jednu plíci
OXA	– oxaciliny
PaO ₂	– arterial oxygen partial pressure – parciální tlak kyslíku v tepenné krvi
PBP	– penicilline binding protein – protein vázající penicilin
PD	– pharmacodynamic – farmakodynamika (FD)
PEEP	– positive end expiratory pressure – pozitivní tlak v dýchacích cestách na konci výdechu
PIP	– peak inspiratory pressure – maximální inspirační tlak
PK	– pharmacokinetic – farmakokinetika (FK)
pKa	– disociační konstanta kyseliny
PO ₂	– parciální tlak kyslíku
PPCs	– postoperative pulmonary complications – pooperační plicní komplikace
PaO ₂	– parciální tlak kyslíku v arteriální krvi

PvO ₂	– venous oxygen partial pressure – parciální tlak kyslíku ve venózní krvi
PVR	– pulmonary vascular resistance – plicní vaskulární rezistence
Q _{co}	– celkový průtok – srdeční výdej
Q _z	– zkratový průtok
SAEM	– Stochastic Approximation Expectation Maximization – stochastická aproximace EM algoritmu
SD	– standard deviation – směrodatná odchylka
Ser	– Serin
SpO ₂	– blood oxygen saturatio – míra okysličení krve
SVH	– sulfhydryl – variable β – lactamases – sufhydryl variantní β – laktamáza
t _½	– poločas eliminace
TEM	– transposable element β – lactamases
TNF	– tumor necrosis factor – faktor nádorové nekrózy
UPV	– umělá plicní ventilace
V/Q	– poměr ventilace/perfuze (průtok)
Vd	– distribuční objem
VL	– ventilated lung – ventilovaná plíce
% fT > MIC	– procentní čas na minimální inhibiční koncentraci

2 Souhrn

Miniinvazivní chirurgické techniky v současné době postupně nahrazují operace otevřeným způsobem. Výhodou těchto přístupů je nižší operační zátěž (menší ranná plocha, zachování celistvosti hrudního koše, lepší hojení rány, kratší doba UPV) a tedy rychlejší rekonvalescence nemocného s jeho časnějším začleněním zpět do běžného života.

Podmínkou pro šetrné a precizní operování miniinvazivními technikami je dlouhodobá průprava a trénink celého chirurgického týmu, dobrá vizualizace operačního pole za pomoci speciálních chirurgických nástrojů a optické techniky.

U kardiochirurgických pacientů je u vybraných operačních technik prováděných pomocí torakotomie vhodná selektivní ventilace tzv. "one lung ventilation" s kolapsem celého plicního křídla, a tím se zpřehledněním operačního pole. Tato metoda zajišťuje bezpodmínečný komfort pro operujícího chirurga, avšak na druhou stranu může vést k některým komplikacím, jako je například atelektáza a následovně i pneumonie. K minimalizaci rizika vzniku perioperačních infekcí jsou pacientům před každou srdeční operací podávána antibiotika. Abychom mohli určit, zdali profylakticky podávané antibiotikum dostatečně proniká do plicní tkáně, je vhodnou metodou intersticiální mikrodialýza. Jedná se o miniinvazivní metodu, umožňující monitorování exogenních a endogenních látek v extracelulárním prostoru tkání.

Celkem u 10 selektivně ventilovaných prasat byla profylakticky podána antibiotika – cefuroxim (20 mg/kg) v jedné 30minutové infuzi. Za pomoci mikrodialýzy byly po dobu 240 minut monitorovány koncentrace antibiotika v intersticiální tekutině ve ventilované a neventilované plicí a současně byla odebírána krev ke stanovení koncentrace antibiotika v krevní plazmě.

Vzorky krve a plicního mikrodialyzátu byly analyzovány metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s detekcí v tandemovém hmotnostním spektrometru. Z koncentrací léčiva byly následně nekompartmentovými a kompartmentovými postupy vyhodnoceny farmakokinetické charakteristiky.

Přestup cefuroximu z plazmy do intersticia byl nižší v neventilovaných plicích než ve ventilovaných, o čemž svědčí penetrační faktor 47 % oproti 63 % ($p < 0,05$), průměrná hodnota poměru mezi maximálními koncentracemi (c_{max} , 65 %,

$p < 0,05$) a průměrná hodnota poměru mezi plochami pod křivkou koncentrace-čas (AUC, 78 %, $p = 0,12$). Doba potřebná k dosažení minimální inhibiční koncentrace (MIC) byla u neventilované plicí o 30–40 % delší než u ventilované plicí a dosažení MIC v obou plicích bylo opožděno o 10-40 minut ve srovnání s plazmou. Výsledek porovnání hodnot středního pobytového času (MRT) cefuroximu v neventilované plicí (109 min) > ve ventilované plicí (92 min) > v plazmě (45 min) pomohl vysvětlit absenci prakticky významných rozdílů v délkách časového intervalu s koncentrací cefuroximu přesahující MIC citlivých kmenů (≤ 4 mg/l) v neventilované plicí (155 min), ve ventilované plicí (160 min), v plazmě (131 min).

Koncentrace cefuroximu v intersticiu neventilované prasečí plicí je nižší než ve ventilované plicí. Rovněž je zpomalena distribuce antibiotika mezi plazmou a IST. S ohledem na farmakokinetiku cefuroximu v neventilované plicí je oprávněné podání první dávky cefuroximu dříve nebo ve vyšší dávce, stejně jako zintenzivnění dávky v perioperační profylaxi pneumonie způsobené patogeny s vyššími hodnotami MIC.

Summary

Mini-invasive surgical techniques are currently replacing the standard open techniques. The advantages of these techniques consist of minimal surgical stress (small surgical wounds, integrity of the rib cage, better wound healing, and shorter time spent on mechanical ventilation), quicker convalescence periods and a return to ordinary life.

The delicate and precise operating techniques in mini-invasive procedures require long-term preparation and training of the whole surgical team and a good visualization of the operation field with the aid of specialized surgical and optical instruments.

In cardiac surgical patients, selected surgical techniques are carried out via a thoracotomy incision, preferably with selective ventilation, i.e., “one lung ventilation” with a collapsed lung allowing for better visualization.

This method assures comfort to the operating surgeon, albeit this can lead to complications such as atelectasis and pneumonia. The administration of antibiotics minimizes the perioperative infection risk before every invasive cardiac procedure.

Interstitial microdialysis is the preferred method to ascertain if the administered prophylactic antibiotic penetrates the pulmonary tissue. Microdialysis is a mini-invasive method that monitors exogenic and endogenic molecules in the extracellular space.

In ten selectively ventilated pigs, we prophylactically administered the antibiotic cefuroxime (20 mg/kg) in one 30-minute infusion. For 240 minutes, via the microdialysis method, we monitored the antibiotic concentration in the interstitial fluid in the ventilated and non-ventilated lungs. Simultaneously, we took blood samples to measure the concentration of the given antibiotic in blood plasma.

Blood and lung microdialysate samples were analyzed by high-performance liquid chromatography with detection carried out in a tandem mass spectrometer. Pharmacokinetic characteristics were subsequently evaluated from antibiotic concentrations using non-compartmental and compartmental processes.

The transfer of cefuroxime from the plasma into the interstitial fluid (ISF) was lower in the non-ventilated lung than in the ventilated lung and thus indicative of a penetration factor of 47% compared with 63% ($p < 0.05$, the average value between the maximum concentration (C_{max} , 65 %, $p < 0.05$) and the average value within the levels below the trace concentration-time (AUC, 78 %, $p = 0.12$). The time required to reach the minimal inhibitory concentration (MIC) was 30 – 40 % longer in the non-ventilated lung than in the ventilated lung. The MIC in both lungs took 10 - 40 minutes longer than in the plasma. The results of the values and the comparison of the mean residence time (MRT) of cefuroxime in the non-ventilated lung (109 min) which was greater than in the ventilated lung (92 min) which in turn was greater than in the plasma (45 min), helped to explain the absence of any significant differences in the duration of the time interval with the concentration of cefuroxime exceeding the MIC of the susceptible bacteria (≤ 4 mg/l) in the non-ventilated lungs (155 min), the ventilated lungs (160 min) and in the plasma (131 min).

The concentration of cefuroxime in the ISF in the non-ventilated pig lung was lower than in the ventilated lung. Also, the distribution of the antibiotics between the plasma and the ISF was slower. Regarding the pharmacokinetics of cefuroxime in the non-ventilated lung, it is justified to administer the first dose of cefuroxime before or in a higher concentration and to intensify the dosage for the intraoperative prophylaxis of pneumonia caused by pathogens with high MIC values.

3 Úvod

Srdeční onemocnění představuje v současné době nejčastější příčinu morbidit a mortality ve vyspělých zemích.

V České republice během roku 2020 zemřelo téměř 130 tisíc obyvatel, což je dle údajů Českého statistického úřadu meziroční nárůst o 15 %, přičemž 2/3 tohoto nárůstu je připisováno onemocnění covid-19. Onemocnění srdce se podílí na celkové mortalitě z 30 %, kdy nejčastějším onemocněním srdce stále zůstává ischemická choroba srdeční, která byla příčinou 14,8 % úmrtí (19 tisíc obyvatel).

Druhou nejčastější příčinou úmrtí bylo dle údajů Českého statistického úřadu roce 2020 již zmíněné onemocnění covid-19, které se podílelo na celkové mortalitě z 8 % a odsunulo tak do té doby druhou nejčastější příčinu úmrtí, cévní mozkovou příhodu, na třetí místo. Za zmínku stojí, že čtvrté místo obsadilo srdeční selhání a na pátém místě skončily plicní malignity.

Chirurgická léčba onemocnění srdce, ve spolupráci s dalšími obory, se ve vyspělých zemích stala metou volby léčby tohoto onemocnění. V České republice každoročně podstoupí chirurgický zákrok na 12 kardiochirurgických pracovištích přes 8 tisíc pacientů. Ve srovnání s ženami muži podstupují výkon na srdci více jak 2x častěji.

Na Kardiochirurgické klinice Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice v Hradci Králové je ročně odoperováno v průměru 850 nemocných, z nich 60 % tvoří revaskularizace myokardu pro ischemickou chorobu srdeční.

Druhým nejčastějším výkonem je zákrok na chlopenním aparátu. S neustále se zvyšujícím průměrným věkem našich pacientů (v roce 2019 to bylo 65 let) a změnou životního stylu přímou úměrou narůstá četnost rizikových faktorů.

Mezi častější přidružená onemocnění patří arteriální hypertenze, hypercholesterolémie, stav po infarktu myokardu či cévní mozkové příhodě a chronická obstrukční plicní nemoc. Tyto skutečnosti podstatně zvyšují riziko perioperační a pooperační morbidit a v nemalé míře zvyšují náklady na zdravotní péči.

Na druhou stranu lze říci, že vlivem stále se zlepšujícího technického vybavení zdravotnických zařízení, díky lepší perioperační a pooperační péči, inovacím na poli chirurgických přístupů apod. se průměrná délka hospitalizace

zkracuje. Dle Národního kardiochirurgického registru byla v roce 2007 průměrná doba hospitalizace na kardiochirurgických pracovištích 12,3 dne. Poslední data z roku 2019 však ukazují, že se hospitalizace zkrátila v průměru o 2 dny. Taktéž 30denní mortalita klesla během tohoto období v průměru o 1/3.

I přes tato povzbuzující data musí být nadále naším cílem snižování operační zátěže a zkrácení doby rekonvalescence pacientů i za pomoci miniinvazivních chirurgických přístupů.

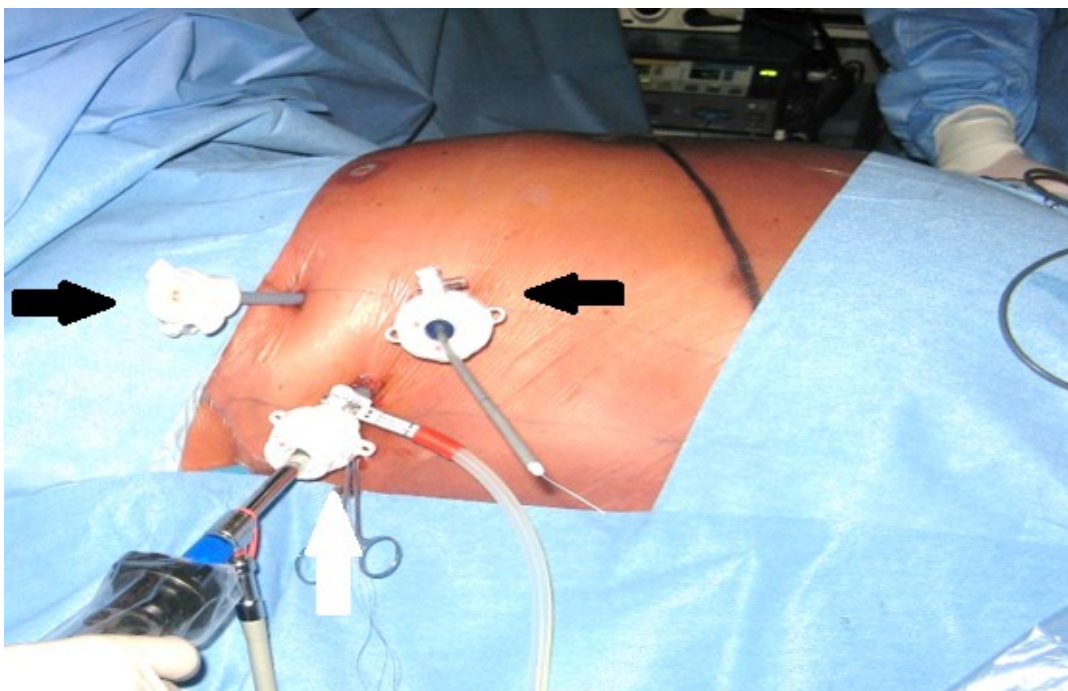
4 Miniinvazivní přístupy v kardiochirurgii

Zlatým standardem operačního přístupu k srdci byla, a stále je, mediální sternotomie. Tento přístup s podélným rozpolcením hrudní kosti umožňuje velmi dobrou vizualizaci srdce a dobrou manipulaci s chirurgickými nástroji v osrdečnickové dutině, a tedy i komfort pro operujícího chirurga. Je stále využíván u pacientů, kteří díky konstituci, rizikovým faktorům, anatomickým abnormalitám či srůstům v pohrudničních dutinách nejsou vhodnými kandidáty k miniinvazivnímu zákroku. Na stranu druhou od 90. let minulého století jsou minimálně invazivní techniky v kardiochirurgii stále na vzestupu. Podstatnou úlohu v této problematice sehrála intervenční kardiologie, která s využitím endovaskulárních technik byla schopna efektivně a rychle léčit onemocnění koronárních cév a některých chlopenních vad, které do té doby byly doménou pouze kardiochirurgie. Dalším neméně důležitým krokem byl technologický rozvoj speciálních instrumentárií a optických systémů, které umožňují lepší přehlednost a manipulaci v operačním poli. Díky těmto inovacím je i v dnešní době stále větší snaha nabízet pacientovi kvalitní a efektivní léčbu srdečního onemocnění s minimalizací operační zátěže.

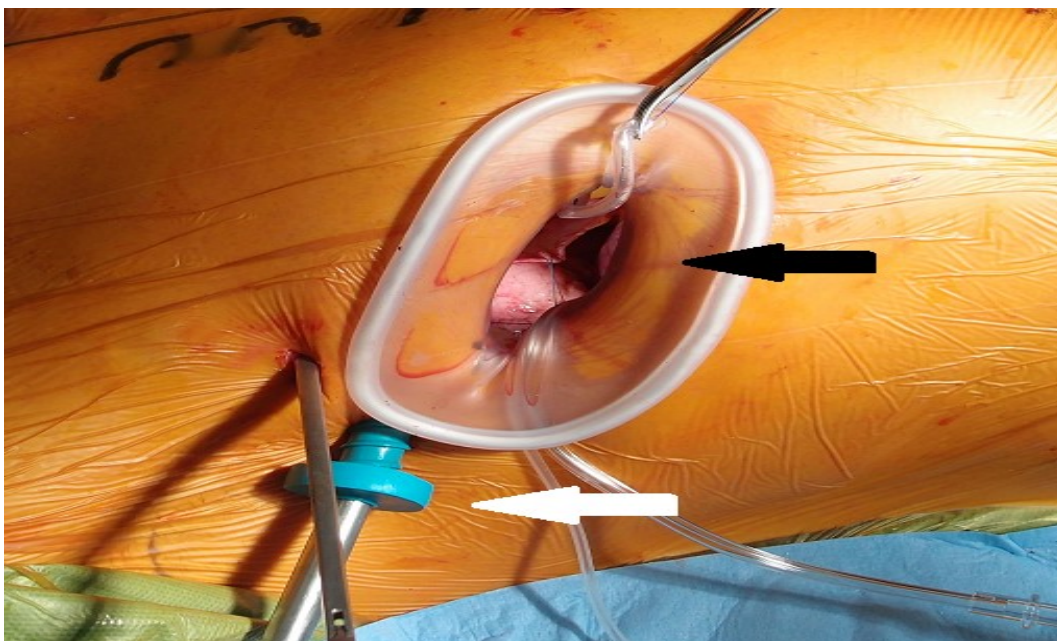
Videoasistovaný přístup (VATS – video assisted thoracoscopy) a roboticky asistovaný přístup (RATS – robotic assisted thoracoscopy) jsou moderní operační metody, kterými lze léčit široké spektrum srdečních onemocnění. Nejčastěji jsou touto metodou řešeny výkony v pravé a levé síni (plastiky či náhrady mitrální a trikuspidální chlopně, defekty síňového septa, benigní tumory, fibrilace síní) nebo revaskularizace myokardu (6). Místo jednoho velkého řezu se přistupuje k srdci pomocí několika asi 1 cm vstupů – tzv. portů. Tyto jsou umístěny v mezižebních prostorech a zavádí se jimi optický a kamerový systém a chirurgické nástroje (3) (Obr. 1). Pokud se implantuje chlopeň či anuloplastický prstenec, event. jiný materiál, je nutný další tzv. pracovní port dlouhý asi 5 cm umístěný pod prsní řasou (Obr. 2). K lepší vizualizaci a přístupu k perikardiální dutině skrz dutinu hrudní se využívá řízené ventilace na jednu plíci, tzv. “one lung ventilation“ (Obr. 3). Kanyly pro mimotělní oběh se zavádí cestou *arteria* a *vena femoralis* a v případě potřeby i *vena jugularis* (Obr. 4, 5).

Tyto techniky jsou dle recentních studií z hlediska morbidity a mortality srovnatelné s otevřenou metodou, ovšem nesporným benefitem je zachování celistvosti hrudní kosti, menší traumatizace tkání, zkrácení doby umělé plicní ventilace doby pobytu pacientů na jednotkách intenzivní péče, jejich časnější rehabilitace a návrat do běžného života (1).

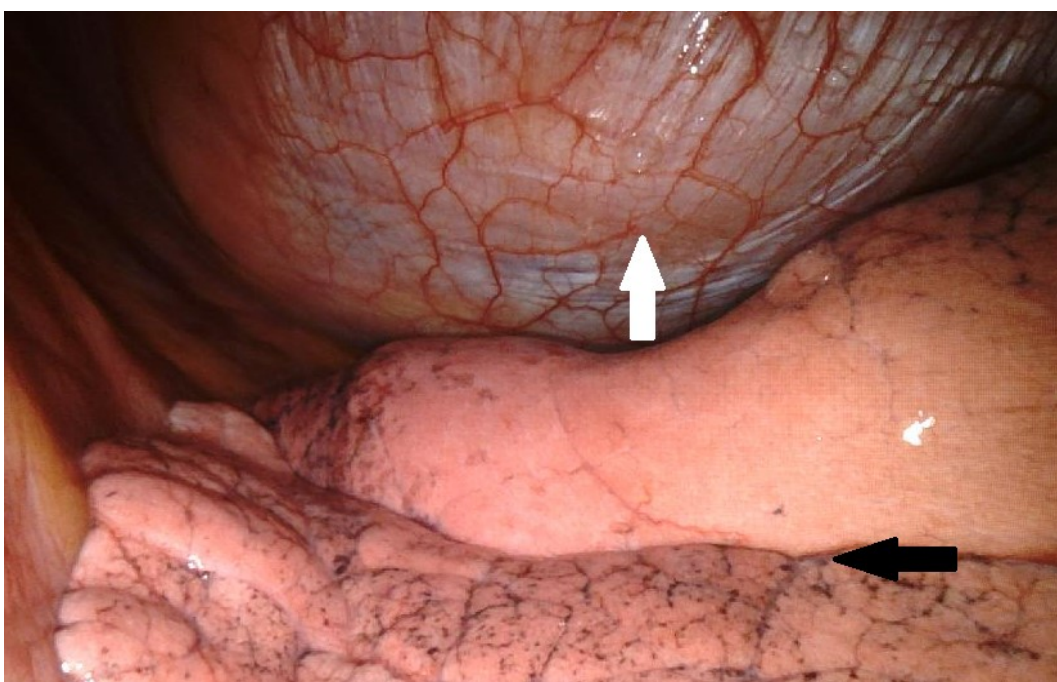
Obr 1: VATS – pohled na operační pole: černé šipky – porty pro chirurgická instrumentaria, bílá šipka – port pro optický systém (vlastní fotodokumentace)



Obr. 2: VATS – pohled na operační pole: černá šipka – pracovní port, bílá šipka – port pro optický systém (vlastní fotodokumentace)



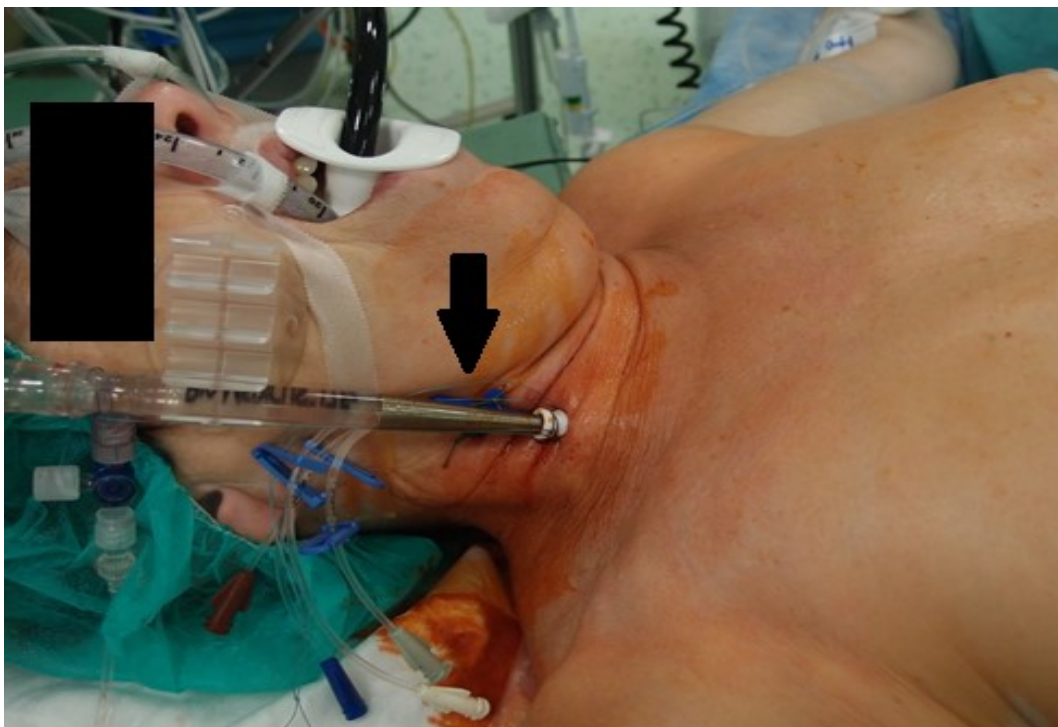
Obr. 3: VATS – pohled do hrudní dutiny: bílá šipka – bránice, černá šipka – desuflovaná plíce (vlastní fotodokumentace)



Obr. 4: Kanyly mimotělního oběhu zavedené do pravé stehenní tepny a žíly
(vlastní fotodokumentace)



Obr. 5: žilní kanyla mimotělního oběhu zavedená do krční žíly – černá šipka
(vlastní fotodokumentace)



5 Experimentální model

Prase domácí (*Sus scrofa domestica*) se využívá jako experimentální model ve výzkumných biomedicínských projektech již desítky let. Během této doby našlo využití jako zdroj biologického materiálu na poli humánní, či veterinární medicíny. V posledních dvaceti letech s rozvojem genetického inženýrství byla prasata geneticky upravena za účelem komerčních, zemědělských či biomedicínských potřeb. Takto upravení jedinci se stali nezastupitelným biologickým materiálem v rámci biomedicínského výzkumu (2). Na výzkumném poli medicíny zabývajícím se chorobami respiračního systému se stal prasečí model důležitým přechodníkem mezi malými laboratorními zvířaty a humánní medicínou. Taktéž v anesteziologii, péči o kriticky nemocné či transplantační chirurgii má tento model nezastupitelné místo (3, 4).

Anatomická stavba respiračního systému u prasete je modifikována věkem a plemenem, avšak obecně lze říci, že je podobná lidskému. Trachea u prasete je dlouhá 15–20 cm a obsahuje asi od 32 do 45 hyalinních prstenčitých chrupavek. Naproti tomu lidská trachea je dlouhá okolo 12 cm a je tvořena pouze 16-20 prstenčitými chrupavkami (5, 6). Taktéž anatomie bronchiálního stromu je rozdílná. Zatímco lidské plíce mají bipodiální větvení, prase má monopodiální, kde každý větší „rodičovský“ bronchus dává vzniknout menším postranním větvím (lat. bronchi), které se větví v tupých úhlech (7). Společným znakem lidských a prasečích plic je, že jsou vysoce laločnaté, s dobře definovanými plicními lalůčky ohraničenými interlobulárními přepážkami. Ovšem v lidských plicích je kolagenní složka těchto interlobulárních přepážek neúplná a v alveolárních stěnách jsou tzv. interalveolární póry (Kohnovy) a další komunikační kanály, což může vést ke kolaterální ventilaci mezi laloky, zvláště u emfyzematózních plic (8, 9). Naproti tomu kolagenní složka prasečích interlobulárních přepážek je kompletnější a kolaterální ventilace je podstatně méně pravděpodobná (10). Lobární a bronchiální anatomická struktura u prasat je velmi podobná lidské. Prasečí levá plíce je podobná lidské levé plíci, jelikož ji tvoří dva laloky, a to horní a dolní lalok. Na rozdíl od lidské pravé plíce, která má tři laloky, je prasečí pravá plíce rozdělena na čtyři laloky (horní, střední, přídatný a dolní).

Taktéž zásadní rozdíl mezi lidskou a prasečí pravou plicí je, že horní lalok prasečí plíce je ventilován tzv. tracheálním bronchem, který vychází z pravé stěny trachey, proximálně od bifurkace trachey (11).

Histologická struktura v respiračním systému člověka a prasat je velmi podobná. Typ epitelu vystylajícího lumen dýchacích cest prasat závisí na úrovni tohoto systému stejně jako u člověka. Zevní nosní průchody prasat jsou tvořeny dlaždicovým epitelem. Vlastní nosní sliznici tvoří víceřadý cylindrický epitel s řasinkami a pohárkovými buňkami a čichový epitel se smyslovými buňkami. Trachea a velké bronchy jsou kryty vrstevnatým cylindrickým epitelem, ale sliznici malých průdušek a bronchiolů kryje jednovrstevný cylindrický epitel. Vlastní plicní sklípky pokrývá jednovrstevný dlaždicobuněčný nerohovějící epitel, tzv. respirační (12) .

Anatomická struktura bronchiálních tepen u prasat vykazuje taktéž podobnosti s lidskou. Hlavní bronchy prasete stejně jako u lidí jsou doprovázeny dvěma bronchiálními tepnami. Mimo to je růst srdce a kardiovaskulárního systému od narození do 4 měsíců věku prasete analogický růstu kardiovaskulárního systému u lidí středního věku (13). Vhodná anatomie a fyziologie kardiovaskulárního systému spolu s nízkými náklady na péči dělají z prasete ideální experimentální model.

6 Atektáza plicní tkáně

Pooperační plicní komplikace (PPCs – postoperative pulmonary complications), zvláště však atelektáza a pneumonie, jsou hlavní příčinou pooperační morbidity a smrti. Odhaduje se, že pooperační plicní komplikace jsou příčinou asi 24 % mortality do 6. pooperačního dne (14, 15), přičemž pooperační pneumonie je příčinou mortality u 30-46 % pacientů. Ze všech infekčních komplikací je pneumonie příčinnou úmrtí z 30-60 % (16-19).

Atektáza je definovaná jako kolaps plicních sklípku, na jehož příčině se podílí několik faktorů. Poprvé byla popsána již na začátku 19. století W. Pasterem (20).

Na jejím vzniku se podílí široká škála patofyziologických změn od mikroatektázy, která není detekovatelná rentgenovým vyšetřením, až po makroatektázu, která je již detekovatelná na rentgenovém snímku jako nevdusnost plicní tkáně na úrovni jednotlivých plicních segmentů, laloků či celého plicního křídla a bývá často doprovázena klinickými známkami a symptomy (21-23). Četnost výskytu u mechanicky ventilovaných pacientů se udává až v 90 % (24). Akutní atelektáza plicního laloku je méně častou pooperační komplikací, může však vyústit v závažnou hypoxémii (25). Nejčastěji se vyskytuje v klinicky němé formě nevyžadující žádnou specifickou léčbu a spontánně mizí od 24 do 48 hod. Pokud však přetrvává déle jak 48 hodin a má klinické známky jako oslabené dýchání, chrupky, kašel, produkci hlenu, zvýšenou teplotu a patřičný nález na zobrazovacím vyšetření (Obr. 1, 2, 3), vyžaduje specifickou léčbu (22, 26).

