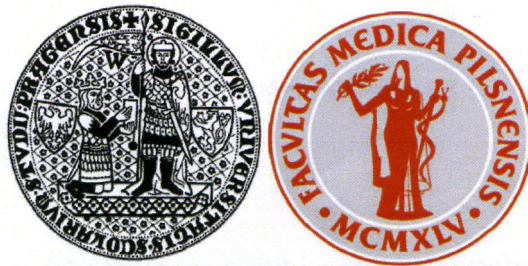


Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Plzni



AUTOREFERÁT DIZERTAČNÍ PRÁCE

MUDr. Jiří Fremuth

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Plzni
Dětská klinika FN Plzeň

MUDr. Jiří Fremuth

Dizertační práce:

Identifikace nových biomarkerů a cílových molekul pro komplexní léčbu (drug target) pomocí proteomické analýzy tělních tekutin a tkání. Experimentální studie.

Obor: Pediatrie
Plzeň, 2011

Dizertační práce byla vypracována v rámci kombinované formy doktorského studijního programu na Dětské klinice LF UK v Plzni.

Uchazeč: **MUDr. Jiří Fremuth**, Dětská klinika LF UK a FN v Plzni, Alej Svobody 80
304 60 Plzeň

Školitel: **Doc. MUDr. Jiří Kobr, Ph.D.**, Dětská klinika LF UK a FN v Plzni, Alej
Svobody 80, 304 60 Plzeň

Oponenti:

1. **Doc. MUDr. Slavomír Nosál, Ph.D.**, Klinika dětí a dorastu, Jesseniova lékařská fakulta
Univerzita Komenského, Kollárova 2, 036 59 Martin, Slovensko

2. **Doc. MUDr. Jozef Hoza, CSc.**, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Klinika dětského a
dorostového lékařství VFN a 1.LF UK, Ke Karlovu 2, 121 09 Praha 2

3. **Assoc. Prof. Zdeněk Slavík, M.D.**, Royal Brompton Hospital, Sydney Street, London
SW3 6NP, UK

Stanovisko k dizertační práci vypracovalo vedení Dětské kliniky LF UK a FN v Plzni.

Autoreferát byl odeslán dne

Obhajoba dizertační práce před komisí pro obhajobu dizertačních prací v oboru pediatrie se
koná

Místo obhajoby: Dětská klinika FN Plzeň, Alej Svobody 80, vchod F, 6. patro, seminární
místnost.

Předseda komise pro obhajobu v oboru pediatrie: : Doc. MUDr. Jiří Kobr, Ph.D.

S dizertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v
Plzni, Husova 3.

Seznam použitých zkratek:

VILI	Ventilator induced lung injury
ALI	Acute lung injury
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
PEEP	Positive end expiratory pressure
UPV	Umělá plicní ventilace
IL	Interleukin
TNF alfa	Tumor necrosis factor alfa
DNA	Deoxyribonucleic acid
NF- κ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
c-Jun	název genu/proteinu
c-Fos	název genu/proteinu
JNK	c-Jun N-terminal kinases
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
Th1	T helper cells
INF- γ	Interferon gamma
COX	Cyclooxygenase
ICAM	Intercellular adhesion molecule
VCAM	Vascular cell adhesion molecule
BNP	Brain natriuretic peptide

Obsah

1. Úvod	6
2. Současný stav problematiky	6
2.1. Barotrauma	6
2.2. Atelectrauma	6
2.3. Volutrauma.....	6
2.4. Biofyzikální faktory vedoucí k VILI postižení	6
2.5.1. Poškození buňky tlakem (napětím)	7
2.6. Biotrauma	8
3. Cíle studie:.....	9
4. Metodika studie:	9
5. Statistická analýza	12
6. Výsledky.....	12
6.1. Výsledky k cíli 3.1.	13
6.2. Výsledky k cíli 3.2.	16
6.3. Výsledky k cíli 3.3.	19
6.4. Výsledky k cíli 3.4.	22
7. Diskuse a závěr.....	23
8. Souhrn	27
9. Summary	29
10. Publikační činnost	32
11. Použitá literatura	35

1. Úvod

Umělá plicní ventilace je základním léčebným přístupem, kterým lze podpořit jednu z vitálních funkcí organismu. Klinické i experimentální studie současně prokazují, že umělá plicní ventilace může iniciovat a dále i exacerbovat plicní postižení a tím negativně ovlivňovat morbiditu a mortalitu pacientů v intenzivní péči (2,3). Poškození plic a mimoplicních orgánů vyvolané vlivem umělé plicní ventilace se v anglosaské literatuře nazývá ventilátorem indukované plicní postižení (VILI).

2. Současný stav problematiky

Plicní postižení, které je asociováno s použitím umělé plicní ventilace, lze z didaktického hlediska rozdělit na 4 základní typy (1) – barotrauma, atelectrauma, volutrauma a biotrauma.

2.1. Barotrauma – vzniká vlivem umělé plicní ventilace pozitivním přetlakem při úniku vzduchu mimo alveoly do plicního intersticia s dalším rozšířením podél dýchacích cest a cév. Riziko vzniku vzrůstá se vzrůstající hodnotou transpulmonálního tlaku.

2.2. Atelectrauma – termín popisující plicní postižení v důsledku opakovaného rozpětí a kolapsu plicních sklípků a drobných dýchacích cest. Především při plicním postižení (ALI/ARDS) mají alveoly a malé dýchací cesty tendenci při expiriu kolabovat (derecruitment) a při inspiriu se znovu otevírat (recruitment). Opakované otevírání a kolaps ve svém důsledku produkují pravděpodobně kombinaci základních patognomických mechanismů: zvýšené střižné síly (tlak, napětí), poškození surfactantu s jeho vymýváním z alveolů a mikrovaskulární postižení. Důkazy o tomto postižení s jeho dalším vlivem na plicní tkáň jsou dokladovány v řadě experimentálních i klinických studií (5,7,20).

2.3. Volutrauma – pojem zavedený skupinou kolem Dreyfusse, zdůrazňující zásadní roli endinspiračního dechového objemu plic pro rozvoj VILI postižení. Tento poznatek je dokladován výsledky řady experimentálních studií s různými druhy zvířat. (10,20). Závěry z těchto experimentálních studií ukazují, že k rozvoji postižení dochází mnohem dříve u malých druhů zvířat ve srovnání s většími zvířaty, kde je pro rozvoj plicního postižení nutné delší působení UPV. Vedle vlivu *endinspiračního objemu plic* je tedy vliv *času* druhou důležitou proměnnou pro rozvoj tohoto druhu změn.

2.4. Biofyzikální faktory vedoucí k VILI postižení

Dřívější pohled na umělou plicní ventilaci z klinického hlediska byl podmíněn především podmínkou zajištění ventilace, výměny plynů. Studiem vlivů UPV in vivo i in vitro na buňky

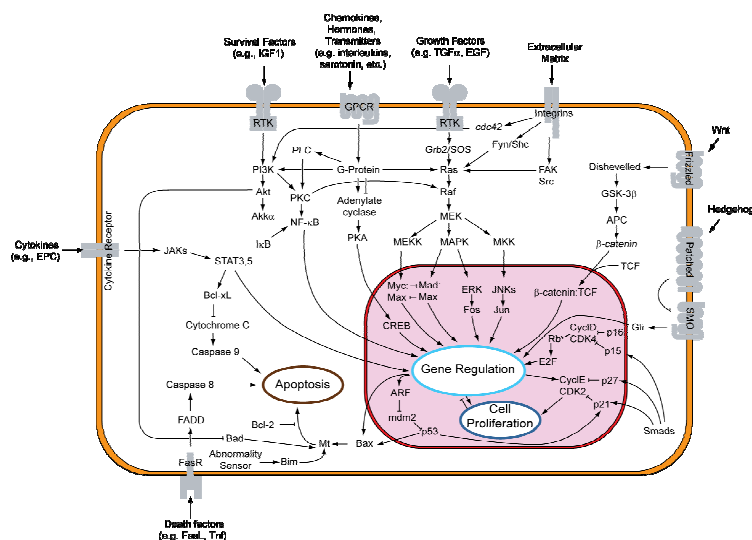
a extracelulární matrix se na umělou plicní ventilaci z dnešního pohledu díváme jako na fyzikální terapii, která má zásadní vliv na řadu buněčných funkcí (metabolických, transcelulární a intracelulární transport vody a iontů, indukci prozánětlivých a protizánětlivých pochodů i na integritu buňky samotné). Plicní parenchym je tvořen spojenou pojivovou tkání. Mimo pojivové struktury jsou do této spojené sítě vmezeřeny cévy a dýchací cesty, které jsou stran možné deformace (strain) mnohem více odolné vůči působení tlaku (stress) než vlastní parenchym (21). V patologicky změněné plicní tkáni (ALI/ARDS) však dominuje nehomogenní distribuce dechového objemu, což takto změněnou tkáň disponuje k dalšímu poškození vlivem UPV. Tento problém popsali Gattinoni v konceptu „baby lung“ (23), kdy množství alveolů, které jsou schopny recruitmentu díky plicnímu postižení se výrazně snižuje a proto menší množství alveolů obdrží dodaný dechový objem s vyšším rizikem jejich nadměrné distenze. Současně zde vlivem interdependence dochází ke zvýšenému střížnému napětí mezi sousedními oblastmi a tedy k nehomogenní distribuci napětí v rámci plicního parenchymu.

2.5.1. Poškození buňky tlakem (napětím)

Vlivem fyzikálních sil působících na buňky dochází ke změně propustnosti plazmatické membrány (plasma membrane stress failure), že tato změna propustnosti membrány je do určité doby alespoň z části reverzibilní (24). Plicní epiteliální buňky jsou v přímém spojení s extracelulární matrix a stejně jako matrix podléhají všem fyzikálním vlivům, které působí na plicní tkáň. Interagují s okolím prostřednictvím adhezivních receptorů, které tvoří bidirekční spojky mezi extracelulární matrix a cytoskeletem buňky (21,25). Prostřednictvím spojení buněk s okolním prostředím musí buňky reagovat na změny objemu plicní tkáně. Dochází k jejich deformaci a zvýšení poměru povrchu k jejich objemu. To je nezbytně provázeno prostorovou reorganizací nosných částí buňky (cytoskeleton, plazmatická membrána). Mechanické signály z okolí jsou buňkou aktivně „vnímány“ (mechanosensing) a přenášeny na intracelulární struktury, což má za následek řetězec pochodů, který nazýváme mechanotransdukce (mechanotransduction) (27,40). Deformací indukovaná remodelace buněčných struktur je energeticky aktivní proces, který do určité míry zaručuje obranu buňky proti poškození v důsledku působení zevních deformujících vlivů. Pokud míra deformace (amplituda) či frekvence překročí určitou hranici, dojde ke strukturálnímu poškození buňky (26).

2.6. Biotrauma

Zásadní roli v intracelulárním přenosu signálu hrají transkripční faktory. Jde o proteiny se schopností vazby na DNA, které regulují genovou expresi (transkripci DNA). V rámci rozvoje VILI postižení jsou nejčastěji zmiňovány NF- κ B, c-Jun a c-Fos, MAPK (40,44,48). Schematické vyjádření účinků jednotlivých transkripčních faktorů je zachyceno na obr. 1. Aktivace výše uvedených molekulárních mechanismů vede ve svém důsledku k transkripci genů a produkci řady biologicky aktivních působků, které se podílejí na patogenezi VILI postižení. Neutrofilní granulocyty a jejich recruitment do plicní tkáně v rámci VILI postižení je jedním z klíčových mechanismů v rozvoji plicního poškození. Experimentální studie prokázaly produkci prozánětlivých cytokinů v plicních alveolárních epiteliálních buňkách a alveolárních makrofázích vystavených mechanickému stresu (50,51,52,53). MAPK (p38) a JNK regulují imunitní odpověď a expresi řady cytokinů a dalších prozánětlivých faktorů – např. TNF alfa, IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, cyklooxygenázy 2 či indukovatelné syntázy oxidu dusnatého (54,55,56). Tyto faktory se dále podílejí na regulaci imunitní odpovědi prostřednictvím aktivace Th1 lymfocytů (produkce INF- γ), makrofágů a dalších imunitně aktivních buněk (56,57). Současně s aktivací těchto prozánětlivých kaskád jsou aktivovány inhibiční buněčné mechanismy (např. MKP-1 – Mitogen-activated protein kinase phosphatase), které defosforylací MAPK (p38) a JNK tlumí produkci prozánětlivých cytokinů – IL-6, IL-8, COX-2 (56).



Obr. 1: Mechanotransdukční mechanismy – schema (49)

3. Cíle studie:

Cílem studie bylo vytvořit klinicky relevantní experimentální zvířecí model, simulující rozdílnou strategii umělé plicní ventilace zdravých a poškozených plic a její vliv na plicní a mimoplicní orgánové systémy.

