

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

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

Martin Děrgel

Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program: chirurgie

Hradec Králové
2022

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu chirurgie na Katedře chirurgie Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Martin Děrgel, Kardiologická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy

Školitel: prof. MUDr. Jiří Mandřák, Ph.D., Kardiologická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy

Oponenti: doc. MUDr. Radim Brát, Ph.D., MBA, Kardiologické centrum Fakultní nemocnice Ostrava

doc. MUDr. Petr Šantavý, Ph.D., Kardiologická klinika Fakultní nemocnice Olomouc a Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR chirurgie dne 23. 9. 2022 v Aesculap Akademii, Chirurgická klinika, Bedrnův pavilon, budova č. 21 v areálu Fakultní nemocnice Hradec Králové od 13 hod.

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

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové (tel. 495 816 134).

.....

prof. MUDr. RNDr. Milan Kaška, Ph.D.

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací

v doktorském studijním programu chirurgie

Garant studijního programu

Obsah

1	Souhrn	4
2	Summary	5
3	Úvod do problematiky	6
4	Cíle disertační práce	7
5	Metodika a materiál	7
5.1	Experimentální model.....	7
5.2	Provedení experimentu.....	8
5.3	Analýza vzorků	10
5.4	Farmakokinetika a statistika.....	11
6	Výsledky	11
6.1	Hemodynamika a okysličení krve	11
6.2	Relativní výtěžnost tkáňového cefuroximu mikrodialýzou	12
6.3	Vazba cefuroximu na plazmatické bílkoviny	12
6.4	Nekompartmentová farmakokinetická analýza	16
6.5	Populační kompartmentové modelování farmakokinetiky	19
6.6	PK/PD analýza	24
7	Diskuse.....	26
8	Závěry.....	29
9	Použitá literatura.....	30
10	Publikační a přednášková aktivita autora.....	31

1 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 plíci 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 plících 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 plíce o 30–40 % delší než u ventilované plíce a dosažení MIC v obou plících bylo opožděno o 10-40 minut ve srovnání s plazmou. Výsledek porovnání hodnot středního pobytového času (MRT) cefuroximu v neventilované plíci (109 min) > ve ventilované plíci (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 plíci (155 min), ve ventilované plíci (160 min), v plazmě (131 min).

Koncentrace cefuroximu v intersticiu neventilované prasečí plíce je nižší než ve ventilované plíci. Rovněž je zpomalena distribuce antibiotika mezi plazmou a IST. S ohledem na farmakokinetiku cefuroximu v neventilované plíci 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.

2 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 do problematiky

Minimálně invazivní techniky (tj. minitorakotomie) postupně nahrazují otevřené chirurgické výkony a staly se důležitým prvkem pro lepší zotavení pacienta po kardiotorakální operaci. Tento typ operace často zahrnuje ventilaci jednou plící, protože intraoperační kolaps druhé plíce usnadňuje přístup do operačního pole. Zkolabovaná plíce však může být ovlivněna patologickými procesy, jako je porucha okysličení, hypoxická vazokonstrikce a zvýšená plicní vaskulární rezistence, ventilační/perfuzní nesoulad, poškození epitelu a endotelu, vedoucí ke zvýšené propustnosti, a dále plicní edém a zánětlivá reakce. Ventilovaná plíce může být poškozena hyperperfuzí a poškozením plic souvisejícím s ventilátorem. V důsledku výše uvedených procesů se podstatně zvyšuje riziko pooperační pneumonie (1, 2).

Farmakologická profylaxe bakteriálních infekcí při kardiotorakálních operacích je široce používána v klinické praxi s cílem snížit infekci v místě operace a pneumonii. V nedávné multicentrické prospektivní studii byla pneumonie nejčastější a nejzávažnější infekcí po kardiochirurgických operacích, způsobující téměř devítinásobný nárůst mortality a prodloužení doby hospitalizace o dva týdny (3). Obecně se uznává, že použití antibiotik během chirurgického zákroku vede k účinné antimikrobiální profylaxi. Dávka antibiotika by měla zajistit dostatečnou koncentraci volného léčiva (nevázaného na proteiny) v místě infekce s ohledem na minimální inhibiční koncentraci (MIC) možných původců infekce.

Vzhledem k cestě bakteriální invaze při pneumonii jsou pro účinek antibiotika nejvíce prediktivní časové profily koncentrace volného léčiva v intersticiální tekutině (ISF) plic, ve slizniční tekutině a alveolárních makrofázích. Naproti tomu koncentrace volného léčiva v plazmě má v tomto ohledu nižší prediktivní hodnotu (4-6). Koncentraci volného léčiva v plicní intersticiální tekutině lze nepřetržitě monitorovat pomocí mikrodialýzy. Pro svou invazivitu se však plicní mikrodialýza omezila na zvířecí modely nebo pacienty podstupující elektivní hrudní chirurgii (7).

Cefuroxim, cefalosporin druhé generace, byl úspěšně použit v perioperační profylaxi infekcí během kardiotorakálních operací. Lék je bezpečný, má dobrou tkáňovou penetraci a adekvátní aktivitu proti nejběžnějším intraoperačním mikroorganismům. Navíc systematický přehled a metaanalýza randomizovaných kontrolovaných studií porovnávajících antibiotické režimy během kardiochirurgických výkonů zjistily, že použití cefalosporinů druhé a třetí generace vedlo k nižšímu počtu případů pneumonie a s tím spojené mortality ve srovnání s cefalosporiny první generace nebo peniciliny rezistentními na penicilinázy (8). Pooperační pneumonie se obvykle začíná rozvíjet během chirurgického zákroku nebo bezprostředně po něm, proto lze přínos cefuroximu přičíst citlivosti pravděpodobných původců infekce, včetně *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* a *Staphylococcus aureus* citlivých na meticilin.

Cefuroxim a další β -laktamy vykazují časově závislý baktericidní účinek a malý postantibiotický efekt. Proto je nejdůležitějším farmakokinetickým/farmakodynamickým ukazatelem (PK/PD) se vztahem k účinku antibiotika čas, po který koncentrace volného léčiva převyšuje MIC. Tento čas se vztahuje k délce intervalu mezi dávkami, vyjadřuje v procentech a označuje symbolem %fT>MIC (9). Cílové hodnoty pro %fT>MIC však nejsou dobře

definovány: 40 % je minimální hodnota nutná pro bakteriostázu, zatímco 60–70 % je spojováno s téměř úplným baktericidním účinkem (10).