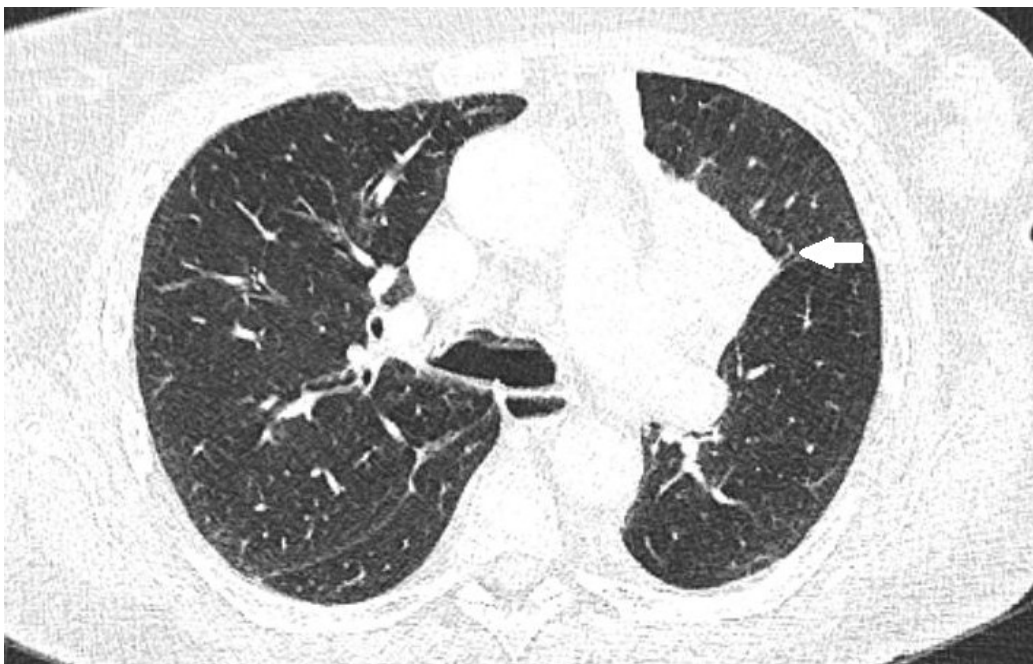
Obr. 6 a: CT – axiální mediastinální okno, atelektáza části horního laloku (bílá šipka) (zdroj Fakultní nemocnice Hradec Králové)

A

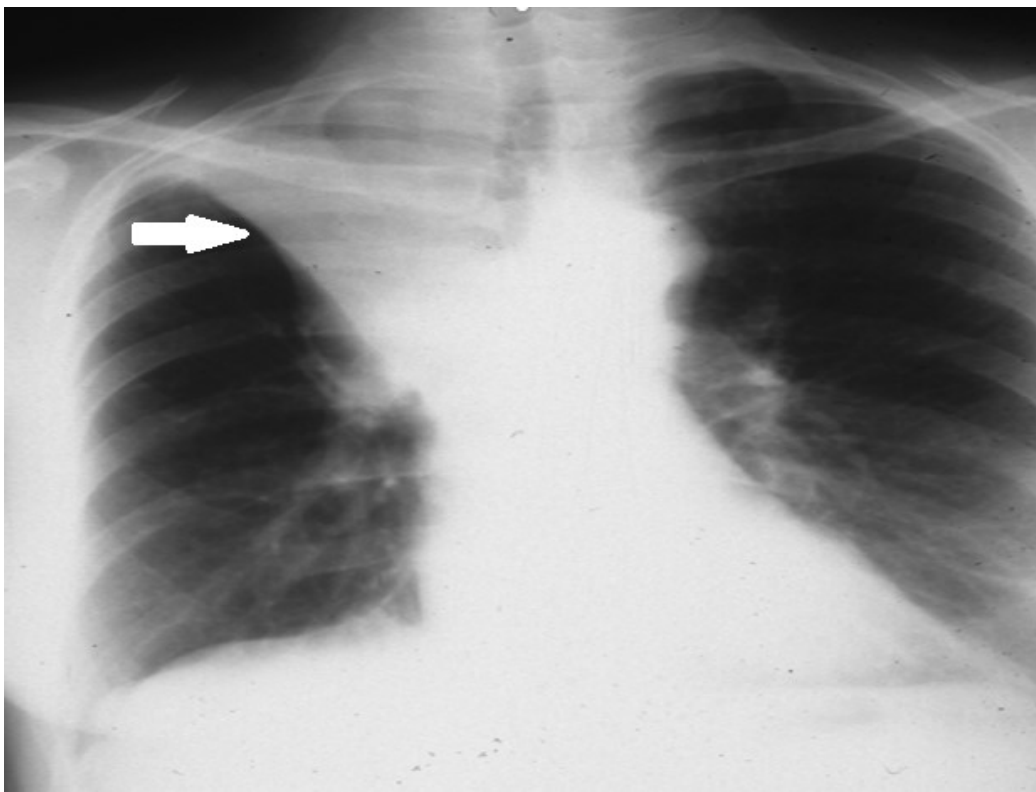


Obr. 6 b: CT – axiální plicní okno, atelektáza části horního laloku (bílá šipka) (zdroj Fakultní nemocnice Hradec Králové)

B



Obr. 7: RTG plic – atelektáza části horního laloku vpravo (bílá šipka)
(zdroj Fakultní nemocnice Hradec Králové)



6.1 Patofyziologické faktory způsobující atelektázu

Jsou trojího typu: absorpční atelektáza za zavřenými průduškami, komprese plicní tkáně, dysfunkce surfaktantu.

6.1.1 Absorpční atelektáza

U dospělého člověka je funkční reziduální kapacita (FRC) snížena o 0,8 l změnou polohy těla ze vzpřímené do supinační polohy. K dalšímu snížení dochází vlivem indukce do celkové anestezie, a to o 0,5 l. Tímto mechanismem dochází k redukci FRC z 3,5 na 2 l. Principem tohoto mechanismu je ztráta tonu dýchacích svalů a posun poměrů sil mezi elasticitou plicní tkáně a zevní silou hrudní stěny. Dalším faktorem je jak inhalační, tak intravenózní anestezie, která sama o sobě snižuje FRC, i když pacient spontánně ventiluje (27, 28). Vlivem anestetik dochází k snížení odpovědi dechového centra na CO_2 a O_2 , což vede k dalšímu poklesu

ventilace.

Svalová paralýza a mechanická ventilace se na dalším snížení FRC již nepodílí (29). Pokles FRC podporuje uzavření dýchacích cest v závislých plicních oblastech během expirace se znovu otevřením během inspirace nebo, pokud je pokles FRC dostatečně velký, během celého respiračního cyklu. Plyn je tak absorbován v alveolech za uzavřenými dýchacími cestami, což vyústí v jejich kolaps. Dalším podstatným faktorem je kraniální posunutí bránice a tím další redukce ventilační kapacity plic (30-32).

6.1.2 **Komprese plicní tkáně**

Mechanismem vzniku kompresní atelektázy je stlačení plicní tkáně zevní silou do té míry, až dojde k vytlačení vzduchu. Toto je například hlavním mechanismem při akutním poškození plic (ALI) či syndromu akutní respirační tísně (ARDS), kdy zvýšená hmotnost plic při plicním edému způsobuje jejich kompresi.

Dalším rizikovým faktorem je nadváha pacienta, kdy existuje korelace mezi indexem tělesné hmotnosti (BMI) a atelektázou (33, 34). Morbidní obezita je tedy doprovázena zvýšeným výskytem atelektázy (35).

6.1.3 **Dysfunkce surfaktantu**

Surfaktant je lipoproteinový komplex produkovaný alveolárními buňkami 2. typu, skládající se z 10 % proteinů a 90 % lipidů. Větší část lipidů (cca 80 %) tvoří fosfolipidy. Mezi nejdůležitější funkce surfaktantu patří prevence kolapsu alveolů a terminálních bronchiolů snížením povrchového napětí až k jeho nulovým hodnotám, ochrana před vznikem alveolárního edému a zlepšení funkce mukociliárního eskalátoru. Další, neméně podstatnou funkcí je imunologická a imunomodulační funkce (inhibice TNF, IL-1, IL-6, neutralizace volných radikálů a superoxidů, podíl na stimulaci fagocytózy, opsonizaci, likvidaci bakteriálních toxinů). Postižení základních funkcí surfaktantu je způsobeno v zásadě 3 mechanismy: zvýšenou inhibicí, zvýšenou degradací, poruchami syntézy a recyklace (36).

Obecně lze říci, že při všech stavech s nedostatkem nebo dysfunkcí surfaktantu (např. zánětlivé plicní procesy) dochází v oblastech s nízkým transpulmonálním tlakovým gradientem (tj. v dependentních bazálních částech plic) dle stupně poruchy a hodnoty intraalveolárního tlaku nejprve k fenoménu tzv. dechového recruitmentu – tedy k provzdušnění v inspirační části dechového cyklu a ztrátě vzdušnosti v expirační části dechového cyklu, a později ke vzniku plicní atelektázy, která se projeví poklesem plicní poddajnosti (37). Taktéž funkce surfaktantu může být ovlivněna jak vlastní anestezií, tak i nedostatkem hlubokých dechů při mechanické plicní ventilaci (38, 39).

Přetrvávající atelektáza může být příčinou rozvoje pooperačních plicních komplikací včetně pneumonie. Snížená produkce surfaktantu společně s alterovanou funkcí mukociliárního systému v oblasti plicní nevzdušnosti vytváří podmínky pro pomnožení bakterií a tím potencuje riziko rozvoje respirační infekce v plicním parenchymu (40, 41). Zvláště pak u pacientů s rizikovými faktory (chronická obstrukční plicní nemoc, kouření, dehydratace, malnutrice, imunosuprese, neschopnost efektivně odkašlávat, doba anestezie a protražovaná mechanická ventilace) se tyto faktory mohou podílet na častějším vzniku pooperačních plicních komplikací (42, 43).

6.2 Klinický dopad perioperační atelektázy

Pro pooperační vývoj pacientova klinického stavu je třeba znát škodlivý vliv atelektázy.

Je známo, že i mírná atelektáza je spojená s řadou nepříznivých komplikací a může spustit kaskádu závažných, někdy i fatálních komplikací, jako jsou snížení compliance plicní tkáně, hypoxémie, zvýšená plicní vaskulární rezistence (pulmonary vascular resistace – PVR), pooperační infekce/pneumonie, akutní respirační selhání (acute respiratory failure – ARF) (44-46).

6.2.1 Snížená plicní poddajnost

Faktory jako je redukce plicního objemu, celková anestezie, napolohování pacienta na operačním stole a nezbytné operační manévry vedou k narušení mechaniky dýchání. Dýchací cykly začínají s nižší funkční reziduální kapacitou (functional residual capacity – FRC – reziduální objem vzduchu po výdechu), přičemž se zvyšuje spotřeba energie (46, 47).

6.2.2 Hypoxémie

Během anestezie vede alveolární kolaps k intrapulmonálnímu shuntu, ventilačně/perfuznímu (V/Q) nepoměru s hypoxií (32). Zhoršení oxygenace přímo koresponduje s velikostí atelektatické části plicního parenchymu. Jinak řečeno, úroveň hypoxie je závislá na velikosti povrchu plicní tkáně postiženého atelektázou a stupni intrapulmonálního zkratu. Atelektáza taktéž v chirurgickém kontextu přispívá k hypoventilaci, hypovolémii, nízkému srdečnímu výdeji a anémii (48). Hypoxémie v pooperační fázi je hlavní příčinou vzniku akutního respiračního selhání s eventuální reintubací a arteficiální plicní ventilací (49).

6.2.3 Zvýšení plicní vaskulární rezistence

U zdravých jedinců je plicní vaskulární rezistence nejnižší, když objem plic je rovný FRC (50). U chirurgických pacientů s atelektázou způsobuje hypoxie v postižených okresech plic vzestup lokální PVR. Tento nárůst je způsoben hypoxickou plicní vasokonstrikcí, která se aktivuje při poklesu parciálního tlaku kyslíku (pO_2) v arteriální a venózní krvi. Taktéž k tomu může přispět mechanická komprese či zalomení velkých plicních cév (46, 47, 51, 52).

6.2.4 Pooperační pneumonie

Atelektáza a pneumonie patří mezi nejčastější pooperační plicní komplikace. Uvádí se, že tyto dvě komplikace zvyšují o 30-50 % pravděpodobnost vzniku ARF s nutností mechanické plicní ventilace (53). Jak už bylo zmíněno výše, perioperační změny v mechanismu ventilace, změna mukociliárního systému a neschopnost efektivního odkašlávání vytvářejí podmínky pro vznik plicního infektu (54, 55). Ačkoliv se atelektáza bere jako rizikový faktor přispívající ke vzniku pooperačních plicních komplikací, z hlediska klinického dopadu neexistuje žádný důkaz přímé souvislosti mezi pneumonií a atelektázou v humánní medicíně (56). V experimentální rovině publikoval van Kaam et al., že nedostatek plicního surfaktantu po laváži celého plicního křídla s následnou endotracheální instilací bakterií vyvolá závažnou pneumonii s bakteriemií a mortalitou téměř 80 % (57). Ve druhé experimentální skupině byl aplikován exogenní surfaktant před instilací bakteriální populace (*Streptococcus*). Surfaktant omezil růst bakterií a jejich translokaci do krevního oběhu, čímž podstatně zlepšil klinický průběh onemocnění pokusných zvířat. Podobných výsledků bylo dosaženo v druhé experimentální skupině zrušením atelektázy u lavažovaných zvířat otevřenou plicní ventilací. Tyto výsledky naznačují, že redukce kolapsu plicní tkáně s přispěním exogenně podávaného surfaktantu a otevřená plicní ventilace redukuje riziko pneumonie a vznik sepse u pacientů v pooperačním období.

6.2.5 Zhoršení průniku antibiotika do plicní tkáně

Vlivem perioperační atelektázy a navozením ventilačně perfuzního nepoměru dochází vlivem hypoxie ke spuštění kaskády regulačních mechanismů s následnou plicní vasokonstrikcí neventilovaných okrsků plic a redistribucí krve do provzdušněných částí plicního parenchymu. Tento proces pak vede k omezení distribuce antibiotik do nevzdušné plicní tkáně. V důsledku toho profylakticky či terapeuticky podávané antibiotikum nemusí dosahovat dostatečných hladin, a není tudíž efektivní v eradikaci původců respiračních infekcí či pneumonie (58).

6.2.6 Ventilátorem způsobené poškození plic

Při umělé plicní ventilaci dochází k patologickým jevům, které s menší či větší mírou poškozují plicní tkáň. Na příčině jejich vzniku se podílí několik mechanismů:

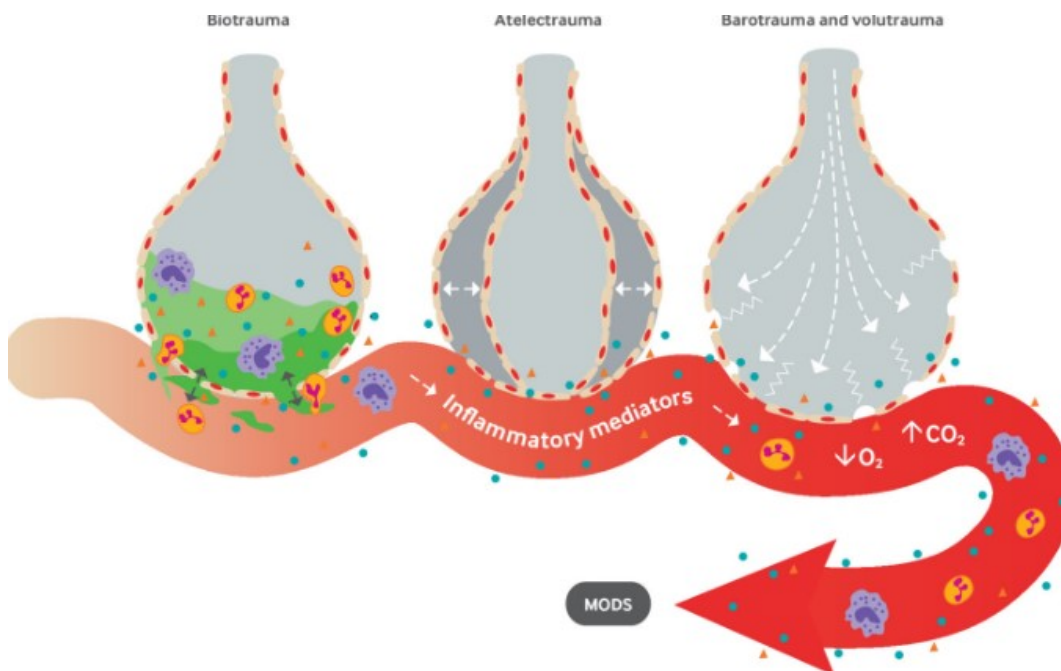
Volumotrauma (vysoké inspirační objemy) a barotrauma (vysoký inspirační tlak), kdy nadměrné mechanické namáhání překročí elastickou kapacitu alveolu, čímž dochází k poškození alveolo-kapilární membrány, a vzniklá lokální zánětlivá reakce nakonec vede k úniku proteinu s edémem alveolů (59).

Biotrauma je zánětlivé poškození alveolu s následnou kaskádou apoptotických a fibroproliferativních procesů způsobující snížení plicní poddajnosti, zvětšení mrtvého prostoru, s méně či více vyjádřenou hypoxií a hyperkapnií (60, 61). Následný přestup bakterií, lipopolysacharidů a prozáněťových mediátorů do systémové cirkulace přispívá k multiorgánové dysfunkci a smrti (62, 63).

Jako atelekttrauma označujeme poškození plíce vzniklé na podkladě atelektázy (64). Ve zdravé i atelektatické plicní tkáni vznikají různé stupně plicního postižení vlivem opakujícího se otevírání a uzavírání plicních sklípků. Poškození je úměrné rozsahu atelektázy. Při větším rozsahu atelektatické plicní tkáně se musí reziduální plicní tkáň adaptovat na vdechovaný objem a tím vzniká hyperinflace zdravých okrsků plic. Současně také vlivem aktivace zánětlivé reakce organismu klesá protektivní vliv plicního surfaktantu (65, 66) (Obr. 8).

Obr. 8: Mechanismus poškození alveolu

Upraveno dle O'Gara B, Talmor D. Perioperative lung protective ventilation. *BMJ* 2018;362: k3030.



6.2.7 Akutní respirační tíseň (ARDS)

Syndrom dechové tísně dospělých (ARDS – acute respiratory distress syndrome) je charakterizován náhlým vznikem dušnosti a hypoxémie na podkladě bilaterálních plicních infiltrátů non-kardiální etiologie obvykle do 7 dnů od předpokládaného plicního poškození s pozitivním rtg nálezem plicního edému (67). Histopatologické mechanismy jsou velmi podobné jako u ventilátorem indukovaného poškození plic. Ovšem mechanická ventilace zde není vyvolávající příčinou poškození alveolů.

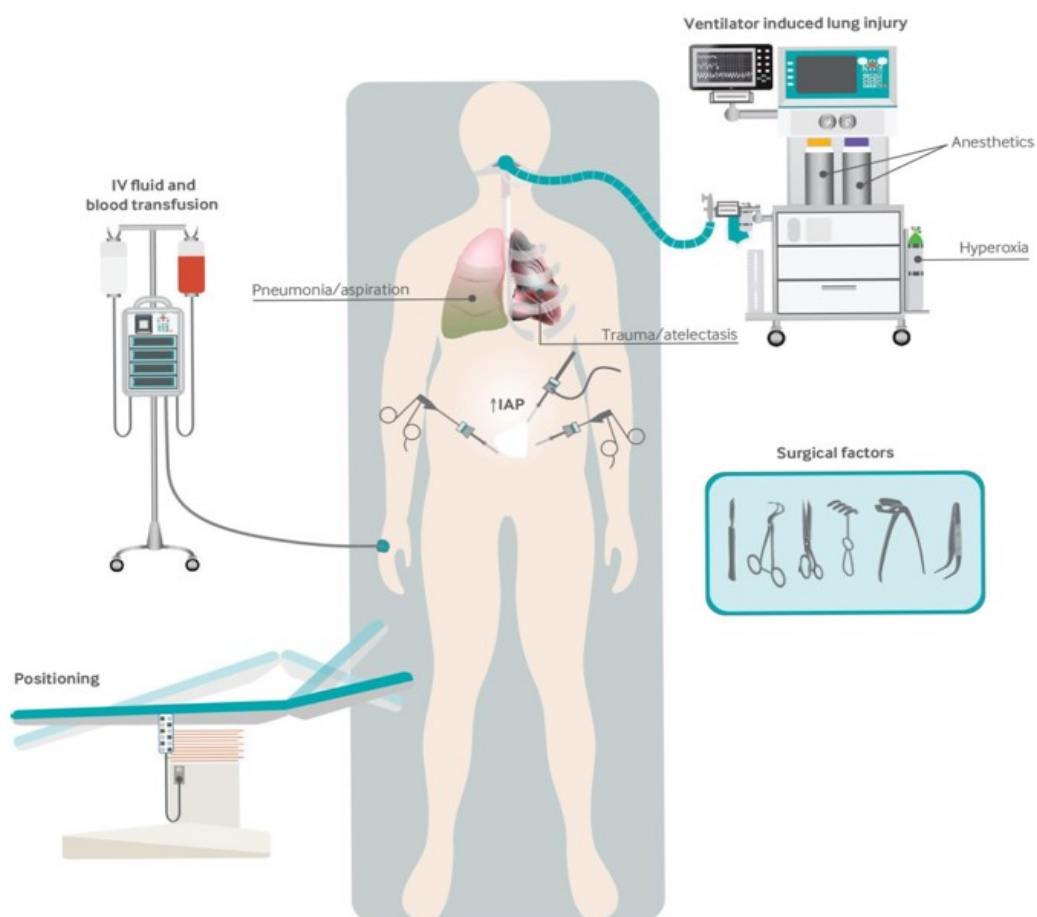
Počáteční fází patofyziologického mechanismu je exudativní fáze, kdy zánětem postižená alveolokapilární membrána propouští tekutiny a proteiny do alveolárního prostoru.

Další fáze je proliferativní, kdy dochází k restituci alveolární integrity následovaná fibrin produkující fází, kdy dochází k remodelaci bazální membrány fibrinem.

Rizikových faktorů podílejících se na iniciaci zánětlivé reakce je mnoho (Obr. 9). Téměř v 85 % se na vzniku podílí pneumonie, sepse, aspirace. K dalším rizikovým faktorům patří trauma, krevní transfuze, hemoragický šok, trauma způsobené vlastním operačním zákrokem, vliv mimotělního oběhu a ischemicko-reperfuzní poškození (68).

Obr. 9: Rizikové faktory perioperačního poškození plic

Upraveno dle O'Gara B, Talmor D. Perioperative lung protective ventilation. BMJ 2018;362: k3030



6.2.8 Akutní respirační selhání

Akutní respirační selhání (ALI – acute respiratory insufficiency, ARF – acute respiratory failure) je mezi pooperačními plicními komplikacemi stav, který nemocného nejvíce ohrožuje na životě. Jedná se o situaci, kdy je porušena výměna plynů, kdy O_2 a CO_2 nemohou být udržovány ve fyziologických hodnotách na podkladě V/Q nepoměru. Stupeň alveolární compliance a tím výměna plynů je přímo úměrná množství atelektatické plicní tkáně (69). Morbidita a mortalita je u těchto pacientů výrazně zvýšena, a to především díky prodloužené umělé plicní ventilaci, delšímu pobytu na jednotce intenzivní péče a zvýšenému riziku vzniku ventilátorové pneumonie (69, 70).

6.3 Rizikové faktory vzniku pooperačních plicních komplikací

Abychom mohli lépe zhodnotit náchylnost pacientů k pooperačním plicním komplikacím, je nezbytné stanovit rizikové faktory přispívající k jejich vzniku. Za tímto účelem byla vytvořena řada skórovacích modelů a publikací. Některé z těchto nástrojů pracují s číselným skóre predikce PPC založené na analýze hodnocených vnitřních a vnějších rizikových faktorů specifických pro daného pacienta. Nejčastěji citovaným skórovacím systémem rizikovosti PPC je doporučení Americké společnosti lékařů (ACP – American College of Physicians) (71). Tato studie však vykazuje nepřesnosti z hlediska typu chirurgického zákroku, což se snažila zohlednit další studie ARISCAT, která zahrnula všechny typy pacientů a intervencí pomocí metody odběru vzorků založené na populaci a analyzovala všechny typy PPC jako složený výsledek. Soubor rizikových faktorů jako je věk, předoperační saturace krve kyslíkem pacienta, anamnéza nedávné respirační infekce, hodnota hemoglobinu, místo incize, doba operace a naléhavost operačního zákroku, řadí pacienty dle pravděpodobnosti vzniku PPC do skupiny s jeho malým, středním a velkým rizikem (Tab. 1). U pacientů s nízkým rizikem se PPC vyskytovaly pouze v 0,7 %, naopak u pacientů zařazených do vysoce rizikové skupiny byly PPC zaznamenány až u 45 % z nich (72).

V současné době se tímto problémem zabývá velká multicentrická observační studie PERISCOPE, k jejímž hlavním cílům patří zdokonalení nástrojů k předpovědi a přesnějšímu sledování výskytu PPC v Evropě u všeobecně chirurgických pacientů. Ovšem její výsledky nejsou dosud publikovány (73).

Tab. 1: ARISCAT score *Low risk: <26, Intermediate risk: 26-44, High risk: ≥45*
 Upraveno dle Gupta S, Fernandes RJ, Rao JS, Dhanpal R. Perioperative risk factors for pulmonary complications after non-cardiac surgery. J Anaesthesiol Clin Pharmacol. 2020;36(1):88-93.

The ARISCAT score

Predictor	Risk score
Age: ≤50 yrs	0
Age: 51-80 yrs	3
Age: > 80 yrs	16
Preoperative SpO ₂ : ≥96%	0
Preoperative SpO ₂ : 91-95%	8
Preoperative SpO ₂ : ≤ 90%	24
Respiratory infection in past 1 month: No	0
Respiratory infection in past 1 month: Yes	17
Preoperative Hemoglobin<10 gm/dl: No	0
Preoperative Hemoglobin<10 gm/dl: Yes	11
Peripheral incision	0
Upper abdominal incision	15
Intrathoracic incision	24
Surgery duration <2 h	0
Surgery duration=2-3 h	16
Surgery >3 h	23
Emergency procedure: No	0
Emergency procedure: Yes	8

6.4 Prevence vzniku pooperačních plicních komplikací

K minimalizaci rizika vzniku PPCs u pacientů stratifikovaných do rizikových skupin (viz výše) je třeba využít všech dostupných informací, léčebných možností a opatření nejen během samotné hospitalizace, ale také v předhospitalizační fázi.

Již v předoperačním období je nezbytná podrobná znalost vhodných zobrazovacích, klinických a laboratorních vyšetření. Anamnestická data, zejména pak informace o kardio-respiračních onemocněních, systémových onemocněních, aktuální medikamentózní terapii a kuřácké anamnéze, vedou k doplnění nezbytných vyšetření a opatření s cílem co nejlépe připravit pacienta na operační zátěž. Bylo prokázáno, že u aktivních kuřáků, pokud přestanou kouřit nebo zredukují počet cigaret na 50 % 6-8 týdnů před operačním zákrokem, dochází k singnifikantně významnému snížení pooperačních komplikací, včetně kratšího pobytu ve zdravotnickém zařízení (74).

U pacientů s chronickým onemocněním plic je nutné v předoperačním období navýšit či modifikovat chronickou bronchodilatační léčbu s cílem snížit hyperaktivitu bronchů, zlepšit mukociliární clearance a tím snížit produkci a retenci hlenu v dýchacích cestách. Také dekontaminace dutiny ústní bakteriálními antiseptiky těsně před operačním zákrokem, ale i během pobytu na JIP, přispívá k redukci výskytu respiračních infekcí (55, 74). Perioperační strategie zahrnující anesteziologické a chirurgické techniky, bilanci tekutin a délku trvání operačního výkonu je zásadní pro snížení rizika atelektázy a tím vzniku PPCs.

Studie IMPROVE prokázala, že při tzv. protektivní ventilaci (dechový objem 6-8 ml/kg, 6-8 cm H₂O PEEP a recruitment manévru opakujících se každých 30 minut po dobu trvání operace) oproti pacientům ve skupině s konvenční ventilací (dechový objem 10-12 ml/kg, nulový PEEP a žádný recruitment manévr) dochází k významnému snížení incidence plicních a mimoplicních komplikací (10,5 % vs. 27,5 %).

Sekundární analýza dat ukázala, že tento rozdíl byl z velké části způsoben snížením výskytu pneumonie (1,5 % vs. 8,0 %), redukcí pooperační neinvazivní ventilace pozitivním tlakem (NIPPV) (4,5 % vs. 14,5 %) a snížením sepse (6,5 % vs. 14,5). Také kumulativní pravděpodobnost potřeby pooperační mechanické ventilace po dobu 30denního sledování byla u protektivní skupiny významně nižší.

Doba hospitalizace pacientů v protektivní skupině byla o 2,5 dne kratší (75). Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, i obsah kyslíku ve vdechované směsi může mít vliv na vznik PPCs. Světová zdravotnická organizace sice doporučila FiO_2 80 % nebo vyšší hodnoty ke snížení rozvoje ranné infekce, na druhou stranu vyšší FiO_2 (>80 %) může způsobit resorpční atelektázu a zhoršit zánětlivé poškození plic (76, 77). Mnoho dalších randomizovaných studií zjistilo, že při úvodu do anestezie je výhodnější preoxygenace 30 %, nikoliv 100 % frakcí kyslíku a že velikost postindukční atelektázy vykazuje závislost na frakci FiO_2 (78).