3.1. Cíl 1. Zhodnotit vliv UPV a plicního poškození na plicní mechaniku a výměnu plynů.

3.2. Cíl 2. Zhodnotit vliv UPV a plicního poškození na funkci jater a ledvin.

3.3. Cíl 3. Zhodnotit vliv UPV a plicního poškození na krevní oběh, rozvoj imunitní reakce a systémové zánětlivé odpovědi.

3.4. Cíl 4. Zhodnotit morfologické změny orgánů v průběhu UPV zdravých a poškozených plic.

4. Metodika studie:

Studie proběhla na akreditovaném experimentálním pracovišti. Experiment byl proveden na selatech prasete domácího (*Sus scrofa f. domestica*, plemeno černobílé strakaté Přestice) stáří 7.0 ± 2.0 týdny.

4.1. Instrumentace a zajištění zvířat

Premedikace byla provedena intramuskulární aplikací kombinace atropinu 1,5mg i.m. (Atropin; Biotika, Slovakia) a azaperonu 160mg i.m. (Stresnil; Janssen Neuss, Germany) 30 min. před zahájením studie. Následně byla na operačním sále podána indukce do anestezie thiopentalem $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Thiopental; VUAB Pharma a.s., CZ) do periferní žíly. Po indukci byla zvířata orotracheálně intubována. Umělá plicní ventilace (Servo 900 C; Elema-Siemens, Germany) byla vedena v režimu tlakem kontrolované ventilace (PCV) s konstantní dechovou frekvencí ($\text{BR } 30 \text{ min}^{-1}$), pozitivním end-expiračním tlakem (PEEP $6 \text{ cmH}_2\text{O}$) a frakcí kyslíku ve vdechované směsi ($\text{FiO}_2 0,40$). Kontinuální anestezie byla vedena kombinací azaperon $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, fentanyl $3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Fentanyl Torrex, Torrex Chiesi Pharma GmbH, Austria) a pancuronium bromid $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Pavulon, N.V. Organon, Holand).

V kontinuální intravenózní anestézii byly zavedeny invazivní vstupy. Centrální žilní katétr, preparací femorální tepny arteriální linka. Současně byla založena chirurgická epicystostomie. Po dobu studie byla všem zvířatům podávána kontinuální intravenózní infuze krystaloidu rychlostí $2,5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hod}^{-1}$ (Ringer; Infusia a.s., CZ).

Zvířata byla náhodným výběrem rozdělena do 3 skupin:

Skupina B - model protektivní UPV zdravých plic – dechový objem 6 ml.kg^{-1}

Skupina C - model neprotektivní UPV zdravých plic – dechový objem 10 ml.kg^{-1}

Skupina D - model neprotektivní UPV poškozených plic – dechový objem 10 ml.kg^{-1}
s tracheální aplikací fyziologického roztoku o objemu 50ml bezprostředně po intubaci zvířete.
Funkce mimoplicních orgánů nebyly záměrně farmakologicky ovlivňovány.

4.2. Monitorace zvířat

Všechna zvířata byla monitorována pulzní oxymetrií a kontinuálním záznamem EKG. Teplota zvířat byla měřena rektálně rtuťovým teploměrem. Po zajištění invazivních vstupů byla v hodinových intervalech dále zaznamenávána hodnota systolického tlaku (SBP; mmHg), středního tlaku (MAP; mmHg), diastolického tlaku (DBP; mmHg), hodinová diuréza (Diureza; $\text{ml.kg}^{-1}.\text{hod}^{-1}$).

V hodinových intervalech byly z ventilátoru odečítány následující parametry:

vrcholový inspirační tlak (PIP; cmH_2O), střední tlak v dýchacích cestách (Paw; cmH_2O), dechová frekvence (BR; dechů.min^{-1}), expirační dechový objem (V_t ; ml.kg^{-1}), minutový dechový objem (MV; l.min^{-1}).

Výpočtem byly získány indexy:

1. alveolo-arteriální tlaková diference kyslíku ($AaDO_2$; kPa)
2. oxygenační index (OI; i.u.)
3. Horowitzův (hypoxémický) index (PaO_2/FiO_2 ; mmHg)
4. ventilační index (VI; i.u.)
5. dynamická poddajnost respiračního systému (C_{dyn} ; $\text{ml.cmH}_2\text{O}^{-1}.\text{kg}^{-1}$)
6. dynamický průtočný odpor dýchacích cest (R_{aw} ; $\text{cmH}_2\text{O.s.l}^{-1}$)

Konvenčním planimetrickým a kontinuálním dopplerovským echokardiografickým vyšetřením z přední strany hrudníku v supinační poloze byla provedena měření a výpočty indexů (i.u.):

1. frakce zkrácení levé komory (SF)
2. Tei-index výkonnosti pravé (RIMP) i levé (LIMP) srdeční komory

V séru byly stanoveny: ALT, AST, bilirubin, glukóza, Na, K, Cl, kreatinin, urea, osmolalita, vyšetření krevních plynů a acidobazické rovnováhy. V moči byly stanoveny: Na, K, Cl, urea, kreatinin, osmolalita.

Na základě získaných hodnot byly dopočítány následující indexy:

frakční exkrece sodíku (FENa), frakční exkrece draslíku (FEK), frakční exkrece chloridu (FECl), frakční exkrece urey (FE urea), frakční exkrece osmolální: (FE Osmol), frakční exkrece vody (FE H₂O)

Alogenní imunoanalýzou byl v séru stanoven interleukin 6 (IL-6; pg.ml⁻¹; RD-ELISA) a tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α ; pg.ml⁻¹; RD-ELISA), intercelulární solubilní adhezivní molekuly (ICAM; ng.ml⁻¹; Bender-ELISA), vaskulární solubilní adhezivní molekuly (VCAM; ng.ml⁻¹; Bender-ELISA) a natriuretický peptid (NT-BNP; ng.ml⁻¹; Bachem-EIA).

4.3. Protokol studie

V průběhu 1 hodiny od intubace byla provedena kompletní instrumentace zvířat. Po 60 minutách od intubace bylo provedeno kardiologické vyšetření a odebrány vzorky moče a krve k provedení výše zmíněných laboratorních analýz. Čas odběru byl označen jako „čas 1“. Každou hodinu po celou dobu studie byly zaznamenávány vitální hodnoty a ventilační parametry, měřena diuréza. Po 12 hodinách od začátku studie bylo opět provedeno kardiologické vyšetření a byl proveden odběr krve a moče k výše uvedeným analýzám – „čas 12“. Po odběru krve byla zvířata utracena bolusovým podáním thiopentalu 500mg i.v. a kardioplegického roztoku (10% St.Thomas sol.) 50 ml. i.v. Smrt zvířete byla stanovena na základě izoelektrického záznamu EKG křivky a nulové pulzové aktivity. Následně byly odebrány vzorky tkání (srdeční sval, ledviny, játra a plíce – Westova zóna I,II,III) a fixovány v 10% formaldehydu. Těla usmrcených zvířat byla odstraněna v souladu s platnými předpisy EU a ČR. Pokud došlo k uhynutí zvířete z jiného důvodu před uplynutím 12 hodin a před jeho utracením, toto zvíře bylo ze studie vyloučeno.

5. Statistická analýza

Získaná data v rámci jednotlivých skupin byla statisticky zhodnocena testy normality pomocí šikmosti a špičatosti. Vzhledem k tomu, že řada naměřených veličin neprošla testy normality, byl pro porovnání v rámci skupiny v čase 1 a 12 použit Wilcoxonův párový test. Pro porovnání skupin mezi sebou byl použit Kruskal Wallisův test. Data jsou prezentována jako median, 1. a 3. kvartil. Hladina významnosti $p < 0,05$ byla považována za statisticky významnou.

6. Výsledky

Do studie bylo zahrnuto celkem 52 selat prasete domácího (*Sus scrofa f. domestica*, plemeno černobílé strakaté Přestice) stáří 7.0 ± 2.0 týdny. Průměrná hmotnost zvířat byla 24,4 kg (max 28,7 kg; min 19 kg).

Náhodným výběrem byla zvířata rozdělena do 3 skupin, které se lišily strategií umělé plicní ventilace a eventuelním plicním poškozením (aplikace fyziologického roztoku do dolních dýchacích cest).

Skupina B ($V_t = 6\text{ml/kg}$) - 11 zvířat zahrnuto do studie, 8 zvířat uhynulo (42%).

Skupina C ($V_t = 10\text{ml/kg}$) - 21 zvířat zahrnuto do studie, 5 zvířat uhynulo (19%).

Skupina D ($V_t = 10\text{ml/kg} + 50\text{ml}$ fyziologického roztoku do dýchacích cest)- 6 zvířat zahrnuto do studie, 1 zvíře uhynulo před dokončením experimentu (14%).

6.1. Výsledky k cíli 3.1. (Zhodnocení vlivu UPV a plicního poškození na plicní mechaniku a výměnu plynů.)

Skupina B

N = 11, skupina B Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
pH (-)	7,29	7,2	7,31	7,22	7,16	7,33	99,4	NS
PaO₂ (kPa)	17,9	13,7	40,3	14,1	11,9	25,5	19,1	NS
PaCO₂ (kPa)	8,5	7	10	10,85	9,2	13,2	3,7	< 0,05
ETCO₂ (kPa)	5,5	2,7	6,1	7,2	5,7	7,6	25	NS

Tab. 1 Legenda: pH – kyselost krve, PaO₂ – parciální tlak kyslíku v krvi, PaCO₂ – parciální tlak oxidu uhličitého v krvi, ET CO₂ – koncentrace CO₂ ve vydechané směsi

N = 11, skupina B Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
RR (/min)	30	26	40	30	26	40	59,4	NS
PIP (cmH ₂ O)	13	12,3	14,2	14,1	12,9	16,9	9,1	NS
Paw (cmH ₂ O)	8,3	7	8,9	9,1	7,7	10	9,1	NS
PEEP (cmH ₂ O)	6	6	6	6	6	6	35,1	NS
Vt (ml/kg)	6,1	6	6,6	6,08	6	6,4	68,9	NS
MV (l/min)	6	5	6,2	4,8	4	6,8	42,4	NS

Tab. 2 Legenda: RR – dechová frekvence za minutu, PIP – vrcholový inspirační tlak, Paw – střední tlak v dýchacích cestách, PEEP – pozitivní tlak na konci výdechu, Vt – dechový objem, MV – minutový dechový objem

N = 11, skupina B Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
AaDO₂ (kPa)	7,58	-0,83	15,25	10,51	5,75	14,25	23	NS
OI (-)	2,647	1,29	3,92	3,255	2,08	4,22	23	NS
PaO₂/FiO₂ (mmHg)	336,07	208	605,31	291,64	225,3	424,32	10,4	NS
VI (-)	27,24	22,18	37,68	39,56	23,43	57,6	3,7	< 0,05
Cdyn (ml/cmH ₂ O/kg)	0,87	0,79	0,95	0,705	0,59	0,85	8,2	NS
Raw (cmH ₂ O/(l/sec))	0,76	0,57	0,84	0,87	0,65	0,91	42,8	NS

Tab. 3 Legenda: AaDO₂ - alveolo-arteriální tlaková diference kyslíku, OI - oxygenační index, PaO₂/FiO₂ - Horowitzův (hypoxémický) index, VI - ventilační index, Cdyn - dynamická poddajnost respiračního systému, Raw - dynamický průtočný odpor dýchacích cest

Ve skupině selat ventilovaných dechovým objemem Vt=6ml/kg se v průběhu ventilace trvale udržovala fyziologická hodnota PaO₂ a postupně narůstala hodnota PaCO₂. Viz tab. 1.

Tabulka 2 s ventilačními parametry ukazuje, že se v průběhu ventilace podařilo udržet stabilní dechový objem Vt=6ml/kg, došlo k nevýznamnému nárůstu PIP a k nevýznamnému poklesu MV. *Pokles minutové ventilace byl pravděpodobně důvodem postupně narůstající kapnie.*

V tabulce 3 jsou uvedeny indexy u protektivně ventilovaných zvířat. V průběhu ventilace došlo k významnému nárůstu ventilačního indexu (VI) v důsledku elevace PaCO₂ a PIP.