Současné poznatky o distribuci antibiotik v atelektatických plicích jsou neúplné, což negativně ovlivňuje antibiotickou profylaxi nebo léčbu pooperačních infekčních komplikací. Předložená disertační práce se jako první věnuje kvantifikaci volného cefuroximu v intersticiální tekutině zkolabovaných a ventilovaných plic pomocí mikrodialýzy na prasečím modelu. Vytvořený kompartmentový farmakokinetický model umožňuje predikci koncentrací volného cefuroximu v plazmě a IST obou plic a následný návrh dávkovacích režimů potřebných k dosažení dostatečné hodnoty času $\%fT > MIC$ PK/PD pro účinnou antibiotickou profylaxi.

4 Cíle disertační práce

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

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.

5 Metodika a materiál

5.1 Experimentální model

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 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 číslem No. 45-2/2015-6848, 50-33/2016-6848 a 50-39/2016-6848.

5.2 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 intubována (ET 9 mm, Curaplex Select Endotracheal Tube, Bound Tree Medical, Dublin, Irsko) a mechanicky 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. Za účelem selektivní ventilace byl zvolen levý hlavní bronchus, jelikož v pravém hlavním bronchu se vyskytuje přídatný bronchus, *lobus trachealis*, což by znemožnilo vyřazení celého plicního křídla z ventilace. Za pomoci optického bronchoskopu byl do levého hlavního bronchu zaveden endotracheální bloker (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). K zajištění venózního přístupu byla využita žíla na ušním boltci zvířete. Během experimentu byly sledovány základní životní funkce zvířete – elektrokardiografie, pulzní oxymetrie a invazivně měřený arteriální krevní tlak.

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 cefuroximu (Cefuroxim Kabi, Fresenius, Kabi Group, Portugalsko) o koncentraci 60 mg/l, rychlostí 0,1 ml/hod po dobu 30 minut. Oba takto získané 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 v intersticiální tekutině každé plíce byly vypočteny následovně:

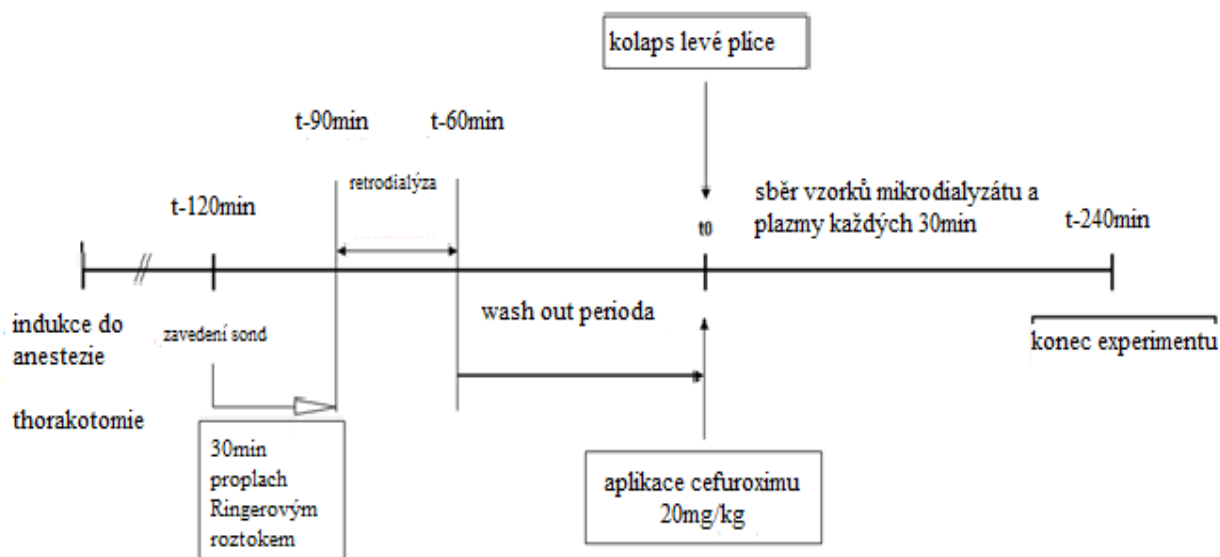
$$C_{\text{ISF}} = C_{\text{dialysate}}/RR$$

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

Vlastní pokus byl zahájen insuflací blokeru v levém hlavním bronchu, nastavením ventilačních parametrů (dechový objem, dechová frekvence, FiO₂) tak, aby se výsledná saturace (měřená pulzním oxymetrem na prstě 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 minut 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 EDTA. Následně z krevních vzorků byla centrifugací 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 tetracain hydrochloridu (T61, Intervet International GmbH, Unterschleissheim, Německo).

Obr. 1 Časové schéma pokusu



5.3 Analýza vzorků

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 polarity 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 (11). 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.

5.4 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 považována za významnou. Všechny hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr \pm standardní odchylka, pokud není uvedeno jinak.

6 Výsledky

6.1 Hemodynamika a okysličení krve

Během ventilace jednou plicí u prasat v narkóze 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. 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.

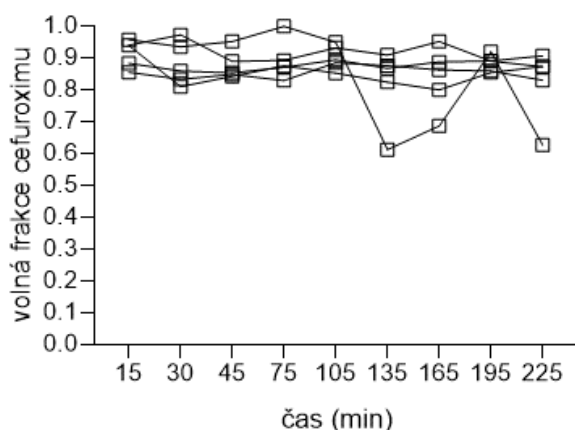
6.2 Relativní výtěžnost tkáňového cefuroximu mikrodialýzou

Výtěžek cefuroximu *in vitro* mikrodialyzační sondou byl 82 ± 12 % bez zjevné závislosti na koncentraci v rozmezí 10-71 mg/l. Výtěžky *in vivo* 60 mg/l cefuroximu v dialyzátech ze dvou plic byly srovnatelné (83 ± 21 % a 76 ± 22 %, $P = 0,51$).