Další randomizovaná studie zabývající se vztahem FiO_2 a atelektázy zjistila, že u skupiny pacientů, kde bylo použito 10 minut před extubací 40 % FiO_2 byl statisticky nižší výskyt atelektáz (2,6 %) ve srovnání se skupinou se 100 % FiO_2 (8,3 %) a skupinou 100 % FiO_2 , doplněný tzv. recruitment manévrem (otevřicí manévr s přechodným navýšením tlaků v dýchacích cestách) (6,8 %) (79).

Zjednodušeně řečeno, nižší dechové objemy se střední hodnotou PEEP a frakcí O_2 pod 80 % má v konkrétní situaci protektivní vliv na vznik atelektázy v perioperačním i pooperačním období. Další samozřejmostí je snaha o co nejčasnější odpojení (weaning) pacienta od ventilátoru. S délkou intubace úměrně roste riziko PPCs. Zásadní je účinná pooperační kontrola bolesti ve chvíli, kdy je nemocný schopen spontánní ventilace. Při bolesti dochází k povrchnímu dýchání s absencí hlubokých nádechů a tím ke snížení plicních objemů. Taktéž spontánní očista dýchacích cest efektivním odkašláváním je omezena.

Několik recentních metaanalýz srovnávajících systémové podávání opioidů s epidurální anestézií prokázalo jednoznačný benefit epidurální anestezie ve smyslu kratší doby UPV, reintubací, lepšími plicními funkcemi a snížením výskytu zánětů plicního parenchymu (80, 81). Při neadekvátní péči o bolest nemocného je následná snaha o co možná nejčasnější vertikalizaci, mobilizaci a rehabilitaci včetně té dechové svízelná. Časná mobilizace a dechová rehabilitace (posilování dechového

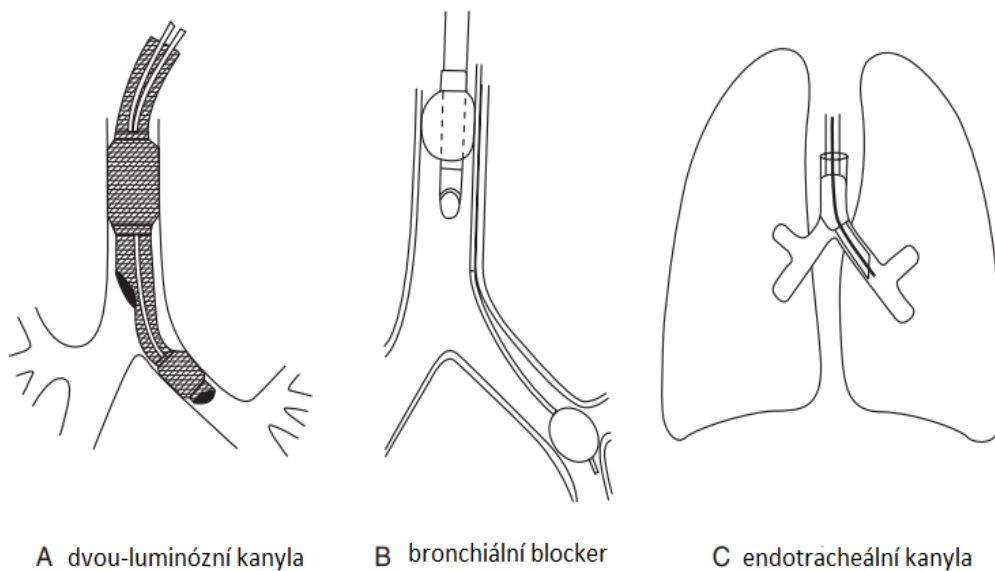
svalstva, dýchání proti odporu, event. neuromuskulární elektrostimulace) přispívá k rekondici kardiopulmonálního systému a časnější rekonvalescenci nemocného (82, 83)

6.5 Řízená ventilace jednou plící - „One lung ventilation“

Tzv. „One lung ventilation“ (OLV) je technika umožňující ventilaci na jednu plící, zatímco druhá je desuflovaná. Cílem této metody je zajištění adekvátního chirurgického přístupu a přehlednosti operačního terénu při udržení dostatečné oxygenace. Chirurgické indikace jsou nejčastěji v hrudní chirurgii, kardiochirurgii a také ve všeobecné chirurgii při operacích jícnu nebo neurochirurgické výkony na páteři. K zajištění selektivní ventilace se používá speciální instrumentarium (Obr. 10) – dvouluminózní kanyla (double-lumen tube – DLT) (Obr. 11) a bronchiální blocker (bronchial blocker – BB) (Obr.12). Tyto kanyly se zavádějí pod přímou kontrolou zraku za pomoci bronchoskopu (Obr. 13). Další možností je přímá selektivní intubace endotracheální kanylou (Obr. 14). Záleží na preferencích daného pracoviště a zkušenostech anesteziologického týmu, jakou metodu zvolí k dosažení kýženého výsledku. Důležité však je, aby zvolená technika byla bezpečná a zároveň efektivní, tedy aby umožnila chirurgickému týmu dostatečnou vizualizaci a komfort pro operační zákrok a zároveň zajistila optimální ventilaci (84).

Obr. 10: Schématické znázornění metod selektivní intubace

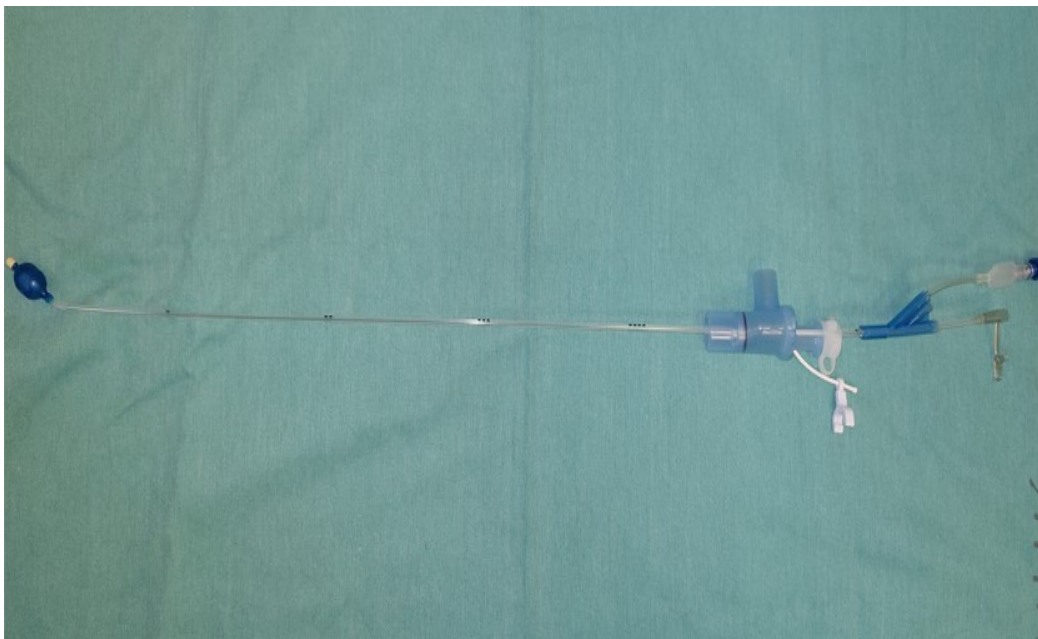
Upraveno dle Anesthesia for Spine Surgery, ed. Ehab Farag. Published by Cambridge University Press. © Cambridge University Press 2012



Obr. 11: Dvouluminózní endotracheální kanyla (vlastní fotodokumentace)



Obr. 12 a: Endobronchiální blocker (vlastní fotodokumentace)



Obr. 12 b: Pohled bronchoskopem na insuflovaný blocker v pravém hlavním bronchu (vlastní fotodokumentace)



Obr. 13: Flexibilní video-bronchoskop (vlastní fotodokumentace)



Obr. 14: Endotracheální kanyla (vlastní fotodokumentace)



Patofyziologické mechanismy, které vznikají cíleně navozenou atelektázou při OLV, jsou identické s těmi, které byly popsány v kapitole Patofyziologické mechanismy atelektázy. U 10-24 % pacientů dochází k hypoxémii ($SpO_2 < 90 \%$, $PaO_2 < 60\text{mmHg}$), čímž se zvyšuje pravděpodobnost pooperačních komplikací, jako jsou fibrilace síní, kognitivní dysfunkce, plicní hypertenze či renální selhání (85, 86).

Etiologie hypoxémie u OLV je multifaktoriální. Ovlivňuje ji vlastní anestezie, elevace bránice, poloha na boku, V/Q nepoměr a tím zvýšený pravo-levý zkrat. Tento zkrat se vypočítá jako podíl zkratového průtoku Q_z k průtoku celkovému, tj. srdečnímu výdeji Q_{co} . Při zkratu $> 30 \%$ přetrvává hypoxémie i při oxygenoterapii, protože krev protékající zkratem nepřichází do kontaktu s vysokou koncentrací O_2 v alveolech (PO_2). Wang et al. pomocí jícnového ultrazvuku změřil tuto frakci zkratu na 35, resp. 37 % (měřeno po 30 a 60 minutách) (87). V této situaci již další navýšení FiO_2 nepřináší benefit, ale je nutné zvážit další mechanismy, jako jsou recruitment manévry a maximalizace plicního objemu navýšením pozitivního tlaku (PIP, PEEP).

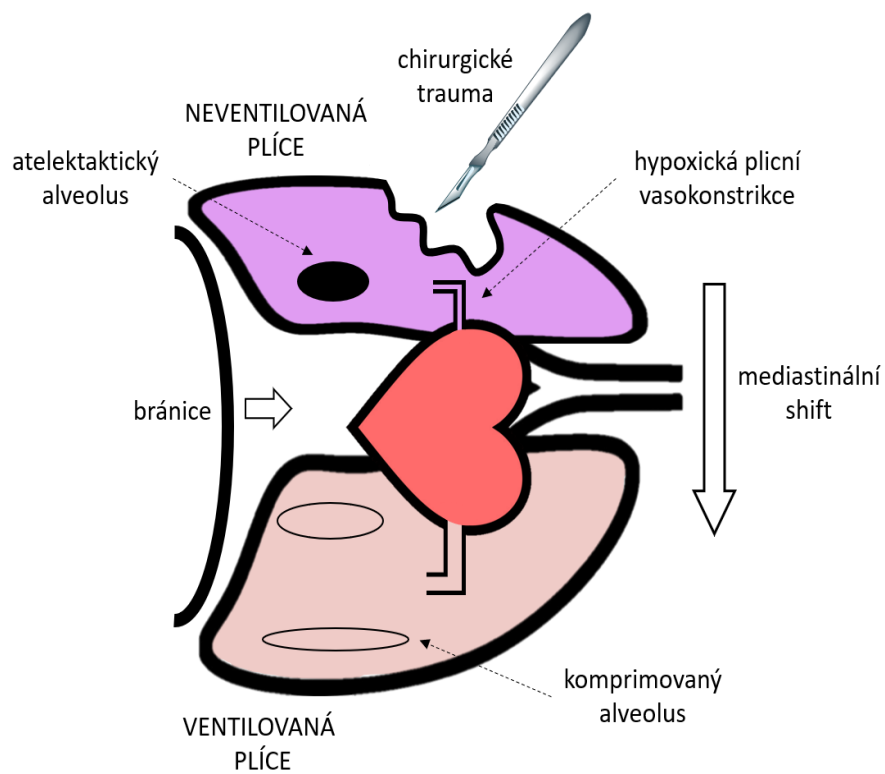
Regulačním mechanismem V/Q nepoměru je hypoxická plicní vasokonstrikce (HPV), která zajistí redistribuci krve do provzdušněných částí plic. Je to reakce na nízký PaO_2 v regionálních neprovzdušněných oblastech. K HPV dochází ve dvou fázích, a to ihned po OLV, a dále pak za 30–40 min. PaO_2 tedy narůstá postupně.

Hlavním spouštěčem této odpovědi je parciální tlak kyslíku v alveolech PO_2 . Ovšem jsou i další faktory, které se podílí na tomto mechanismu, jako je parciální tlak kyslíku ve venózní krvi (PvO_2), alkalóza/acidóza, tělesná teplota a některá anestetika. Dříve používaná inhalační anestetika jako halotan či isofluran ve vyšších koncentracích snižovaly HPV, zatímco sevofluran či desflurane stejně jako některá parenterální anestetika (propofol) tento jev neovlivňují (88).

Taktéž poloha nemocného, zvláště pak při poloze na boku, ovlivňuje redistribuci ve ventilované plíci. Vlivem gravitace totiž dochází k přesunu mediastina směrem k ventilované straně. To způsobuje změnu distribuce ventilace do horních (non-dependentních) okrsků plíce, přičemž dependentní dolní části ventilované plíce jsou špatně provzdušněné, až atelektatické (89).

Výše uvedené může přispívat k zhoršenému průniku profylakticky podávaného antibiotika do nevzdušné plicní tkáně a tím ke vzniku pneumonie (90). Všechny tyto faktory je třeba zohlednit při správném vedení anestezie u pacientů ventilovaných pouze na jednu plíci (Obr. 15).

Obr. 15: Mechanismy způsobující hypoxémii při OLV (vlastní nákres)



7 Intersticiální mikrodialýza

7.1 Historie

Počátek užití mikroanalýzy se datuje do 60. let minulého století, kdy byla využívána u pokusných zvířat k monitoraci neurotransmiterů v mozkové tkáni. Později se tato metoda rozšířila i do jiných oblastí medicíny a stala se užitečným nástrojem ve výzkumu nejrůznějších metabolických procesů a složení extracelulární tekutiny u ostatních tkání. Až v roce 1987 Lönnroth publikuje první výsledky použití mikrodialýzy u člověka. Jednalo se o monitoraci koncentrace glukózy v podkožní tkáni u zdravých dobrovolníků (91). Od té doby bylo publikováno velké množství prací popisujících využití mikrodialýzy ke sledování koncentrací látek u různých tkání (mozek, kosterní sval, podkožní tuk, střevo, játra, slinivka břišní, solidní tumory, oko, srdce, dokonce i plicní tkáň) (92).

7.2 Princip

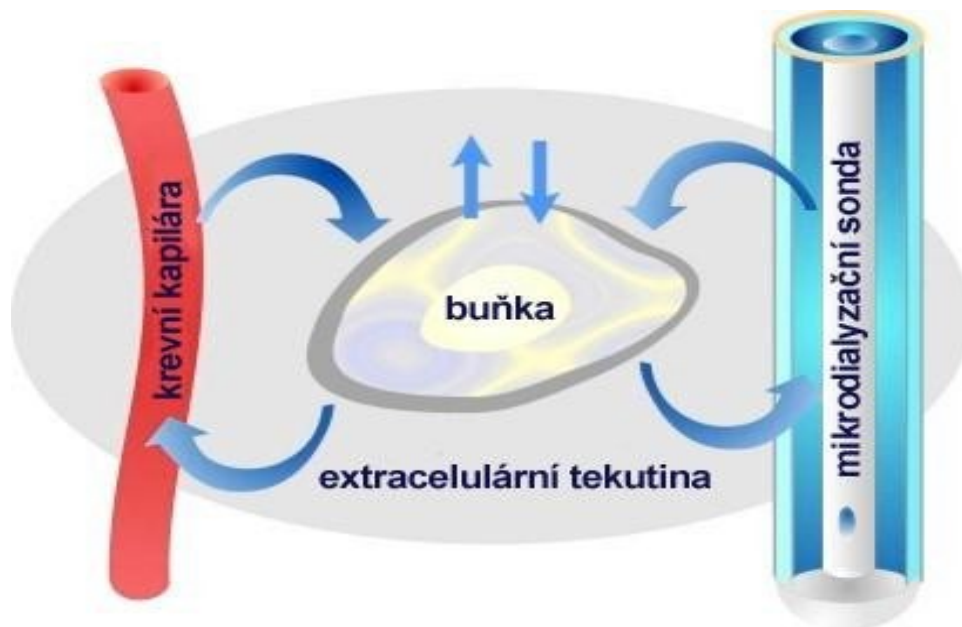
Mikrodialýza je minimálně invazivní technika založená na punkční aplikaci mikrodialyzačního katétru, jenž umožňuje kontinuální odběr malých, volných, nevázaných molekul, rozpustných ve vodě, z intersticiálních prostorů prakticky všech tkání organismu. Difuze rozpuštěných látek probíhá přes semipermeabilní membránu sondy na základě koncentračního gradientu. Snahou je napodobit funkci kapiláry (93, 94). Semipermeabilní membrána bývá vyrobena z poethylensulfonu či polyamidu nebo jiného materiálu s podobnými vlastnostmi (95-97). Velikost jejich pórů tzv. „cut off“ hodnota membrány, určuje velikost molekul (respektive jejich molekulární hmotnost), pro které je sonda propustná. Obvykle se pohybuje mezi 1 000 a 50 000 Da (dalton) (98). Tato selektivita je výhodná v tom, že látky o vyšší molekulové hmotnosti, například některé bílkoviny (enzymy), nemohou přestupovat do dialyzátu a způsobovat degradaci získaných látek, což umožňuje analýzu vzorků i s určitým časovým odstupem (98).

Při vlastní mikrodialýze je katetr připojen k lineárnímu dávkovači (mikropumpa, perfuzor) a je kontinuálně proplachován neutrálním elektrolytovým roztokem (např. Ringerův roztok). Roztok přitéká k semipermeabilní membráně, kde na principu difuze na základě koncentračního gradientu do něj přestupují látky z intersticia tkání a již jako mikrodialyzát odtéká do sběrné nádoby (mikrozkuřavky) (99). Rychlost perfuze je velmi pomalá. Obvykle se pohybuje mezi $0,1 - 10 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ (98). Při takto nízkých rychlostech perfuze dochází k optimálnímu vyrovnání koncentrací látek mezi intersticiem a perfuzním roztokem.

Na druhou stranu je však množství získaného dialyzátu velmi malé, což limituje chemickou analýzu. Při navýšení rychlosti nedochází k dostatečnému vyrovnání koncentrací hladin mezi vzorkem a tkání a dochází ke zkreslování hodnot v dialyzátu. V důsledku kontinuálního promývání sondy nenastane nikdy úplné vyrovnání koncentrací mezi vzorkovanou tělní tekutinou a dialyzátem, a to ani při velmi nízkých perfuzních rychlostech. Koncentrace v dialyzátu bude představovat pouze určitou část skutečné koncentrace ve tkáni. Tato frakce se označuje jako extrakční frakce (recovery) (99-101).

Obr. 16: Schematické znázornění principu mikrodialýzy

Upraveno dle Lindahl G. The effects of flaxseed and tamoxifen on the inflammatory microenvironment in normal breast tissue and in breast cancer: Linköping University Electronic Press; 2019.



7.3 Recovery

Recovery neboli extrakční frakce je poměr mezi koncentrací látky v mikrodialyzátu a intersticiálním prostoru. Relativní hodnota *recovery* se vyjadřuje v procentech, a jelikož ve většině případů dialyzát neobsahuje sledovanou látku, lze rovnici vyjádřit jako:

$$recovery (\%) = 100 \times \text{koncentrace dialyzátu} \times \text{koncentrace intersticia}^{-1}$$

Jak již bylo zmíněno výše, 100% hodnoty *recovery*, tedy úplného vyrovnání látek, není možné dosáhnout při jakékoliv perfuzní rychlosti. Její hodnota tedy postupně klesá se zvyšující se perfuzní rychlostí a naopak. Absolutní hodnota *recovery* je pak definována jako množství látky, která přestoupí za určitý časový interval přes membránu sondy a nabývá hodnoty nula při nulové rychlosti, nebo se přibližuje ke svým maximálním hodnotám při stoupající průtokové rychlosti.

Hodnota *recovery* je ovšem ovlivňována i dalšími faktory, jako je délka a průměr membrány, teplota a pH prostředí, hodnota *cut off* membrány, tvar, hmotnost a náboj dané molekuly a její degradace v daném prostředí. Výše zmíněné platí pro méně komplikované stanovení *in vitro recovery* (98, 101).

In vivo recovery se stanovuje daleko obtížněji, jelikož je výslednicí mnoha proměnných veličin.

Jednou z nich je vlastní implantace sondy, která narušuje správnou funkci tkáně lokální zánětlivou reakcí – intenzivní vasodilatací a proteinovou extravazací. Zkoumaná látka by tedy neměla být podávána, dokud trauma tkáně nezmizí, což se obvykle děje za 60-120 minut (102). Dalším faktorem je rezistence jednotlivých tkání. Látky přestupují z buněk do extracelulární matrix na základě difuze a následně pak putují k mikrodialyzační sondě. Tento transport limituje přísun látky k membráně a tím může zkreslovat i výsledek *recovery*. Stanovení hodnot *recovery* pro danou látku *in vitro* není tedy při pokusech *in vivo* přesné, neboť hodnoty dosažené *in vitro* jsou vyšší než hodnoty stanovené *in vivo*. V praxi je proto pro stanovení *recovery in vivo* používáno několik metod (98).

Metoda „mass transfer“ je založena na postupném snižování rychlosti perfuze a změnách koncentrace látky v mikrodialyzátu. Předpokládá, že při nulové rychlosti je koncentrace v mikrodialyzátu stejná jako v extracelulární tekutině (98, 103).

Další užívanou metodou je tzv. „zero net flux“, která předpokládá dosažení ustáleného stavu. Principem je nalezení takové koncentrace perfuzního roztoku, která se rovná koncentraci v mikrodialyzátu. Tedy koncentrace látek na obou stranách membrány jsou si rovné. Vztah mezi oběma koncentracemi je následně určen za pomoci lineární regresní analýzy (91, 104).

Retrodialýza a reverzní dialýza jsou metody založené na předpokladu stejné rychlosti difuze látky v obou směrech přes semipermeabilní membránu. Sledovaná látka je tedy aplikována i do perfuzního roztoku, přičemž na základě vztahu mezi koncentrací látky v perfuzátu a mikrodialyzátu je určena hodnota *recovery* (105).

$$\text{recovery (\%)} = 100 - (100 \times \text{koncentrace dialyzátu} \times \text{koncentrace perfuzátu}^{-1})$$

Taktéž je možné *in vivo recovery* stanovit pomocí přidání radioizotopů do perfuzátu. Při stanovení tkáňové koncentrace je pak použit poměr koncentrace značené látky v perfuzátu a mikrodiályzátu. Tato metoda je srovnatelná s konvenčními způsoby stanovení *in vivo recovery* (106).

7.4 Aplikace mikrodiályzy ve studii antimikrobiálních léčiv

Před zavedením mikrodiályzy jako účinné alternativní metody studie farmakokinetických a farmakodynamických vlastností jednotlivých látek se koncentrace léčiva v cílových tkáních zkoumala pomocí biopsie dané tkáně či metodou vzniku kožních puchýřů za pomoci kantaridových náplastí (107-110). Tyto techniky ovšem oplývaly značnými nepřesnostmi zejména proto, že pouze volná, nikoliv celková frakce léčiva v intersticiu vykazuje antimikrobiální aktivitu (111, 112). Homogenizace tkáně z biopsie a následná extrakce léčiva před analýzou nedokáže odlišit koncentraci intracelulární od intersticiální a zahrnuje i příspěvek léčiva pocházejícího z krve. Získá se špatně definovaná, průměrná koncentrace. Navíc výtěžnost extrakce léčiva z tkáně bývá značně proměnlivá. Po roce 1995 bylo proto zahájeno hledání alternativních metod (107).

Jako nejvhodnější atraktivní metodou se stala právě mikrodiályza. Od té doby bylo publikováno nesčetně prací s využitím mikrodiályzy k zjištění FK/FD vlastností různých antibiotik v cílových tkáních (107, 113-120). Tyto studie způsobily přehodnocení dříve domnělých koncepcí o „penetraci antimikrobiálních léků do tkání“. Ukázalo se, že intersticiální koncentrace betalaktamů a aminoglykosidů byly v rozmezí koncentrací volného séra, ovšem například pro chinolonová či makrolidová antibiotika byly koncentrace v cílovém místě podstatně nižší, než se předpokládalo z tkáňových biopsií. Výsledky těchto studií dále prokázaly, že antimikrobiální koncentrace daného antibiotika v místě účinku mohou být subinhibiční, ačkoli jsou sérové koncentrace dostatečné (114, 119).

Studie také prokázaly, že v případě lokálního zánětu je jeho vliv na intersticiální koncentraci daného léčiva velmi malý (116, 121). Na stranu druhou poškození kapilár spojené se septikémií nebo pooperačním traumatem významně ovlivnilo intersticiální koncentraci daného léčiva (119).

Mikrodialýza je ideální metodou k získávání informací o farmakokinetických vlastnostech daných léčiv v cílovém místě, stejně jako pro studium farmakodynamických vlastností antibiotik. Aplikace mikrodialýzy ve výzkumu PK/PD je založena na skutečnosti, že selektivně monitoruje časový profil v intersticiu, tj. tekutině, která přímo obklopuje infekční agens. Nedávné publikace popisující *in vivo PK/in vitro PD* model založený na mikrodialýze lze použít k predikci účinků léku v cílovém místě (114, 122). Použitím těchto kombinovaných *in vivo PK/in vitro PD* modifikací bylo zjištěno, že terapeutický úspěch, či selhání antimikrobiální terapie lze vysvětlit variabilitou PK v intersticiu (114). Toto zjištění by mohlo poskytnout informace ohledně optimalizace dávky antibiotika a nahradit současné koncepty jeho dávkování u vybraných tkáňových infekcí (122, 123).

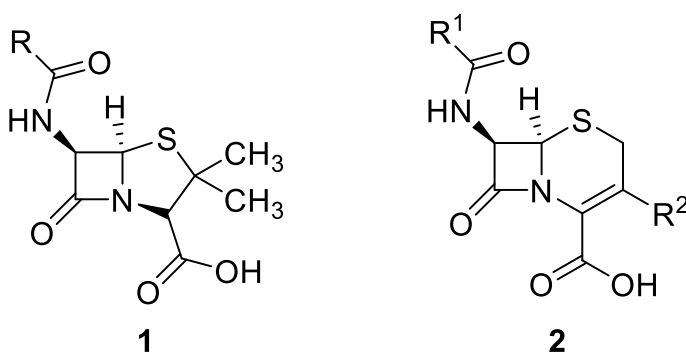
8 Cefalosporiny

8.1 Obecný úvod

Cefalosporiny jsou β -laktamová antibiotika, jejichž jádro tvoří kyselina 7-aminocefalosporanová, izolovaná z plísně *Cephalosporium acremonium*. V 40. – 50. letech 20. století byl z této plísně jako jedna z prvních biologicky aktivních látek izolován cefalosporin C. Tato látka vykazovala inhibiční účinky na řadu gram pozitivních i gram negativních bakterií, a navíc odolávala působení stafylokokových β -laktamáz (viz níže). V téže době docházelo k značnému zvyšování počtu kmenů stafylokoků rezistentních vůči penicilinu, a tak se vlastnosti cefalosporinu C staly motivem k vývoji dalších cefalosporinových antibiotik (124). Ačkoliv se samotný cefalosporin C ukázal být málo účinným léčivem, stal se základem pro celou sérii dnes používaných cefalosporinových antibiotik, která od něj byla chemicky odvozena (125). Základní struktura cefalosporinů je velmi podobná penicilinům. Centrálním motivem obou typů antibiotik je β -laktamový kruh fúzovaný s postranním heterocyklem (124). Tento heterocyklus je u penicilinu pětičlenný, nasycený, a u cefalosporinů šestičlenný, nenasycený (Obr. 17). Různými substituenty na tomto jádře lze modulovat antimikrobiální aktivitu, odolnost vůči β -laktamázám nebo farmakokinetiku jednotlivých cefalosporinů. Lze tedy říci, že mikroby, jejichž růst je inhibován penicilinem, podléhají rovněž, až na výjimky (např. *Listeria*, *Pasteurella*) působení cefalosporinů (126). Cefalosporiny jsou v současnosti rozsáhlou a stále se rozrůstající skupinou širokospektrálních antimikrobiálních léčiv (127).

Obr. 17: Jádra penicilinů (1) a cefalosporinů (2). Substituent R na jádru penicilinu může být např. benzyl (penicilin G), nebo fenoxymethyl (penicilin V), existuje však řada dalších derivátů. Substituenty R1 a R2 na jádru cefalosporinu mohou být rovněž různé.

Upraveno dle Caprile KA. The cephalosporin antimicrobial agents: a comprehensive review. J Vet Pharmacol Ther. 1988;11(1):1-32.



8.2 Mechanismus působení

Jedním z rozdílů mezi živočišnými eukaryotními buňkami a prokaryotními buňkami bakterií je přítomnost buněčné stěny, která prokaryotní buňky obklopuje a představuje tak další zpevňující a ochrannou vrstvu kolem samotné buněčné membrány. Buněčná stěna určuje tvar bakterií, dodává jim stabilitu a pomáhá jim odolávat osmotickému tlaku (128, 129). Na základě struktury a složení buněčné stěny lze rozlišit dva typy bakterií: grampozitivní (G+) a gramnegativní (G-). Buněčná stěna grampozitivních bakterií je tvořena silnou vrstvou peptidoglykanu (mureinu), kterou prostupují řetězce kyseliny teichoové.

