

Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni

DYSFUNKCE JATER A LEDVIN U KRITICKY NEMOCNÝCH

Možnosti podpory a náhrady funkce

MUDr. Aleš Kroužecký

Dizertační práce

Plzeň 2007

OBSAH

1. ÚVOD A SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY.....	3
1.1. Porucha funkce jater a ledvin jako součást MODS- úloha perfúze orgánů	
1.1.1. Vliv perfúzního tlaku.....	4
1.1.2. Vliv enterální nutrice.....	6
1.1.3. Vliv pronační polohy.....	6
1.2. Možnosti podpory a náhrady funkce ledvin u kriticky nemocných.....	7
1.2.1. Trombogenita a biokompatibilita kontinuálních metod náhrady funkce ledvin.....	7
1.2.2. Vliv kontinuálních metod náhrady funkce ledvin na hemodynamiku a energetický metabolismus hepatosplanchnické oblasti.....	9
2. CÍLE PRÁCE.....	11
3. LEGÁLNÍ A ETICKÉ ASPEKTY STUDIÍ.....	12
4. METODOLOGICKÉ ASPEKTY STUDIÍ.....	12
6.1.1. Experimentální část.....	12
6.1.2. Klinická část.....	14
5. SOUHRN PRACÍ.....	16
6. SEZNAM ORIGINÁLNÍCH PUBLIKACÍ PŘÍMO SOUVISEJÍCÍCH S ŘEŠENOU PROBLEMATIKOU.....	32
7. SEZNAM ORIGINÁLNÍCH PUBLIKACÍ NAVAZUJÍCÍCH NA ŘEŠENOU PROBLEMATIKU.....	35
8. PODĚKOVÁNÍ.....	36
9. PODPORA PRÁCE.....	37
10. REFERENCE.....	38
11. PŘÍLOHA- PRÁCE PUBLIKOVANÉ A PŘIPRAVENÉ K PUBLIKACI.....	46

1. ÚVOD A SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY

Játra a ledviny zastávají řadu důležitých exkreačních, detoxikačních, syntetických, biotransformačních a endokrinních funkcí. Je tedy pochopitelné, že jejich dysfunkce vzniklá v souvislosti s kritickým onemocněním je spojena s významným zhoršením prognózy pacientů (1,2). Zvrátit tuto nepříznivou situaci lze jednak hledáním postupů, jak dysfunkci těchto orgánů zabránit a jednak cest, jak nejvhodněji v případě nutnosti jejich funkci podpořit či nahradit.

1.1. Porucha funkce jater a ledvin jako součást MODS- úloha perfúze orgánů

Dysfunkce/selhání ledvin a jater jsou u kriticky nemocných častým jevem a obvykle se rozvíjí jako součást syndromu multiorganové dysfunkce (MODS). Jedná se o syndrom, který je charakterizovaný rozvojem akutní, progresivní, ale potenciálně reverzibilní poruchy funkce dvou či více orgánů nebo orgánových systémů, vyvolaný celou řadou inzultů (sepsy, trauma, šok, pankreatitis apod.) (3). Právě MODS je vedoucí příčinou smrti na jednotkách intenzivní péče (až v 90%). Patofyziologický mechanismus jeho vzniku a průběhu není i přes intenzivní klinický i experimentální výzkum zcela objasněn. Jistě se jedná o komplex řady vzájemně propojených pochodů, které zahrnují interakci (1) hypoxického postižení při selhání makro- i mikrocirkulace a (2) toxického postižení spojeného s narušením buněčné energetiky, poškozením endotelu a narušením hemostázy, kdy příčinou jsou působky způsobující kritické onemocnění či vzniklé v jeho souvislosti (bakterie, inflamatorní mediátory, oxid dusnatý, volné kyslíkové radikály atd.) (4,5,6).

Ačkoliv jsou příčiny MODS takto komplexní, lze nepochybně za jednu z velice důležitých považovat poruchu dodávky kyslíku do orgánů související s poruchou jejich perfúze (7).

Z tohoto důvodu je podpora správné funkce kardiovaskulárního systému u kriticky nemocných jedním ze zásadních léčebných úkolů.