Skupina C

N = 21, skupina C Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
pH (-)	7,36	7,33	7,42	7,39	7,28	7,47	49,8	NS
PaO₂ (kPa)	15,5	10,7	32	14,4	10,5	28,5	3,5	< 0,05
PaCO₂ (kPa)	6,8	5,9	8,9	6,7	6	8,1	61,4	NS
ETCO₂ (kPa)	5,8	4,8	7,2	6,1	4,3	7,7	47,7	NS

Tab. 4 Legenda: pH – kyselost krve, PaO₂ – parciální tlak kyslíku v krvi, PaCO₂ – parciální tlak oxidu uhličitého v krvi, ET CO₂ – koncentrace CO₂ ve vydechované směsi

N = 21, skupina C Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
RR (/min)	26	26	30	28	26	30	29,7	NS
PIP (cmH ₂ O)	19,8	17	21,9	21	19,5	23	6,5	NS
Paw (cmH ₂ O)	9,2	8,3	10,2	9,9	9,2	11	2,9	< 0,05
PEEP (cmH ₂ O)	6	6	6	6	6	6	47,6	NS
Vt (ml/kg)	10	9,87	10,9	10	9,7	10,23	3,9	< 0,05
MV (l/min)	7,3	6,6	8,8	7,4	6,2	9,2	75,4	NS

Tab. 5 Legenda: RR – dechová frekvence za minutu, PIP – vrcholový inspirační tlak, Paw – střední tlak v dýchacích cestách, PEEP – pozitivní tlak na konci výdechu, Vt – dechový objem, MV – minutový dechový objem

N = 21, skupina C Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
AaDO₂ (kPa)	10,75	-0,3	16,45	13,4	-2,75	19,88	3,9	< 0,05
OI (-)	2,59	1,92	4,47	3,86	2,46	5,63	1,2	< 0,05
PaO₂/FiO₂ (mmHg)	332,59	229,59	600	262,85	197	535,09	1,4	< 0,05
VI (-)	27,63	21,45	32,44	27,95	21,38	54,58	41,4	NS
Cdyn (ml/cmH ₂ O/kg)	0,77	0,67	1,04	0,73	0,56	0,83	4,6	< 0,05
Raw (cmH ₂ O/(l/sec))	0,89	0,81	1,15	0,91	0,86	1,27	13,1	NS

Tab. 6 Legenda: AaDO₂ - alveolo-arteriální tlaková diference kyslíku, OI - oxygenační index, PaO₂/FiO₂ - Horowitzův (hypoxémický) index, VI - ventilační index, Cdyn - dynamická poddajnost respiračního systému, Raw - dynamický průtočný odpor dýchacích cest

Ve skupině selat ventilovaných dechovým objemem Vt=10ml/kg došlo k poklesu PaO₂ bez hypoxémie po celou dobu experimentu. Ostatní parametry acidobazické rovnováhy se v průběhu studie významněji nezměnily. Viz tab. 4

Tabulka 5 s ventilačními parametry ukazuje, že se podařilo udržet dechový objem Vt=10ml/kg, který v průběhu studie mírně poklesl. Bez změny nastavení ventilátoru došlo k mírnému nárůstu Paw bez změny hodnot vrcholových inspiračních tlaků.

Indexy v tabulce 6 dokumentují, že došlo ke zhoršení výměny plynů na alveolokapilární membráně s poklesem dynamické compliance plic. *Změny ve výše uvedených indexech jsou důsledkem poklesu PaO₂ a Paw.*

Skupina D

N = 6, skupina D Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
pH (-)	7,385	7,31	7,41	7,31	7,31	7,34	31,3	NS
PaO₂ (kPa)	32	25,6	44,8	13,1	8,3	35,3	6,3	NS
PaCO₂ (kPa)	8,3	7,9	10,4	8,1	7,7	108	93,8	NS
ETCO₂ (kPa)	neměřeno	neměřeno	neměřeno	neměřeno	neměřeno	neměřeno	neměřeno	neměřeno

Tab. 7 Legenda: pH – kyselost krve , PaO₂ – parciální tlak kyslíku v krvi, PaCO₂ – parciální tlak oxidu uhličitého v krvi, ET CO₂ – koncentrace CO₂ ve vydechované směsi

N = 6, skupina D Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
RR (/min)	28	26	30	30	26	30	112,5	NS
PIP (cmH ₂ O)	21,8	21,6	22,9	23	21,5	28	75	NS
Paw (cmH ₂ O)	11,05	9,6	12,8	12,5	9,3	15,9	43,8	NS
PEEP (cmH ₂ O)	7	6	8	8	6	10	56,3	NS
Vt (ml/kg)	8,9	8,26	9,8	10,9	9	12,6	31,3	NS
MV (l/min)	8,85	4,8	7,4	6,9	5,3	8	75	NS

Tab. 8 Legenda: RR – dechová frekvence za minutu, PIP – vrcholový inspirační tlak, Paw – střední tlak v dýchacích cestách, PEEP – pozitivní tlak na konci výdechu, Vt – dechový objem, MV – minutový dechový objem

N = 6, skupina D Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
AaDO₂ (kPa)	-4,03	-17,45	5	7,38	-7,45	15,58	53,1	NS
OI (-)	1,83	1,28	2,66	5,68	5,39	5,97	6,3	NS
PaO₂/FiO₂ (mmHg)	600	480,64	841,12	245,95	155,83	662	6,3	NS
VI (-)	39	35,32	43,86	39,91	29,17	46,72	109,4	NS
Cdyn (ml/cmH ₂ O/kg)	0,585	0,53	0,82	0,7	0,58	0,92	93,8	NS
Rawe (cmH ₂ O/(l/sec))	1,245	0,81	1,46	0,95	0,95	1,48	93,8	NS

Tab. 9 Legenda: AaDO₂ - alveolo-arteriální tlaková diference kyslíku, OI - oxygenační index, PaO₂/FiO₂ - Horowitzův (hypoxémický) index , VI - ventilační index, Cdyn - dynamická poddajnost respiračního systému, Rawe - dynamický průtočný odpor dýchacích cest

Ve skupině selat s poškozenou plící ventilovaných neprotektivně došlo v průběhu ventilace k poklesu PaO₂ pod hladinou statistické významnosti. Viz tab. 7

Tabulka 8 s ventilačními parametry ukazuje, že v průběhu studie nedošlo k významným změnám nastavených či měřených parametrů v této skupině zvířat.

Indexy v tabulce 9 dokumentují, že v průběhu ventilace došlo ke zhoršení výměny plynů na alveolokapilární membráně pod hladinou statistické významnosti.

6.2. Výsledky k cíli 3.2. (Zhodnocení vlivu UPV a plicního poškození na funkci jater a ledvin.)

Skupina B

N = 11, skupina B Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
s-ALT	0,67	0,51	0,75	0,66	0,51	0,81	89,4	NS
sAST	0,43	0,29	0,53	0,66	0,39	0,86	0,7	< 0,01
s-bilirubin	4	3	4	4	3	5	9,1	NS
s-glukóza	8,4	6,4	11,6	6	5,3	8	23	NS
s-Na	140	138	0,141	139	135	141	42,4	NS
s-K	3,8	3,5	4,4	5,7	5,4	7,5	0,3	< 0,01
s-Cl	100	98	103	96	92	98	0,5	< 0,01
u-Na	11	7	28	43	12	66	5	NS
u-K	33	21	55	88	69	97	5	NS
u-Cl	68	36	131	141	122	224	0,8	< 0,01
s-urea	3,8	3,3	5,1	6,1	5	6,9	1,8	< 0,05
u-urea	133	64	198	215	191	252	15,2	NS
s-kreatinin	98	81	105	114	95	151	6,2	NS
u-kreatinin	11,8	4,2	14,22	8,66	7,02	11,37	65,7	NS
s-osmolalita	287	282	295	292	286	299	3,3	< 0,05
u-osmolalita	316	229	422	582	475	719	3,7	< 0,05
Diureza	1,78	1,57	2,67					
FE osmol	0,0145	0,01	0,02	0,029	0,022	0,04	15,8	NS
FE H2O	0,008	0,006	0,027	0,014	0,011	0,019	75,6	NS
FE Na	0,001	0,001	0,002	0,005	0,001	0,006	9,1	NS
FE K	0,087	0,053	0,249	0,194	0,155	0,258	32,8	NS
FE Cl	0,006	0,003	0,01	0,026	0,008	0,037	3,1	< 0,05
FE urea	0,387	0,238	0,486	0,51	0,394	0,657	11	NS
PT	13,6	11,2	14,3	14,7	12	15	2,1	< 0,05
PT-r	1,05	0,86	1,11	1,11	0,92	1,16	2,1	< 0,05
APTT	37,8	28,7	69,6	45,6	37,9	68,1	19,7	NS
APTT-r	1,21	0,88	1,96	1,405	1,22	1,89	42,8	NS
fibrinogen	1,56	1,47	1,85	1,65	1,5	2,06	1,3	< 0,05
D-dimery	0,22	0,13	0,22	0,22	0,13	0,22	72,2	NS
antithrombin III	107	96	118	104	95	110	42,4	NS

Tab. 10 Legenda: ALT – alanin aminotransferáza, AST – aspartát aminotransferáza, Na – sodík, K – draslík, Cl – chlor, osmol – osmolalita, PT – protrombinový čas, APTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas, s – sérový, u – močový

Tabulka 10 obsahuje biochemické parametry reprezentující funkci jater, ledvin a složení vnitřního prostředí u zvířat ventilovaných protektivně. V průběhu studie došlo ke statisticky významným změnám a vzrůstu hladiny kalia, urey, sérové a močové osmolality.

Skupina C

N = 21, skupina C Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
s-ALT	0,65	0,6	0,9	0,66	0,58	0,87	82,1	NS
s-AST	0,5	0,42	0,65	0,85	0,75	1,17	0,1	< 0,01
s-bilirubin	3	3	4	4	3	5	14,9	NS
s-glukóza	6,8	6,1	10,4	6,3	4,5	7,9	26,6	NS
s-Na	139	138	141	139	137	145	29,7	NS
s-K	3,8	3,4	4,2	5,1	4,5	6	0	< 0,001
s-Cl	99	97	101	98	96	103	70,2	NS
u-Na	20	8	27	14	11	20	33,9	NS
u-K	40	24	63	112	80	148	0	<0,001
u-Cl	46	25	87	99	49	153	0,6	< 0,01
s-urea	3,5	2,7	4,8	6,4	5,1	8,1	0	< 0,001
u-urea	155	67	270	347	277	410	0,2	< 0,01
s-kreatinin	83	76	106	114	97	157	0,3	< 0,01
u-kreatinin	10	7,42	15,48	11,8	9,6	17,95	19,2	NS
s-osmolalita	289	286	291	293	287	303	1,2	< 0,05
u-osmolalita	448	315	519	723	628	820	0	< 0,001
Diureza	1,45	1,24	1,56					
FE osmol	0,013	0,01	0,017	0,023	0,019	0,03	0	< 0,001
FE H2O	0,0085	0,006	0,016	0,009	0,007	0,015	80,8	NS
FE Na	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001	0,003	61,4	NS
FE K	0,099	0,063	0,193	0,169	0,129	0,342	6,2	NS
FE Cl	0,005	0,003	0,014	0,0095	0,004	0,019	92,9	NS
FE urea	0,422	0,215	0,521	0,529	0,426	0,612	17,9	NS
PT	13,9	11,8	14,5	14,75	12,1	15,7	0,2	< 0,01
PT-r	1,05	0,91	1,11	1,115	0,93	1,19	0,2	< 0,01
APTT	48,52	38,1	61,7	49,55	34,4	69,5	50,2	NS
APTT-r	1,47	1,12	2,05	1,51	1,1	1,97	73,2	NS
fibrinogen	1,76	1,46	2,14	2,06	1,48	2,65	1,1	< 0,05
D-dimery	0,22	0,13	0,22	0,22	0,18	0,22	89,6	NS
antithrombin III	104	98	122	104	91	109	36	NS

Tab. 11 Legenda: ALT – alanin aminotransferáza, AST – aspartát aminotransferáza, Na – sodík, K – draslík, Cl – chlor, osmol – osmolalita, PT – protrombinový čas, APTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas, s – sérový, u – močový

Ve skupině zvířat s $V_t = 10\text{ml/kg}$ došlo v průběhu ventilace byl patrný rozdíl hodnot sérové hladiny kalia, urey, kreatininu a sérové i močové osmolality. Současně došlo ke zvýšení frakční exkrece osmolální. Viz tab. 11

Skupina D

N = 6, skupina D Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
s-ALT	0,74	0,64	0,79	0,745	0,68	0,88	40,6	NS
sAST	0,595	0,36	0,66	1,065	0,42	1,37	15,6	NS
s-bilirubin	3,5	3	5	4	3	4	96,6	NS
s-glukóza	5,8	5,2	7,2	8,8	6,5	12,7	6,3	NS
s-Na	140,5	139	142	140,5	139	143	65,6	NS
s-K	3,6	3,3	4	5,9	4,7	6,5	3,1	< 0,05
s-Cl	99,5	99	102	106,5	101	113	9,4	NS
u-Na	19	16	150	29,5	20	37	56,3	NS
u-K	12	4	35	71	38	87	6,3	NS
u-Cl	44	24	122	79,5	56	111	43,8	NS
s-urea	2,9	2,2	3,6	7,15	4,8	8	3,1	< 0,05
u-urea	32	4	38	240,5	149	294	6,3	NS
s-kreatinin	90	85	98	213,5	110	249	3,1	< 0,05
u-kreatinin	1,84	0,1	3,3	11,15	8,7	13,8	6,3	NS
s-osmolalita	283,5	280	289	314	303	319	3,1	< 0,05
u-osmolalita	287	124	297	636,5	401	698	6,3	NS
Diureza	1,11	1,05	1,25					
FE osmol	0,02	0,018	0,856	0,0285	0,018	0,069	100	NS
FE H2O	0,046	0,028	0,85	0,0185	0,009	0,028	9,4	NS
FE Na	0,006	0,002	0,862	0,004	0,002	0,006	15,6	NS
FE K	0,261	0,152	1,255	0,235	0,159	0,309	40,6	NS
FE urea	0,67	0,492	0,787	0,537	0,416	0,704	31,3	NS
PT	13,95	13,5	14,5	14,6	14,3	14,8	6,3	NS
PT-r	1,065	1,03	1,11	1,15	1,1	1,13	6,3	NS
APTT	28,9	25,5	33,2	21,05	20	22,1	21,9	NS
APTT-r	0,97	0,91	1,08	0,775	0,74	1,31	75	NS
fibrinogen	2,035	1,82	2,39	2,39	1,73	3,1	81,3	NS
D-diméry	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	65,6	NS
antithrombin III	108	102	113	102	92	113	40,6	NS

Tab. 12 Legenda: ALT – alanin aminotransferáza, AST – aspartát aminotransferáza, Na – sodík, K – draslík, Cl – chlor, osmol – osmolalita, PT – protrombinový čas, APTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas, s – sérový, u – močový

Ve skupině zvířat s plicním postižením a neprotektivní ventilací došlo v průběhu experimentu k elevaci hladiny kaliumu, sérové urey, kreatininu i osmolality séra. Viz tab. 12

6.3. Výsledky k cíli 3.3. (Zhodnocení vlivu UPV a plicního poškození na krevní oběh, rozvoj imunitní reakce a systémové zánětlivé odpovědi.)