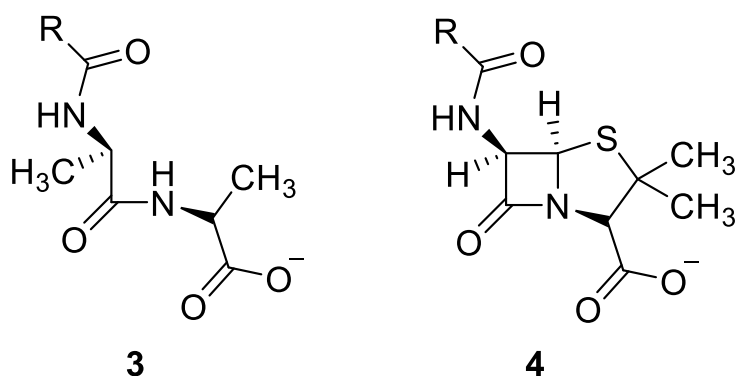
Naproti tomu strukturně složitější buněčná stěna gramnegativních bakterií kyselinu teichoovou neobsahuje a tenčí vrstva peptidoglykanu je zde doplněna o vnější lipoproteinovou membránu (130). Tato druhá membrána obsahuje mj. vlastní membránové proteiny a jsou v ní zakotveny řetězce lipopolysacharidů. Syntéza obou typů buněčné stěny je složitý proces, na němž se podílí přes 30 enzymů (124).

Závěrečnou fází syntézy je enzymaticky katalyzované propojení lineárních peptidoglykanových řetězců peptidickými můstky za vzniku trojrozměrné sítě. Enzymy, které se těchto reakcí účastní, se nazývají penicilin vázající proteiny (penicillin-binding proteins, PBP) (124, 131). Antibiotika obsahující β -laktamový motiv (cefalosporiny, peniciliny aj. - Obr. 18) jsou strukturálními analogy motivu d-Ala-d-Ala, vyskytujícího se v peptidových můstcích peptidoglykanu, a způsobují tak inhibici závěrečného procesu transpeptidace (128).

Z výše uvedeného je patrné, že β -laktamová antibiotika působí výhradně na aktivně rostoucí bakterie (128, 132). Interakcí β -laktamových antibiotik s vznikající buněčnou stěnou dochází k morfologickým změnám bakteriálních buněk (130). Za specifických podmínek, konkrétně v hypertonických médiích a v přítomnosti vysokých koncentrací β -laktamů, může zejména u grampozitivních bakterií dojít k vzniku bakteriálních buněk zbavených peptidoglykanové vrstvy. Tyto kulovité útvary, tzv. sféroplasty, jsou však málo stabilní a snadno podléhají změnám chemického prostředí nebo obranným mechanismům imunitního systému (130, 132). β -laktamy navíc deaktivují inhibitor autolytických enzymů v buněčné stěně, což umocňuje jejich baktericidní účinek.

Obr. 18: Strukturální podobnost mezi peptidickým motivem N-acyl-d-Ala-d-Ala (3) a β -laktamovým antibiotikem (4)

Upraveno dle Fisher, J. F.; Mobashery, S. Three Decades of the Class A Beta-Lactamase Acyl-Enzyme. *Curr Protein Pept Sci.* 2009, 10 (5), 401–407



8.3 Rezistence

Rezistence vůči β -laktamovým antibiotikům může mít několik příčin (124, 126):

1. Pokud je buněčná stěna vůči danému antibiotiku nepropustná, nemůže dojít k vazbě na PBP a biosyntéza buněčné stěny tak bez inhibice pokračuje.
2. Různé bakterie obsahují různé kombinace PBP a antibiotikum nemusí mít k dané směsi PBP dostatečnou afinitu.
3. Bakterie jsou schopny syntetizovat řadu enzymů, β -laktamas, které štěpí β -laktamové jádro a deaktivují tak antibiotika, jejichž funkce je na tomto strukturním prvku závislá.

Ad 1: Rezistence způsobená nepropustností buněčné stěny se vyskytuje zejména u gramnegativních bakterií. Jednodušší buněčná stěna grampozitivních bakterií není efektivní bariérou pro malé molekuly, jakými jsou např. cefalosporiny. Naproti tomu složitější buněčná stěna gramnegativních bakterií účinně zabraňuje průchodu řady hydrofilních látek (133). Průchod antibiotik vnější membránou gramnegativních bakterií je možný pouze skrz proteinové kanály (poriny). Nepřítomnost těchto kanálů nebo jejich snížená produkce může značně omezit účinnost β -laktamových antibiotik. Nízká propustnost vnější membrány není sama o sobě dostatečnou bariérou. Může však hrát klíčovou roli ve spojení s β -laktamázovou aktivitou, kdy zpomaluje průchod β -laktamů dostatečně na to, aby je enzymy mohly včas hydrolyzovat (129).

Ad 2: Různá β -laktamová antibiotika se na jednotlivé PBP vážou s různou afinitou. Tato afinita může být snížena strukturními změnami v PBP, které následně vedou k rezistenci vůči radě různých β -laktamů (124). Změny v PBP jsou základem rezistence vůči met icilinu u stafylokoků a rezistence vůči penicilinu u pneumokoků a enterokoků. PBP těchto organismů mají nízkou afinitu vůči β -laktamovým antibiotikům a jsou těmito antibiotiky inhibovány až při relativně vysokých

koncentracích (129). Nízkou afinitu PBP lze kompenzovat aplikací zvýšené dávky antibiotika (126).

Ad 3: Nejčastější forma rezistence je způsobena přítomností β -laktamaz degradujících antibiotika (129). Tyto enzymy, produkované grampozitivními i gramnegativními bakteriemi, rozkládají peniciliny, cefalosporiny a příbuzná antibiotika hydrolýzou β -laktamového jádra (129, 134). Nejběžnější β -laktamazy spadají do tříd SHV (sulfhydryl variant β -lactamases) nebo TEM (transposable element β -lactamases). β -laktamazy třídy SHV jsou typické pro čeled' *Enterobacteriaceae*. β -laktamazy spadající do třídy TEM se vyskytují např. u *Escherichia coli* nebo *Klebsiella pneumoniae*. Příkladem může být také β -laktamaza TEM-1, produkováná netypizovatelným *Haemophilus influenzae* (nontypeable *Haemophilus influenzae*, ntHi), která deaktivuje antibiotika cefaclor a cefprozil. Další třídy β -laktamaz zahrnují např. oxacilinasy (OXA) nebo β -laktamazy rozšířeného spektra (extended spectrum β -lactamases, ESBL) (129).

β -laktamazy typu ESBL jsou schopny deaktivovat všechny β -laktamy kromě karbapenemů a cefamycinů (126, 129). Celkem je známo přes 1 000 β -laktamas, které lze dle struktury rozdělit do skupin A, B, C a D. Skupiny A, C a D jsou serinové β -laktamazy, u nichž hydrolýza β -laktamového jádra antibiotik probíhá ve dvou krocích (135). Prvním krokem je acylace serinu, tedy nukleofilní napadení karbonylového uhlíku β -laktamu postranním řetězcem serinu za vzniku aduktu acyl-enzym. Následuje hydrolytická deacylace za vzniku neaktivní β -aminokyseliny z původního β -laktamu a uvolnění enzymu. Oba kroky jsou zprostředkovány postranními řetězci okolních aminokyselin, které aktivují nukleofily (serin, voda) a zajišťují přenos protonů mezi interagujícími molekulami. Např. u β -laktamaz třídy A je hlavní katalytickou aminokyselinou Ser70, zatímco Lys73 a Glu166 napomáhají acylaci a deacylaci. Naproti tomu β -laktamazy třídy B jsou metaloenzymy, které využívají Zn^{2+} a jiné kovové ionty k aktivaci vody a přímé hydrolýze β -laktamu. Hydrolýza zde tedy probíhá v jednom kroku v koordinační sféře kovového iontu bez vzniku aduktu acyl-enzym (136). Tento mechanismus zřejmě přispívá k vysoké promiskuitě (tj. vysoké aktivitě a nízké substrátové specifitě) β -laktamaz třídy B (137). Tyto enzymy jsou schopny hydrolyzovat všechna dostupná β -laktamová antibiotika, včetně nejnovějších

karbapenemů, které obvykle nejsou vhodnými substráty pro serinové β -laktamazy tříd A, C a D (136, 137).

Enzymatickému rozkladu antibiotik lze zabránit podáním inhibitorů β -laktamaz, mezi něž patří např. kyselina klavulanová, sulbactam nebo tazobactam (129). Alternativou k využití těchto inhibitorů je modifikace β -laktamových antibiotik na molekulární úrovni, vedoucí k ochraně β -laktamového jádra před laktamasovou aktivitou. Takto modifikovaná antibiotika (např. cefuroxim nebo ceftriaxon) jsou odolná vůči řadě β -laktamaz, včetně výše uvedené TEM-1 netylizovatelného *Haemophilus influenzae* (126). Podle spektra antibakteriální aktivity lze cefalosporiny rozdělit do několika „generací“ (124, 126, 138). Cefalosporiny nižších generací působí spíše na grampozitivní bakterie, zatímco zástupci vyšších generací mají zvýšenou aktivitu vůči gramnegativním bakteriím (126).

8.4 Cefalosporiny 1. generace

Cefalosporiny první generace působí zejména na grampozitivní koky včetně streptokoků a meticilin-susceptibilních stafylokoků (methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, MSSA) (126). Naproti tomu nevykazují aktivitu vůči enterokokům, meticilin-rezistentním stafylokokům (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), nebo bakteriím rodu *Listeria* (125, 126). Z gramnegativních, aerobních, střevních bacilů jsou vůči antibiotikům této generace (konkrétně vůči cefalothinu, cefapirinu, cefazolinu, cefradinu a cefalexinu) susceptibilní pouze *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp. a *Shigella* spp. (125).

8.5 Cefalosporiny 2. generace

Cefamandol, cefalosporin 2. generace, působí na stejné mikroorganismy, které byly uvedeny u cefalosporinů 1. generace. Jeho aktivita ovšem dále zahrnuje indol pozitivní *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. a *Providencii* spp. Stejně mikroorganismy pokrývá také cefoxitin (s výjimkou *Enterobacter* spp.), avšak na rozdíl od cefamandolu a cefalosporinů 1. generace působí cefoxitin také

na *Bacteroides fragilis* ss. *fragilis* (125).

Ve srovnání s 1. generací jsou cefalosporiny 2. generace aktivnější vůči gramnegativním mikroorganismům a (v případě cefoxitinu a cefotetanu) vůči anaerobním bakteriím. Ačkoliv cefoxitin a cefotetan patří mezi cefamyciny, jsou často řazeny k cefalosporinům 2. generace (127). Mezi cefalosporiny 2. generace patří rovněž cefuroxim – viz níže.

8.6 Cefalosporiny 3. generace

Cefalosporiny 3. generace mají rozšířené spektrum vůči gramnegativním organismům, včetně většiny enterobakterií. Výjimku tvoří *Enterobacter cloacae*, který vůči cefalosporinům často projevuje rezistenci. Pouze dva zástupci cefalosporinů 3. generace, ceftazidim a cefoperazon, působí na *Pseudomonas aeruginosa* (127, 139). *Haemophilus influenzae* a zástupci rodu *Neisseria* jsou rezistentní vůči všem cefalosporinům 3. generace. Meticilin-susceptibilní *Staphylococcus aureus* je inhibován všemi cefalosporiny 3. generace kromě ceftazidimu. Aktivita cefalosporinů 3. generace proti stafylokokům a streptokokům je ve srovnání s cefalosporiny 1. a 2. generace nižší. Enterokoky a *Listeria monocytogenes* jsou vůči cefalosporinům rezistentní (výjimku zde tvoří cefoperazon, který je aktivní vůči enterokokům). Aktivita cefalosporinů proti anaerobním organismům se různí, přičemž cefotaxim a ceftizoxim jsou nejaktivnější vůči *Bacteroides fragilis* (139).

8.7 Cefalosporiny 4. generace

Cefalosporiny 4. generace jsou aktivní vůči grampozitivním i gramnegativním mikroorganismům (včetně *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*). Jejich aktivita je při tom ve srovnání s cefalosporiny 3. generace cefotaximem a ceftazidimem shodná nebo vyšší. Ačkoliv jsou cefalosporiny 4. generace vhodné k léčbě polymikrobiálních infekcí, nejsou aktivní vůči kmenům MRSA a druhu *Bacteroides fragilis*. Cefiprom jako jediný cefalosporin vykazuje in vitro aktivitu vůči enterokokům (140).

8.8 Nežádoucí účinky cefalosporinů

Nejběžnější nežádoucí reakce na cefalosporiny jsou obvykle mírné. Zahrnují vyrážky, lékovou horečku, pozitivní výsledky Coombsova přímého i nepřímého testu nebo přechodně zvýšenou aktivitu sérových transaminaz a alkalických fosfataz. Všechny cefalosporiny mohou při vysokých dávkách vést k poškození buněk proximálního tubulu nefronu, avšak vážnější poškození byla zaznamenána pouze při aplikaci cefaloridinu (125). Pro pacienty alergické na cefalosporiny je pro účely profylaxe doporučován vancomycin nebo teicoplanin (141). Mezi projevy této alergie patří nejčastěji makulopapulózní exantém nebo urtikárie. Tyto kožní reakce se po podání cefalosporinů projeví u 1 - 3 % pacientů (142).

Obecně jsou nežádoucí účinky podobné těm, které se vyskytují u penicilinových antibiotik, a zahrnují např. průjemy, vyrážky a alergické reakce. U perorálních cefalosporinů 1. generace se vyskytuje nevolnost, zvracení a průjemy. Rovněž může vzniknout pseudomembranózní kolitida. Dále byly zaznamenány mírná nefrotoxicita a zvýšené hladiny jaterních enzymů.

Další nežádoucí účinky cefalosporinů 1. generace mohou zahrnovat lékovou horečku, trombocytopenii, leukopenii nebo eozinofilii. K nežádoucím účinkům cefalosporinů 2. generace, zejména cefacloru a cefprozilu, patří symptomy podobné sérové nemoci (serum sickness), tedy vyrážky a horečky. Podobně jako u cefalosporinů 1. generace může i zde dojít k rozvoji pseudomembranózní kolitidy asociované s bakterií *Clostridium difficile*. Tento nežádoucí efekt se častěji projevuje u cefoxitinu.

S intravenózními cefalosporiny 3. generace (cefotaxim, ceftriaxon, ceftazidim) může být spojeno zvýšené riziko trombocytopenie, neutropenie, leukopenie a eozinofilie. Další nežádoucí účinky opět zahrnují alergické reakce, průjemy a zvracení. Nežádoucí účinky cefepimu (cefalosporinu 4. generace) jsou podobné nežádoucím účinkům pozorovaným u cefepimu a ceftazidimu (126).

8.9 Kontraindikace cefalosporinů

Má-li pacient historii vážnějších reakcí na penicilin (např. anafylaxe), doporučuje se na místo cefalosporinů použít alternativní antibiotika (125).

8.10 Cefuroxim

Cefuroxim je β -laktamové antibiotikum patřící mezi cefalosporiny 2. generace. S ostatními cefalosporiny sdílí společné jádro, kyselinu 7-aminocefalosporanovou, a jeho mechanismus působení tedy rovněž spočívá v inhibici enzymů, podílejících se na biosyntéze buněčné stěny mikroorganismu – viz výše. Spektrum cefuroximu je široké a zahrnuje grampozitivní i gramnegativní bakterie, včetně organismů nejčastěji asociovaných s infekcemi respiračního systému – *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *S. pyogenes* a MSSA (143). Ke grampozitivním organismům inhibovaným cefuroximem obecně patří stafylokoky a streptokoky. Z gramnegativních organismů jsou cefuroximem inhibovány *Neisseria gonorrhoeae* a *N. meningitidis*, dále *Haemophilus influenzae* a zástupci čeledi *Enterobacteriaceae*. Stejně jako ostatní cefalosporiny je cefuroxim málo aktivní vůči enterokokům. Jeho působení dále odolává řada zástupců rodu *Serratia*, indol pozitivní kmeny rodu *Proteus* a *Pseudomonas aeruginosa*. Z anaerobních mikroorganismů je vůči cefuroximu rezistentní *Bacterioides fragilis* (144).

Bylo prokázáno, že koncentrace 12,5 $\mu\text{g/ml}$ (které lze snadno dosáhnout intramuskulárním podáním 0,5 - 1,0 g cefuroximu) inhibuje bakterie *E. coli* z 83 %, *Salmonella* ze 100 %, *Shigella* z 58 %, *Citrobacter* z 95 %, *Klebsiella pneumoniae* ze 100 %, *Enterobacter* z 56 %, *Proteus mirabilis* z 90 %, *Proteus rettgeri* ze 72 % a *Providentia* z 57 %. Stejná dávka však inhibuje pouze 16 % druhu *Serratia marcescens*, 37 % druhu *Proteus morganii* a 43 % kmenů *Acinetobacter*. Cefuroximem nebyl inhibován žádný z druhů *Pseudomonas* a k 20 % inhibici *B. fragilis* byla zapotřebí koncentrace 25 $\mu\text{g/ml}$, přičemž 59 % inhibice bylo dosaženo až při 100 $\mu\text{g/ml}$ (145).

Detailní přehled rezistentních a susceptibilních mikroorganismů, včetně příslušných hodnot MIC (minimální inhibiční koncentrace), viz literatura (144, 145).

Cefuroxim odolává působení β -laktamas, což dokazuje jeho aktivita vůči bakteriálním kmenům produkujícím tyto enzymy (145, 146).

8.10.1 Struktura

Z hlediska struktury je cefuroxim založen na kyselině 7-aminocefalosporanové. Jeden ze substituentů na tomto jádře je kombinací furylu a metylovaného oximu, konkrétně Z-2methoxyimino-2-(fur-2-yl) acetamid (R1), srov. Obr. 17 a Obr. 19, zatímco druhý substituent je tvořen karbamoyloxymethylovou skupinou namísto původní acetoxy-methylové skupiny v pozici 3 (R2). Tyto modifikace poskytují lepší antibakteriální aktivitu a vyšší odolnost vůči β -laktamazám oproti cefalosporinům 1. generace (146). Obecně substituce v pozici R1 zvyšuje odolnost vůči β -laktamazám, zatímco substituce v pozici R2 může prodlužovat poločas eliminace a ovlivňovat toxicitu (139).

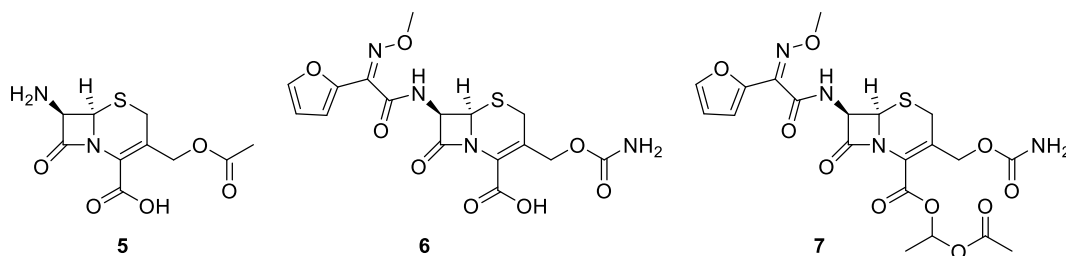
Cefuroxim axetil

Cefuroxim axetil je 1-acetoxyethylesterem cefuroximu a představuje jeho proléčivo (prodrug). Enzymatickou hydrolýzou lipofilnějšího cefuroxim axetilu vzniká volný cefuroxim. Ten již dalšímu metabolismu nepodléhá a přibližně 50 % je v nezměněné podobě eliminováno močí do 12 hodin od podání léčiva (143).

Obr. 19: Kyselina 7-aminocefalosporanová (5), cefuroxim (6) a jeho proléčivo cefuroxim axetil (7)

Upraveno dle Caprile KA. The cephalosporin antimicrobial agents: a comprehensive review. J Vet Pharmacol Ther. 1988;11(1):1-32.,

Scott LJ, Ormrod D, Goa KL. Cefuroxime axetil: an updated review of its use in the management of bacterial infections. Drugs. 2001;61(10):1455-500.



8.10.2 Farmakokinetika a farmakodynamika

Distribuce cefuroximu odpovídá ostatním cefalosporinům. Minimálně 75 % léčiva je distribuováno do extravaskulárního kompartmentu. Přibližně 1/3 cefuroximu je vázána na proteiny. Tato míra vazby je nižší než u ostatních cefalosporinů (144). Při perorálním podání je absorpční kinetika nezávislá na dávce a léčivo je stejnou měrou absorbováno u mladých i starších pacientů mužského i ženského pohlaví (147). Minimální inhibiční koncentrace (MIC) cefuroximu je přibližně 4 mg/l. Vzhledem k širokému terapeutickému oknu cefuroximu se však k zlepšení profylaktických účinků doporučuje udržovat koncentraci nad čtyřnásobkem MIC, tedy nad 16 mg/l. Nežádoucí účinky asociované s vysokými plazmatickými koncentracemi nebyly pozorovány (148). Cefuroxim, jako ostatní cefalosporiny, vykazuje časově závislou baktericidní aktivitu (149). Důležitější, než maximální dosažená koncentrace je tedy doba, po kterou je koncentrace antibiotika vyšší než MIC (150). Farmakodynamické a farmakokinetické analýzy naznačují, že se ve většině situací pohybuje koncentrace cefuroximu nad hladinou MIC₉₀ pro relevantní patogeny, kterými jsou např. *S. pneumoniae* a *H. influenzae*, po více než 50 % intervalu mezi dávkami (143). Vzhledem k prodlevě mezi podáním léčiva a dosažením maximální plazmatické (popř. tkáňové) koncentrace je dle řady studií doporučeno podání profylaktického antibiotika s určitým předstihem (15 - 60 min)

tak, aby se koncentrace antibiotika při započetí zákroku již nacházela nad hodnotou MIC pro patogeny nejpravděpodobněji asociovanými s daným zákrokem (149). Při opakovaném dávkování je doporučen interval mezi jednotlivými dávkami přibližně 2 poločasy eliminace, $t_{1/2}$. Při poločasu cefuroximu 1 - 2 h je doporučený interval mezi dávkami 3 h (149). Starší review však uvádí interval 6–8 hodin a srovnává jej s nutností častějšího dávkování u cefoxitinu a cefamandolu (151). Postantibiotický efekt vykazuje cefuroxim jen minimální (149).

Nascimento et al. ve studii (148) z roku 2007 sledoval farmakokinetiku cefuroximu u dospělých pacientů absolvujících koronární bypass (coronary artery bypass grafting, CABG). Pacientům bylo antibiotikum podáno v bolusu (1,5 g; *i. v.*) bezprostředně před zákrokem a následně po 12 a 24 hodinách. Koncentrace cefuroximu v plazmě byla určena pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (high-performance liquid chromatography, HPLC).

Z chromatograficky stanovených hodnot koncentrace antibiotika v krevní plazmě byl zjištěn rychlý pokles koncentrace po podání bolu. Maximální dosažená plazmatická koncentrace, c_{max} , byla extrapolací stanovena na přibližně 100 mg/l. Po 6 hodinách od podání dávky tato koncentrace klesla pod 16 mg/l, tedy pod doporučený čtyřnásobek minimální inhibiční koncentrace, MIC, viz výše. Po 9 hodinách již koncentrace klesla pod samotnou hodnotu MIC. Poločas eliminace antibiotika se pohyboval v rozmezí 1,8 - 1,9 (1,7) hodin, rychlostní konstanta eliminace (k_{el}) v rozmezí 0,36 - 0,39 (0,40) h^{-1} a clearance (CL) v rozmezí 1,4 - 1,5 (1,4) ml/min/kg. Distribuční objem (V_d) činil 0,19 - 0,25 (0,20) l/kg.¹

Skutečnost, že v průběhu dávkování nebyla pozorována významná změna parametrů distribuce a eliminace, naznačuje pro cefuroxim lineární farmakokinetiku při daném režimu dávkování.

Knoder et al. publikoval studii (152), která byla zaměřena na farmakokinetiku cefuroximu u dětí ve věku od 1 měsíce do 3 let, podstupujících kardiokirurgické zákroky s využitím mimotělního oběhu (cardiopulmonary

¹ Hodnoty v závorkách zde představují hodnoty stanovené u zdravých dobrovolníků.

bypass; CPB). Zvláštní důraz zde byl kladen na studium vlivu CPB na farmakokinetiku cefuroximu u pediatrických pacientů. První dávka cefuroximu ($24,2 \pm 1,6$ mg/kg) zde byla podána i.v. asi 1 hodinu před zákrokem. Další dávka ($14,4 \pm 7,9$ mg/kg) byla podána v náhradním roztoku (prime solution) mimotělního oběhu. Koncentrace cefuroximu ve vzorcích krevní plazmy byla sledována chromatograficky (HPLC).

Získaná data byla statisticky vyhodnocena a porovnána s matematickými modely. Zjištěny byly následující průměrné farmakokinetické parametry: Maximální dosažená koncentrace, c_{max} , po 1. dávce = 328 $\mu\text{g/ml}$; systémová clearance, $C_s = 0,050$ l/h/kg; distribuční objem v stacionárním stavu, $V_d = 0,213$ l/kg a poločas eliminace, $t_{1/2} = 3,76$ h.

Pro maximální účinnost cefalosporinů je zapotřebí, aby koncentrace volného léčiva přesahovala hodnotu MIC po dobu 60 – 70 % dávkovacího intervalu. Pro bakteriální kmeny *S. aureus* a *S. epidermidis*, které autoři označují za nejčastější původce perioperativních infekcí u dětí, je hodnota $MIC \leq 8$ $\mu\text{g/ml}$. Za uvedených podmínek by k dosažení koncentrace přesahující MIC pro stafylokoky po dobu zákroku byla dostačující prvotní dávka cefuroximu, podaná i. v. Druhá dávka, podaná v rámci CPB, již dle autorů neposkytuje další profylaktickou výhodu.

Autoři dále dospěli k závěru, že využití CPB, za podmínek specifikovaných ve studii, nevede k změnám farmakokinetiky cefuroximu.

Pojar et al. v roce 2007 publikoval studii (153) zaměřenou na prevenci ranných infekcí. Tato studie zkoumala farmakokinetické vlastnosti cefuroximu pomocí mikrodialyzační sondy zavedené do příčně pruhovaného kosterního (deltového) svalu. Celkem u 11 kardiochirurgických pacientů operovaných s použitím CPB byla podána dávka dle dávkovacího schématu prevence ranné infekce. První dávka (3,0 g) byla podána i.v. v úvodu do anestezie. Druhá dávka (1,5 g) na konci operace při dekanylaci mimotělního oběhu při podání protamin-sulfátu. Vzorky byly odebírány v 30minutových intervalech (celkem 6 vzorků), zamrazeny při -80 °C a analyzovány pomocí HPLC metody.

Hodnoty cefuroximu v plazmě a intersticiální tekutině po celou dobu operace přesáhly minimální inhibiční koncentraci pro bakterie grampozitivní (2 mg/l^{-1}) i pro gramnegativní (4 mg/l^{-1}).

Průměrné (\pm SD) koncentrace cefuroximu v periferní tkáni byly $105,4 \pm 41,1$, $81,7 \pm 32,8$, $74,6 \pm 26,0$, $70,4 \pm 34,7$, $60,5 \pm 27,2$, $138,0 \pm 42,6$ (mg/l^{-1}). Celkové plazmatické koncentrace cefuroximu byly $154,4 \pm 41,6$, $73,3 \pm 20,7$, $67,1 \pm 20,4$, $59,2 \pm 21,0$, $49,0 \pm 16,4$, $110,9 \pm 33,6$ (mg/l^{-1}) a koncentrace volné plazmatické frakce byly $110,7 \pm 37,1$, $62,2 \pm 18,8$, $58,9 \pm 18,6$, $48,4 \pm 16,6$, $41,7 \pm 15,6$, $97,6 \pm 28,6$ (mg/l^{-1}). Získané hodnoty ukazují pokles koncentrace léčiva v závislosti na spuštění a použití mimotělního oběhu. Následné zvýšení plazmatických koncentrací koreluje s podáním druhé dávky po ukončení CPB. Předpokládá se, že distribuce léčiva byla ovlivněna patofyziologickými změnami během mimotělního oběhu, jako je hemodiluce, změna tkáňové perfuze, intrakapilární tlak a nestálé hodnoty plazmatických proteinů PBP.

9 Cíl práce

1. Zjistit vliv selektivní ventilace a navozené atelektázy na koncentraci profylakticky podávaného antibiotika (cefuroximu) v periferní plicní tkáni. Porovnat hodnoty v periferní plicní tkáni s plazmatickými hladinami výše zmíněného antibiotika.
2. Vyhodnotit vhodnost použití intersticiální mikrodialýzy jako metody měření koncentraci exogenní látky v plicní tkáni na zvířecím modelu.

10 Metodika a materiál

10.1 Experimentální zvíře

Zvířata použitá v experimentu byly samice prasete domácího (*Sus scrofa domestica*) o hmotnosti 31-38 kg. Stáří samic se pohybovalo v rozmezí 2-3 měsíců. Každé zvíře bylo označeno pořadovým číslem a evidováno v dokumentaci řešitele. Zvířata byla chována za standardních podmínek (teplota 21 °C, vlhkost vzduchu 55-65 % a dvanáctihodinový cyklus osvětlení). Zvířata měla volný přístup k vodě a krmena byla dvakrát denně. Studie se uskutečnila ve viváriu Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany v Hradci Králové. Po týdenním adaptačním období byla zařazena do studie. Volba zvířete byla vedena snahou o maximálně možnou anatomickou podobnost kardio-respiračního systému s lidským.

Experiment byl schválen Projektem pokusů Oborovou komisí Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany v Hradci Králové podle § 11 vyhlášky č. 207/2004 Sb., O ochraně, chovu a využití pokusných zvířat pod čísly No. 45-2/2015-6848, 50-33/2016-6848 a 50-39/2016-6848.