6.3 Vazba cefuroximu na plazmatické bílkoviny

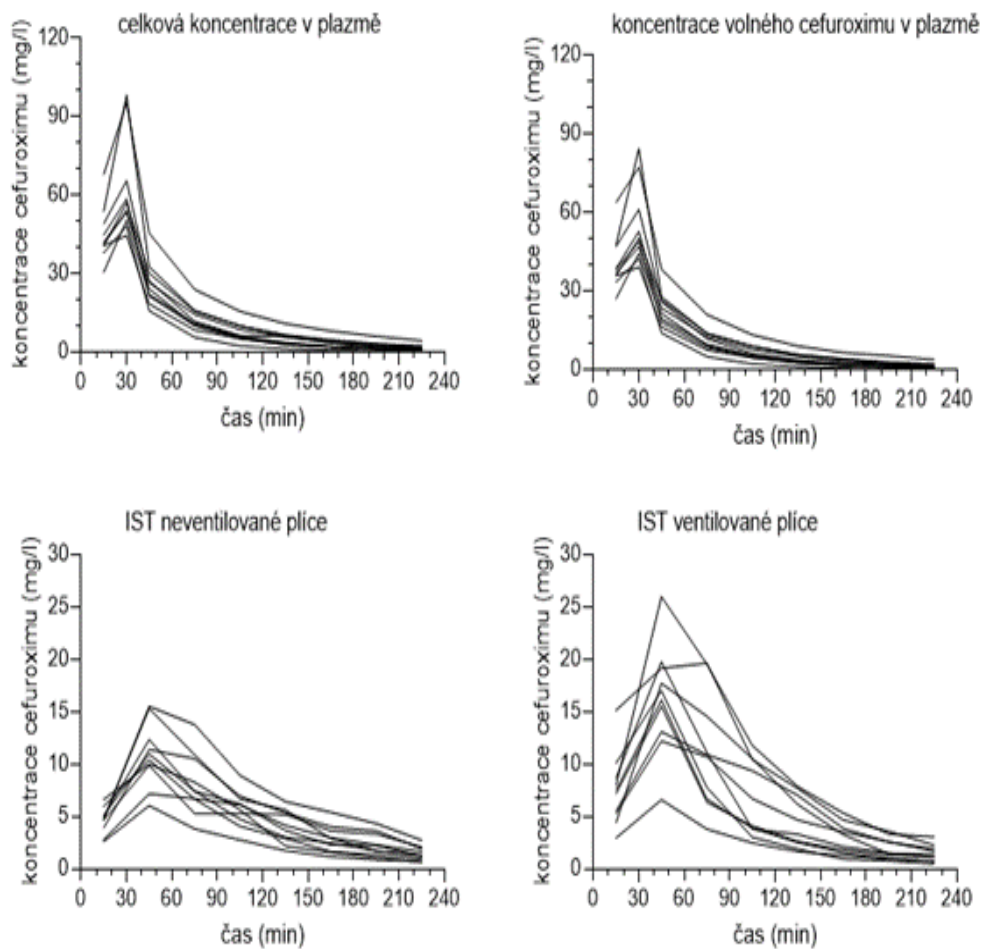
U pěti z deseti zkoumaných zvířat byly ve všech vzorcích plazmy stanoveny koncentrace volného a celkového cefuroximu. Frakce nenavázaná na plazmatické proteiny (f_U) byla $87 \pm 7,7$ %. Regresní analýza a analýza rozptylu prokázaly, že hodnota f_U je koncentračně nezávislá v rozsahu koncentrací celkového cefuroximu od 0,7 do 98 mg/l a inter a intraindividuální variabilita f_U je nízká a u většiny zvířat srovnatelná (obr. 2). Proto byla hodnota f_U 87 % použita pro přepočítání celkové koncentrace na koncentraci volného léčiva v plazmě pěti zbývajících zvířat.

Obr. 2 Inter- a intraindividuální variabilita hodnot volné frakce (f_U) cefuroximu ve skupině 5 zvířat