Skupina B

N = 11, skupina B Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
TNF-α (pg/ml)	66,42	57	75,2	50,3	31,8	60,9	1,3	< 0,05
IL-6 (pg/ml)	28,94	8,91	29	31,46	28,9	57,05	0,8	< 0,01
BNP (ng/ml)	0,95	0,7	1,4	1,04	0,72	1,1	68,9	NS
p-ICAM (ng/ml)	14,07	5,34	29,41	10,6	6,29	26,73	68,9	NS
p-VCAM (ng/ml)	48,9	25,1	68,9	49,9	22,9	87,8	24,8	NS

Tab. 13 Legenda: TNF- α – tumor necrosis factor alfa, IL – interleukin 6, BNP – brain natriuretic peptid, p-ICAM - Intercellular adhesion molecule, VCAM - Vascular cell adhesion molecule

N = 11, skupina B Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
SBP (mmHg)	99	94	120	106	99	134	72,7	NS
DBP (mmHg)	60	55	70	50	40	70	29,7	NS
MAP (mmHg)	70	53	87	58	53	86	53,4	NS
SF	0,645	0,4	0,75	0,56	0,54	0,58	65,6	NS
RIMP	0,275	0,21	0,36	0,3	0,23	0,32	31,3	NS
LIMP	0,28	0,27	0,33	0,29	0,28	0,3	65,6	NS

Tab. 14 Legenda: SBP – systolický tlak krevní, DBP – diastolický tlak krevní, MAP – střední tlak krevní, SF – frakce zkrácení, RIMP - Tei-index výkonnosti pravé komory srdeční, LIMP - Tei-index výkonnosti levé komory srdeční

Ve skupině zvířat ventilovaných $V_t = 6\text{ml/kg}$ došlo v průběhu UPV k významnému poklesu hodnot TNF- α a k významnému nárůstu hodnot IL-6. Viz tab. 13.

Monitorované parametry oběhu (invazivně měřený krevní tlak, SF, RIMP a LIMP) se v průběhu ventilace významněji nezměnily. Viz tab. 14.

Skupina C

N = 21, skupina C Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
TNF-α (pg/ml)	61,6	58,4	85,7	35,2	27,6	70	0,2	< 0,01
IL-6 (pg/ml)	12,62	7,74	28,94	28,94	15,8	76,82	0	< 0,001
BNP (ng/ml)	1,09	0,87	1,6	0,9	0,73	1,37	6,5	NS
p-ICAM (ng/ml)	20,47	13	29,3	15,4	9,68	42,8	27,4	NS
p-VCAM (ng/ml)	17	10,5	51,4	25,4	3,5	45,3	57,5	NS

Tab. 15. Legenda: TNF- α – tumor necrosis factor alfa, IL – interleukin 6, BNP – brain natriuretic peptid, p-ICAM - Intercellular adhesion molecule, VCAM - Vascular cell adhesion molecule

N = 21, skupina C Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
SBP (mmHg)	102	89	116	99	90	128	94,3	NS
DBP (mmHg)	55	50	64	51	45	69	55,4	NS
MAP (mmHg)	72	63	78	64	51	86	52,6	NS
SF	0,63	0,5	0,72	0,61	0,43	0,71	24,4	NS
RIMP	0,31	0,26	0,36	0,28	0,24	0,34	15,6	NS
LIMP	0,3	0,28	0,36	0,3	0,28	0,41	42,7	NS

Tab. 16. Legenda: SBP – systolický tlak krevní, DBP – diastolický tlak krevní, MAP – střední tlak krevní, SF – frakce zkrácení, RIMP - Tei-index výkonnosti pravé komory srdeční, LIMP - Tei-index výkonnosti levé komory srdeční

Ve skupině zvířat ventilovaných $V_t = 10$ ml/kg došlo v průběhu UPV poklesu hodnot TNF- α a k nárůstu hodnot IL-6. Viz tab. 15.

Monitorované parametry oběhu (invazivně měřený krevní tlak, SF, RIMP a LIMP) se v průběhu ventilace významněji nezměnily. Viz tab. 16

Skupina D

N = 6, skupina D Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
TNF-α (pg/ml)	77,9	60,9	87,3	27,1	24,5	48	9,4	NS
IL-6 (pg/ml)	54	54	54	148,35	137,4	322	3,1	< 0,05
BNP (ng/ml)	0,95	0,6	1,2	0,9	0,8	1	40,6	NS
p-ICAM (ng/ml)	22,4	21,5	28,2	32,1	27,2	34,6	31,3	NS
p-VCAM (ng/ml)	47,8	9,6	91,4	42,55	8,7	92,9	81,3	NS

Tab. 17. Legenda: TNF- α – tumor necrosis factor alfa, IL – interleukin 6, BNP – brain natriuretic peptid, p-ICAM - Intercellular adhesion molecule, VCAM - Vascular cell adhesion molecule

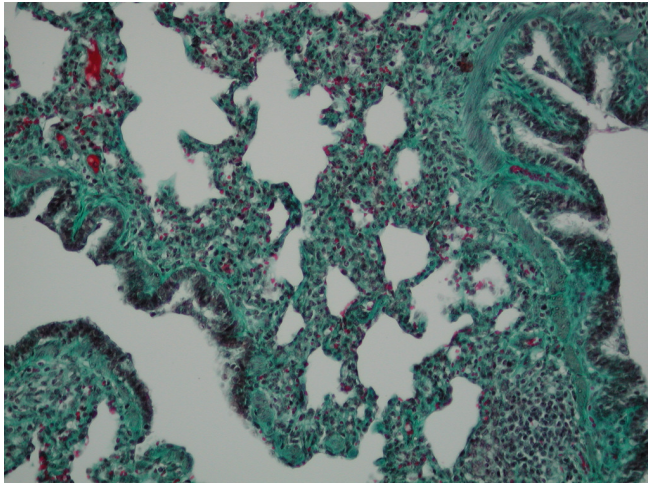
N = 6, skupina D Parametr	Čas 1			Čas 12			P	p
	Median	1. kvartil	3. kvartil	Median	1. kvartil	3. kvartil		
SBP (mmHg)	84,5	65	108	78,5	68	100	40,6	NS
DBP (mmHg)	52	49	55	42,5	37	48	3,1	< 0,05
MAP (mmHg)	63,5	57	69	54,5	50	67	6,3	NS
SF	0,585	0,55	0,61	0,61	0,58	0,64	100	NS
RIMP	0,265	0,23	0,38	0,28	0,27	0,29	100	NS
LIMP	0,31	0,28	0,38	0,28	0,28	0,28	100	NS

Tab. 18 Legenda SBP – systolický tlak krevní, DBP – diastolický tlak krevní, MAP – střední tlak krevní, SF – frakce zkrácení, RIMP - Tei-index výkonnosti pravé komory srdeční, LIMP - Tei-index výkonnosti levé komory srdeční

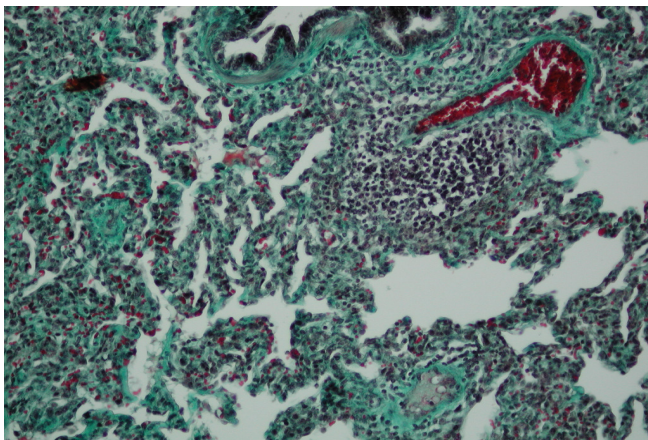
Ve skupině zvířat ventilovaných $V_t = 10$ ml/kg s aplikací fyziologického roztoku došlo v průběhu UPV ke statisticky významnému nárůstu hodnot IL-6. Viz tab. 17.

Monitorované parametry oběhu se ani u této skupiny zvířat významněji nezměnily. Viz tab. 18.

6.4. Výsledky k cíli 3.4. (Zhodnocení morfologických změn orgánů v průběhu UPV zdravých a poškozených plic.)



Obr. 2 : Histologický obraz plíce selete. Vt=6ml/kg. Barvení – modifikovaný trichrom (zeleně se barví kolagenní elementy, černě elastická vlákna, červeně svalovina a erytrocyty). Alveoly čisté, v septech zmnožená buněčná infiltrace, v bronchiolích ojedinělé zbytky sekretu žlaz. Zvětšení 100x.



Obr. 3 : Histologický obraz plíce selete. Vt=10ml/kg. Barvení - modifikovaný trichrom. Těžká deformace alveolů, štěrbinovitá lumina, vystupňovaná infiltrace sept. V oblasti terminálního bronchiolu a v okolí venuly maximální zánětlivá infiltrace. Zvětšení 100x.

Histologické vyšetření jaterní tkáně, svaloviny levé komory a tkáně ledvin u zvířat vystavených protektivní ventilaci i u zvířat ventilovaných vyššími dechovými objemy prokázalo normální strukturu při světelně mikroskopickém vyšetření.

7. Diskuse a závěr

Hlavním cílem naší prospektivní experimentální studie bylo vytvoření klinicky relevantního modelu UPV zdravých a poškozených plic ventilovaných dnes široce doporučovaným $V_t = 6 \text{ ml/kg}$ a srovnání této ventilační strategie s dechovým objemem $V_t = 10 \text{ ml/kg}$, který je v klinické praxi běžně užíván. Z literárních klinických i experimentálních důkazů je zřejmé, že UPV může vedle své nezastupitelné léčebné funkce v rámci péče o pacienta při nesprávné strategii nejen zhoršit klinický stav, ale též iniciovat sekundární plicní poškození a možnými mimoplicními vlivy dále nepříznivě ovlivnit morbiditu i mortalitu (1,2,3,20). Jak ukázala předchozí experimentální studie autorů na seleti, i krátká aplikace neprotektivní formy UPV zdravých plic vyvolává v plicní tkáni řadu adverzních změn (61,62).

V námi předkládané studii jsme sledovali vliv UPV na několik orgánových systémů a eventuelní rozvoj systémové zánětlivé reakce. V odborné literatuře se nám nepodařilo nalézt stejně designovanou studii porovnávající tyto 2 hodnoty dechového objemu. Použitím vyššího dechového objemu jsme nepředpokládali indukci volutraumatu, hlavním cílem bylo sledování biotraumatických změn. Nastavení ventilátoru jsme v průběhu studie úmyslně neměnili, jedinou změnou byla změna FiO_2 dle monitorovaných hodnot SpO_2 . Většina publikovaných studií porovnává protektivně vedenou UPV s neprotektivní ventilací v nastaveních vedoucích k velmi vysokým a v praxi již ne běžně užívaným dechovým objemům.