10.2 Provedení experimentu

Do studie bylo zařazeno 10 pokusných zvířat o hmotnosti 31-38 kg. Před všemi chirurgickými zákroky byla použita celková anestezie. Třicet minut před operací byla zvířata premedikována intramuskulární injekcí azaperonu (40 mg/kg; Stresnil, Janssen Pharmaceuticals, Belgie), atropinu (0,05 mg/kg; Atropin Biotika, Biotika, Slovenská Ľupča, Slovensko) a ketaminu (30 mg/kg; Narkamon Spofa, Bioveta, Ivanovice na Hané, Česká republika). Zvířata byla umístěna do supinační polohy s fixací všech čtyř končetin k operačnímu stolu gázovými popruhy.

Následně byla zaintubována (ET 9 mm, Curaplex Select Endotracheal Tube, Bound Tree Medical, Dublin, Irsko) a arteficiálně ventilována (19 dechů/min, $FiO_2 = 0,6$), 900 C Servo ventilátor (Siemens – Elema, Švédsko). Anestezie byla udržována isofluranem (1-3 % vol), inhalací kyslíku a všem zvířatům byla podávána kontinuální infuze Ringerova roztoku laktátu (50 ml/hod) o pokojové teplotě. Pro selektivní ventilaci byl zvolen levý hlavní bronchus, jelikož v pravém hlavním bronchu se vyskytuje přídatný *lobus trachealis*, což by znemožnilo vyřazení celého plicního křídla z ventilace. Za pomoci optického bronchoskopu byl do levého hlavního bronchu zaveden endotracheální *blocker* (Coopdech, DAIKEN medical company, Osaka, Japonsko).

Pro kontinuální invazivní monitorování krevního tlaku a odběr vzorků krve byl zaveden do femorální tepny centrální žilní katétr (16 Ga, 1,7 mm, Arrow International, Inc., USA). Jako venózní přístup byla využita žíla na ušním boltci zvířete.

Během experimentu byly sledovány základní životní funkce zvířete pomocí elektrokardiografie, pulzní oxymetrie a invazivně měřeného arteriálního krevního tlaku.

Vlastní chirurgická fáze pokusu spočívala v provedení bilaterální minitorakotomie (těsně pod oběma lopatkami) – incize kůže, podkoží a svalů s vynucenou resekci části jednoho žebra pro lepší vizualizaci a manipulaci v oblasti dolních plicních laloků. Chirurgické postupy byly prováděny s důslednou hemokoagulací k minimalizaci krevních ztrát a tím zajištění perioperační stability životních funkcí experimentálního zvířete.

Po ozřejmění plicního parenchymu byly pod vizuální kontrolou na insuflovaných plicních křídlech pomocí žlábkové jehly (vel. 1,4 mm) zavedeny mikrodialyzační sondy (mikrodialyzační sada CMA-60, CMA Microdialysis, Stockholm, Švédsko). Dialyzační membrána sondy byla 30 mm dlouhá s molekulárním prahem („cut off“) 20 kDa.

Od implantace do zahájení farmakokinetické studie byla sonda nepřetržitě perfundována roztokem Ringerfundin (Braun Melsungen AG, Melsungen, Německo), perfuzorem (Compact perfusor, B. Braun Melsungen AG, Německo) při konstantním průtoku 0,1 ml/hod po dobu 30 minut.

K *in vitro* kalibraci mikrodialyzační sondy byla použita metoda *recovery no-net-flux*. Sonda byla promývána konstantní rychlostí 0,1 ml/hod Ringerovými roztoky obsahujícími 8 koncentrací cefuroximu z rozmezí 10-71 mg/l. Výsledná hodnota koncentrace cefuroximu byla 40 mg/l.

In vivo kalibrace sond se prováděla u každého pokusného zvířete metodou retrodialýzy.

Mikrodialyzační sondy implantované do obou plic byly perfundovány roztokem 60 mg/l cefuroximu (Cefuroxim Kabi, Fresenius, Kabi Group, Portugalsko) rychlostí 0,1 ml/hod po dobu 30 minut.

Takto získané oba vzorky byly uskladněny při teplotách -80 °C a následně použity ke kalibraci sond.

Relativní výtěžnost (RR) byla vypočtena pomocí rovnice:

$$RR = 1 - (C_{\text{dialysate}}/C_{\text{perfusate}})$$

Koncentrace cefuroximu v intersticiální tekutině každé plíce byly vypočteny následovně:

$$C_{\text{ISF}} = C_{\text{dialysate}} / RR$$

Po *in vivo* kalibraci sond následovala „wash out“ perioda 60 minut, což je čas nezbytný k odplavení reziduálního antibiotika z intersticiální tekutiny plicní tkáně.

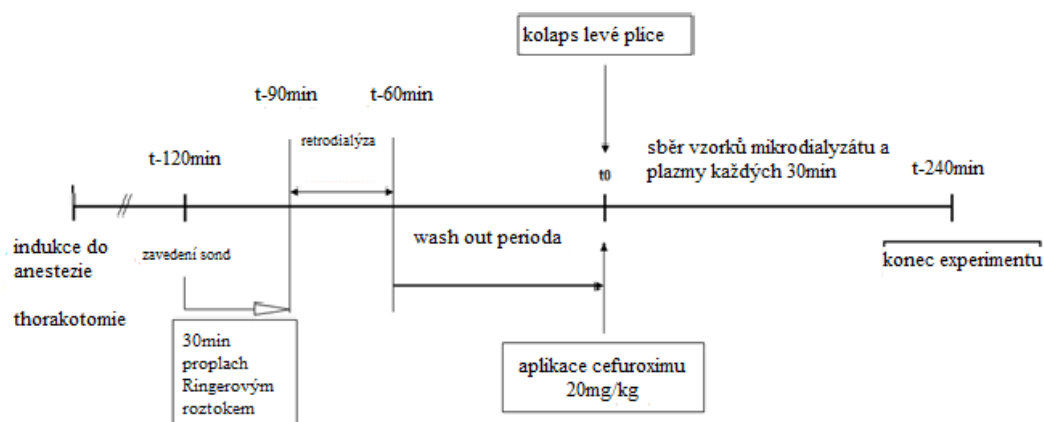
Vlastní pokus byl zahájen insuflací *blockeru* v levém hlavním bronchu, nastavením ventilačních parametrů (dechový objem, dechová frekvence, FiO₂) tak, aby se výsledná saturace (měřená pulzním oxymetrem na prstu zvířete) při ventilaci na jednu plíci pohybovala ve fyziologickém rozmezí. V okamžiku ventilace na jednu plíci byl intravenózně aplikován cefuroxim v dávce 20 mg/kg tělesné hmotnosti po dobu 30 minut.

Vzorky krve byly odebírány z centrálního žilního katétru zavedeného cestou *a. femoralis l. dx.* v časových intervalech 15, 30, 45, 75, 135, 165, 195 a 225 minut od začátku infuze. Vzorky plicních mikrodialyzátů byly odebírány v intervalu 30 až 240 minut od začátku infuze jak z ventilované, tak neventilované plicní tkáně. Aby se zabránilo odpařování, byly mikrodialyzační vzorky uskladněny v uzavřených mikrozkušavkách (CMA Microvials, CMA Microdialysis, Stockholm, Švédsko). Krevní vzorky byly uskladněny ve zkumavkách s EDTA. Následně byla centrifugací z krevních vzorků oddělena plazma.

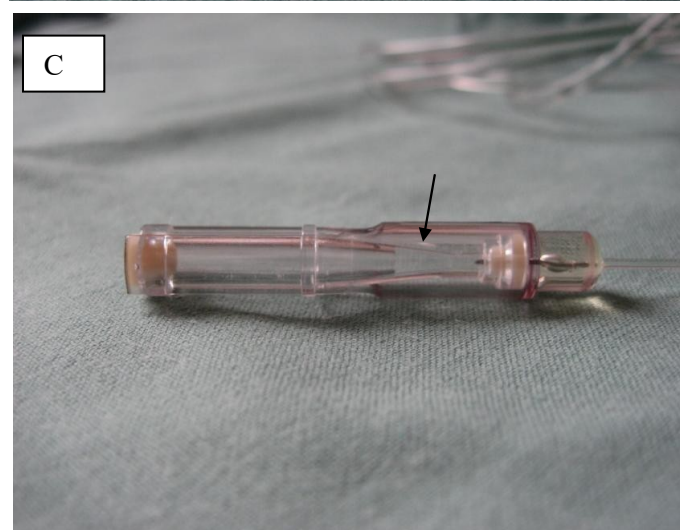
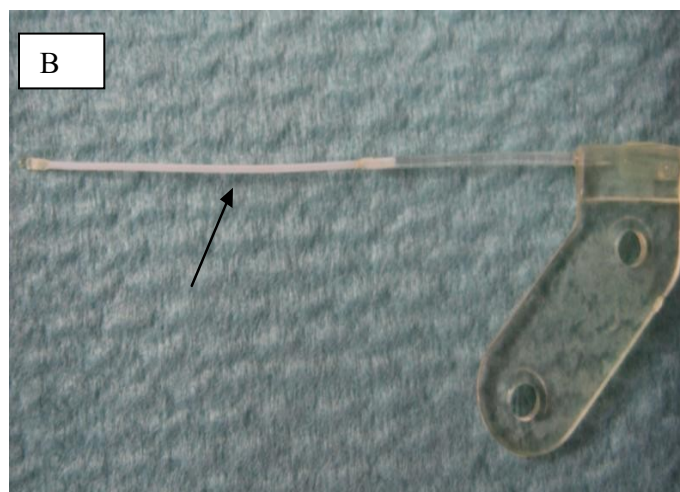
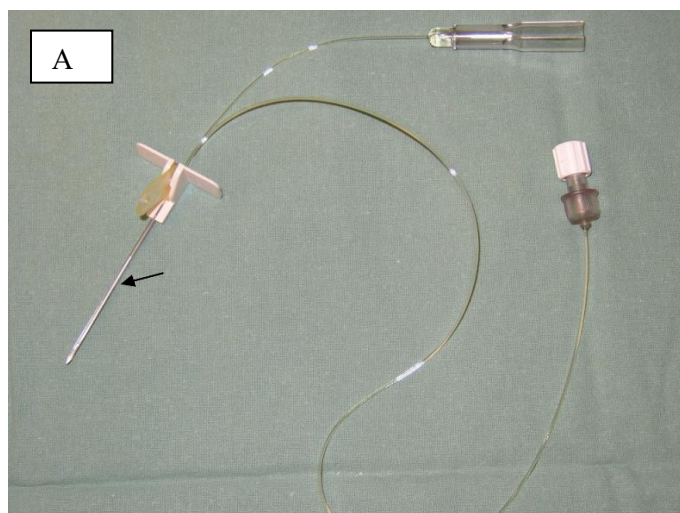
Takto uchované mikrodialyzáty a plazma byly skladovány při -80 °C až do vlastní analýzy.

Na konci pokusu byla prasata v celkové anestezii usmrcena i. v. podáním embutramidu, mebezonium jodidu a tetrakain hydrochloridu (T61, Intervet International GmbH, Unterschleissheim, Německo).

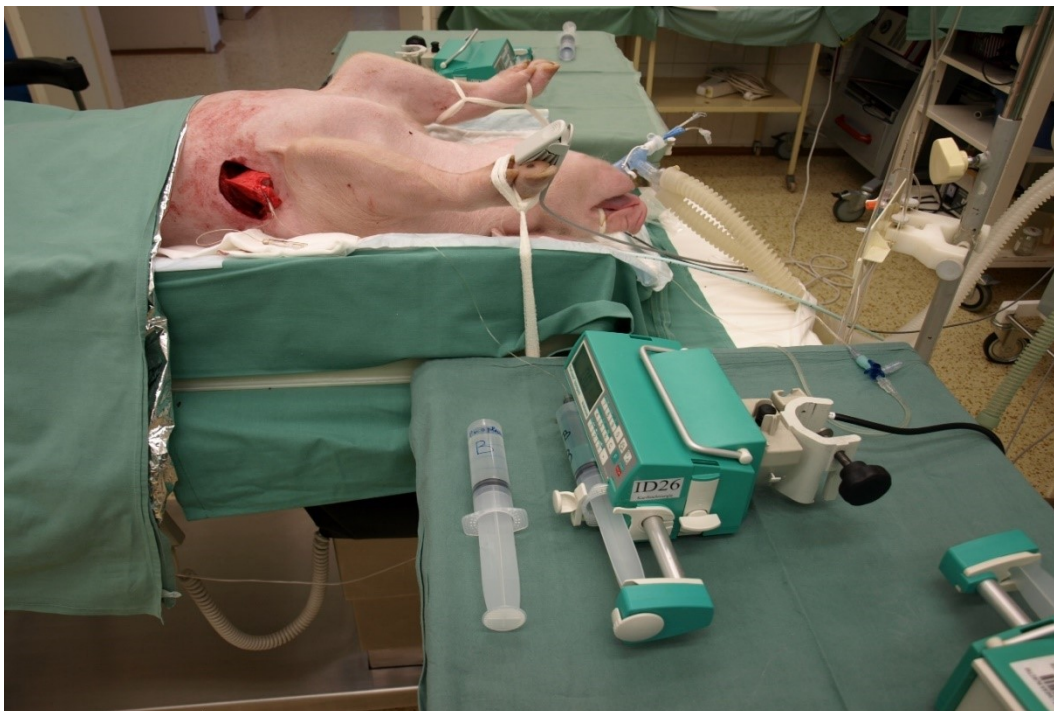
Obr. 20: Časové schéma pokusu (vlastní nákres)



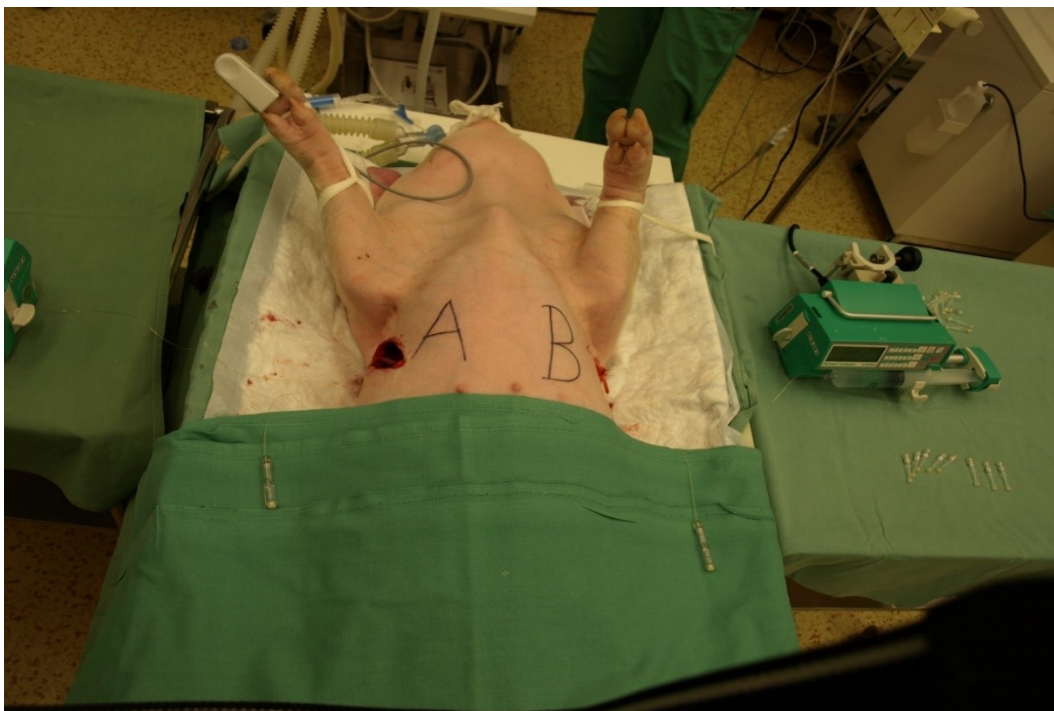
**Obr. 21: A) mikrodialyzační set, B) mikrodialyzační kanyla,
C) mikrozkuhavka se vzorkem (vlastní fotodokumentace)**



Obr. 22: Boční pohled na experimentální model (vlastní fotodokumentace)



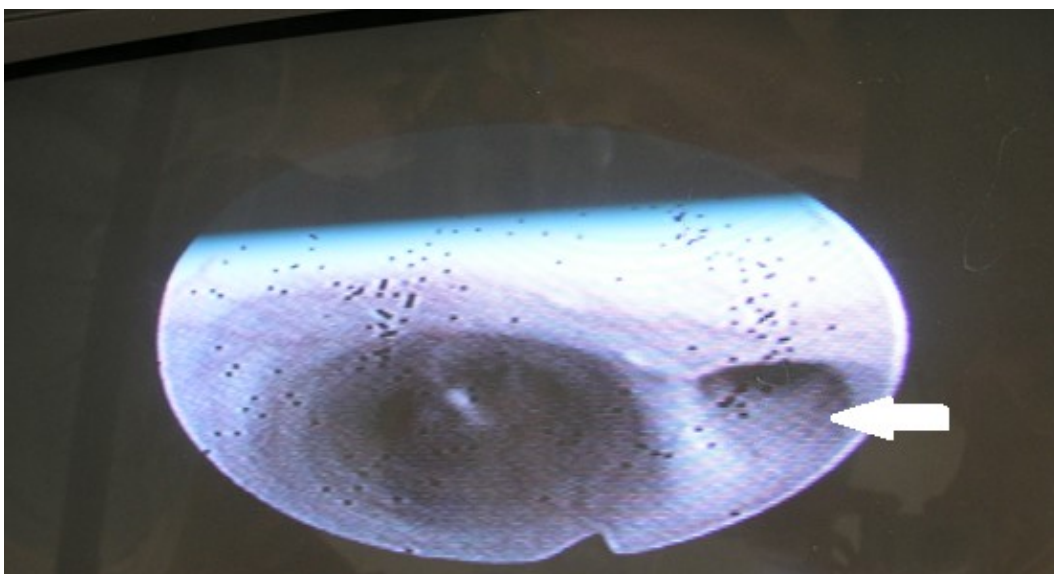
Obr. 23: Vrchní pohled na experimentální model (vlastní fotodokumentace)



Obr. 24: Zavedení endotracheálního blockeru za pomoci flexibilního video – bronchoskopu (vlastní fotodokumentace)



Obr. 25: Akcesorní lobus trachealis v pravém hlavním bronchu
- (bronchoskopický obraz) – bílá šipka (vlastní fotodokumentace)



Obr. 26: Část plic se zavedenou mikrodialyzační kanylou – ventilovaná strana (vlastní fotodokumentace)



Obr. 27: Část plic se zavedenou mikrodialyzační kanylou – neventilovaná strana (vlastní fotodokumentace)



10.3 Analýza vzorku

Koncentrace cefuroximu byly stanoveny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie – tandemové hmotnostní spektrometrie (LC-MS/MS). Systém LC-MS/MS se skládal z kapalinového chromatografu Agilent 1290 Infinity a hmotnostního spektrometru Agilent 6490 Triple Quadrupole vybaveného elektrosprejovým ionizačním zdrojem pracujícím v režimu kladné polarizace při přechodu m/z 442 < 336 pro cefuroxim a při přechodu m/z 445 < 339 pro cefuroxim-d3. Plazmatické proteiny byly odstraněny precipitací pomocí acetonitrilu s následnou centrifugací. Cefuroxim a vnitřní standard cefuroxim-d3 byly extrahovány do dichlormethanu, jak je popsáno jinými (154). Dialyzáty byly obohaceny pomocí vnitřního standardu a injektovány bez extrakce. Validační experimenty potvrdily vhodnost metody. Spodní mez kvantifikace byla 0,4 mg/l. Nepřesnost (% CV) a nepřesnost (% bias) byly menší než 10 % pro vnitrodenní i mezidenní hodnocení. Nenavázaná frakce cefuroximu v plazmě byla získána ultrafiltrací (Micron YM 10, Amicon, Houston, TX, USA) s následným přidáním cefuroximu-d3 k ultrafiltrátům.

10.4 Farmakokinetika a statistika

Nekompartmentová farmakokinetická analýza byla provedena pomocí softwaru Kinetica, verze 5.1 (InnaPhase Corporation, Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA). Plicní penetrační faktor (LPF) byl vypočten jako poměr ploch pod křivkou koncentrace-čas (AUC) pro volný cefuroxim v plicích a plazmě. Pro populační farmakokinetické modelování byla použita metoda nelineárního modelování smíšených efektů s pomocí softwaru Monolix, verze 2018 (Lixoft, Batiment D, Antony, Francie). Farmakokinetické parametry byly odhadnuty metodou maximálně věrohodného odhadu pravděpodobnosti bez aproximace modelu (bez linearizace) pomocí algoritmu SAEM („*Stochastic Approximation Expectation-Maximization*“) následovaného metodou Monte Carlo s využitím Markovova řetězce.

Míra shody mezi naměřenými koncentracemi a koncentracemi predikovanými modelem byla hodnocena pomocí standardních diagnostických grafů (pozorovaná a predikovaná koncentrace vs. čas, pozorovaná koncentrace vs. populační predikce, vážená rezidua vs. čas a vážená rezidua vs. predikovaná koncentrace). Individuální hodnoty PK parametrů byly získány jako empirické Bayesovy odhady. Statistické analýzy byly provedeny pomocí GraphPad Prism 5.02 (GraphPad Software Inc., SD, Kalifornie, USA). Srovnání hodnot farmakokinetických a farmakodynamických charakteristik byla provedena jednofaktorovou analýzou rozptylu, následovanou testováním významnosti rozdílů mezi plazmou, ventilovanou a neventilovanou plicí Tukeyovým *post hoc* testem. Pokud se srovnání týkalo pouze neventilovaných a ventilovaných plic, byl použit párový t-test. Hodnota $p < 0,05$ byla zvolena jako signifikantní. Všechny hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr \pm standardní odchylka, pokud není uvedeno jinak.

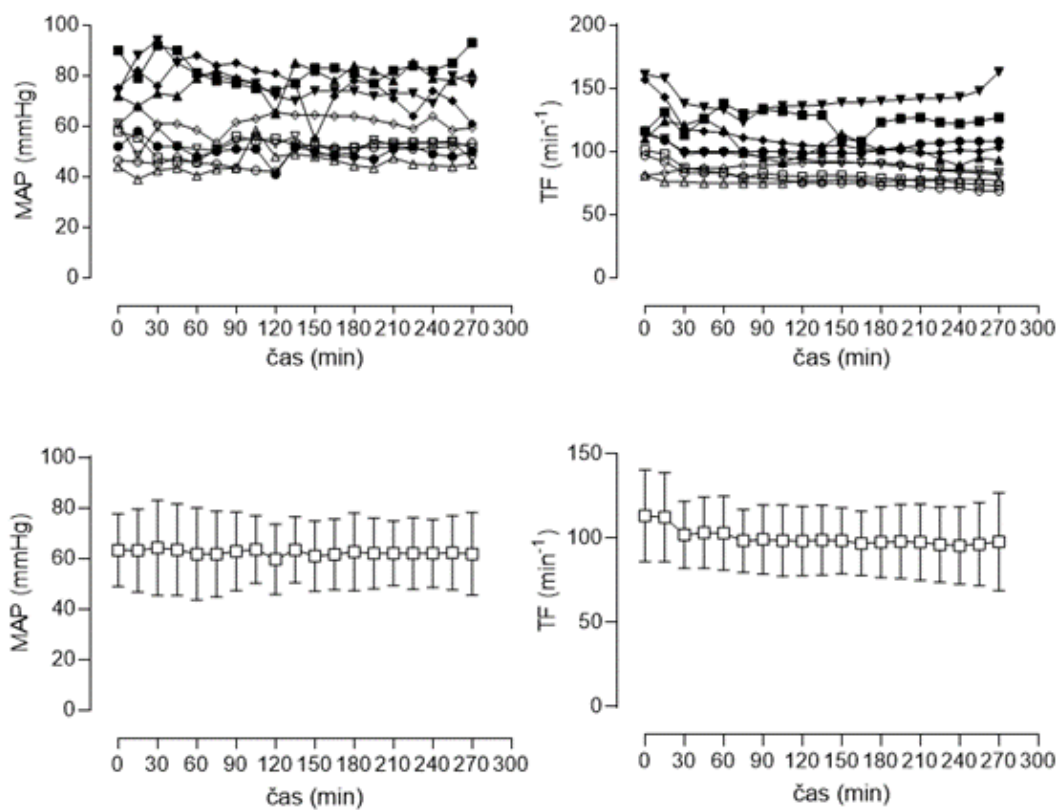
11 Výsledky

11.1 Hemodynamika a okysličení krve

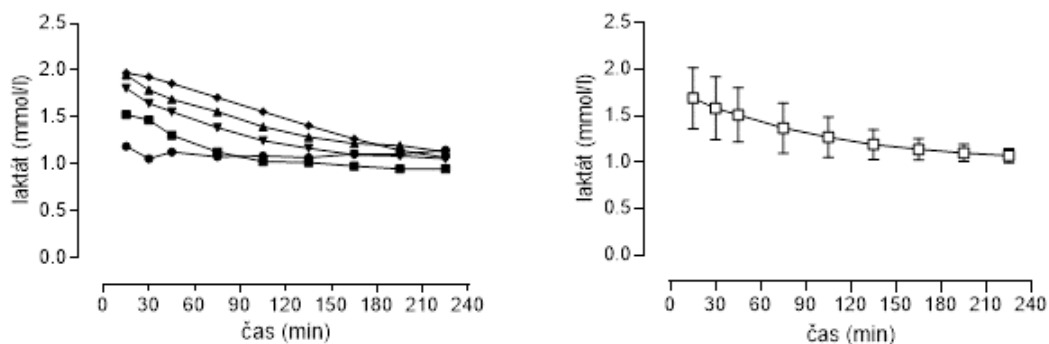
Během ventilace jednou plicí u prasat v celkové anestezii se saturace krve kyslíkem pohybovala mezi 93 % a 100 %, s průměrnou hodnotou 98 %. Srdeční frekvence zůstala v normálním rozmezí 70-120 tepů/min u všech zvířat kromě jednoho s tachykardií 123-163 tepů/min. Střední arteriální tlak zůstal v čase stabilní a jeho průměrná hodnota byla vyšší než 60 mmHg (Obr. 28).

Koncentrace laktátu ve venózní plazmě v průběhu experimentu mírně klesala ($p < 0,02$) a ve všech vzorcích odebraných od 5 zvířat byla nižší než 2 mmol/l (Obr. 29).

Obr. 28: Individuální a průměrné (\pm SD) hodnoty středního arteriálního krevního tlaku a tepové frekvence



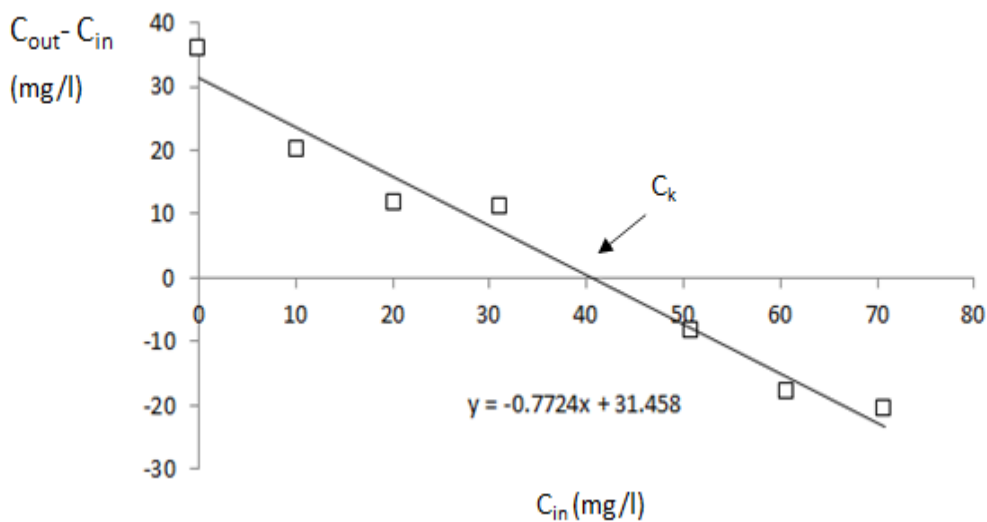
Obr. 29: Individuální a průměrné (\pm SD) hodnoty koncentrace laktátu ve venózní plazmě



11.2 Relativní výtěžnost tkáňového cefuroximu mikrodialýzou

Výtěžek cefuroximu *in vitro* mikrodialyzační sondou byl 82 ± 12 % bez zjevné závislosti na koncentraci v rozmezí 10-71 mg/l (Obr. 30, Tab. 2)

Obr. 30: Regresní závislost mezi rozdílem koncentrací v perfuzátu (C_{in}) a dialyzátu (C_{out}) a koncentrací v perfuzátu (C_{in}). Kalibrační koncentrace cefuroximu C_k v tekutině v okolí sondy byla 40 mg/l. Této koncentraci odpovídá průsečík kalibrační přímky s koncentrační osou X.



Tab. 2: Souhrn výsledků kalibrace sondy *in vitro*. Symboly jsou vysvětleny v kapitole Metody.