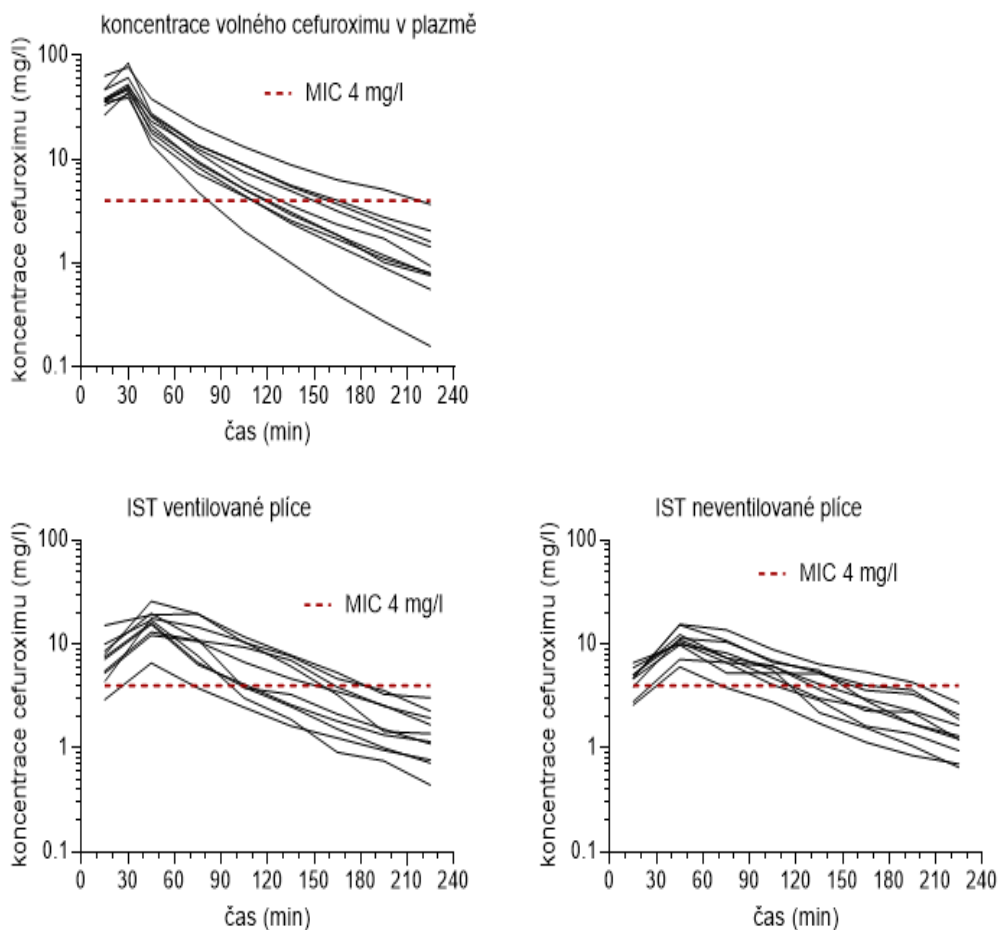


Individuální profily koncentrace celkového a volného cefuroximu v plazmě a volného cefuroximu v IST ventilované a neventilované plíce ukazuje obr. 3. Koncentrace volného cefuroximu v plazmě a IST ventilované a neventilované plíce jsou dále znázorněny na semilogaritmických grafech, které umožňují lepší porovnání individuálních koncentračních profilů s hodnotou MIC (Obr. 4). Časové závislosti průměrných (SD) koncentrací ukazuje obr. 5 (A, B, C).

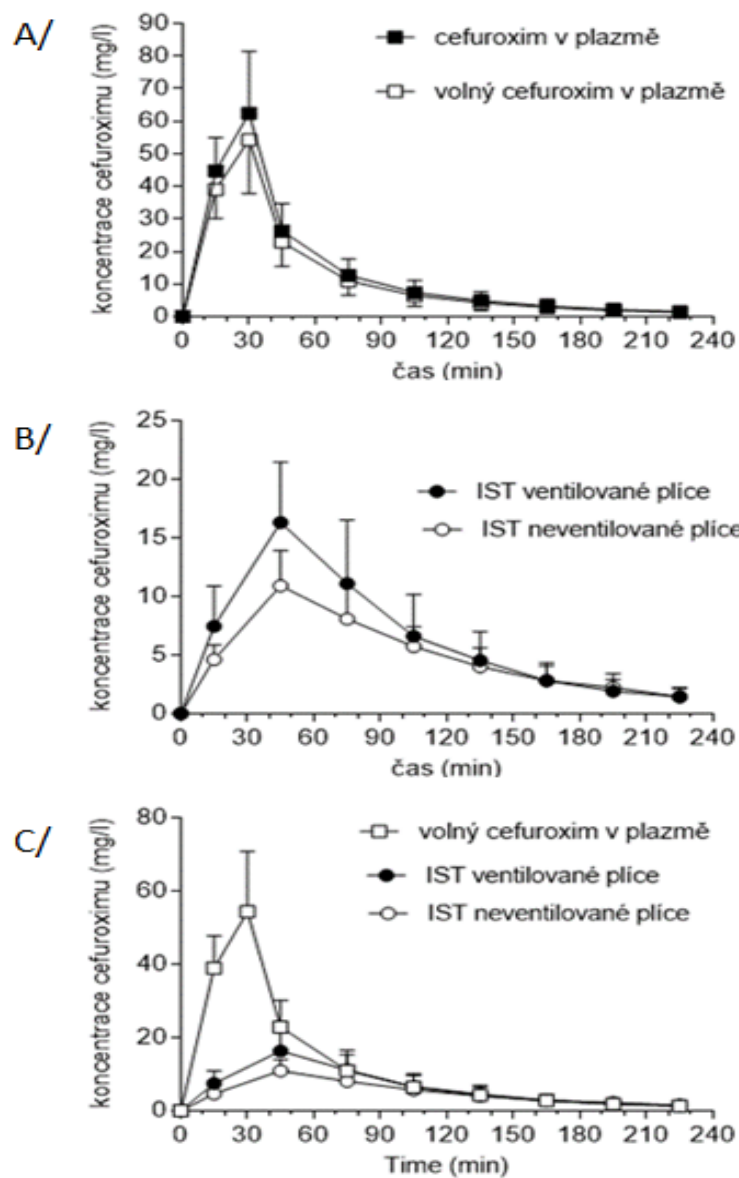
Obr. 3 Individuální koncentrační závislosti pro celkový a volný cefuroxim v plazmě a volný cefuroxim v IST neventilované a ventilované plicce



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



Obr. 5 Průměrné (SD) koncentrace celkového a volného cefuroximu v plazmě (A/ a C/) a volného cefuroximu v IST neventilované a ventilované plicí (B/ a C/)



6.4 Nekompartmentová farmakokinetická analýza

Farmakokinetické parametry stanovené pro plazmu a intersticiální tekutinu (ISF) ventilované a nevzdušné plíce jsou shrnuty v tab. 1. Celková *clearance* $12,1 \pm 3,1$ l/hod 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. 1, obr. 6). 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 nevzdušných plicích 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. 1). Nižší průměrná hodnota penetračního faktoru LPF (0,47 vs. 0,63, $P < 0,05$) doložila menší penetraci cefuroximu do nevzdušné než ventilované plíce (obr. 7).