Prvním cílem studie bylo zhodnotit vliv 2 odlišných strategií UPV a plicního poškození na respirační funkci a plicní mechaniku. U selat ze skupiny A při fixním nastavení ventilátoru se podařilo udržet oxémii ve fyziologickém rozmezí. V závislosti na době trvání UPV stoupala hodnota kapnie s adekvátním vlivem na acidobazickou rovnováhu. Smrtnost v této skupině byla překvapivě procentuálně nejvyšší. Tuto skutečnost si zčásti vysvětlujeme snížením hodnot minutové ventilace a rozvojem respirační acidozy. Ve skupině B nedošlo ke změnám ventilačních indexů ($AaDO_2$, OI , PaO_2/FiO_2), to znamená funkce alveolokapilární membrány a difuze kyslíku.

Pro skupinu C je charakteristické udržení obligatorně sledovaných parametrů kvality ventilace (oxémie a kapnie) ve fyziologickém rozmezí. Ventilační indexy však ukazují, že v průběhu 12 hodinové ventilace došlo k poruše difuze plynů na alveolokapilární membráně, charakterizované změnou indexů ($AaDO_2$, OI , PaO_2/FiO_2). Současně došlo ke vzrůstu dynamické compliance respiračního systému.

Ve skupině D byly vstupní parametry oxémie a ventilační indexy v referenčních rozmezech. V průběhu studie je však zřejmý jasný trend ke zhoršování těchto hodnot s jasným negativním vlivem faktoru doby působení UPV.

Při zhodnocení ventilačních parametrů u 3 výše uvedených skupin zvířat lze říci, že aplikace neprotektivní formy UPV samotné a v kombinaci s plicním postižením vede ke zhoršení difuze kyslíku v plicní tkáni s tendencí ke zhoršování s délkou působení UPV. K podobnému závěru dospěl např. Gurkan et al. (63) v experimentální studii na myším modelu, kde protektivní forma UPV byla spojena s rozvojem respirační acidozy při zachování dobré oxémie a další progresí acidózy při plicním poškození (instilace HCl intratracheálně) a aplikaci protektivní formy UPV v průběhu 4 hodinové ventilace. Permisivní hyperkapnie v průběhu UPV se podílí na zlepšení výměny plynů na alveolokapilární membráně a může zmírnit rozvoj VILI postižení (64,65,66,67). Wolhuisová et al. (68) pozorovala v experimentální studii na myším modelu při aplikaci protektivní ($V_t=7,5\text{ml/kg}$) a neprotektivní ($V_t=15\text{ml/kg}$) UPV postupný vzestup kapnie u myši s nízkými dechovými objemy při zachování srovnatelné minutové ventilace a lepší oxémii u skupiny myši s vyššími dechovými objemy. V naší studii jsme pozorovali podobnou charakteristiku změn kapnie s rozdílnými vlivem na oxémii. Výstupem naší studie jsou následující závěry. Protektivní nastavení dechového objemu bez dalších úprav na přechodnou dobu zajistí optimální kvalitu plicní mechaniky a není zárukou optimální eliminace CO_2 . Neprotektivní dechové objemy kvalitu plicní mechaniky negativně ovlivňují se současně rezultující poruchou difuze kyslíku. Kombinace plicního postižení a neprotektivní ventilace tyto negativní změny dále potencuje.

Druhým cílem bylo zhodnocení vlivu UPV na funkci mimoplicních orgánů a systémů, funkci jater, ledvin a složení vnitřního prostředí. Ve všech skupinách dominovala hyperkalemie bez známek změny intracelulární koncentrace draslíku (nález na EKG křivce).

Ve všech skupinách zvířat byly patrné známky aktivace renin-angiotensin-aldosteronového systému, pokles hodinové diurézy a vzestup osmolality moče v závislosti na době trvání UPV. Převaha vlivu aldosteronu se projevila obráceným poměrem iontů v moči. U neprotektivně ventilovaných zvířat, zejména s plicním poškozením, byl pokles diurézy výrazný avšak ne významný a naopak byla významná elevace urey a kreatininu v séru.

Z literatury je známa existence renopulmonální interakce v průběhu UPV (3,69,70,71,72). V souladu s našimi výsledky prokázal Imai et al. (73) v experimentální studii na králíčím

modelu postupný rozvoj poškození renálních funkcí vlivem osmihodinové neprotektivní UPV po plicním poškození aspirací HCl. Vedle elevace kreatininu došlo k rozvoji apoptotických změn v buňkách ledvin a tenkého střeva.

K rozdílným výsledkům došel Hoag et al. (74) ve studii provedené na psech při aplikaci neprotektivní UPV v průběhu 5 hodin a indukce ALI aspirací HCl u jedné skupiny zvířat. V průběhu studie byla zvířata velmi detailně oběhově monitorována a výkon oběhu ovlivňován a normalizován. Nebyly prokázány změny v ledvinných funkcích ani u jedné skupiny.

Třetím cílem naší experimentální práce bylo zhodnocení vlivu UPV na oběh a dále zhodnocení vlivu UPV a plicního poškození na možný rozvoj systémové zánětlivé reakce. V průběhu ventilace nedošlo ke změnám invazivně měřeného krevního tlaku a nebyly pozorovány změny v srdeční funkci hodnocené pomocí transthorakálního sonografického vyšetření. Námi zvolená ventilační strategie významně neovlivnila výkon srdce jako pumpy a neměla významný vliv na hodnoty krevního tlaku.

Jedním z hlavních cílů naší studie bylo zhodnocení rozvoje systémové zánětlivé reakce reprezentované elevací prozánětlivých cytokinů a adhezních molekul. Vlivem UPV došlo k vzestupu jednoho z hlavních prozánětlivých cytokinů IL-6 ve všech skupinách zvířat. Nejvýznamnější elevace hladin IL-6 byla zaznamenána při aplikaci neprotektivní ventilace u plic s předchozím poškozením, reprezentující vzájemnou negativní součinnost těchto 2 faktorů na rozvoj systémové zánětlivé reakce (double hit model). Překvapivé bylo zjištění, že ani u jedné skupiny zvířat nedošlo ke vzestupu hodnot TNF- α , naopak u všech studovaných skupin došlo v průběhu studie k poklesu tohoto prozánětlivého cytokinu. Ani u jedné skupiny nebyly v průběhu studie zaznamenány významné rozdíly intercelulárních a vaskulárních adhezních molekul (p-ICAM a p-VCAM).

V literatuře je široce diskutována teorie biotraumat, popisující negativní vliv neprotektivní UPV na funkci mimoplicních orgánů (1,73,75-79) v důsledku dekompartmentalizace (systémové uvolnění prozánětlivých cytokinů v důsledku neprotektivní UPV). Dvě experimentální studie prokázaly vyšší translokaci bakterií instilovaných do dýchacích cest u psů a krys při současném vystavení neprotektivní UPV (80,81). Nejčastěji diskutovanými systémově uvolňovanými mediátory v souvislosti s neprotektivně vedenou UPV v experimentálních a humánních studiích jsou IL-6, IL-8, TNF- α a IL-1 β (82). V již výše citované studii Wolthuisové et al. (68) na myším modelu prokazuje zvýšení IL-6 v plicním

celulárním homogenátu u skupiny neprotektivně ventilované ve srovnání s protektivní ventilací a neventilovanými kontrolami po 5 hodinách UPV. Současně prokazuje elevaci TNF- α v plicním homogenátu u neprotektivně ventilovaných ve srovnání s protektivně ventilovanými a kontrolami. V naší studii byla měřena plazmatická hladina prozánětlivých cytokinů, nikoliv jejich tkáňová exprese či hladina v alveolárním prostoru.

Ve studii provedené na myším modelu při aplikaci neprotektivní UPV po dobu 4 hodin dokumentuje Hegemanová et al. (83) zvýšenou expresí mRNA v plicním homogenátu pro E-selectinu, VCAM-1, TNF- α a neprokuje zvýšenou expresi mRNA pro ICAM-1 a PECAM-1. Zvýšenou expresi adhezivních molekul prokazuje po 4 hodinové ventilaci současně v jaterní a ledvinné tkáni, pouze přechodně zvýšenou expresi v jaterní tkáni pro TNF- α bez exprese v ledvinách. Úloha TNF- α na rozvoj VILI postižení a buněčnou infiltraci plicní tkáně v důsledku neprotektivní UPV byla prokázána např. Wilsonem et al. na myším modelu (84) srovnávajícím protektivní a neprotektivní ventilaci u myší geneticky upravených s deficitem receptoru pro TNF- α a myší geneticky neupravených. Po vystavení neprotektivní ventilaci byla částí myší podána anti TNF- α protilátka intravenózně a intratracheálně. K největší redukci buněčné infiltrace plicní tkáně došlo ve skupině neprotektivně ventilovaných geneticky neupravených myší s intratracheální aplikací protilátky. Intravenózní aplikace protilátky naopak neprokázala vliv na rozvoj VILI.

Čtvrtým cílem bylo histologické zhodnocení vlivu UPV na plicní tkáň a mimoplicní orgány.

Již z makroskopického pohledu na plicní tkáň je zřejmé, že plicní tkáň vystavená neprotektivní ventilaci o $V_t=10\text{ml/kg}$ po dobu 12 hodin jeví ložiskové známky hyperinflace střídajícími se s ložisky cévní kongesce. Maximum pozorovaných změn je v dependentních oblastech plic. Plicní tkáň vystavená protektivně vedené ventilaci po dobu experimentu nejeví z makroskopického pohledu žádnými patologickými změnami. Při histologickém světelně mikroskopickém hodnocení se ukazuje, že neprotektivně vedená UPV naruší strukturu plicní tkáně zánětlivou infiltrací v oblasti alveolárních sept, bronchiolů a cévních struktur.

Histologický obraz protektivně ventilované plíce ukazuje mnohem méně významnou, přesto přítomnou buněčnou infiltraci alveolárních sept. Při histologickém vyšetření myokardu levé komory, jater a ledvin obou skupin nebyly shledány žádné patologické změny ani v jedné skupině studovaných zvířat.

Úloha neutrofilních granulocytů a role monocytárních leukocytů v patogenezi VILI a ALI je diskutována v řadě experimentálních studií (20, 85,86,87,88). V průběhu experimentu jsme

prokázali extenzivní rozvoj zánětlivého infiltrátu plicní tkáně vlivem neprotektivně vedené ventilace. Ve skupině protektivně ventilovaných zvířat byly však ve shodě s některými experimentálními pracemi prokázány známky zánětlivé infiltrace (68).

Zdánlivou limitací naší studie je malý počet instrumentovaných zvířat, který je srovnatelný s jinými experimentálními modely. Studie prováděné na větších zvířatech nezahrnují obvykle vyšší počty studovaných kusů (20). Menší počty studovaných zvířat spolu s velkým rozptylem naměřených dat zvyšují nepřesnost při interpretaci výsledků. V naší studii jsme přesným dodržováním protokolu zamezili preanalytickým chybám. Některé klinicky jasné významné změny dat neměly statistický korelát. Z technických důvodů nebylo možné provedení proteomické analýzy vzorků v naší laboratoři, což sledáváme jako nejzávažnější limitaci naší studie. Jak ukazují výsledky řady experimentálních prací, je implifikace jejich závěrů limitována řadou aspektů, například mezidruhovou rozdílností biologických pochodů a vlivem patogenetických vývojových faktorů (89,90,91). Poznání změn na buněčné a molekulární úrovni, vzniklých v souvislosti s UPV umožní vhodně modifikovat léčebnou strategii a omezení nežádoucích reakce organismu (92).

Přechod ze spontánního dýchání na invazivní UPV znamená v každém případě zásah do homeopatie organismu. Protektivní režimy UPV nejsou zárukou zachování fyziologických procesů v plicní tkáni, ale garantují nezměněnou funkci a morfolonii mimoplicních orgánů a systémů. UPV $V_t=10\text{ml/kg}$ nesplňuje kritéria pro označení protektivní ventilace.

8. Souhrn

Hlavním cílem naší prospektivní experimentální studie bylo vytvoření klinicky relevantního modelu UPV zdravých a poškozených plic ventilovaných po dobu 12 hodin dnes široce doporučeným $V_t=6\text{ml/kg}$ a srovnání této ventilační strategie s prakticky běžně užívaným dechovým objemem $V_t=10\text{ml/kg}$. Do studie bylo zahrnuto celkem 52 selat prasete domácího (*Sus scrofa f. domestica*, plemeno černobílé strakaté Přestice) stáří 5-9 týdnů. Selata byla rozdělena do 3 skupin: skupina B s $V_t=6\text{ml/kg}$ (11 selat, 8 uhynulo), skupina C s $V_t=10\text{ml/kg}$ (21 selat, 5 uhynulo) a skupina D s $V_t=10\text{ml/kg}$ + aplikace 50ml fyziologického roztoku do dolních dýchacích cest (6 selat, 1 uhynulo).

V námi předkládané studii jsme sledovali vliv UPV na několik orgánových systémů a eventuelní rozvoj systémové zánětlivé reakce. Použitím vyššího dechového objemu jsme

sledovali navození možných biotraumatických změn. Nastavení ventilátoru jsme v průběhu studie úmyslně neměnili, jedinou změnou byla změna FiO_2 dle monitorovaných hodnot SpO_2 .