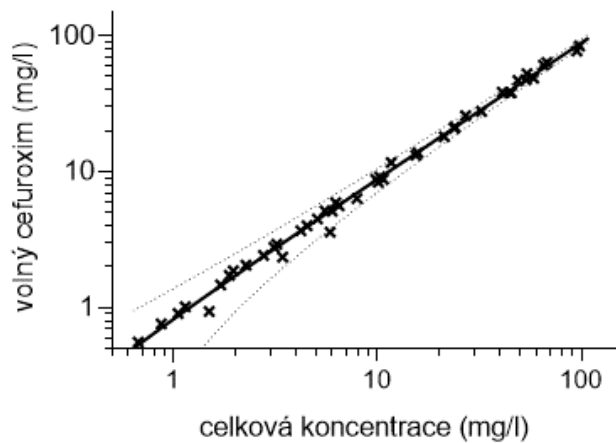
experiment č.	C _{in}	C _k	C _{out}	(C _{out} - in)	(C _k - C _{in})	RR	
1	0	40	35,81	35,81	40,0	0,90	
2	10,14	40	30,14	20	29,9	0,67	
3	20,3	40	32,08	11,78	19,7	0,60	
4	31,2	40	42,36	11,16	8,8	1,27	
6	50,8	40	42,36	-8,44	-10,8	0,78	
7	60,8	40	42,96	-17,84	-20,8	0,86	
8	70,8	40	50,05	-20,75	-30,8	0,67	
						průměr	0,82
						SD	0,22

Výtěžky *in vivo* 60 mg/l cefuroximu v dialyzátech ze dvou plic byly srovnatelné ($83 \pm 21 \%$ a $76 \pm 22 \%$, $p = 0,51$).

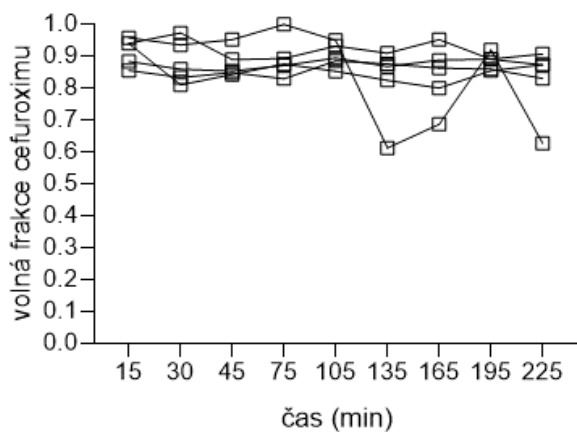
11.3 Vazba cefuroximu na plazmatické bílkoviny

U pěti z deseti zkoumaných zvířat byly ve všech vzorcích plazmy stanoveny koncentrace volného a celkového cefuroximu. Frakce nenavázaná na plazmatické proteiny (f_U) byla $87 \% \pm 7,7 \%$. Regresní analýza a analýza rozptylu prokázaly, že hodnota f_U je koncentračně nezávislá v rozsahu koncentrací celkového cefuroximu od 0,7 do 98 mg/l a inter- a intraindividuální variabilita f_U je nízká a u většiny zvířat srovnatelná (Obr. 31 a 32, Tab. 3). Proto byla hodnota f_U 87 % použita pro přepočítání celkové koncentrace na koncentraci volného léčiva v plazmě pěti zbývajících zvířat.

Obr. č. 31 Závislost mezi koncentrací volného cefuroximu a celkovou koncentrací v plazmě získaná z koncentračních křivek 5 zvířat



Obr. č. 32 Interindividuální a intraindividuální variabilita hodnot volné frakce (f_u) cefuroximu ve skupině 5 zvířat



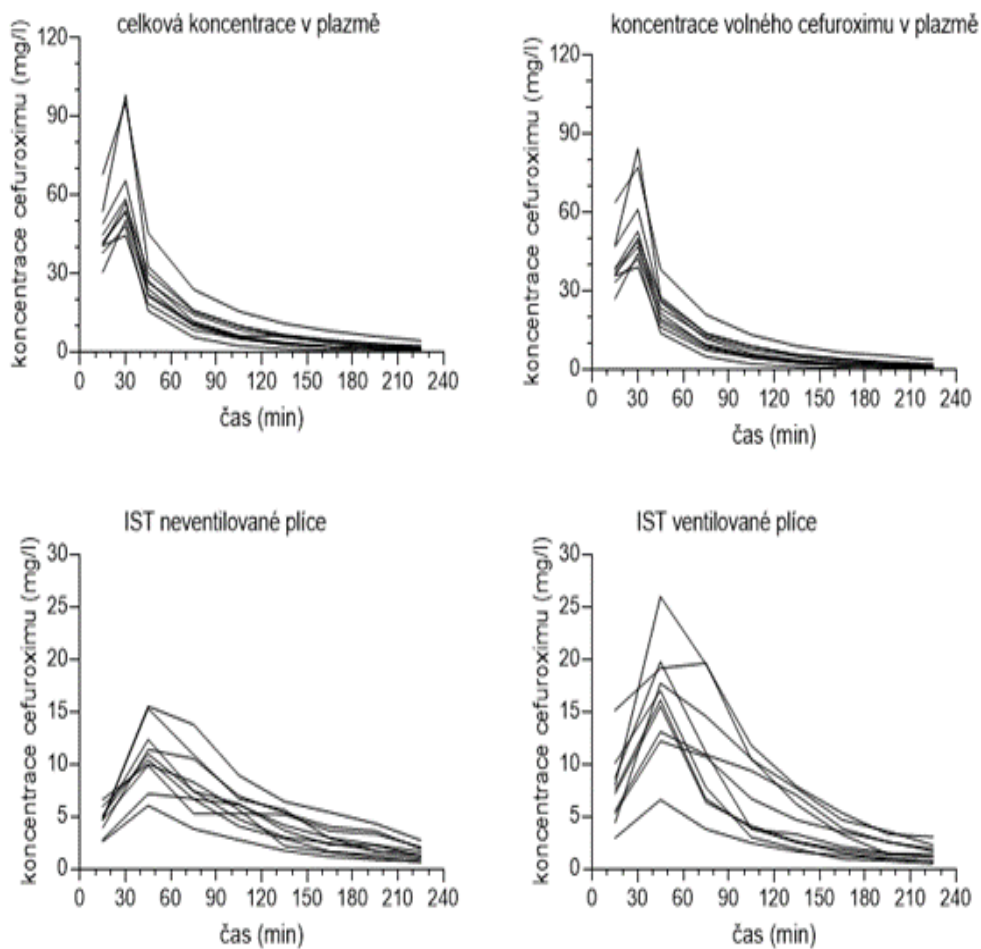
Tab. 3: Inter a intraindividuální variabilita hodnot f_u u 5 zvířat: nesignifikantní vliv času odběru ($p = 0,36$) (tím i koncentrace) a nesignifikantní rozdíly mezi zvířaty ($p = 0,28$)

RMANOVA	SS	DF	MS	F-charakteristika	P hodnota
čas odběru	0.05026	8	0.006283	F (1.268, 5.073) = 1.133	p=0.36
IIV	0.02980	4	0.007451	F (4, 32) = 1.344	p=0.28
RV	0.1775	32	0.005546		

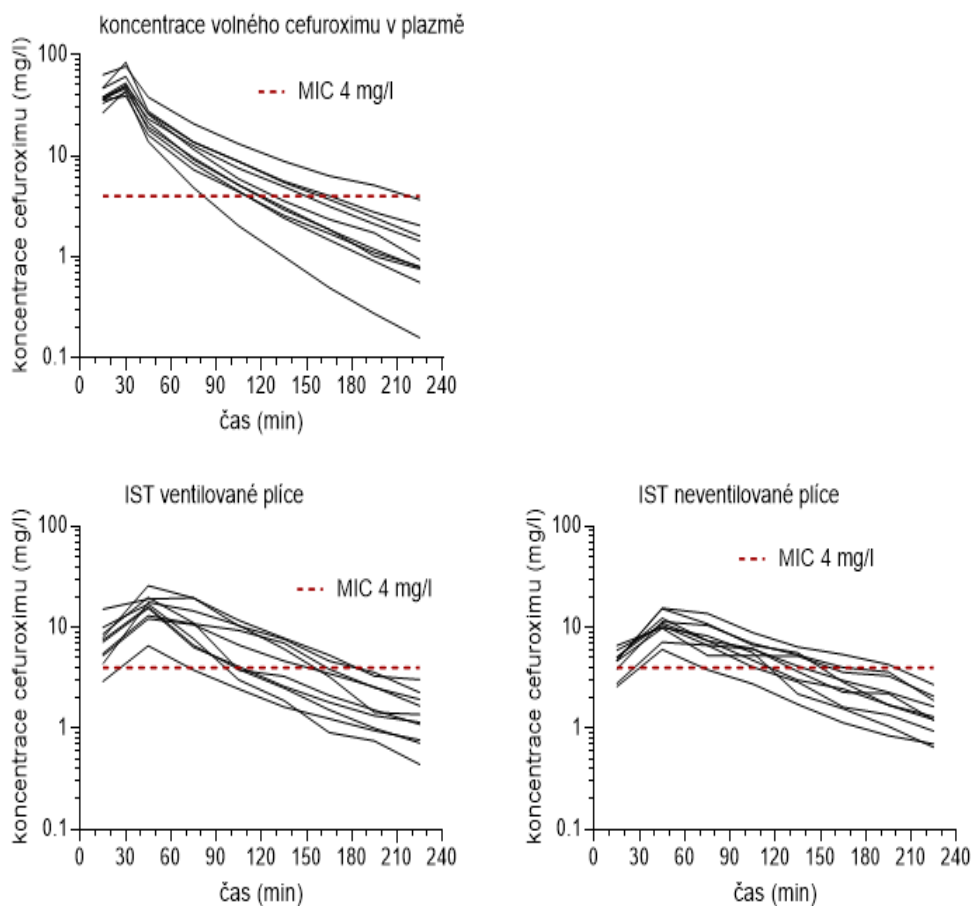
RMANOVA – analýza rozptylu pro opakovaná měření, SS – suma ploch čtverců odchylek, DF – stupně volnosti, MS – průměrná plocha čtverce odchylek, IIV – interindividuální variabilita, RV – reziduální variabilita

Individuální profily koncentrace celkového a volného cefuroximu v plazmě a volného cefuroximu v IST ventilované a neventilované plíce ukazuje Obr. 33. Koncentrace volného cefuroximu v plazmě a IST ventilované a neventilované plíce jsou dále znázorněny na semilogaritmických grafech, které umožňují lepší porovnání individuálních koncentračních profilů s hodnotou MIC (Obr 34). Časové závislosti průměrných (SD) koncentrací ukazuje Obr. 35 (A, B, C).

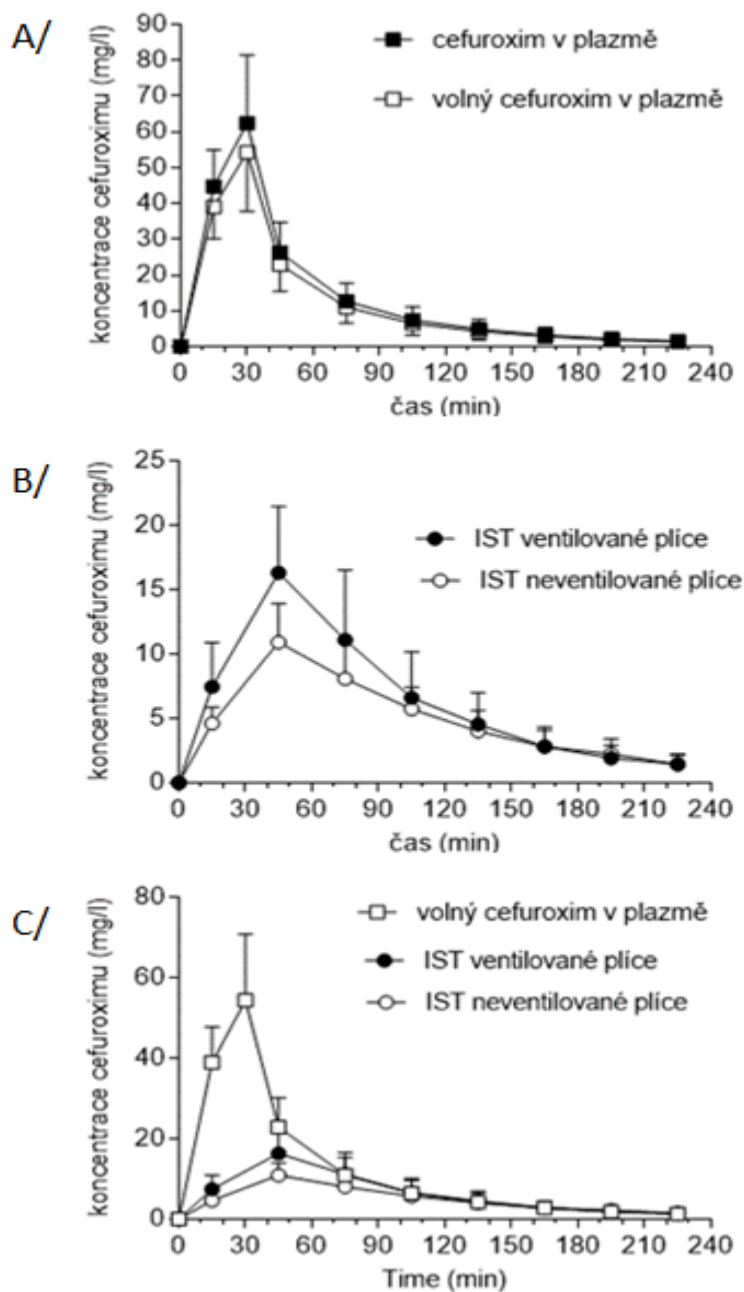
Obr. 33: Individuální koncentrační závislosti pro celkový a volný cefuroxim v plazmě a volný cefuroxim v IST neventilované a ventilované plicě



Obr. 34: Individuální koncentrační závislosti pro volný cefuroxim v plazmě a volný cefuroxim v IST neventilované a ventilované plicé zobrazené na semilogaritmických grafech. Přerušovaná linie je hodnota MIC 4 mg/l.



Obr. 35: Průměrné (SD) koncentrace celkového a volného cefuroximu v plazmě (A/ a C/) a volného cefuroximu v IST neventilované a ventilované plicí (B/ a C/)



11.4 Nekompartmentová analýza

Farmakokinetické parametry stanovené pro plazmu a intersticiální tekutinu (ISF) ventilované a neventilované plíce jsou shrnuty v Tab. 4. Celková *clearance* $12,1 \pm 3,1$ l/h a poločas 50 ± 8 minut celkového cefuroximu v plazmě doložila adekvátní funkci ledvin zvířat v anestezii. Maximální koncentrace (C_{\max}) a plocha pod křivkou (AUC) volného cefuroximu v plazmě byly významně vyšší ve srovnání s koncentracemi v intersticiální tekutině tkáně obou plic (Tab. 4, Obr. 36). Koncentrace cefuroximu dosáhla maxima ve druhém z 30minutových intervalů odběru dialyzátu s výjimkou jedné ventilované plíce (třetí interval). Geometrický průměr procentuálního poměru hodnot C_{\max} pro volný cefuroxim v neventilovaných a ventilovaných plicích byl 65 % (95 %-CI: 45-95 %, $p < 0,05$). V případě AUC_{0-t} a $AUC_{0-\infty}$ odpovídající poměry činily 78 % (95 %-CI: 57-108 %, $P = 0,12$) a 81 % (60-111 % $p = 0,16$) (Tab. č. 4). Nižší průměrná hodnota penetračního faktoru LPF (0,47 vs. 0,63, $p < 0,05$) doložila menší penetraci cefuroximu do neventilované než ventilované plíce (Obr. 37).

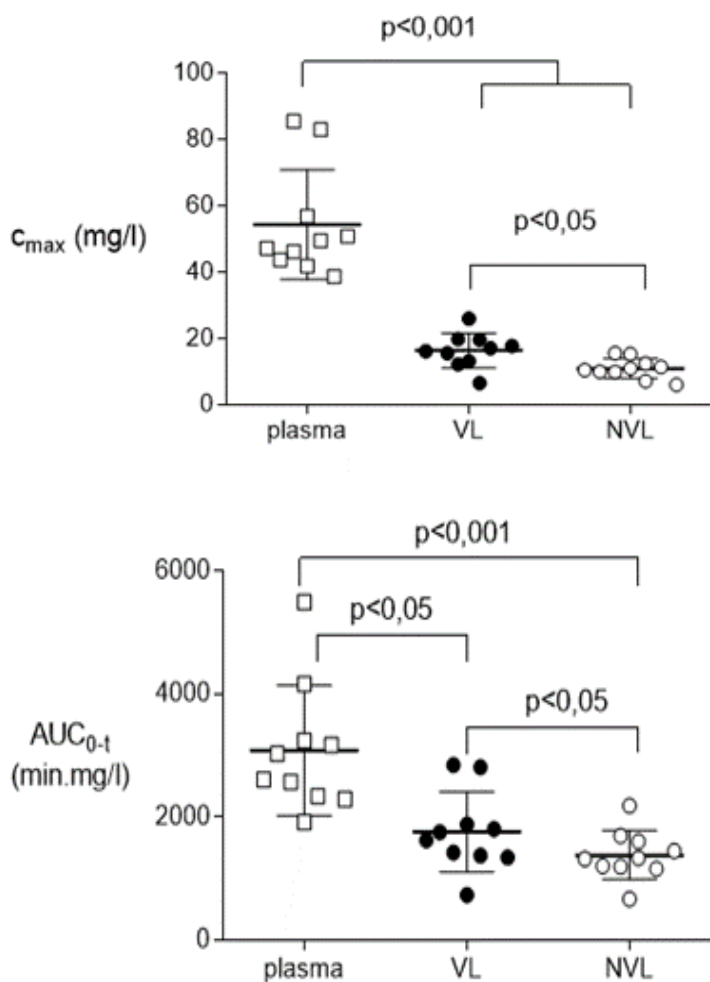
Tab. 4: Nekompartmentální farmakokinetická analýza celkového a volného cefuroximu v plazmě a volného cefuroximu v intersticiální tekutině (ISF) ventilovaných (VL) a neventilovaných (NVL) plic po jednorázové dávce 20 mg/kg ve 30 min i. v. infuzi.

Parametr	Jednotka	Průměr ± SD (n = 10)			
		Plazma celkem	Bez plazmy	ISF VL	ISF NVL
C _{max}	mg/l	62,4 ± 19,0	54,4 ± 15,3	16,4 ± 5,2 ^{***}	10,9 ± 3,0 ^{***, #}
T _{max}	min	30 ± 0,0	30 ± 0,0	63 ± 9,5	60 ± 0,0
AUC _{0-t}	min. mg/l	3460 ± 1110	2740 ± 882	1540 ± 580 [*]	1170 ± 330 ^{***}
AUC _{0-∞}	min. mg/l	3580 ± 1220	2840 ± 988	1650 ± 620 [*]	1310 ± 390 ^{***}
LPF				0,63 ± 0,25	0,47 ± 0,12 [#]
t _{1/2}	min	50 ± 8	50 ± 11	56 ± 12	61 ± 10 ^{**}
MRT	min	40 ± 11	45 ± 12	92 ± 16 ^{***}	109 ± 19 ^{***, ##}
CL	L/h	12,1 ± 3,1	15,4 ± 4,2		
V _{ss}	L	10,6 ± 2,1	14,8 ± 2,9		
V _{ss} /TBW	L/kg	0,33 ± 0,05	0,44 ± 0,08		
V _z	L	14,1 ± 2,7	17,9 ± 3,4		
V _z / TBW	L/kg	0,42 ± 0,08	0,53 ± 0,10		

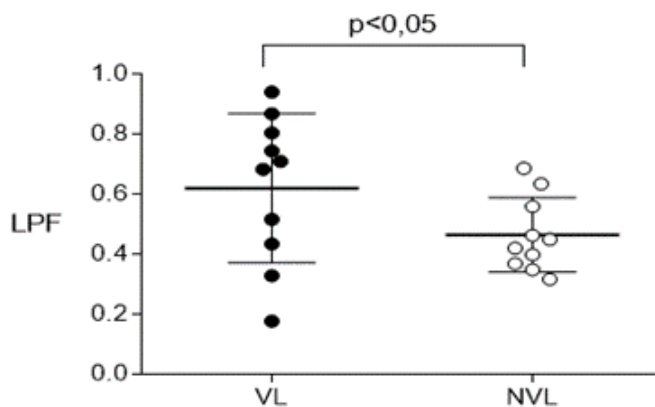
* – p < 0,05, ** – p < 0,01, *** – p < 0,001 vs. plazma, # – p < 0,05, ## – p < 0,01 vs. ISF VL

Zkratky: C_{max} – maximální koncentrace, T_{max} – čas k dosažení maximální koncentrace, AUC_{0-t} – plocha pod křivkou koncentrace čas od času 0 do času poslední změřené koncentrace, AUC_{0-∞} – plocha pod křivkou koncentrace čas od času 0 do času ∞, CL – celková clearance, LPF – penetrační faktory charakterizující průnik cefuroximu do intersticiální tekutiny ventilované a neventilované plice, t_{1/2} – biologický poločas eliminace, MRT – střední pobytový čas, V_{ss} – zdánlivý distribuční objem v ustáleném stavu, V_{ss} /TBW – dtto, přepočítaný na 1 kg tělesné hmotnosti, V_z – zdánlivý distribuční objem v terminální fázi, dtto, V_z / TBW – přepočítaný na 1 kg tělesné hmotnosti

Obr. 36: Statistické porovnání farmakokinetických charakteristik volného cefuroximu v plazmě a v intersticiální tekutině ventilované (VL) a neventilované plicí (NVL): maximální koncentrace C_{max} a plochy pod křivkou, koncentrace-čas od času 0 do času posledního odběru krve AUC_{0-t}



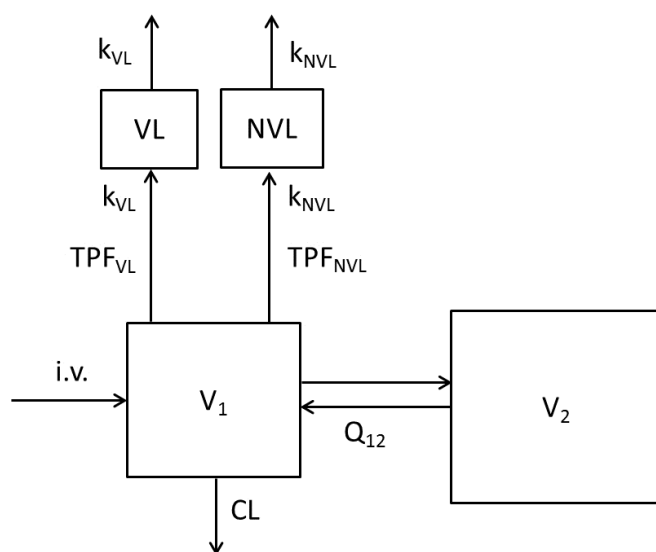
Obr. 37: Srovnání hodnot penetračního faktoru do intersticia ventilované a neventilované plic



11.5 Populační kompartmentové modelování farmakokinetiky

Koncentrace volného cefuroximu v plazmě a ISF plic byly nejlépe popsány čtyřkompartmentovým otevřeným modelem pro léčivo infundované do centrálního kompartmentu konstantní rychlostí a s eliminací ze stejného kompartmentu kinetikou prvního řádu (Obr. 38). Model sestával z centrálního kompartmentu, periferního kompartmentu a dalších samostatných kompartmentů pro ISF neventilovaných a ventilovaných plic. Každý z plicních kompartmentů byl připojen k centrálnímu kompartmentu jako kompartment pro účinek, do kterého léčivo kvantitativně významně neproniká. To je obhajitelný předpoklad, protože množství léčiva ve vzorcích mikrodialýzy je velmi malé. Rozsah distribuce cefuroximu do plic byl zohledněn tkáňovým penetračním koeficientem (LPF). Interindividuální variabilita v parametrech modelu byla vystižena exponenciálním modelem a k popisu zbytkové náhodné variability byl použit model proporcionální chyby.

Obr. 38: Farmakokinetický kompartmentový model. Symboly: V_1 a V_2 – zdánlivý distribuční objem centrálního a periferního kompartmentu, Q_{12} – mezikompartmentová clearance, CL – celková clearance, TPF_{VL} a TPF_{NVL} – penetrační faktory charakterizující průnik cefuroximu do intersticiální tekutiny ventilované a neventilované plicé, k_{VL} a k_{NVL} – rychlostní konstanty prvního řádu charakterizující rychlost distribuce cefuroximu do intersticiální tekutiny ventilované a neventilované plicé



Odhad farmakokinetických parametrů populační metodou byl přesný. Standardní chyba odhadu průměrné hodnoty byla u všech parametrů modelu nižší než 17 % (Tab. 5). Také interindividuální variabilitu parametrů bylo možné odhadnout s uspokojivou přesností s výjimkou parametru Q_{12} , který byl proto při modelování zafixován na populační střední hodnotě. Statistické srovnání Bayesových post-hoc odhadů individuálních hodnot faktoru plicní penetrace ($LPF_{VL} = 0,56 \pm 0,21$ vs. $LPF_{NVL} = 0,42 \pm 0,09$, $p < 0,05$) a rychlostní konstanty průniku do plicní tkáně ($k_{VL} = 0,025 \pm 0,002$ vs. $k_{NVL} = 0,018 \pm 0,004 \text{ min}^{-1}$, $p < 0,001$) ukázala, že cefuroxim pronikl do ventilovaných plic rychleji a ve větším rozsahu než do plic neventilovaných. Průměrné poločasy ekvibrace koncentrací v plicní tkáni s koncentrací volného léčiva v plazmě byly 28 a 39 minut pro ventilované a neventilované plicé a průměrný \pm SD intraindividuální rozdíl v rychlosti ekvibrace mezi plicemi byl 12 ± 7 minut.