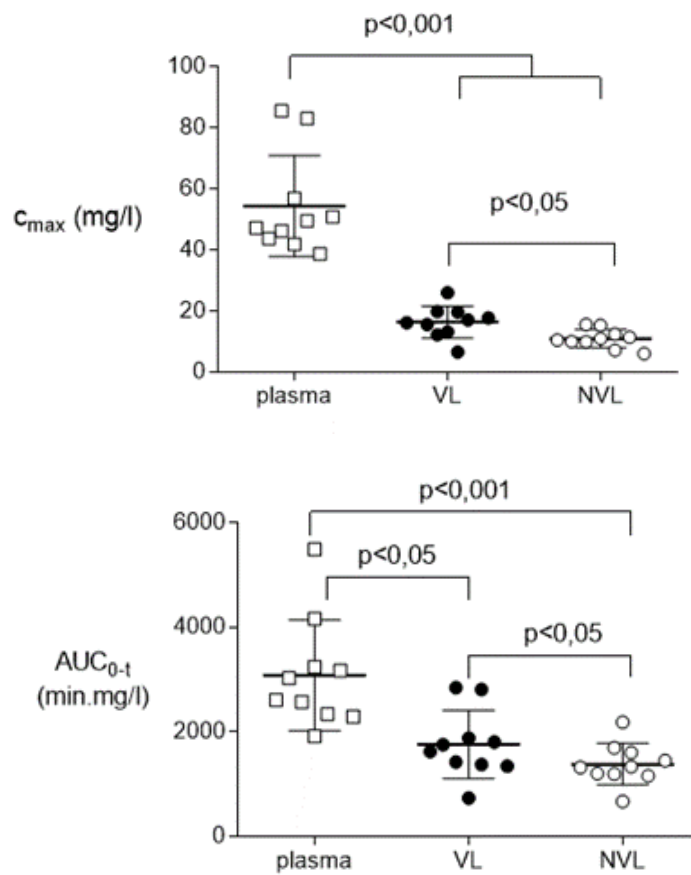
Tab. 1 Nekompartmentální farmakokinetická analýza celkového a volného cefuroximu v plazmě a volného cefuroximu v intersticiální tekutině (ISF) ventilovaných (VL) a neventilovaných (NVL) plic po jednorázové dávce 20 mg/kg ve 30 min i.v. infuze

Parametr	Jednotka	Průměr ± SD (<i>n</i> = 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	3 460 ± 1 110	2 740 ± 882	1 540 ± 580 *	1 170 ± 330 ***
$AUC_{0-\infty}$	min. mg/l	3 580 ± 1 220	2 840 ± 988	1 650 ± 620 *	1 310 ± 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		

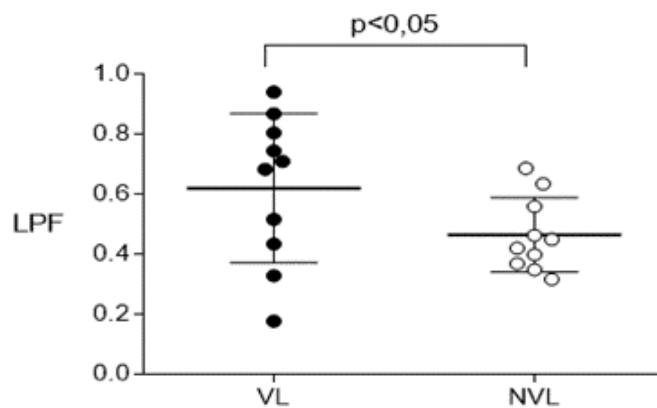
* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ vs. plazma, # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ vs. ISF VL

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, $AUC_{0-\infty}$ – 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. 6 Statistické porovnání farmakokinetických charakteristik volného cefuroximu v plazmě a v intersticiální tekutině ventilované (VL) a ventilované plicé (NVL): maximální koncentrace C_{max} a plochy pod křivkou koncentrace-čas od času 0 do času posledního odběru krve AUC_{0-t}



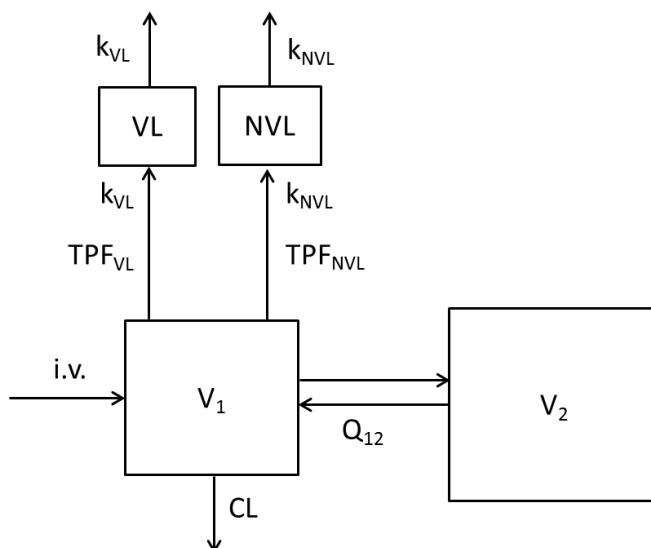
Obr. 7 Srovnání hodnot penetračního faktoru do intersticia ventilované a neventilované plicé



6.5 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. 8). Model sestával z centrálního, 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. 8: 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 plice, k_{VL} a k_{NVL} – rychlostní konstanty prvního řádu charakterizující rychlost distribuce cefuroximu do intersticiální tekutiny ventilované a neventilované plice



Odhad farmakokinetických parametrů populační metodou byl přesný. Standardní chyba odhadu průměrné hodnoty byla u všech parametrů modelu nižší než 17 % (tab. 2). 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 plíce a průměrný \pm SD intraindividuální rozdíl v rychlosti ekvibrace mezi plícemi byl 12 ± 7 minut.