Prvním cílem bylo zhodnocení vlivu 2 odlišných strategií UPV a plicního poškození na respirační funkci a plicní mechaniku. U selat ventilovaných $V_t=6\text{ml/kg}$ se při fixním nastavení ventilátoru podařilo udržet oxémii ve fyziologickém rozmezí, v čase však stoupala hodnota kapnie s adekvátním vlivem na acidobazickou rovnováhu. Nejvyšší smrtnost v této skupině si vysvětlujeme relativním snížením hodnot minutové ventilace a rozvojem respirační acidózy. Ve skupině B nedošlo ke změnám ventilačních indexů ($AaDO_2$, OI , PaO_2/FiO_2), tedy změně funkce alveolokapilární membrány a difuze kyslíku.

Pro skupinu C bylo charakteristické udržení obligatorně sledovaných parametrů kvality ventilace (oxémie a kapnie) ve fyziologickém rozmezí. Zhoršení ventilačních indexů v průběhu experimentu ($AaDO_2$, OI , PaO_2/FiO_2) dokumentuje poruchu difuze plynů na alveolokapilární membráně, současně došlo ke vzrůstu dynamické compliance respiračního systému. Fyziologické hodnoty oxémie a ventilačních indexů měly jasně zhoršující se trend v průběhu ventilace u neprotektivně ventilovaných zvířat s plicním poškozením (skupina D). Protektivní nastavení dechového objemu bez dalších úprav na přechodnou dobu zajistí optimální kvalitu plicní mechaniky a není zárukou optimální eliminace CO_2 . Neprotektivní dechové objemy kvalitu plicní mechaniky negativně ovlivňují se současně rezultující poruchou difuze kyslíku. Kombinace plicního postižení a neprotektivní ventilace tyto negativní změny dále potencuje.

Druhým cílem bylo zhodnocení vlivu UPV na funkci mimoplicních orgánů a systémů, funkci jater, ledvin a složení vnitřního prostředí. Ve všech skupinách zvířat byly patrné známky aktivace renin-angiotensin-aldosteronového systému, pokles hodinové diurézy a vzestup osmolality moče v závislosti na době trvání UPV. Převaha vlivu aldosteronu se projevila obráceným poměrem iontů v moči. Pokles diurézy byl výrazný především u neprotektivně ventilovaných zvířat s plicním postižením, současně došlo v této skupině k významné elevaci hodnot urey a kreatininu v séru.

Třetím cílem bylo zhodnocení vlivu UPV na oběh a na možný rozvoj systémové zánětlivé reakce. V průběhu ventilace nedošlo ani u jedné skupiny ke změnám invazivně měřeného krevního tlaku a nebyly pozorovány změny v srdeční funkci hodnocené pomocí

transthorakálního sonografického vyšetření. Námi zvolená ventilační strategie tedy významně neovlivnila výkon srdce jako pumpy a neměla vliv na hodnoty krevního tlaku.

Rozvoj systémové zánětlivé reakce byl hodnocen měřením hladin prozánětlivých cytokinů a adhezních molekul. U všech skupin zvířat došlo k vzestupu prozánětlivého cytokinu IL-6, nejvýznamnější elevace byla pozorována u zvířat s plicním postižením vystavených neprotektivní ventilaci.

Překvapivě však ani u jedné skupiny zvířat nedošlo ke vzestupu hodnot TNF- α , naopak ve všech studovaných skupinách došlo v průběhu studie k poklesu tohoto prozánětlivého cytokinu. Současně nebyly v průběhu studie zaznamenány významné rozdíly intercelulárních a vaskulárních adhezních molekul (p-ICAM a p-VCAM).

Čtvrtým cílem bylo histologické zhodnocení vlivu UPV na plicní tkáň a mimoplicní orgány.

Již makroskopické hodnocení plicní tkáně dokumentovalo ložiskové známky hyperinflace střídajícími se s ložisky cévné kongesce u plicní tkáně vystavené ventilaci s $V_t=10\text{ml/kg}$ po dobu 12 hodin, tyto změny byly lokalizovány především v dependentních oblastech plic.

Plicní tkáň vystavená protektivně vedené ventilaci po dobu experimentu nejevila z makroskopického pohledu žádné výraznější patologické změny. Histologické světelné mikroskopické vyšetření plicní tkáně prokázalo narušenou strukturu plicní tkáně zánětlivou infiltrací v oblasti alveolárních sept, bronchiolů a cévních struktur. Histologický obraz protektivně ventilované plíce dokumentuje mnohem méně významnou, přesto ale přítomnou buněčnou infiltraci alveolárních sept. Při histologickém vyšetření myokardu levé komory, jater a ledvin obou skupin nebyly shledány žádné patologické změny ani v jedné skupině studovaných zvířat.

Závěrem lze říci, že přechod ze spontánního dýchání na invazivní UPV znamená v každém případě zásah do homeopatie organismu. Protektivní režimy UPV nejsou zárukou zachování fyziologických procesů v plicní tkáni, ale garantují nezměněnou funkci a morfologii mimoplicních orgánů a systémů. UPV $V_t=10\text{ml/kg}$ nesplňuje kritéria pro označení protektivní ventilace.

9. Summary

The main objective of our prospective experimental study was to develop a clinically relevant model of mechanical ventilation of healthy and damaged lungs ventilated for 12 hours. A widely recommended $V_t=6\text{ml/kg}$ was used in comparison with commonly used $V_t=10\text{ml/kg}$.

The study included a total of 52 piglets of domestic pig (*Sus scrofa f. domestica*) age 5-9 weeks. Piglets were divided into 3 groups: group B - $V_t = 6\text{ml/kg}$ (11 piglets, 8 died), group C - $V_t = 10\text{ml/kg}$ (21 piglets, 5 died) and group D - $V_t = 50\text{ ml} +$ instillation of 50 ml saline into the trachea (6 piglets, 1 died).

In the presented study we focused on the influence of mechanical ventilation on several organ systems as well as induction of systemic inflammatory reaction. By using higher tidal volume, we aimed to induce possible biotraumatic changes. The ventilator settings were deliberately not changed during the study, except the change of FiO_2 values based on the SpO_2 value.

The first goal was to assess the influence of two different strategies of mechanical ventilation and induced lung injury on respiratory functions of the lungs and pulmonary mechanics. Piglets ventilated with $V_t = 6\text{ml/kg}$ maintain the physiological oxemia, but the level of capnia increased over time with an adequate effect on acid-base balance. The highest mortality in this group is partially explained by a relative reduction of minute ventilation and respiratory acidosis induction. No changes of ventilatory indexes ($AaDO_2$, RI, PaO_2/FiO_2) were observed, the function of alveolocapillary membrane and oxygen diffusion were preserved. Group C was characterised by maintenance of obligatory ventilatory parameters (oxemia and capnia) in the physiologic range. Deterioration of indexes of ventilation during the experiment ($AaDO_2$, OI, PaO_2/FiO_2) documented disturbance of gases diffusion across the alveolar-capillary membrane. The decrease of dynamic compliance was simultaneously observed. Physiological values of oxemia and indexes of ventilation clearly declined during the experiment in animals exposed to non protective ventilation and lung injury (group D). Protective setting of tidal volume temporarily guarantees optimal quality of lung mechanics and does not guarantee optimal elimination of CO_2 . Non protective setting of tidal volume negatively affects lung mechanics and results to impairment of oxygen diffusion. The combination of lung injury and non protective ventilation further potentiates these negative changes.

The second objective was to evaluate the effect of mechanical ventilation on the function of extrapulmonary organs and systems, liver and kidney function. The signs of the renin-angiotensin-aldosterone system activation as well as one-hour diuresis decrease and increase of urinary osmolality were observed in all groups. The activation of aldosterone was documented with reversed ratio of ions in the urine. The decrease in diuresis was significant

especially in the non protective ventilated animals with lung injury. The increase of urea and creatinine occurred simultaneously in this group.

The third objective was to evaluate the effect of mechanical ventilation on the circulation and the possible development of systemic inflammatory response. No changes of invasively measured blood pressure and no changes in cardiac functions /assessed by transthoracic echocardiography/ were observed during the study.

The development of systemic inflammatory response was assessed by measuring levels of proinflammatory cytokines and adhesion molecules. There was an increase of IL-6 in all groups, the most significant elevation was observed in animals exposed to non protective ventilation and lung injury.

The levels of TNF- α surprisingly decreased in all groups during the study. The levels of intercellular and vascular adhesion molecules (p-ICAM and p-VCAM) did not change throughout the 12 hours of mechanical ventilation.

The fourth goal of our study was the evaluation of morphological changes of lungs and extrapulmonary organs. The macroscopical changes documented signs of hyperinflation alternating with signs of vascular congestion in the lung tissue exposed to ventilation with higher tidal volumes. These changes were located mainly in the dependent areas of lungs. The lung tissue exposed to protective ventilation did not demonstrate any major macroscopical pathological changes. The histological examination (light microscopy) of the lung tissue exposed to non protective ventilation documented inflammatory infiltration in the alveolar septa, bronchioles and vascular structures. The histological analysis of the lung tissue exposed to protective ventilation demonstrated mild inflammatory infiltration of alveolar septa. The microscopical examination of left ventricular myocardium, liver, kidney of both groups did not reveal any pathological changes.

In conclusion, the transition from spontaneous breathing to invasive mechanical ventilation affects the physiological processes of the organism. Protective mechanical ventilation does not guarantee a preservation of physiological processes in the lung tissue, but guarantees an unchanged function and morphology of the extrapulmonary organs and systems. Mechanical ventilation with $V_t = 10\text{ml/kg}$ does not fulfill the criteria for protective ventilation.

10. Publikační činnost

Články v impaktovaných časopisech

1. Kobr J, **Fremuth J**, Pizingerová K, Fikrlová S, Jehlicka P, Honomichl P, Sasek L, Racek J, Topolčan O. Total body response to mechanical ventilation of healthy lungs: an experimental study in piglets. *Physiol Res.* 2010;59(4):545-52. Epub 2009 Nov 20. (IF 1.43)
2. Kobr J, Pizingerova K, Sasek L, **Fremuth J**, Siala K, Racek J. Treatment of encapsulated pleural effusions in children: a prospective trial. *Pediatr Int.* 2010 Jun;52(3):453-8. Epub 2009 Nov 16. (IF 0,677)
3. Kobr J, Kuntscher V, Třeška V, Moláček J, Vobruba V, **Fremuth J**. Ventilation and haemodynamic indicators in spontaneously breathing pigs under general anaesthesia. *Acta Vet Brno*, 2010, vol 79, no. 1, p. 61-65 (IF 0,687)

Články v ostatních časopisech

4. **Fremuth J.**, Sýkora J., Boday A., Musil F., Varvařovská J., Stožický F., Kotaška K., Schwarz J., Skala J. Analýza UGT 1A1*28 polymorfismu v oblasti TATA-box promotoru genu pro UDP-glukuronyltransferázu u Gilbertova syndromu v dětském věku. *Čes.-slov. Pediat.*, 2005, roč. 60, č. 1, s. 7-13
5. Kobr J., **Fremuth J.**, Pizingerová K., Fikrlová Š., Jehlička P., Honomichl P., Šašek L., Racek J., Topolčan O. Vliv ventilace trvalým pozitivním tlakem na stupeň zánětlivé reakce a funkce orgánů – experimentální studie. *Anest. intenziv. Med.*, 20, 2009, č. 2, s. 88-95.
6. Kobr J., Pizingerova K., Šašek L, **Fremuth J**. Aktivní hypotermie po kardiopulmonální resuscitaci u dětí. *Urgentní medicína*, 3 (2009) , s 17-21
7. Kobr J, Kuntscher V, Treska V, Molacek J, Vobruba V, **Fremuth J**, Racek J, Trefil L, Kocova Adverse effects of the high tidal volume during mechanical ventilation of normal lung in pigs. *J. Bratisl Lek Listy.* 2008;109(2):45-51.
8. Kobr J.1, Pizingerová K., Šašek L., **Fremuth J.**, Honomichl P., Vondráková R., Kudová J., Bergerová T., Racek J. Rychle progredující komplikace chřipky typu A u dětí. *Čes.-slov. Pediat.*, 2010, roč. 65, č. 6, s. 386-393.
9. Kobr J., Třeška V., Moláček J., Kočová J., Topolčan O., **Fremuth J**. Poškození plic nesprávnou strategií umělé plicní ventilace v experimentální studii. *Čes.-slov. Pediat.*, 2009, roč. 64, č. 12, s. 639-647
10. Kobr J., Pizingerova K., Sasek L., **Fremuth J**, Fikrlova S. Induced therapeutic hypothermia following cardiac arrest in children. Review. *Bratisl Lek Listy* 2011; 112 (2) 92-96
11. Kobr J., Pizingerová K., Šašek L., **Fremuth J.**, Fikrlová Š., Jehlička P., Honomichl P., Racek J.: Reno-pulmonální interakce v průběhu ventilace zdravých plic. 15. Kongres Slovenskej spoločnosti anestézie a intenzívnej medicíny, 5/2008, Piešťany, Slovenská republika. *Novinky v anesteziológii, intenzívnej medicíne a algeziológii*, p. 142-144, ISBN 978-80-7165-681-4