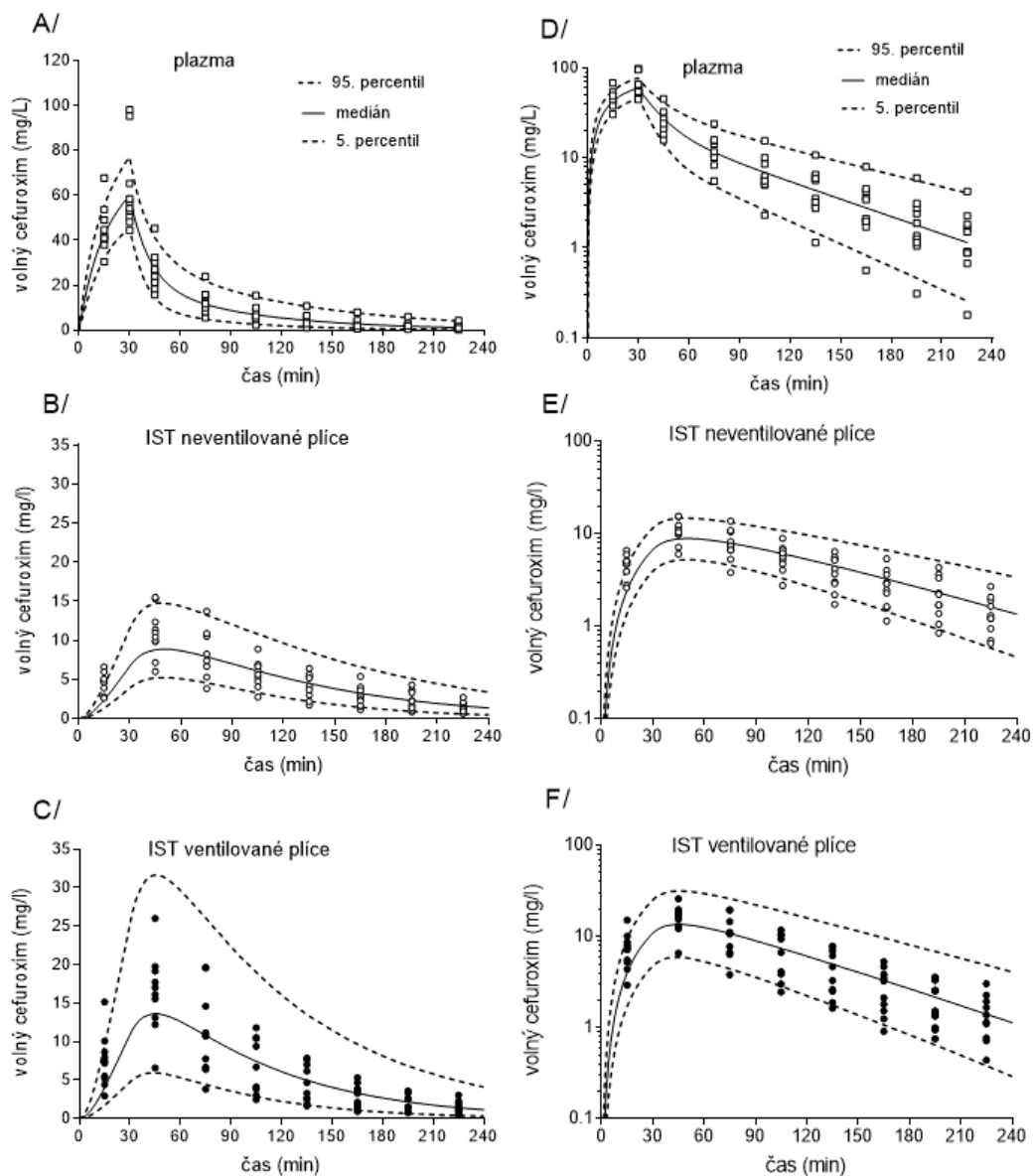
Tab. 5: Farmakokinetické charakteristiky kompartmentového farmakokinetického modelu pro volný cefuroxim v plazmě a intersticiální tekutině (ISF) ventilovaných (VL) a neventilovaných plic (NVL), získané populačním modelováním farmakokinetiky

charakteristika		průměr (% RSE)	interindividuální variabilita (% RSE) ^a
V ₁	L	4.9 (9.5)	53 (27)
V ₂	L	4.6 (7.7)	32 (31)
CL	L/h	13.3 (9.4)	58 (23)
Q ₁₂	L/h	7.8 (12)	ne
k _{VL}	1/min	0.024 (7.1)	36 (61)
k _{NVL}	1/min	0.017 (8.3)	51 (31)
LPF _{VL}		0.51 (16)	58 (24)
LPF _{NVL}		0.41 (7.4)	49 (25)
reziduální variabilita ^b			
Plazma	% CV	8.4 (9.9)	na
ISF VL	% CV	24 (9.8)	na
ISF NVL	% CV	21 (9.4)	na

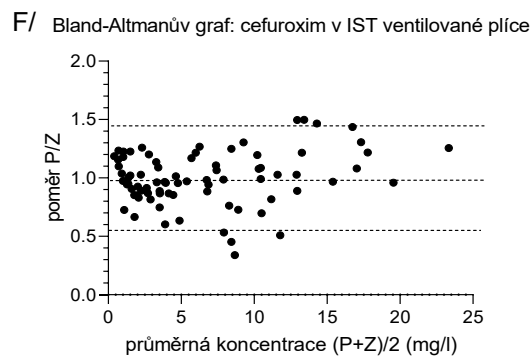
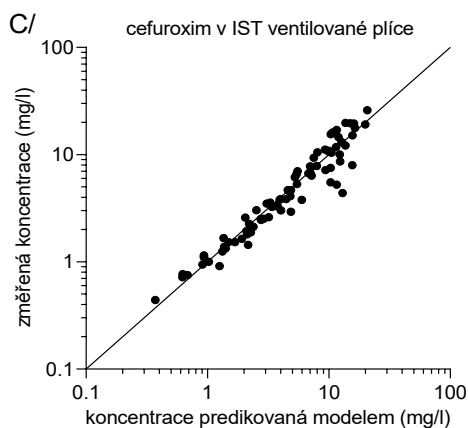
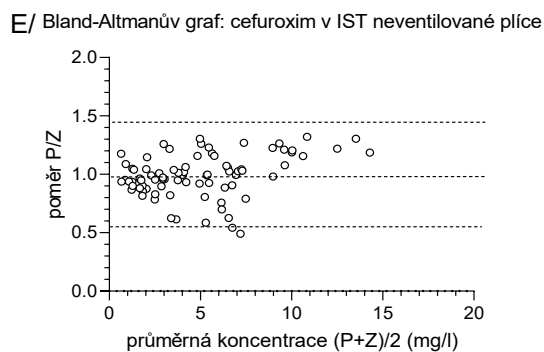
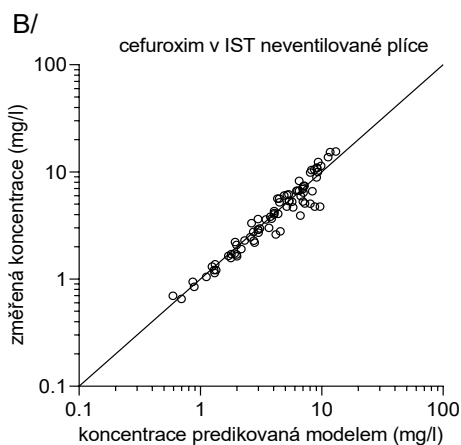
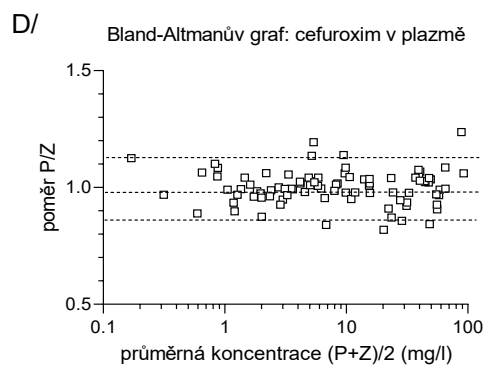
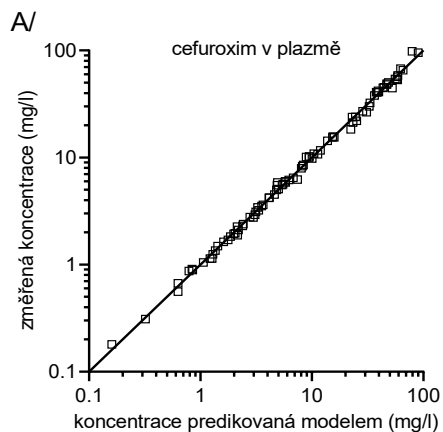
a – odhad interindividuální variability farmakokinetických charakteristik vyjádřené jako procentuální variační koeficient % CV; b – odhad zbytkové náhodné variability vyjádřený jako procentuální variační koeficient % CV; % RSE – relativní standardní chyba odhadu průměru v procentech; V₁ – zdánlivý distribuční objem centrálního kompartmentu; V₂ – zdánlivý distribuční objem centrálního kompartmentu; CL – celková clearance; k_{VL} a k_{NVL} – rychlostní konstanty průniku do ventilovaných a neventilovaných plic; LPF_{VL} a LPF_{NVL} – penetrační faktor charakterizující průnik cefuroximu do ventilované a neventilované plíce; ne – neodhadnuto, interindividuální variabilitu Q₁₂ nelze spolehlivě odhadnout; na – nelze použít.

Predikce plazmatických koncentrací volného cefuroximu populačním farmakokinetickým modelem byla přesná a nezkreslená. Tkáňové koncentrace v prvních dvou intervalech odběru dialyzátu byly modelem do určité míry podhodnoceny (Obr. 39). Za tento nedostatek může být zodpovědná délka doby intervalu odběru, protože plazmatická koncentrace se rychle měnila během první hodiny po zahájení infuze cefuroximu. Výše uvedená nepřesnost má jen malý vliv na interpretaci výsledků, protože antibakteriální aktivita cefuroximu je závislá na čase a vizuální kontrola a statistické testy (regresní analýza a Bland-Altmanův graf a limity shody) ukázaly vyhovující predikční schopnost modelu, který vystihl naměřené koncentrace v plazmě a ISF obou plic (Obr. 40).

Obr. 39: Medián (plná křivka) a 90 % predikční interval (hranice znázorňují přerušované křivky) pro koncentrace cefuroximu v plazmě (A) a v intersticiální tekutině neventilované (B) a ventilované (C) plicí predikované kompartmentovým populačním modelem a naměřené koncentrace (symboly). Na grafech D, E, F je použita logaritmická osa Y z důvodu lepší vizualizace nízkých koncentrací.



Obr. 40: Vztahy mezi koncentracemi cefuroximu v plazmě (A) a v intersticiální tekutině neventilované (B) a ventilované (C) plicí predikovanými kompart-mentovým populačním modelem a naměřenými Bland-Altmanovy grafy (D, E a F) ukazujícími dobrou shodu mezi koncentracemi predikovanými modelem a naměřenými (přerušované linie jsou průměrný poměr a limity shody).



11.6 PK/PD analýza

Profily koncentrace-čas v plazmě a dvou plicích byly hodnoceny jako čas nad MIC, tj. farmakokinetická/farmakodynamická charakteristika důležitá pro účinnost léku (Tab. 6). Čas nad MIC byl podobný pro ventilované a neventilované plíce a mírně prodloužený ve srovnání s plazmou. Plazmatická koncentrace volného cefuroximu dosáhla hodnot MIC v rozmezí 1-8 mg/l u všech zvířat nejdéle do 3 minut od začátku infuze. Dosažení účinných tkáňových koncentrací bylo u jednotlivých zvířat zpožděno o 10-70 minut v závislosti na MIC. Průměrná doba potřebná k dosažení MIC byla o 30–40 % delší pro neventilované než ventilované plíce. Rozdíl dosáhl statistické významnosti pouze pro MIC = 8 mg/l ($p < 0,05$).

Za předpokladu časově invariantní a lineární farmakokinetiky byly populační farmakokinetický model a střední hodnoty farmakokinetických parametrů dále použity k simulaci profilů koncentrace-čas cefuroximu po různých dávkovacích režimech (Obr. 41). Simulace 3 dávek 40 mg/kg q8h ukázala, že cílové % fT > MIC 65 % není dosaženo. Naopak cílová hodnota byla překročena a %fT > MIC bylo vyšší než 80 % pro koncentrace volného cefuroximu v plazmě a v obou plicích, pokud byla stejná denní dávka rozdělena do nasycovací krátké infuze 30 mg/kg následované kontinuální infuzí 90 mg/kg, zahájenou ve 240. min.

Tab. 6: Farmakokinetické/farmakodynamické charakteristiky volného cefuroximu v plazmě a intersticiální tekutině ventilovaných a neventilovaných plic po jednorázové dávce 20 mg/kg v 30minutové i. v. infuzi: délka intervalu s koncentrací přesahující MIC (čas C > MIC), procentní čas v intervalu mezi dávkami s koncentrací cefuroximu nad MIC (% fT > MIC) a čas do dosažení MIC (čas do MIC).

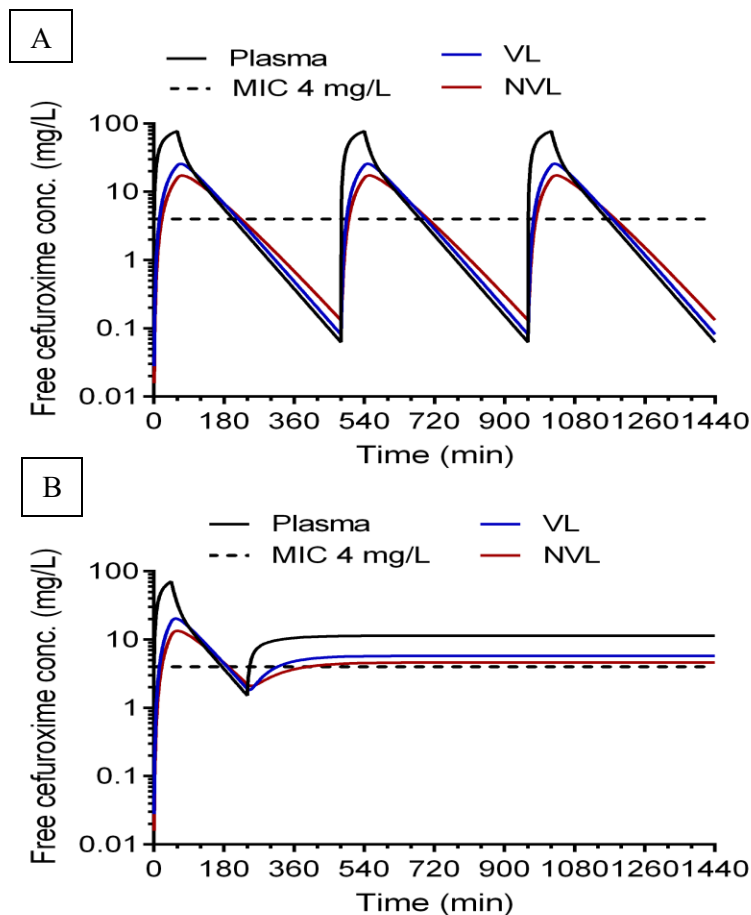
MIC (mg/l)	Vzorek	čas C > MIC (min)	% fT > MIC (%)	čas do MIC (min)
1	Plazma	223 (137-352)	46 (29-73)	1 (1-1)
	ISF VL	250 (189-325)	52 (39-68)	12 (11-15) **
	ISF NVL	252 (218-342) ***	52 (43-71)	15 (13-22) ***
2	Plazma	177 (105-284)	37 (22-59)	1 (1-1)
	ISF VL	206 (147-256) ***	43 (31-53)	16 (14-21) ***
	ISF NVL	203 (163-274) ***	42 (34-57)	20 (18-29) ***
4	Plazma	131 (76-216)	27 (16-45)	1 (1-1)
	ISF VL	160 (90-204) ***	33 (19-43)	22 (19-31) ***
	ISF NVL	155 (115-206) ***	32 (24-43)	28 (24-43) ***
8	Plazma	84 (53-147)	17 (11-31)	3 (2-3)
	ISF VL	78 (0-125) *	16 (0-26)	31 (26-nd) ***
	ISF NVL	55 (0-99)	11 (0-21)	40 (35-nd) ***,##
16	Plazma	53 (42-87)	11 (8,8-18)	5 (4-7)
	ISF VL	0 (0-98)	0 (0-20)	nd (38-nd)
	ISF NVL	0 (0-0)	0 (0-0)	nd (nd-nd)

* – p < 0,05, ** – p < 0,01, *** – p < 0,001 vs. plazma, ## – p < 0,01 vs. ISF VL

Medián (rozsah) je uveden, nd – nebylo dosaženo MIC

Obr. 41: A/ Simulace křivek koncentrace-čas volného cefuroximu v plazmě a v intersticiální tekutině ventilovaných (VL) a neventilovaných plic (NVL) po třech dávkách 40 mg/kg podaných každých 8 hodin.

B/ Simulace úvodní krátké infuze 30 mg/kg následované kontinuální infuzí 90 mg/kg, zahájenou ve 240. min.



V horním grafu bylo % fT > MIC 42–43 % pro všechny tři tekutiny V horním grafu bylo % fT > MIC 42–43 % pro všechny tři tekutiny a MIC 4 mg/l, zatímco ve spodním grafu bylo dosaženo 95 %, 90 % a 84 % pro plazmu a intersticiální tekutinu ventilované a neventilované plice.

12 Diskuse

Jedná se o první experimentální studii, která popisuje využití mikrodialýzy pro současné měření průniku antimikrobiálních léčiv do intersticiální tekutiny neventilovaných a ventilovaných plic. Výsledky ukazují, že distribuce cefuroximu z krve do prasečích plic je rychlá, ale volné koncentrace léčiva v intersticiální tekutině ventilovaných a neventilovaných plic jsou 63 % a 47 % koncentrace v plazmě, jak dokumentují průměrné hodnoty poměru AUC volného cefuroximu v intersticiální tekutině a plazmě získané nekompartmentovou metodou. Populační kompartmentové modelování dospělo k mírně nižším hodnotám penetračních faktorů, a to 57 % a 42 %. Zjevná výhoda populačního kompartmentového modelování farmakokinetiky je v přesném popisu kinetiky tkáňové penetrace, což umožňuje simulaci profilů koncentrace-čas v cílových tkáních po různých dávkovacích režimech. Navíc populační modelování, pokud je aplikováno na výsledky větších studií s relevantními populacemi, umožňuje analyzovat zdroje farmakokinetické variability a posoudit pravděpodobnost dosažení farmakodynamického cíle (PK/PD) antibiotika (155).

Cefuroxim, cefalosporin druhé generace, se úspěšně používá k perioperační profylaxi infekcí v hrudní a srdeční chirurgii. Lék je bezpečný, vykazuje dobrou tkáňovou penetraci a má adekvátní aktivitu proti nejběžnějším intraoperačním mikroorganismům způsobujícím infekce v místě chirurgického zákroku. Systematický přehled a metaanalýza randomizovaných kontrolovaných studií srovnávajících antibiotické režimy v kardiouchirurgii zjistily významné snížení výskytu pneumonie a s ní související úmrtnosti, pokud byly cefalosporiny druhé a třetí generace srovnávány s léky první generace nebo peniciliny rezistentními na penicilinázy (156).

Tento přínos lze připsat skutečnosti, že některé pooperační pneumonie jsou iniciovány během operace nebo bezprostředně po operaci a zahrnují citlivé patogeny včetně *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* a *Staphylococcus aureus* citlivý na meticilin.

Naproti tomu pozdní nozokomiální pneumonie a pneumonie u pacientů s rizikovými faktory je rezistence způsobená kmeny necitlivými na cefuroxim, jako je *Pseudomonas aeruginosa*, methicilin-rezistentní *S. aureus* (MRSA) a další gramnegativní bakterie (149). Betalaktamy vykazují časově závislé zabíjení bakterií a omezený postantibiotický účinek. % fT > MIC je tedy relevantní PK/PD charakteristika, která nejlépe předurčuje účinnost eradikace bakterií (157). Cílové hodnoty pro % fT > MIC jsou méně dobře definovány: minimum nezbytné pro bakteriostaticitu je 40 %, zatímco hodnota v rozmezí 60 – 70 % je spojována s maximální baktericidní aktivitou (158).

V odborné literatuře bylo publikováno jen velmi málo studií závislosti koncentrace na čase pro cefalosporiny v plicním intersticiu (159). LPFs 67 % a 63 % získané ve dvou klinických studiích pro cefpirom dobře souhlasí s LPF cefuroximu 63 %, pozorovaným v této studii (160).

V mikrodialyzační studii na potkanech byla hodnota LPF pouze 26 % pro cefaclor, což je další cefalosporin s nízkou vazbou na plazmatické proteiny (161). Pokud jde o ostatní betalaktamy, je uváděna penetrace do ISF plic 63 % u piperacilinu a 41 % u meropenemu (162, 163).

LPF volného léčiva ovlivňuje řada faktorů. Nefenestrováný kapilární endotel je semipermeabilní pro iontové a velké hydrofilní molekuly, zatímco alveolární epitel je extrémně těsná bariéra, která omezuje průchod vody, elektrolytů a malých hydrofilních molekul do alveolárního prostoru. Průnik antibiotik do intersticia je ovlivněn lokální mikrocirkulací, kapilární permeabilitou, povrchovou plochou pro difuzi a fyzikálně-chemickými vlastnostmi molekuly léčiva. Rovnovážné koncentrace volného léčiva také závisí na záchytu iontů, aktivních transportních mechanismech a lokální eliminaci metabolismem (90). Molekula cefuroximu má pKa 2,5 a je záporně nabitý ve všech tělesných tekutinách, což vylučuje vliv nestejně ionizace na rovnovážné koncentrace volného léčiva dosažené difuzí.

Při absenci dalších měření jako je např. analýza vzorků z bronchoalveolární laváže, lze o důvodech snížených koncentrací cefuroximu v intersticiální tekutině nevdušné plice pouze spekulovat.

Mezi možná vysvětlení patří snížené prokrvení, nižší rychlost prostupu kapilární stěnou a v neposlední řadě zvýšený únik do alveolárního prostoru přes poškozenou alveolární membránu nevdušné plíce, jejíž bariérová funkce je snížena. Kardiopulmonální bypass (CPB) způsobuje nesoulad mezi ventilací a perfuzí a atelektázu. Průnik levofloxacinu do plic byl studován pomocí mikrodialýzy u prasat po kardiochirurgickém výkonu s použitím kardiopulmonálního bypasu a u kontrolních skupin (164). Hodnoty LPF do horních a dolních plic zvířat umístěných na pravém boku byly 1,1 a 1,6 pro kontrolní skupinu, zatímco odpovídající hodnoty skupiny CPB s atelektázou byly sníženy na 0,5 a 0,9.

Technicky složitá experimentální studie s CBP jiných autorů a náš jednodušší model s atelektázou celého plicního křídla vyvolanou endobronchiálním blokátorem tedy prokazují podobně snížený průnik levofloxacinu a cefuroximu do nevdušných plic. Klinická studie s pacienty na JIP po kardiochirurgickém výkonu s CPB či bez mimotělního oběhu zjistila poměr AUC levofloxacinu v plicích k AUC v plazmě 30 % a 70 % (165).

Účinná perioperační profylaxe infekcí v místě chirurgického zákroku vyžaduje včasné podání první dávky. Koncentrace v tkáních překračující MIC pro pravděpodobné příčinné patogeny jsou nezbytné v době největšího rizika kontaminace, tj. v době řezu a po dobu trvání výkonu (97).

Je důležité udržovat cílovou $\% fT > MIC$ ve tkáních profylaktickým dávkováním po dobu 24 – 48 h. Většina klinických studií obhájí časové okno pro první i. v. dávku cefuroximu mezi 15 a 45 minutami před chirurgickým řezem, což odpovídá obecně uznávanému intervalu 15 až 30 minut, potřebnému k dosažení maximálních tkáňových hladin většiny cefalosporinů podaných parenterálně (166).

Za pozornost stojí zjištění, že pro citlivé patogeny s MIC₉₀ v rozmezí 1–4 mg/l a při rychlosti infuze 40 mg/kg/h byla nejdelší doba potřebná k dosažení účinné koncentrace v neventilované plíci 43 minut. Střední doby pro dosažení MIC (Tab. 6) dokládají, že 30 – 45 minutové okno by tedy mohlo být vhodnější, pokud mají být od začátku chirurgického výkonu dosaženy účinné koncentrace proti citlivým bakteriím ($MIC_{90} \leq 4$ mg/l) i v atelektatické plíci.

Hodnoty PK/PD charakteristiky $\% fT > MIC$ byly prakticky totožné v plazmě a ISF obou plic pro citlivé kmeny, i přes nižší AUC pro volný cefuroxim v ISF. Toto zjištění lze vysvětlit delším setrváním koncentrací $> MIC$ (v ISF plic ve srovnání s plazmou, jak dokládají hodnoty MRT (tab. 4). Snížené hodnoty LPF 42–47 % do neventilovaných plic ukazují, že k zajištění dobrého profylaktického účinku proti méně citlivým patogenům je nutné zvýšené dávkování cefuroximu, protože PK/PD charakteristika $\% fT > MIC$ se progresivně snižovala, pokud se MIC blížila koncentraci C_{max} volného cefuroximu v plicní ISF.

Jiní výzkumníci uvádějí velmi podobné hodnoty farmakokinetických charakteristik volného cefuroximu v plazmě po i. v. dávce 1500 mg prasatům v anestezii (4). Prase je dobrým experimentálním modelem pro predikci lidské farmakokinetiky ledvinami vylučovaných léků, jako je cefuroxim. Glomerulární filtrace a průtok krve ledvinami jsou u dospělých lidí a prasat srovnatelné (167). Anatomie a fyziologie prasečích plic jsou také relativně podobné člověku.

Farmakokinetika cefuroximu byla předmětem četných studií u různých populací pacientů včetně kardiochirurgických pacientů s CPB nebo bez CPB (168–171). Plazmatické koncentrace i. v. cefuroximu u pacientů dobře vystihuje dvoukompartmentový farmakokinetický model s parametry podobnými výsledkům našeho experimentálního modelu. Nejmarkantnějším rozdílem je vyšší CL a kratší $t_{1/2}$ u prasat v anestezii ve srovnání s výsledky většiny, ale ne všech klinických studií (168).

Tento rozdíl vysvětluje, proč dávka 20 mg/kg, ekvivalentní standardní profylaktické dávce 1,5 g cefuroximu, nedokázala u většiny zvířat navodit cílové $\% fT > MIC$ 65 % ani pro nejnižší MIC90 1 mg/l. Ze stejného důvodu nebyla v klinické studii dosažena cílová hodnota $\% fT > MIC$ po standardní dávce cefuroximu podané pacientům se zvýšenou clearance kreatininu, která slouží jako biomarker rychlosti glomerulární filtrace a prediktor CL cefuroximu (171).

Výsledky PK/PD modelování, stejně jako klinická vyšetření plazmatických a tkáňových koncentrací, ukazují, že perioperační profylaxe pomocí včasné bolusové infuze následované kontinuální infuzí je optimální dávkovací režim pro cefalosporiny a podobná betalaktamová antibiotika s časově závislým účinkem a

krátkým poločasem. Je tedy výhodnější než opakovaná bolusová podání nebo krátké infuze (97).

Simulované křivky koncentrace-čas pro cefuroxim v plazmě a plicích jasně dokumentují výhodu rychlé bolové infuze potřebné k rychlému dosažení MIC ve tkáni na začátku výkonu, následované kontinuální infuzí ve srovnání s podáním stejné denní dávky rozdělené do tří rychlých infuzí v pravidelných 8 h intervalech (Obr. 41). Ke stejnému závěru dospěli i další výzkumníci po sledování průniku cefuroximu do podkoží a kosti prasete (4).

Tento přístup k profylaxi cefuroximem byl ověřen i u pacientů podstupujících elektivní kardiochirurgický výkon kontinuálním monitorováním subkutánních a intramuskulárních koncentrací pomocí mikrodiálýzy a u kriticky nemocných pacientů s pomocí populačního modelování plazmatických koncentrací (171).

Zjevnou limitací při extrapolaci výsledků této experimentální studie je, že sleduje celkově anestetizovaná prasata v krátkém časovém intervalu a za podmínek, které napodobují péči o pacienty pouze v omezené míře. Mnoho faktorů, které způsobují variabilitu farmakokinetiky mezi pacienty, nebylo možné reprodukovat. Proto jsme nezkoumali vliv interindividuální variability farmakokinetiky pomocí Monte Carlo simulací na pravděpodobnost dosažení cílové hodnoty $\% fT > MIC$ na populační úrovni.

13 Závěr

Prvním cílem disertační práce bylo vyhodnotit vhodnost použití intersticiální mikrodialýzy jako metody měřící koncentraci exogenní látky v plicní tkáni na zvířecím modelu.

Cíl byl splněn. Intersticiální mikrodialýza umožnila při použití *in vitro* a *in vivo* kalibrace (*recovery* léčiva do sondy) získat časové závislosti koncentrace volného cefuroximu v nevzdušné a ventilované plíci.

Druhým cílem bylo ozřejmit vliv selektivní ventilace a tím navozené atelektázy na koncentraci profylakticky podávaného antibiotika cefuroximu v periferní plicní tkáni a porovnat výsledky s plazmatickými hladinami.

Cíl byl splněn. Časové závislosti koncentrace volného cefuroximu v plazmě a intersticiální tekutině nevzdušné a ventilované plíce byly porovnány metodami nekompartmentové analýzy a populační kompartmentové analýzy.

Kompartmentový farmakokinetický model velmi dobře vystihl koncentrační profily cefuroximu v plazmě a ISF plic. Koncentrace volného cefuroximu v ISF byly přibližně o 20 % nižší v neventilovaných než ventilovaných plících a poločas ekvilibrace byl v průměru o 12 minut delší. Koncentrace v nevzdušných plících přesahující horní limit pro MIC₉₀ citlivých bakterií (4 mg/l) byly dosaženy po průměrném zpoždění 27 minut ve srovnání s plazmou.

Pomocí simulovaných koncentrací v plících bylo možné navrhnout optimalizovaný dávkovací režim, který kombinuje rychlou infuzi a udržovací kontinuální infuzi a umožňuje dosáhnout vyšší hodnotu %fT > MIC. Procentní penetrační faktor LPF 42–47 % do neventilovaných plic ukazuje, že dobrý profylaktický účinek proti méně citlivým patogenům vyžaduje zvýšené dávkování cefuroximu.

Prasečí model je cenným nástrojem pro translační výzkum, který umožňuje předpovídat dosažení PK/PD cíle v atelektatických plících pro různá antibiotika a dávkovací režimy.

Studie byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví ČR RVO-FNHNK/2016-17 a Grantové agentury.

14 Literatura

1. Doenst T, Diab M, Sponholz C, Bauer M, Färber G. The Opportunities and Limitations of Minimally Invasive Cardiac Surgery. *Dtsch Arztebl Int.* 2017;114(46):777-84.

2. Walters EM, Wolf E, Whyte JJ, Mao J, Renner S, Nagashima H, et al. Completion of the swine genome will simplify the production of swine as a large animal biomedical model. *BMC Med Genomics.* 2012;5:55.

3. Martinez-Olondris P, Rigol M, Soy D, Guerrero L, Agusti C, Quera MA, et al. Efficacy of linezolid compared to vancomycin in an experimental model of pneumonia induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in ventilated pigs. *Crit Care Med.* 2012;40(1):162-8.

4. Judge EP, Hughes JM, Egan JJ, Maguire M, Molloy EL, O'Dea S. Anatomy and bronchoscopy of the porcine lung. A model for translational respiratory medicine. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;51(3):334-43.

5. Florens M, Sapoval B, Filoche M. An anatomical and functional model of the human tracheobronchial tree. *J Appl Physiol (1985).* 2011;110(3):756-63.

6. Dondelinger RF, Ghysels MP, Brisbois D, Donkers E, Snaps FR, Saunders J, et al. Relevant radiological anatomy of the pig as a training model in interventional radiology. *Eur Radiol.* 1998;8(7):1254-73.

7. Noble PB, McLaughlin RA, West AR, Becker S, Armstrong JJ, McFawn PK, et al. Distribution of airway narrowing responses across generations and at branching points, assessed in vitro by anatomical optical coherence tomography. *Respir Res.* 2010;11(1):9.

8. Natelson S. Handbook of Physiology, Section 3: The Respiratory System, Vol. IV, Gas Exchange. A.P. Fishman, L.E. Farhi, S.M. Tenney, and S.R. Geiger, Eds., Bethesda, MD: American Physiological Society, 1987, xi + 468 pp, \$165.00. ISBN 0-683-03039-6. Clinical Chemistry. 1987;33(12):2328-9.

9. Higuchi T, Reed A, Oto T, Holsworth L, Ellis S, Bailey MJ, et al. Relation of interlobar collaterals to radiological heterogeneity in severe emphysema. Thorax. 2006;61(5):409-13.

10. Woolcock AJ, Macklem PT. Mechanical factors influencing collateral ventilation in human, dog, and pig lungs. J Appl Physiol. 1971;30(1):99-115.

11. Nakakuki S. Bronchial tree, lobular division and blood vessels of the pig lung. J Vet Med Sci. 1994;56(4):685-9.

12. Jones TC. Veterinary Pathology by Jones and Hunt. 1997.

13. Gade J, Norgaard MA, Andersen CB, Pettersson G, Svendsen UG, Olsen PS. The porcine bronchial artery: surgical and angiographic anatomy. The Journal of Anatomy. 1999;194(2):241-7.

14. Taylor GJ, Mikell FL, Moses HW, Dove JT, Katholi RE, Malik SA, et al. Determinants of hospital charges for coronary artery bypass surgery: the economic consequences of postoperative complications. Am J Cardiol. 1990;65(5):309-13.