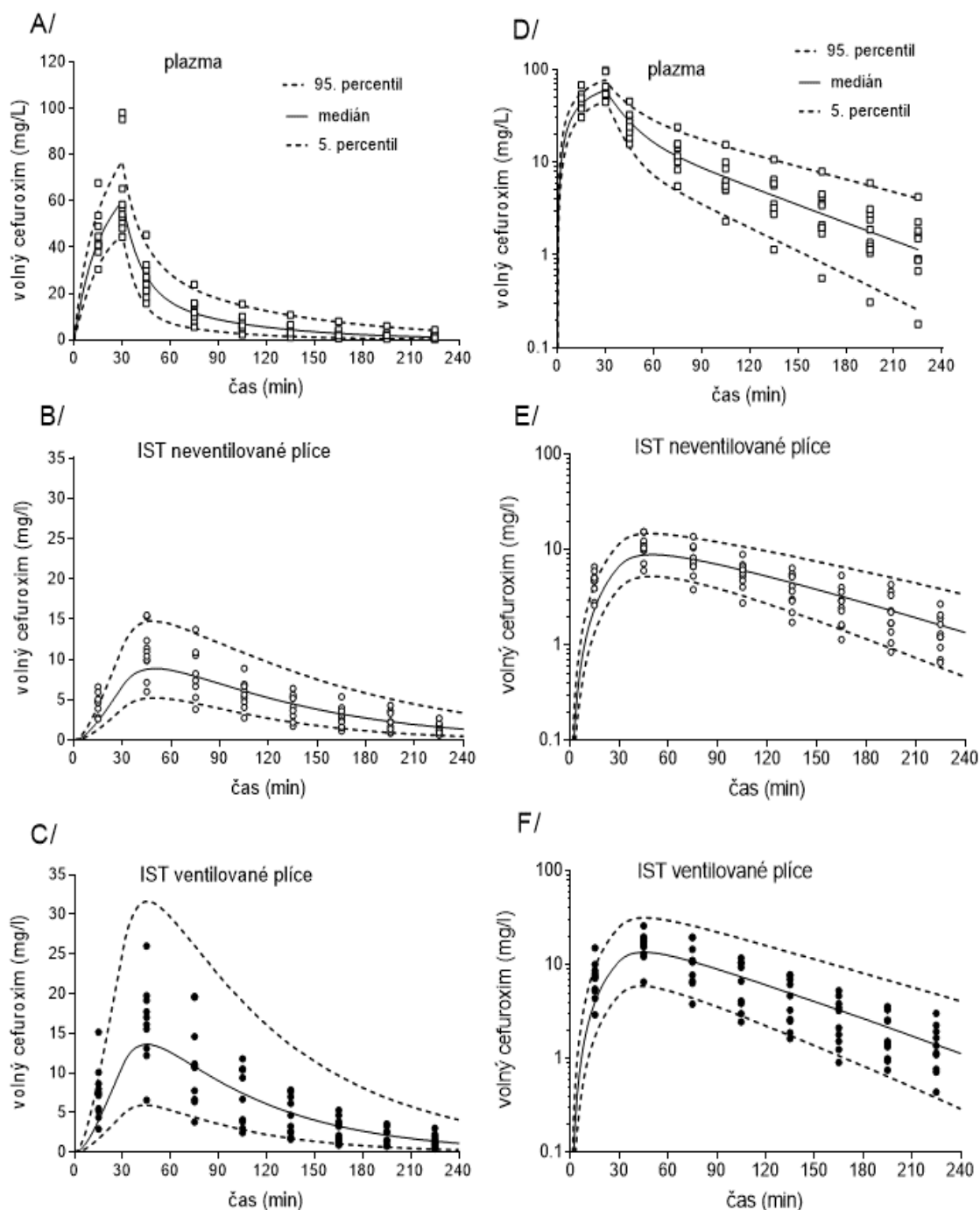
Tab. 2 Farmakokinetické charakteristiky kompartmentového farmakokinetického modelu pro volný cefuroxim v plazmě a intersticiální tekutině (ISF) ventilovaných (VL) a neventilovaných plic (NVL), získané populačním modelováním farmakokinetiky

charakteristika		průměr (%RSE)	interindividuální variabilita ^a (%RSE)
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)	<i>ne</i>
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)	<i>na</i>
ISF VL	%CV	24 (9.8)	<i>na</i>
ISF NVL	%CV	21 (9.4)	<i>na</i>

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. 9). Za tento nedostatek může být zodpovědná délka 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. 9 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.



6.6 PK/PD analýza

Profily koncentrace-čas v plazmě a dvou plících byly hodnoceny jako čas nad MIC, tj. farmakokinetická/farmakodynamická charakteristika důležitá pro účinnost (tab. 3). 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 ($p < 0,05$).

Tab. 3 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)***,##
16a -	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)

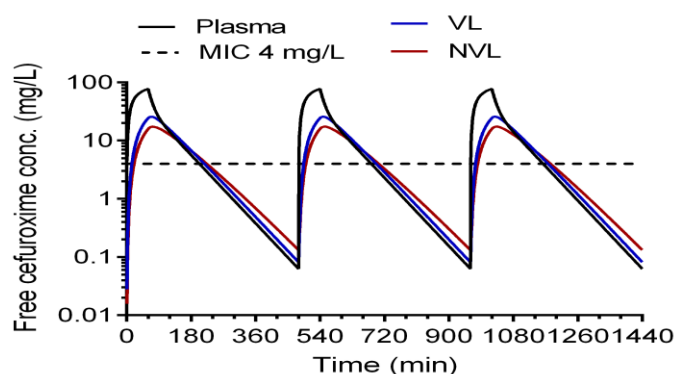
* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ vs. plazma, ## – $p < 0,01$ vs. ISF VL

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

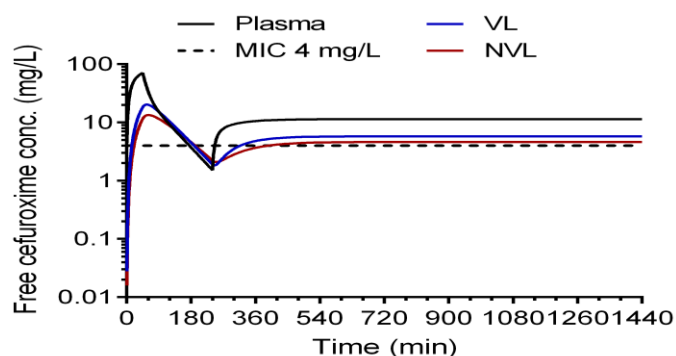
Za předpokladu časově invariantní a lineární farmakokinetiky byly populační farmakokinetický model a střední hodnoty farmakokinetických parametrů dále použity k simulaci profilů koncentrace-čas cefuroximu po různých dávkovacích režimech (obr. 10). Simulace 3 dávek 40 mg/ kg q8h ukázala, že cílové %fT>MIC 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.

Obr. 10 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 a MIC 4 mg/l, zatímco ve spodním grafu bylo dosaženo 95 %, 90 % a 84 % pro plazmu a intersticiální tekutinu ventilované a neventilované plíce.