Postery

12. **J. Fremuth**, J. Kobr, K. Pizingerová, L. Šašek. Invazivní pneumokokové infekce na JIRP DK FN Plzeň v letech 2007–2009. IX. Český pediatrický kongres s mezinárodní účastí, Olomouc 2010

13. **Fremuth J.**, Kobr J., Pizingerova K., Sasek L., Fikrlova S., Jehlicka P., Honomichl P., Racek J. Renopulmonal interaction during mechanical ventilation of the healthy lung. An experimental study. Poster in 2nd Congress of the European Academy of Pediatrics – EAP, October 24–28, 2008, Nice, France (Poster + abstrakt)

14. **Fremuth J.**, Sasek L., Pizingerova K., Vrzalova J., Topolčan O., Kobr J. Comparing the quality of neurally adjusted ventilation assist versus conventional ventilation support in children with acute lung injury. 19th Annual Meeting ES-PCR, Bratislava, Slovakia

Přednášky

15. **Fremuth J.**, Fikrlová Š., Šašek L., Pizingerová K., Bosman R., Navrátil L., Kobr J.: Penetrující poranění mozku po zásahu vrženým nožem. XIII. Celostátní pracovní setkání SIMČPS, Krkonoše, Tetřeví Boudy, 2006

16. **Fremuth J.**, Varvařovská J., Sýkora J., Vondráková R., Černá Z., Vacek V., Hess O., Lád V., Stožický F.: Neobvyklá příčina zvýšené sedimentace v dětském věku. Večer dětské kliniky, Plzeň, 2008

17. **Fremuth J.**, Fikrlová Š., Šašek L., Pizingerová K., Jehlička P., Sýkora J., Kobr J.: Život ohrožující krvácení z GIT 15. celostátní pracovní setkání SIM ČPS, Krkonoše, Tetřeví Boudy, 3/2008

18. **Fremuth J.**, Schwarz J., Cvalínová D.: Pankreatitis v dětském věku –Večer dětské kliniky Plzeň, 2009

19. **Fremuth J.**, Šašek L., Pizingerová K., Kobr J.: Komplikovaný průběh pleuropneumonie u patnáctiletého chlapce, Postgraduální lékařské dny, Plzeň, 2011

20. **J. Fremuth**, J. Kobr, K. Pizingerová, L. Šašek. Invazivní pneumokokové infekce na JIRP DK FN Plzeň v letech 2007–2009. Plzeňské pediatrické dny 2010.

21. **Fremuth J.**, Pomahačová R., Pizingerová K., Šašek L., Fikrlová Š., Kobr J.: Syndrom nepřiměřené sekrece ADH. Večer dětské kliniky. Plzeň 2008

22. Kobr J., Pizingerová K., Šašek L., **Fremuth J.**, Třeška V., Kuntscher V., Skalický T., Moláček J. Umělá plicní ventilace a kardio-pulmonální interakce. 7. český pediatrický kongres s mezinárodní účastí. Praha 2006

23. Kobr J., Sládková E., Pomahačová R., Pizingerová K., Šasek L., **Fremuth J.** Diabetes insipidus renalis? XXVI. dny praktické a nemocniční pediatrie. Olomouc, 2008, přednáška + abstrakt

24. Pizingerová K., Kobr J, **Fremuth J.**, Šašek L., Fikrlová Š., Jehlička P., Honomichl P., Topolčan O. Identification of signal molecules for the development of multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Experimental study. Kongres ESPNIC, 20th Annual Congress, European Society of Paediatric and Neonatal Intensive Care, Verona, Italy, 6/2009 (přednáška+abstrakt)

25. Šašek L., **Fremuth J.**, Pizingerová K., Kobr J. Úmrtí dvou kojenců z nejasných příčin – problematika prukazu smrti mozku dětí do jednoho roku. Postgraduální lékařské dny, Plzeň 2011
26. Kobr J, Pizingerová K, Šašek L, **Fremuth J.** Život ohrožující infekce RS virem u rizikových kojenců. XVIII. Celostátní pracovní setkání SIM ČPS, Krkonoše, Tetřeví Boudy, 2006
27. Kobr J., Pizingerová K., Šašek L., **Fremuth J.**, Fikrlová Š.: Nekonenční umělá plicní ventilace – komparace EBM a vlastních zkušeností. 2. česko-slovenský kongres detskej intenzívnej medicíny a anestézie, Stupala, Slovensko. 2006
28. Šašek L., Kobr J., **Fremuth J.**, Pizingerová K. Neurálně Regulovaná Ventilační Podpora (NAVA) u dětských pacientů – pilotní zkušenosti. 8. český pediatrický kongres s mezinárodní účastí Jihlava 2008
29. Kobr J., Pizingerová K., Šašek L., **Fremuth J.**: Účelné informace pro efektivní léčbu selhání krevního oběhu u dětí. 7. Slovenský pediatrický kongres s mezinárodní účastí, Martin, 2009
30. Kobr J., **Fremuth J.**, Šašek L., Pizingerová K., Fikrlová Š., Jehlička P., Honomichl P., Topolčan O., Vrzalová J.: Identifikace signálních molekul rozvoje MODS IV. Slovensko-český kongres pediatrickej intenzívnej medicíny a anestézie, Branislava 2008
31. Kobr J., Pizingerová K., **Fremuth J.**, Šašek L.: Hodnocení efektu a biologického vlivu nekonenční umělé plicní ventilace u dětí. VI. Slovensko-český kongres pediatrickej intenzívnej medicíny a anestézie. Bratislava 2010
32. Fikrlová Š., Pizingerová K., Kobr J., **Fremuth J.**, Šašek L.: Úmrtí batolete na následky týrání matkou. Třetí česko-slovenský kongres detskej intenzívnej medicíny a anestézie, 2007 Brno
33. Kobr J., Pizingerová K., Šašek L., **Fremuth J.**, Fikrlová Š.: Dětské kranio-trauma - komplikace nebo přirozený průběh? 3. Slovensko-český Internal meeting SIM SPS, 2007, Podskalie, Povážská Bystrica, Slovenská republika
34. Kobr J., Pizingerová K., Fikrlová Š., **Fremuth J.**: Rizikový kojenec. Je praxe kritériem pravdy? 25. dny praktické a nemocniční pediatrie, Olomouc 2007, *Pediatric pro praxi, Abstrakta Solen medical education, 2007, p. 22-23*
35. Honomichl P., Siala K., Lad V., Vondrakova M., Sasek L., **Kobr J.**, Pizingerova K., Fremuth J., Fikrlova S.: Lung damage in Fire-eaters, Lion 2008, Francie (abstrakt)
36. Kobr J., Pizingerová K., Šašek L., Fikrlova Š., **Fremuth J.**: Taktika umělé plicní ventilace u dětí. 6. minisympozium Aktuální otázky v intenzivní péči v pediatrii, Ostrava. Sborník abstrakt 2008
37. Kobr J., Pizingerová K., Šašek L., Fikrlová Š., **Fremuth J.**: Renopulmonální interakce v průběhu umělé plicní ventilace. Experimentální studie. Souhrn přednášek, 5. celostátní konference ČSARIM, Umělá plicní ventilace Mladá Boleslav, 2008, p. 105-107
38. Pizingerová K., Kobr J., Šašek L., **Fremuth J.**, Fikrlová Š.: Aspirace cizího tělesa. 15. celostátní pracovní konference SIM ČPS, Tetřeví Boudy Krkonoše, 2008
39. Kobr J., Pizingerová K., Šašek L., **Fremuth J.**, Fikrlová Š.: Chronická obstrukce horních dýchacích cest a její komplikace. 15. celostátní pracovní konference SIM ČPS, Tetřeví Boudy Krkonoše, 2008

40. Šašek L., **Fremuth J.**, Kobr J., Pizingerová K., Hrušková A. Kraniocerebrální poranění s diagnostickým překvapením – kazuistika. 16. celostátní pracovní setkání Sekce intenzivní medicíny České pediatrické společnosti JEP s mezinárodní účastí. 2009.
41. Pizingerová K., Kobr J., **Fremuth J.**, Šašek L., Fikrlová Š. TGI – tracheal gas insufflation during the mechanical ventilation in children. 22th. Annual Congress of the European Society of Intensive Care Medicine, Vídeň, Rakousko, 10/2009 (poster+abstrakt)
42. **Fremuth J.**, Fikrlová Š., Pizingerová K., Šašek L., Sládková E., Jehlička P., Pomahačová R., Kobr J. Ušknutí hadem. Večer dětské kliniky, Plzeň 2008

11. Použitá literatura

1. Slutsky AS. Chest. 1999 Jul;116(1 Suppl):9S-15S. Review.
2. Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, et al. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome.. N Engl J Med. 1998 Feb 5;338(6):347-54
3. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. N Engl J Med. 2000 May 4;342(18):1301-8.
4. , Mullen JB, Gan K, Slutsky AS. Tidal ventilation at low airway pressures can augment lung injury. Muscedere JG Am J Respir Crit Care Med. 1994 May;149(5):1327-34.
5. Mead J, Takishima T, Leith D. Stress distribution in lungs: a model of pulmonary elasticity. J Appl Physiol. 1970 May;28(5):596-608.
6. Tsuchida S, Engelberts D, Peltekova V, et al. Atelectasis causes alveolar injury in nonatelectatic lung regions. Am J Respir Crit Care Med. 2006 Aug 1;174(3):279-89. Epub 2006 May 4.
7. Fanelli V, Mascia L, Puntorieri V, et al. Pulmonary atelectasis during low stretch ventilation: "open lung" versus "lung rest" strategy. Crit Care Med. 2009 Mar;37(3):1046-53.
8. Webb HH, Tierney DF. Experimental pulmonary edema due to intermittent positive pressure ventilation with high inflation pressures. Protection by positive end-expiratory pressure. Am Rev Respir Dis. 1974 Nov;110(5):556-65.
9. Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. Am Rev Respir Dis. 1988 May;137(5):1159-64.
10. Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. Am Rev Respir Dis. 1988 May;137(5):1159-64.
11. MJ Tobin, et al. Ventilator-induced lung injury. Principles and Practice of Mechanical Ventilation. McGraw-Hill, str. 903-930.
12. Broccard AF, Hotchkiss JR, Kuwayama N, et al. Consequences of vascular flow on lung injury induced by mechanical ventilation. Am J Respir Crit Care Med. 1998 Jun;157(6 Pt 1):1935-42.

13. Veldhuizen RA, Welk B, Harbottle R, et al. Mechanical ventilation of isolated rat lungs changes the structure and biophysical properties of surfactant. *J Appl Physiol*. 2002 Mar;92(3):1169-75.
14. . Maruscak AA, Vockeroth DW, Girardi B et al. Alterations to surfactant precede physiological deterioration during high tidal volume ventilation *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008 May;294(5):L974-83. Epub 2008 Mar 14.
15. Arthur S. Slutsky, Laurent Brochard. Vascular Contribution to VILI. In *Mechanical Ventilation (Update in Intensive Care Medicine)*. Springer 2004. Str. 227 - 242
16. Broccard A, Shapiro RS, Schmitz LL, et al. Prone positioning attenuates and redistributes ventilator-induced lung injury in dogs. *Crit Care Med*. 2000 Feb;28(2):295-303.
17. Broccard AF, Shapiro RS, Schmitz LL, et al. Influence of prone position on the extent and distribution of lung injury in a high tidal volume oleic acid model of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 1997 Jan;25(1):16-27.
18. Hotchkiss JR Jr, Blanch L, Murias G, et al. Effects of decreased respiratory frequency on ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Feb;161(2 Pt 1):463-8.
19. Dreyfuss D, Basset G, Soler P, Saumon G. Intermittent positive-pressure hyperventilation with high inflation pressures produces pulmonary microvascular injury in rats. *Am Rev Respir Dis*. 1985 Oct;132(4):880-4.
20. Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jan;157(1):294-323.
21. Vlahakis NE, Hubmayr RD. Cellular stress failure in ventilator-injured lungs. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Jun 15;171(12):1328-42. Epub 2005 Feb 1.
22. Tschumperlin DJ, Margulies SS. Alveolar epithelial surface area-volume relationship in isolated rat lungs. *J Appl Physiol*. 1999 Jun;86(6):2026-33.
23. Gattinoni L, Pesenti A. The concept of "baby lung".. *Intensive Care Med*. 2005 Jun; 31(6): 776-84. Epub 2005 Apr 6.
24. Gajic O, Lee J, Doerr CH, Berrios JC, et al. Ventilator-induced cell wounding and repair in the intact lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Apr 15;167(8):1057-63. Epub 2002 Dec 12.
25. Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002; 110,673-687.
26. Vlahakis NE, Schroeder MA, Pagano RE, Hubmayr RD. Deformation induced lipid trafficking in alveolar epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*; 2001; 280:L938-946
27. Shafrir Y, Forgacs G. Mechanotransduction through the cytoskeleton. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;282;C479-486
28. Arthur S. Slutsky, Laurent Brochard. Biophysical factors leading to VILI. In *Mechanical Ventilation (Update in Intensive Care Medicine)*. Springer 2004. str. 213 – 226
29. Vlahakis NE, Schroeder MA, Pagano RE, et al.. Role of deformation-induced lipid trafficking in the prevention of plasma membrane stress failure. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Nov 1;166(9):1282-9.
30. Suki B, Ito S, Stamenovic D, Lutchen KR, et al. Biomechanics of the lung parenchyma: critical roles of collagen and mechanical forces. *J Appl Physiol*. 2005 May;98(5):1892-9.