15. Brooks-Brunn JA. Postoperative atelectasis and pneumonia. Heart Lung. 1995;24(2):94-115.

16. Martin LF, Asher EF, Casey JM, Fry DE. Postoperative pneumonia. Determinants of mortality. Arch Surg. 1984;119(4):379-83.

17. Horan TC, Culver DH, Gaynes RP, Jarvis WR, Edwards JR, Reid CR. Nosocomial infections in surgical patients in the United States, January 1986-June 1992. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1993;14(2):73-80.
18. Iwamoto K, Ichiyama S, Shimokata K, Nakashima N. Postoperative pneumonia in elderly patients: incidence and mortality in comparison with younger patients. *Intern Med.* 1993;32(4):274-7.
19. Garibaldi RA. Postoperative pneumonia and urinary-tract infection: epidemiology and prevention. *J Hosp Infect.* 1988;11 Suppl A:265-72.
20. Lee JA. The other Pasteur. Changing views on the postoperative chest. *Anaesthesia.* 1978;33(4):362-6.
21. Tisi GM. Preoperative evaluation of pulmonary function. Validity, indications, and benefits. *Am Rev Respir Dis.* 1979;119(2):293-310.
22. Goodman LR. Postoperative chest radiograph: I. Alterations after abdominal surgery. *AJR Am J Roentgenol.* 1980;134(3):533-41.
23. Beydon L, Saada M, Liu N, Becquemin JP, Harf A, Bonnet F, et al. Can portable chest x-ray examination accurately diagnose lung consolidation after major abdominal surgery? A comparison with computed tomography scan. *Chest.* 1992;102(6):1697-703.
24. Lundquist H, Hedenstierna G, Strandberg Å, Tokics L, Brismar B. CT-assessment of dependent lung densities in man during general anaesthesia. *Acta Radiologica.* 1995;36(4-6):626-32.
25. Marini JJ, Pierson DJ, Hudson LD. Acute lobar atelectasis: a prospective comparison of fiberoptic bronchoscopy and respiratory therapy. *Am Rev Respir Dis.* 1979;119(6):971-8.

26. Roberts J, Barnes W, Pennock M, Browne G. Diagnostic accuracy of fever as a measure of postoperative pulmonary complications. *Heart Lung*. 1988;17(2):166-70.
27. Westbrook PR, Stubbs SE, Sessler AD, Rehder K, Hyatt RE. Effects of anesthesia and muscle paralysis on respiratory mechanics in normal man. *J Appl Physiol*. 1973;34(1):81-6.
28. Hedenstierna G, Löfström B, Lundh R. Thoracic gas volume and chest-abdomen dimensions during anesthesia and muscle paralysis. *Anesthesiology*. 1981;55(5):499-506.
29. Tokics L, Strandberg A, Brismar B, Lundqwist H, Hedenstierna G. Computerized tomography of the chest and gas exchange measurements during ketamine anaesthesia. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1987;31(8):684-92.
30. Hedenstierna G, Strandberg Å, Brismar B, Lundquist H, Svensson L, Tokics L. Functional residual capacity, thoracoabdominal dimensions, and central blood volume during general anesthesia with muscle paralysis and mechanical ventilation. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*. 1985;62(3):247-54.
31. Reber A, Nylund U, Hedenstierna G. Position and shape of the diaphragm: implications for atelectasis formation. *Anaesthesia*. 1998;53(11):1054-61.
32. Hedenstierna G, Edmark L. Mechanisms of atelectasis in the perioperative period. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2010;24(2):157-69.
33. Gattinoni L, Caironi P, Cressoni M, Chiumello D, Ranieri VM, Quintel M, et al. Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2006;354(17):1775-86.

34. Rothen H, Sporre B, Engberg G, Wegenius G, Hedenstierna G. Re-expansion of atelectasis during general anaesthesia: a computed tomography study. *BJA: British Journal of Anaesthesia*. 1993;71(6):788-95.

35. Reinius H, Jonsson L, Gustafsson S. PEEP and recruitment maneuver in morbidly obese patients during general anesthesia and muscle: a computed tomography study. *Anesthesiology*. 2009;111(5):979-87.

36. Romportl D, Hodek A, Krečmerová M, Pelichovská M, Cvachovec K. Surfaktant-využití u dospělých pacientů. *Anesteziologie & intenzivní medicína*. 2006;176-80.

37. Dostál P. Fyziologie respiračního systému.

38. Wollmer P, Schairer W, Bos J, Barker W, Krenning E, Lachmann B. Pulmonary clearance of ^{99m}Tc-DTPA during halothane anaesthesia. *Acta anaesthesiologica scandinavica*. 1990;34(7):572-5.

39. Otis Jr D, Johnson M, Pedley T, Kamm R. Role of pulmonary surfactant in airway closure: a computational study. *Journal of Applied Physiology*. 1993;75(3):1323-33.

40. Johnson N, Pierson D. The spectrum of pulmonary atelectasis: pathophysiology, diagnosis, and therapy. *Respir Care*. 1986;31(11):1107-20.

41. Guimarães MMF. Efetividade e segurança do inspirômetro de incentivo para prevenção em complicações pulmonares pós-operatórias em cirurgia abdominal alta: revisão sistemática e metanálise. 2010.

42. Garibaldi RA, Britt MR, Coleman ML, Reading JC, Pace NL. Risk factors for postoperative pneumonia. *The American journal of medicine*. 1981;70(3):677-80.

43. Windsor JA, Hill GL. Risk factors for postoperative pneumonia. The importance of protein depletion. *Annals of surgery*. 1988;208(2):209.
44. Ferreyra G, Long Y, Ranieri VM. Respiratory complications after major surgery. *Current opinion in critical care*. 2009;15(4):342-8.
45. Duggan M, Kavanagh BP. Perioperative modifications of respiratory function. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 2010;24(2):145-55.
46. Rama-Maceiras P. Peri-operative atelectasis and alveolar recruitment manoeuvres. *Archivos de Bronconeumología (English Edition)*. 2010;46(6):317-24.
47. Hedenstierna G, Edmark L. Mechanisms of atelectasis in the perioperative period. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 2010;24(2):157-69.
48. Tokics L, Hedenstierna Gr, Svensson L, Brismar B, Cederlund T, Lundquist H, et al. V/Q distribution and correlation to atelectasis in anesthetized paralyzed humans. *Journal of applied physiology*. 1996;81(4):1822-33.
49. Hans GA, Sottiaux TM, Lamy ML, Joris JL. Ventilatory management during routine general anaesthesia. *European Journal of Anaesthesiology| EJA*. 2009;26(1):1-8.
50. West JB. *Respiratory physiology: the essentials*: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
51. Kavanagh B. Perioperative atelectasis. *Minerva anesthesiologica*. 2008;74(6):285-7.

52. Duggan M, Kavanagh BP. Atelectasis in the perioperative patient. *Current Opinion in Anesthesiology*. 2007;20(1):37-42.

53. Khuri SF, Henderson WG, DePalma RG, Mosca C, Healey NA, Kumbhani DJ. Determinants of long-term survival after major surgery and the adverse effect of postoperative complications. *Annals of surgery*. 2005;242(3):326.

54. Branson RD. The scientific basis for postoperative respiratory care. *Respiratory care*. 2013;58(11):1974-84.

55. Jelic S, Cunningham JA, Factor P. Clinical review: airway hygiene in the intensive care unit. *Critical Care*. 2008;12(2):1-9.

56. Restrepo RD, Braverman J. Current challenges in the recognition, prevention and treatment of perioperative pulmonary atelectasis. *Expert Rev Respir Med*. 2015;9(1):97-107.

57. Van Kaam AH, Lachmann RA, Herting E, De Jaegere A, Van Iwaarden F, Noorduyt LA, et al. Reducing atelectasis attenuates bacterial growth and translocation in experimental pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2004;169(9):1046-53.

58. Hutschala D, Kinstner C, Skhirtladze K, Mayer-Helm B-X, Zeitlinger M, Wisser W, et al. The impact of perioperative atelectasis on antibiotic penetration into lung tissue: an in vivo microdialysis study. *Intensive care medicine*. 2008;34(10):1827-34.

59. Güldner A, Kiss T, Serpa Neto A, Hemmes SN, Canet J, Spieth PM, et al. Intraoperative protective mechanical ventilation for prevention of postoperative pulmonary complications: a comprehensive review of the role of tidal volume, positive end-expiratory pressure, and lung recruitment maneuvers. *Anesthesiology*. 2015;123(3):692-713.

60. Slutsky AS, Ranieri VM. Ventilator-induced lung injury. *New England Journal of Medicine*. 2013;369(22):2126-36.

61. Uhlig S. Ventilation-induced lung injury and mechanotransduction: stretching it too far? *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2002.

62. Slutsky AS, Tremblay LN. Multiple system organ failure: is mechanical ventilation a contributing factor? *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1998;157(6):1721-5.

63. Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, de Perrot M, Fischer S, Edwards V, et al. Injurious mechanical ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. *Jama*. 2003;289(16):2104-12.

64. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. *New England Journal of Medicine*. 2005;353(16):1685-93.

65. Hedenstierna G. Alveolar collapse and closure of airways: regular effects of anaesthesia. *Clinical physiology and functional imaging*. 2003;23(3):123-9.

66. Papadakos PJ, Lachmann B. The open lung concept of mechanical ventilation: the role of recruitment and stabilization. *Critical care clinics*. 2007;23(2):241-50.

67. Force ADT, Ranieri V, Rubenfeld G, Thompson B, Ferguson N, Caldwell E, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Jama*. 2012;307(23):2526-33.

68. Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(6):562-72.
69. Sachdev G, Napolitano LM. Postoperative pulmonary complications: pneumonia and acute respiratory failure. *Surgical Clinics*. 2012;92(2):321-44.
70. Rahmanian PB, Kröner A, Langebartels G, Özel O, Wippermann J, Wahlers T. Impact of major non-cardiac complications on outcome following cardiac surgery procedures: logistic regression analysis in a very recent patient cohort. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. 2013;17(2):319-27.
71. Smetana GW, Lawrence VA, Cornell JE. Preoperative pulmonary risk stratification for noncardiothoracic surgery: systematic review for the American College of Physicians. *Ann Intern Med*. 2006;144(8):581-95.
72. Gupta S, Fernandes RJ, Rao JS, Dhanpal R. Perioperative risk factors for pulmonary complications after non-cardiac surgery. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2020;36(1):88-93.
73. Canet J, Hardman J, Sabaté S, Langeron O, Abreu MG, Gallart L, et al. PERISCOPE study: predicting post-operative pulmonary complications in Europe. *Eur J Anaesthesiol*. 2011;28(6):459-61.
74. Møller AM, Villebro N, Pedersen T, Tønnesen H. Effect of preoperative smoking intervention on postoperative complications: a randomised clinical trial. *Lancet*. 2002;359(9301):114-7.
75. Futier E, Constantin J-M, Paugam-Burtz C, Pascal J, Eurin M, Neuschwander A, et al. A trial of intraoperative low-tidal-volume ventilation in abdominal surgery. *New England Journal of Medicine*. 2013;369(5):428-37.

76. Greif R, Akça O, Horn E-P, Kurz A, Sessler DI. Supplemental perioperative oxygen to reduce the incidence of surgical-wound infection. *New England Journal of Medicine*. 2000;342(3):161-7.

77. Carpagnano GE, Kharitonov S, Foschino-Barbaro MP, Resta O, Gramiccioni E, Barnes P. Supplementary oxygen in healthy subjects and those with COPD increases oxidative stress and airway inflammation. *Thorax*. 2004;59(12):1016-9.

78. Rothen H, Sporre B, Engberg G, Wegenius G, Hedenstierna G. Reexpansion of atelectasis during general anaesthesia may have a prolonged effect. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1995;39(1):118-25.

79. Benoît Z, Wicky S, Fischer J-F, Frascarolo P, Chapuis C, Spahn DR, et al. The effect of increased FIO₂ before tracheal extubation on postoperative atelectasis. *Anesthesia & Analgesia*. 2002;95(6):1777-81.

80. Pöpping DM, Elia N, Marret E, Remy C, Tramer MR. Protective effects of epidural analgesia on pulmonary complications after abdominal and thoracic surgery: a meta-analysis. *Archives of surgery*. 2008;143(10):990-9.

81. Rigg JR, Jamrozik K, Myles PS, Silbert BS, Peyton PJ, Parsons RW, et al. Epidural anaesthesia and analgesia and outcome of major surgery: a randomised trial. *The Lancet*. 2002;359(9314):1276-82.

82. Makhabah D, Martino F, Ambrosino N. Peri-operative physiotherapy. *Multidisciplinary Respiratory Medicine*, 8 (1), 4. 2013.

83. Balas MC, Burke WJ, Gannon D, Cohen MZ, Colburn L, Bevil C, et al. Implementing the awakening and breathing coordination, delirium monitoring/management, and early exercise/mobility bundle into everyday care: opportunities, challenges, and lessons learned for implementing the ICU Pain,

Agitation, and Delirium Guidelines. *Critical care medicine*. 2013;41(9):S116-S27.

84. Cohen E. Strategies for lung isolation: to block or not to block? *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*. 2016;63(7):797-801.

85. Ng A, Swanevelder J. Hypoxaemia associated with one-lung anaesthesia: new discoveries in ventilation and perfusion. Oxford University Press; 2011. p. 761-3.

86. Guenoun T, Journois D, Silleran-Chassany J, Frappier J, D'attellis N, Salem A, et al. Prediction of arterial oxygen tension during one-lung ventilation: analysis of preoperative and intraoperative variables. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*. 2002;16(2):199-203.

87. Wang M, Gong Q, Wei W. Estimation of shunt fraction by transesophageal echocardiography during one-lung ventilation. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*. 2015;29(2):307-11.

88. Lumb AB, Slinger P. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: physiology and anesthetic implications. *Anesthesiology*. 2015;122(4):932-46.

89. Hedenstierna G, Edmark L. Effects of anesthesia on the respiratory system. *Best practice & research Clinical anaesthesiology*. 2015;29(3):273-84.

90. Hutschala D, Kinstner C, Skhirtladze K, Mayer-Helm BX, Zeitlinger M, Wisser W, et al. The impact of perioperative atelectasis on antibiotic penetration into lung tissue: an in vivo microdialysis study. *Intensive Care Med*. 2008;34(10):1827-34.

91. Lonroth P, Jansson P, Smith U. A microdialysis method allowing characterization of intercellular water space in humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1987;253(2):E228-E31.

92. De la Peña A, Liu P, Derendorf H. Microdialysis in peripheral tissues. *Advanced drug delivery reviews*. 2000;45(2-3):189-216.
93. Ungerstedt U. Microdialysis—principles and applications for studies in animals and man. *Journal of internal medicine*. 1991;230(4):365-73.
94. de la Peña A, Liu P, Derendorf H. Microdialysis in peripheral tissues. *Adv Drug Deliv Rev*. 2000;45(2-3):189-216.
95. Averbeck M, Beilharz S, Bauer M, Gebhardt C, Hartmann A, Hochleitner K, et al. In situ profiling and quantification of cytokines released during ultraviolet B-induced inflammation by combining dermal microdialysis and protein microarrays. *Exp Dermatol*. 2006;15(6):447-54.
96. Ederoth P, Sun Z, Nordstrom CH, Andersson R. Experimental pancreatitis causes acute perturbation of energy metabolism in the intestinal wall. *Pancreas*. 2002;25(3):270-6.
97. Herkner H, Müller MR, Kreischitz N, Mayer BX, Frossard M, Joukhadar C, et al. Closed-chest microdialysis to measure antibiotic penetration into human lung tissue. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(2):273-6.
98. Amer P. Microdialysis: use in human exercise studies. *Proc Nutr Soc*. 1999;58(4):913-7.
99. Boutelle MG, Fillenz M. Clinical microdialysis: the role of on-line measurement and quantitative microdialysis. *Acta Neurochir Suppl*. 1996;67:13-20.
100. Rooyackers O, Thorell A, Nygren J, Ljungqvist O. Microdialysis methods for measuring human metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004;7(5):515-21.

101. Schnetz E, Fartasch M. Microdialysis for the evaluation of penetration through the human skin barrier - a promising tool for future research? *Eur J Pharm Sci.* 2001;12(3):165-74.

102. Schmelz M, Luz O, Averbek B, Bickel A. Plasma extravasation and neuropeptide release in human skin as measured by intradermal microdialysis. *Neuroscience letters.* 1997;230(2):117-20.

103. Jacobson I, Sandberg M, Hamberger A. Mass transfer in brain dialysis devices--a new method for the estimation of extracellular amino acids concentration. *J Neurosci Methods.* 1985;15(3):263-8.

104. Chen KC. Insensitivity of the microdialysis zero-net-flux method to nonlinear uptake and release processes. *Neurosci Res.* 2003;46(2):251-6.

105. Müller M, Haag O, Burgdorff T, Georgopoulos A, Weninger W, Jansen B, et al. Characterization of peripheral-compartment kinetics of antibiotics by in vivo microdialysis in humans. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40(12):2703-9.

106. Jansson PA, Veneman T, Nurjhan N, Gerich J. An improved method to calculate adipose tissue interstitial substrate recovery for microdialysis studies. *Life Sci.* 1994;54(21):1621-4.

107. Müller M, Schmid R, Georgopoulos A, Buxbaum A, Wasicek C, Eichler HG. Application of microdialysis to clinical pharmacokinetics in humans. *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* 1995;57(4):371-80.

108. Ryan DM. Pharmacokinetics of antibiotics in natural and experimental superficial compartments in animals and humans. *Journal of antimicrobial chemotherapy.* 1993;31(suppl_D):1-16.

109. Brunner M, Schmiedberger A, Schmid R, Jäger D, Piegler E, Eichler HG, et al. Direct assessment of peripheral pharmacokinetics in humans: comparison between cantharides blister fluid sampling, in vivo microdialysis and saliva sampling. *British journal of clinical pharmacology*. 1998;46(5):425-31.

110. Müller M, Brunner M, Schmid R, Putz EM, Schmiedberger A, Wallner I, et al. Comparison of three different experimental methods for the assessment of peripheral compartment pharmacokinetics in humans. *Life sciences*. 1998;62(15):PL227-PL34.

111. Kunin CM, Craig WA, Kornguth M, Monson R. Influence of binding on the pharmacologic activity of antibiotics. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1973;226(1):214-24.

112. Merrikin DJ, Briant J, Rolinson GN. Effect of protein binding on antibiotic activity in vivo. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1983;11(3):233-8.

113. Lorentzen H, Kallehave F, Kolmos HJ, Knigge U, Bülow J, Gottrup F. Gentamicin concentrations in human subcutaneous tissue. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1996;40(8):1785-9.

114. Brunner M, Hollenstein U, Delacher S, Jäger D, Schmid R, Lackner E, et al. Distribution and antimicrobial activity of ciprofloxacin in human soft tissues. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*. 1999;43(5):1307-9.

115. Müller M, Staß H, Brunner M, Möller JG, Lackner E, Eichler HG. Penetration of moxifloxacin into peripheral compartments in humans. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1999;43(10):2345-9.

116. Müller M, Haag O, Burgdorff T, Georgopoulos A, Weninger W, Jansen

B, et al. Characterization of peripheral-compartment kinetics of antibiotics by in vivo microdialysis in humans. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1996;40(12):2703-9.

117. Müller M, Rohde B, Kovar A, Georgopoulos A, Eichler HG, Derendorf H. Relationship between serum and free interstitial concentrations of cefodizime and cefpirome in muscle and subcutaneous adipose tissue of healthy volunteers measured by microdialysis. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 1997;37(12):1108-13.

118. Hollenstein U, Brunner M, Mayer BX, Delacher S, Erovic B, Eichler HG, et al. Target site concentrations after continuous infusion and bolus injection of cefpirome to healthy volunteers. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2000;67(3):229-36.

119. Brunner M, Pernerstorfer T, Mayer BX, Eichler HG, Müller M. Surgery and intensive care procedures affect the target site distribution of piperacillin. *Critical care medicine*. 2000;28(6):1754-9.

120. Hollenstein U, Brunner M, Schmid R, Müller M. Soft tissue concentrations of ciprofloxacin in obese and lean subjects following weight-adjusted dosing. *International journal of obesity*. 2001;25(3):354-8.

121. Müller M, Brunner M, Hollenstein U, Joukhadar C, Schmid R, Minar E, et al. Penetration of ciprofloxacin into the interstitial space of inflamed foot lesions in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1999;43(8):2056-8.

122. Delacher S, Derendorf H, Hollenstein U, Brunner M, Joukhadar C, Hofmann S, et al. A combined in vivo pharmacokinetic–in vitro pharmacodynamic approach to simulate target site pharmacodynamics of antibiotics in humans. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2000;46(5):733-9.

123. Nolting A, Costa TD, Rand KH, Derendorf H. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the antibiotic effect of piperacillin in vitro. *Pharmaceutical research*. 1996;13(1):91-6.
124. Caprile KA. The cephalosporin antimicrobial agents: a comprehensive review. *J Vet Pharmacol Ther*. 1988;11(1):1-32.
125. Quintiliani R, French M, Nightingale CH. First and second generation cephalosporins. *Med Clin North Am*. 1982;66(1):183-97.
126. Harrison CJ, Bratcher D. Cephalosporins: a review. *Pediatr Rev*. 2008;29(8):264-7; quiz 73.
127. Marshall WF, Blair JE. The cephalosporins. *Mayo Clin Proc*. 1999;74(2):187-95.
128. Tipper DJ, Strominger JL. Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1965;54(4):1133-41.
129. Lakshmi R, Nusrin K, Ann GS, Sreelakshmi K. Role of beta lactamases in antibiotic resistance: A review. *Int Res J Pharm*. 2014;5(2):37-40.
130. Cushnie T, O'Driscoll NH, Lamb AJ. Morphological and ultrastructural changes in bacterial cells as an indicator of antibacterial mechanism of action. *Cellular and molecular life sciences*. 2016;73(23):4471-92.
131. Ghuysen J-M. Molecular structures of penicillin-binding proteins and β -lactamases. *Trends in microbiology*. 1994;2(10):372-80.
132. Gebicki J, James A. The preparation and properties of spheroplasts of *Aerobacter aerogenes*. *Microbiology*. 1960;23(1):9-18.

133. Costerton J, Ingram J, Cheng K. Structure and function of the cell envelope of gram-negative bacteria. *Bacteriological reviews*. 1974;38(1):87-110.
134. Sykes R, Matthew M. The β -lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to β -lactam antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1976;2(2):115-57.
135. Fisher JF, Mobashery S. Three decades of the class A β -lactamase acyl-enzyme. *Current Protein and Peptide Science*. 2009;10(5):401-7.
136. He Y, Lei J, Pan X, Huang X, Zhao Y. The hydrolytic water molecule of Class A β -lactamase relies on the acyl-enzyme intermediate ES* for proper coordination and catalysis. *Sci Rep*. 2020;10(1):10205.
137. King DT, Strynadka NC. Targeting metallo- β -lactamase enzymes in antibiotic resistance. *Future Med Chem*. 2013;5(11):1243-63.
138. Kalman D, Barriere SL. Review of the pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use of cephalosporins. *Tex Heart Inst J*. 1990;17(3):203-15.
139. Klein NC, Cunha BA. Third-generation cephalosporins. *Med Clin North Am*. 1995;79(4):705-19.
140. Giamarellou H. Fourth generation cephalosporins in the antimicrobial chemotherapy of surgical infections. *J Chemother*. 1999;11(6):486-93.
141. Geroulanos S, Marathias K, Kriaras J, Kadas B. Cephalosporins in surgical prophylaxis. *J Chemother*. 2001;13 Spec No 1(1):23-6.
142. Moreno E, Macías E, Dávila I, Laffond E, Ruiz A, Lorente F.

Hypersensitivity reactions to cephalosporins. *Expert Opin Drug Saf.* 2008;7(3):295-304.

143. Scott LJ, Ormrod D, Goa KL. Cefuroxime axetil: an updated review of its use in the management of bacterial infections. *Drugs.* 2001;61(10):1455-500.

144. Gold B, Rodriguez WJ. Cefuroxime: mechanisms of action, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical applications, adverse reactions and therapeutic indications. *Pharmacotherapy.* 1983;3(2 Pt 1):82-100.

145. Neu HC, Fu KP. Cefuroxime, a beta-lactamase-resistant cephalosporin with a broad spectrum of gram-positive and -negative activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 1978;13(4):657-64.

146. Tartaglione TA, Polk RE. Review of the new second-generation cephalosporins: cefonicid, ceforanide, and cefuroxime. *Drug Intell Clin Pharm.* 1985;19(3):188-98.

147. Emmerson AM. Cefuroxime axetil. *J Antimicrob Chemother.* 1988;22(2):101-4.

148. Nascimento JW, Carmona MJ, Strabelli TM, Auler JO, Jr., Santos SR. Perioperative cefuroxime pharmacokinetics in cardiac surgery. *Clinics (Sao Paulo).* 2007;62(3):257-60.

149. Gordon RJ. Administration of parenteral prophylactic beta-lactam antibiotics in 2014: a review. *Anesth Analg.* 2015;120(4):877-87.

150. Děrgel M, Voborník M, Pojar M, Karalko M, Gofus J, Radochová V, et al. Lung Collapse during Mini-Thoracotomy Reduces Penetration of Cefuroxime to the Tissue: Interstitial Microdialysis Study in Animal Models. *Surg Infect (Larchmt).* 2021;22(3):283-91.

151. Glatt AE. Second-generation cephalosporins. *Hosp Pract (Off Ed)*. 1986;21(3):158a-b, e, h-l.

152. Knoderer CA, Saft SA, Walker SG, Rodefeld MD, Turrentine MW, Brown JW, et al. Cefuroxime pharmacokinetics in pediatric cardiovascular surgery patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2011;25(3):425-30.

153. Pojar M, Mandak J, Malakova J, Jokesova I. Tissue and plasma concentrations of antibiotic during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass--microdialysis study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2008;152(1):139-45.

154. Jehl F, Birckel P, Monteil H. Hospital routine analysis of penicillins, third-generation cephalosporins and aztreonam by conventional and high-speed high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1987;413:109-19.

155. Asín-Prieto E, Rodríguez-Gascón A, Isla A. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *J Infect Chemother*. 2015;21(5):319-29.

156. Lador A, Nasir H, Mansur N, Sharoni E, Biderman P, Leibovici L, et al. Antibiotic prophylaxis in cardiac surgery: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(3):541-50.

157. Mouton JW, Brown DF, Apfalter P, Cantón R, Giske CG, Ivanova M, et al. The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC breakpoints: the EUCAST approach. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(3):E37-45.

158. Lindenmann J, Kugler SA, Matzi V, Porubsky C, Maier A, Dittrich P,

et al. High extracellular levels of cefpirome in unaffected and infected lung tissue of patients. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(1):160-4.

159. Dhanani J, Roberts JA, Chew M, Lipman J, Boots RJ, Paterson DL, et al. Antimicrobial chemotherapy and lung microdialysis: a review. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36(6):491-500.

160. De La Peña A, Dalla Costa T, Talton JD, Rehak E, Gross J, Thyroff-Friesinger U, et al. Penetration of cefaclor into the interstitial space fluid of skeletal muscle and lung tissue in rats. *Pharm Res.* 2001;18(9):1310-4.

161. Tomaselli F, Maier A, Matzi V, Smolle-Jüttner FM, Dittrich P. Penetration of meropenem into pneumonic human lung tissue as measured by in vivo microdialysis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(6):2228-32.

162. Rottbøll LA, Friis C. Penetration of antimicrobials to pulmonary epithelial lining fluid and muscle and impact of drug physicochemical properties determined by microdialysis. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2016;78:58-65.

163. Hutschala D, Skhirtladze K, Kinstner C, Zeitlinger M, Wisser W, Jaeger W, et al. Effect of cardiopulmonary bypass on regional antibiotic penetration into lung tissue. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(7):2996-3002.

164. Testing ECoAS. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Search for latest version at <http://www.eucast.org>. 2019.

165. Tøttrup M, Bibby BM, Hardlei TF, Bue M, Kern-Jespersen S, Fuursted K, et al. Continuous versus short-term infusion of cefuroxime: assessment of concept based on plasma, subcutaneous tissue, and bone pharmacokinetics in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(1):67-75.

166. Torres A, Niederman MS, Chastre J, Ewig S, Fernandez-Vandellos P, Hanberger H, et al. Summary of the international clinical guidelines for the management of hospital-acquired and ventilator-acquired pneumonia. *ERJ Open Res.* 2018;4(2).

167. Aalbers M, ter Horst PG, Hospes W, Hijmering ML, Spanjersberg AJ. Targeting cefuroxime plasma concentrations during coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Int J Clin Pharm.* 2015;37(4):592-8.

168. Mand'ák J, Pojar M, Maláková J, Lonský V, Palicka V, Zivný P. Tissue and plasma concentrations of cephuroxime during cardiac surgery in cardiopulmonary bypass--a microdialysis study. *Perfusion.* 2007;22(2):129-36.

169. Carlier M, Noë M, Roberts JA, Stove V, Verstraete AG, Lipman J, et al. Population pharmacokinetics and dosing simulations of cefuroxime in critically ill patients: non-standard dosing approaches are required to achieve therapeutic exposures. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(10):2797-803.

170. Viberg A, Lannergård A, Larsson A, Cars O, Karlsson MO, Sandström M. A population pharmacokinetic model for cefuroxime using cystatin C as a marker of renal function. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;62(3):297-303.

171. Skhirtladze-Dworschak K, Hutschala D, Reining G, Dittrich P, Bartunek A, Dworschak M, et al. Cefuroxime plasma and tissue concentrations in patients undergoing elective cardiac surgery: Continuous vs bolus application. A pilot study. *Br J Clin Pharmacol.* 2019;85(4):818-26.