A



B



7 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 nevědušných 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 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 (12).

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 kardiokirurgii 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 (8). Tento přínos lze připsat skutečnosti, že některé pooperační pneumonie jsou získány 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 způsobena kmeny necitlivými na cefuroxim, jako je *Pseudomonas aeruginosa*, methicilin-rezistentní *S. aureus* (MRSA) a další gramnegativní bakterie (9). Betalaktamy vykazují časově závislé zabíjení bakterií a omezený postantibiotický účinek. $\%fT > MIC$ je tedy relevantní PK/PD charakteristika, která nejlépe předurčuje účinnost eradikace bakterií (10). Cílové hodnoty pro $\%fT > MIC$ jsou méně dobře definovány: minimum nezbytné pro bakterioostázu je 40 %, zatímco hodnota v rozmezí 60-70 % je spojována s maximální baktericidní aktivitou (13).

V odborné literatuře bylo publikováno jen velmi málo studií závislosti koncentrace na čase pro cefalosporiny v plicním intersticiu (7). LPFs 67 % a 63 % získané ve dvou klinických studiích pro cefpirom dobře souhlasí s LPF cefuroximu 63 %, pozorovaným v této studii (14). V mikrodialyzační studii na potkanech byla hodnota LPF pouze 26 % pro cefaclor, což je další cefalosporin s nízkou vazbou na plazmatické proteiny (15). Pokud jde o ostatní betalaktamy, je uváděna penetrace do ISF plic 63 % u piperacilinu a 41 % u meropenemu (16, 17).

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 (18). Cefuroxim má pK_a 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 nevzdušné plicí 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 nevzdušné plicí, jejíž bariérová funkce je snižena. Kardiopulmonální bypass (CPB) způsobuje nesoulad mezi ventilací, perfuzí a atelektázou. Průnik levofloxacinu do plic byl studován pomocí mikrodialýzy u prasat po kardiokirurgickém výkonu s použitím kardiopulmonálního bypasu a u kontrolních skupin (19). Hodnoty LPF do horních a dolních částí plic zvířat umístěných na pravém boku byly 1,1 a 1,6 pro kontrolní skupinu, zatímco odpovídající hodnoty skupiny CPB s atelektázou byly sniženy 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 nevzdušných plic. Klinická studie s pacienty na JIP po kardiokirurgickém výkonu s CPB, či bez mimotělního oběhu zjistila poměr AUC levofloxacinu v plicích k AUC v plazmě 30 % a 70 % (20).

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 (21).

Je důležité udržovat cílovou $\%fT > MIC$ v tkáních profylaktickým dávkováním po dobu 24 h–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 (22). Za pozornost stojí zjištění, že pro citlivé patogeny s MIC_{90} v rozmezí 1–4 mg/l a při rychlosti infuze 40 mg/kg/h byla nejdelší doba potřebná k dosažení účinné koncentrace v neventilované plicí 43 minut. Střední doby pro dosažení MIC (tab. 3) 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 plicí. Hodnoty PK/PD charakteristiky $\%fT > MIC$ byly prakticky totožné v plazmě a ISF obou plic pro citlivé kmeny, a to i přes nižší AUC pro volný cefuroxim v ISF. Toto zjištění lze vysvětlit delším setrváváním koncentrací $> MIC$ (v ISF plic ve srovnání s plazmou, jak dokládají hodnoty MRT (tab. 1). 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 1 500 mg prasatům v anestezii (23). 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 (24). Anatomie a fyziologie prasečích plic je také relativně podobná člověku. Farmakokinetika cefuroximu byla předmětem četných studií u různých populací pacientů včetně kardiologických pacientů s CPB nebo bez CPB (25-28). 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 (25). 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 MIC_{90} 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 (28).

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 antibiotika s časově závislým účinkem a krátkým poločasem, výhodnější než opakovaná rychlá podání (i.v. bolus) nebo krátké infuze (21). Simulované křivky koncentrace-čas pro cefuroxim v plazmě a plicích jasně dokumentují výhodu rychlé bolusové 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. 4). Ke stejnému závěru dospěli i další výzkumníci po sledování průniku cefuroximu do podkoží a kosti prasete (23). Tento přístup k profylaxi cefuroximem byl ověřen i u pacientů podstupujících elektivní kardiologický výkon kontinuálním monitorováním subkutánních a intramuskulárních koncentrací pomocí mikrodialýzy a u kriticky nemocných pacientů s pomocí populačního modelování plazmatických koncentrací (28).

Zjevným omezením při extrapolaci výsledků této experimentální studie je, že sleduje anestezovaná 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.

8 Závěry

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 a populační 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 plicích a poločas ekvibrace byl v průměru o 12 minut delší. Koncentrace v nevzdušných plicích 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 plicích bylo možné navrhnout optimalizovaný dávkovací režim, který kombinuje rychlou infuzi a udržovací kontinuální infuzi a umožňuje dosáhnout vyšší hodnoty %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 plicích pro různá antibiotika a dávkovací režimy.

9 Použitá literatura

1. Della Rocca G, Coccia C. Acute lung injury in thoracic surgery. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2013;26(1):40-6.
2. Lohser J, Slinger P. Lung Injury After One-Lung Ventilation: A Review of the Pathophysiologic Mechanisms Affecting the Ventilated and the Collapsed Lung. *Anesth Analg.* 2015;121(2):302-18.
3. Ailawadi G, Chang HL, O'Gara PT, O'Sullivan K, Woo YJ, DeRose JJ, Jr., et al. Pneumonia after cardiac surgery: Experience of the National Institutes of Health/Canadian Institutes of Health Research Cardiothoracic Surgical Trials Network. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2017;153(6):1384-91.e3.
4. Rodvold KA, Hope WW, Boyd SE. Considerations for effect site pharmacokinetics to estimate drug exposure: concentrations of antibiotics in the lung. *Curr Opin Pharmacol.* 2017;36:114-23.
5. Rodvold KA, George JM, Yoo L. Penetration of anti-infective agents into pulmonary epithelial lining fluid: focus on antibacterial agents. *Clin Pharmacokinet.* 2011;50(10):637-64.
6. Zeitlinger M, Müller M, Joukhadar C. Lung microdialysis--a powerful tool for the determination of exogenous and endogenous compounds in the lower respiratory tract (mini-review). *Aaps j.* 2005;7(3):E600-8.
7. 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.
8. 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.
9. Gordon RJ. Administration of parenteral prophylactic beta-lactam antibiotics in 2014: a review. *Anesth Analg.* 2015;120(4):877-87.
10. 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.
11. 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.
12. Jones TC. *Veterinary Pathology by Jones and Hunt.* 1997.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.