31. P. Pelosi, P. Severgnini, P.R. Rocco. The extracellular matrix of the Lung: The Forgotten Friend. In: Yearbook of intensive care and emergency medicine 2007. Springer. Str. 320-334
32. Souza-Fernandes AB, Pelosi P, Rocco PR. Bench-to-bedside review: the role of glycosaminoglycans in respiratory disease. *Crit Care*. 2006;10(6):237.
33. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 69;2006; 562-573.
34. Haseneen NA, Vaday GG, Zucker S, et al. Mechanical stretch induces MMP-2 release and activation in lung endothelium: role of EMMPRIN. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003 Mar;284(3):L541-7. Epub 2002 Nov 27.
35. Kim JH, Suk MH, Yoon DW, et al. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 prevents neutrophilic inflammation in ventilator-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006 Oct;291(4):L580-7. Epub 2006 May 12.
36. Turino GM, Cantor JO. Hyaluronan in respiratory injury and repair. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 May 1;167(9):1169-75.
37. Berg JT, Fu Z, Breen EC, et al. High lung inflation increases mRNA levels of ECM components and growth factors in lung parenchyma. *J Appl Physiol*. 1997 Jul;83(1):120-8.
38. Al-Jamal R, Ludwig MS. Changes in proteoglycans and lung tissue mechanics during excessive mechanical ventilation in rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001 Nov;281(5):L1078-87.
39. Bai KJ, Spicer AP, Mascarenhas MM, et al. The role of hyaluronan synthase 3 in ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Jul 1;172(1):92-8. Epub 2005 Mar 24.
40. Dos Santos CC, Slutsky AS. Invited review: mechanisms of ventilator-induced lung injury: a perspective. *J Appl Physiol*. 2000 Oct;89(4):1645-55.
41. Liu M, Tanswell AK, Post M. Mechanical force-induced signal transduction in lung cells. *Am J Physiol*. 1999 Oct;277(4 Pt 1):L667-83.
42. Han B, Lodyga M, Liu M. Ventilator-induced lung injury: role of protein-protein interaction in mechanosensation. *Proc Am Thorac Soc*. 2005;2(3):181-7.
43. Karin M. How NF-kappaB is activated: the role of the IkappaB kinase (IKK) complex. *Oncogene*. 1999 Nov 22;18(49):6867-74.
44. Gilmore TD. Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. *Oncogene*. 2006 Oct 30;25(51):6680-4.
45. Na SY, Choi JE, Kim HJ, et al. Bcl3, an IkappaB protein, stimulates activating protein-1 transactivation and cellular proliferation. *J Biol Chem*. 1999 Oct 1;274(40):28491-6.
46. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, et al. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest*. 1997 Mar 1;99(5):944-52.
47. Mellor H, Parker PJ. The extended protein kinase C superfamily. *Biochem J*. 1998 Jun 1;332 (Pt 2):281-92.
48. Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature*. 2001 Mar 1;410(6824):37-40.
49. http://en.wikipedia.org/wiki/File:Signal_transduction_v1.png

50. Pugin J, Dunn I, Jolliet P, et al. Chevrolet JC. Activation of human macrophages by mechanical ventilation in vitro. *Am J Physiol*. 1998 Dec;275(6 Pt 1):L1040-50.
51. Vlahakis NE, Schroeder MA, Limper AH, et al. Stretch induces cytokine release by alveolar epithelial cells in vitro. *Am J Physiol*. 1999 Jul;277(1 Pt 1):L167-73.
52. Oudin S, Pugin J. Role of MAP kinase activation in interleukin-8 production by human BEAS-2B bronchial epithelial cells submitted to cyclic stretch. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002 Jul;27(1):107-14.
53. Li LF, Ouyang B, Choukroun G, Matyal R, et al. Stretch-induced IL-8 depends on c-Jun NH2-terminal and nuclear factor-kappaB-inducing kinases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003 Aug;285(2):L464-75. Epub 2003 Apr 25.
54. Chen CY, Gherzi R, Andersen JS, et al. Nucleolin and YB-1 are required for JNK-mediated interleukin-2 mRNA stabilization during T-cell activation. *Genes Dev*. 2000 May 15;14(10):1236-48.
55. Clark AR, Dean JL, Saklatvala J. Post-transcriptional regulation of gene expression by mitogen-activated protein kinase p38. *EBS Lett*. 2003 Jul 3;546(1):37-44.
56. Turpeinen T, Nieminen R, Moilanen E, et al. Mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 negatively regulates the expression of interleukin-6, interleukin-8, and cyclooxygenase-2 in A549 human lung epithelial cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010 Apr;333(1):310-8. Epub 2010 Jan 20.
57. Rincón M, Davis RJ. Regulation of the immune response by stress-activated protein kinases. *Immunol Rev*. 2009 Mar;228(1):212-24.
58. Tei C, Ling LH, Hodge DO, et al. New index of combined systolic and diastolic myocardial performance: a simple and reproducible measure of cardiac function--a study in normals and dilated cardiomyopathy *J Cardiol*. 1995 Dec;26(6):357-66.
59. J Masopust. *Klinická biochemie. Požadování a hodnocení biochemických vyšetření.*, Univerzita Karlova, Karolinum. 1998. Část I. Str. 205 – 285
60. Antonín Jabor a kol. *Vnitřní prostředí.* Grada publishing a.s. 2008. Str. 233 – 247
61. Kobr J, Kuntscher V, Molacek J, et al. Diffuse alveolar damage due to inappropriate strategy of mechanical ventilation in an experimental porcine model. *In Vivo*. 2010 Sep-Oct;24(5):699-704.
62. Kobr J, Kuntscher V, Treska V, et al. Adverse effects of the high tidal volume during mechanical ventilation of normal lung in pigs. *Bratisl Lek Listy*. 2008;109(2):45-51.
63. Gurkan OU, O'Donnell C, Brower R, et al. Differential effects of mechanical ventilatory strategy on lung injury and systemic organ inflammation in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003 Sep;285(3):L710-8. Epub 2003 May 16.
64. Shibata K, Cregg N, Engelberts D, et al. Hypercapnic acidosis may attenuate acute lung injury by inhibition of endogenous xanthine oxidase. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Nov;158(5 Pt 1):1578-84.
65. Broccard AF, Hotchkiss JR, Vannay C, Markert M, et al. Protective effects of hypercapnic acidosis on ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Sep 1;164(5):802-6.

66. Ketabchi F, Egemnazarov B, Schermuly RT, et al. Effects of hypercapnia with and without acidosis on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2009 Nov;297(5):L977-83. Epub 2009 Aug 28.
67. Takeshita K, Suzuki Y, Nishio K, Takeuchi O, et al. Hypercapnic acidosis attenuates endotoxin-induced nuclear factor- κ B activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29:124–132.
68. Wolthuis EK, Vlaar AP, Choi G, et al. Mechanical ventilation using non-injurious ventilation settings causes lung injury in the absence of pre-existing lung injury in healthy mice. *Crit Care*. 2009;13(1):R1. Epub 2009 Jan 19.
69. Floege J, Uhlig S. Kidney calling lung and call back: how organs talk to each other. *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Jan;25(1):32-4. Epub 2009 Sep 15.
70. . Koyner JL, Murray PT. Mechanical ventilation and the kidney *Blood Purif*. 2010;29(1):52-68. Epub 2009 Nov 19.
71. Kuiper JW, Groeneveld AB, Slutsky AS, et al. Mechanical ventilation and acute renal failure. *Crit Care Med*. 2005 Jun;33(6):1408-15.
72. Luque A, Shimizu MH, Andrade L, et al. Glomerular filtration is reduced by high tidal volume ventilation in an in vivo healthy rat model. *Braz J Med Biol Res*. 2009 Nov;42(11):1104-9.
73. Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, 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 Apr 23-30;289(16):2104-12.
74. Hoag JB, Liu M, Easley RB, et al. Effects of acid aspiration-induced acute lung injury on kidney function. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008 Apr;294(4):F900-8. Epub 2008 Feb 6.
75. Slutsky AS, Tremblay LN. Multiple system organ failure. Is mechanical ventilation a contributing factor? *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jun;157(6 Pt 1):1721-5.
76. Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc Assoc Am Physicians*. 1998 Nov-Dec;110(6):482-8.
77. Plötz FB, Slutsky AS, van Vught AJ, et al. Ventilator-induced lung injury and multiple system organ failure: a critical review of facts and hypotheses. *Intensive Care Med*. 2004 Oct;30(10):1865-72. Epub 2004 Jun 24.
78. dos Santos CC, Slutsky AS. Mechanotransduction, ventilator-induced lung injury and multiple organ dysfunction syndrome. *Intensive Care Med*. 2000 May;26(5):638-42.
79. Walker MG, Yao LJ, Patterson EK, et al. The Effect of Tidal Volume on Systemic Inflammation in Acid-Induced Lung Injury. *Respiration*. 2011 Feb 9. [Epub ahead of print]
80. Nahum A, Hoyt J, Schmitz L, et al. Effect of mechanical ventilation strategy on dissemination of intratracheally instilled *Escherichia coli* in dogs. *Crit Care Med*. 1997 Oct;25(10):1733-43.
81. Verbrugge SJ, Sorm V, van 't Veen A, et al. Lung overinflation without positive end-expiratory pressure promotes bacteremia after experimental *Klebsiella pneumoniae* inoculation.. *Intensive Care Med*. 1998 Feb;24(2):172-7.
82. Halbertsma FJ, Vaneker M, Scheffer GJ, et al. Cytokines and biotrauma in ventilator-induced lung injury: a critical review of the literature. *Neth J Med*. 2005 Nov;63(10):382-92.

83. Hegeman MA, Hennis MP, Heijnen CJ, et al. Ventilator-induced endothelial activation and inflammation in the lung and distal organs. *Crit Care*. 2009;13(6):R182. Epub 2009 Nov 16.
84. Wilson MR, Choudhury S, Takata M. Pulmonary inflammation induced by high-stretch ventilation is mediated by tumor necrosis factor signaling in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005 Apr;288(4):L599-607. Epub 2004 Oct 15.
85. Imanaka H, Shimaoka M, Matsuura N, et al. Ventilator-induced lung injury is associated with neutrophil infiltration, macrophage activation, and TGF-beta 1 mRNA upregulation in rat lungs. *Anesth Analg*. 2001 Feb;92(2):428-36.
86. Choudhury S, Wilson MR, Goddard ME, et al. Mechanisms of early pulmonary neutrophil sequestration in ventilator-induced lung injury in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004 Nov;287(5):L902-10. Epub 2004 Jul 16.
87. Wilson MR, O'Dea KP, Zhang D, et al. Takata M. Role of lung-margined monocytes in an in vivo mouse model of ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 May 15;179(10):914-22. Epub 2009 Feb 12.
88. Vaneker M, Halbertsma FJ, van Egmond J, et al. Mechanical ventilation in healthy mice induces reversible pulmonary and systemic cytokine elevation with preserved alveolar integrity: an in vivo model using clinical relevant ventilation settings. *Anesthesiology*. 2007 Sep;107(3):419-26.
89. Hillman NH, Moss TJ, Kallapur SG, et al. Brief, large tidal volume ventilation initiates lung injury and a systemic response in fetal sheep. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Sep 15;176(6):575-81. Epub 2007 Jul 19.
90. Kornecki A, Tsuchida S, Ondiveeran HK, et al. Lung development and susceptibility to ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Apr 1;171(7):743-52. Epub 2005 Jan 7.
91. Chan A, Jayasuriya K, Berry L, et al. Volutrauma activates the clotting cascade in the newborn but not adult rat. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006 Apr;290(4):L754-L760. Epub 2005 Dec 2.
92. Uhlig S, Uhlig U. Pharmacological interventions in ventilator-induced lung injury. *Trends Pharmacol Sci*. 2004 Nov;25(11):592-600.