18. 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.
19. 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.
20. Tøttrup M, Bibby BM, Hardlei TF, Bue M, Kern-Jespersen S, Fursted 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.
21. 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.
22. 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).
23. 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.
24. 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.
25. Mand'ák J, Pojar M, Maláková J, Lonsk V, Palicka V, Zivný P. Tissue and plasma concentrations of cefuroxime during cardiac surgery in cardiopulmonary bypass--a microdialysis study. *Perfusion.* 2007;22(2):129-36.
26. 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.
27. 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.
28. 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.

10 Publikační a přednášková aktivita autora

Původní práce s IF:

1. MANDÁK J, BRZEK V, SVITEK V, DĚRGEL M, CHEK J, VOLT M, HORÁK M, KUBÍČEK J, LONSKÝ V. Peripheral tissue oxygenation during standard CPB and miniaturized CPB (direct oxymetric tissue perfusion monitoring study). *Biomedical Papers.* 2013, **157**(1), 81-89

IF=1.648

2. HOLUBEC T, HIGASHIGAITO K, BĚLOBRÁDEK Z, **DĚRGEL M**, HARRER J, ALKADHI H, ŽÁČEK P, VOJÁČEK J. An Expandible Aortic Ring in Aortic Root Remodeling: Exact Position, Pulsatility, Effectiveness, and Stability in Three-Dimensional Ct Study. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2017, **103**(1), 83-90. IF= 5.102
3. GOFUS J, VOBORNÍK M, ŠORM Z, **DĚRGEL M**, KARALCO M, HARRER J, POJAR M. Female sex as a risk factor in minimally invasive direct coronary artery bypass grafting. *Scandinavian Cardiovascular Journal*. 2019, **53**(3), 141-147 IF= 1.992;
4. **DĚRGEL M**, VOBORNÍK M, POJAR M, KARALCO M, GOFUS J, RADOCHOVÁ V, STUDENÁ Š, MALÁKOVÁ, J, TUREK Z, CHLÁDEK J, MANDĀK J. Lung Collapse during Mini-Thoracotomy Reduces Penetration of Cefuroxime to the Tissue: Interstitial Microdialysis Study in Animal Models. *Surgical Infections*. 2021, **22**(3), 283-291 IF= 2,3
5. KARALCO M, STEJSKAL V, **DĚRGEL M**, GOFUS J, TIMBILLA S, ŽALOUKOVÁ L, ŽÁČEK P, POJAR M, VOJÁČEK J. Histopathological changes in dilated ascending aorta associated with aortic valve cuspidity. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2021 May 8;59(5):1103-1108. IF= 4.534
6. POJAR M, KARALCO M, **DĚRGEL M**, VOJÁČEK J. Minimally invasive or sternotomy approach in mitral valve surgery: a propensity-matched comparison. *Journal of Cardiothoracic Surgery*. 2021, **16**(1), Art No. 228. IF= 1.522
7. **DĚRGEL M**, GOFUS J, SMOLÁK P, STEJSKAL V, HANKE I, MATĚJKA J, MANDĀK J, VOJÁČEK J. Surgical treatment of primary cardiac tumors: 20-year single center experience. *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska*. 2022, **19**(1), 36-40. IF= 0.205

Ostatní práce s IF:

1. **DĚRGEL M**, BALÍK M, - PACOVSKÝ J, VOBORNÍK M, MANDĀK J, LACO, J. Solitary metastasis of clear cell renal cell carcinoma in sternum diagnosed unexpectedly during cardiac surgery – A rare but potentially fatal trap. *Urology Case Reports*. 2021, **38**(SEP), Art No. 101730. IF 0,53

Původní práce bez IF:

1. VOBORNÍK M, **DĚRGEL M**, - OMRAN N, LOPOUROVÁ M, POJAR M, ŠORM Z, HARRER J. Kvalita života po chirurgické revaskularizaci myokardu – je operační přístup rozhodující? *Intervenční a akutní kardiologie*. 2015, **14**(4), 144-147.

Ostatní práce bez IF:

1. PLÍVA M, **DĚRGEL M**, VEČEŘA J, VONDRÁK J, ZÁVESKÝ J, VOJTÍŠEK P, Symptomatická gigantická perikardiální cysta, *Interv Akut Kardiol* 2017; 16(1): 25-26

Přednášková aktivita:

1. **M. DĚRGEL**, M. Voborník, J. Mandák, J. Laco, sjezd kardiiovaskulární chirurgie Brno, 2014, Solitární metastáza světlobuněčného karcinomu ledvin do hrudní kosti (poster)
2. **M. DĚRGEL**, XIV. dny mladých chirurgů prof. MUDr. Stanislava Čárskeho, DrSc, 2014, Metody odběru žilního štěpu při revaskularizaci myokardu
3. **M. DĚRGEL**, M. Voborník, J. Mandák, M. Pojar, Hradecký den kardiotorakální chirurgie, 2016, Vliv selektivní ventilace na koncentraci antibiotika v plicní tkáni - mikrodialyzační studie (pilotní projekt)
4. **M. DĚRGEL**, Z. Šorm, Hradecký den kardiotorakální chirurgie, 2018, Efektivita analgetické terapie cestou subpleurálního katetru u MIDCAB operací (výsledky studie)
5. **M. DĚRGEL**, M. Voborník, J. Mandák, M. Pojar, Conference of postgraduate students in Hradec Kralove, 2019, Vliv selektivní ventilace na koncentraci antibiotika v plicní tkáni – mikrodialyzační studie (výsledky studie)
6. **M. DĚRGEL**, J. Gofus, P. Smolák, V. Stejskal, sjezd kardiiovaskulární chirurgie Brno, 2021, Primární tumory srdce – single centre experience 2010-2020 (výsledky studie)