1.1.1. Vliv perfúzního tlaku

Ve všech regionálních cirkulacích je krevní průtok orgány autoregulován. To znamená, že pokud je zachován dostatečný srdeční výdej, tak se průtok krve orgánem nemění v širokém rozsahu perfúzních tlaků. Jestliže ale dojde k poklesu arteriálního tlaku pod určitou kritickou hodnotu (autoregulační práh), dojde ke ztrátě autoregulace a průtok krve orgánem se stane téměř lineárně závislým na perfúzním tlaku. Jinými slovy to znamená, že s dále klesajícím perfúzním tlakem dále klesá průtok krve orgánem (8,9). Předpokládá se, že u člověka se za fyziologických okolností hodnota středního arteriálního tlaku (MAP), pod kterou dochází k této tlakově-perfúzní závislosti, nachází okolo 60-65 mmHg. Proto byla hodnota $MAP \leq 65$ mmHg konsenzuálně doporučena jako vhodný okamžik pro zahájení léčby vazopresory, samozřejmě za podmínky, že je zajištěna adekvátní intravaskulární náplň (10). Léčba vazopresory by tedy měla být vedena tak, aby bylo dosaženo středního arteriálního tlaku vyššího než 65 mmHg. Nicméně během kritického onemocnění mohou mít teoreticky vazoplegie a alterovaná vaskulární reaktivita za následek posun autoregulačního práhu k vyšším hodnotám (11). Navíc se autoregulační práh může lišit i mezi jednotlivými orgány (12). Lze též spekulovat, že autoregulační práh může být posunut výše u pacientů, kteří mají v anamnéze výraznou hypertenzní chorobu či trpí pokročilou aterosklerózou. Proto mají někteří klinici tendenci za těchto situací vést vazopresorickou léčbu tak, aby bylo dosaženo vyšších perfúzních tlaků, než je doporučováno (tj. $MAP > 65$ mmHg) a předpokládají, že tak bude dosaženo vyššího průtoku krve orgány. Tato hypotéza byla i podpořena některými klinickými a experimentálními studiemi, které prokázaly, že noradrenalinem navozené

zvýšení perfúzního tlaku v sepsi může vést k zlepšení perfúze ledvin a ke zlepšení jejich funkce (13,14,15). Na druhou stranu ale jiné, nedávno publikované studie u septických pacientů neprokázaly, že by zvýšení MAP z 65 mmHg na 85 mmHg vedlo ke zlepšení funkce ledvin či zlepšení kinetiky transportu kyslíku a některých metabolických parametrů. Neprokázaly však ani zhoršení těchto parametrů (16,17).

Přestože manipulace s arteriálním tlakem patří při léčbě kriticky nemocných k běžným procedurám, nemáme o jejich vlivu na průtok krve hepatosplanchnickou oblastí (játry a střevem) dostatek relevantních informací. Navíc játra mají narozdíl od ostatních orgánů duální krevní zásobení- a. hepatica a v. portae. Mezi těmito dvěma cévami existuje za normálních okolností hydrodynamická reakce, která se nazývá hepatic arterial buffer response (HABR). Tato reakce má sloužit k ochraně jater před hypoperfúzí (18)- při poklesu průtoku krve přes v. portae dojde k nárůstu průtoku krve přes a. hepatica. Zdá se ale, že v sepsi může být tento vztah narušen (19). Z těchto důvodů je velmi obtížné predikovat následky změn perfúzního tlaku v kritickém onemocnění. Dosud byla provedena pouze jediná klinická studie a ta neprokázala, že by zvýšení MAP z 65 mmHg na 85 mmHg vedlo ke změně pH žaludeční sliznice. Bohužel, jedinou metodou, která byla v rámci této studie k hodnocení perfúze gastrointestinálního traktu použita, byla gastrická tonometrie (16). Data z experimentálních studií byla zase získána z modelů, které nebyly příliš klinicky relevantní- jednalo se o modely krátkodobého septického šoku navozeného buď bolusem endotoxinu či bakterií, navíc často tímto způsobem byl indukován hypodynamický šok a nikoliv šok hyperdynamický (20). Navíc, pokud je nám známo, se žádná studie dosud přímo vlivem noradrenalinem navozených změn perfúzního tlaku na perfúzi jater a jejich jednotlivých komponent nezabývala.

Z těchto důvodů jsme se jak v experimentálních tak v klinických podmínkách zabývali otázkou, jak mohou manipulace s perfúzním tlakem ovlivnit průtok krve játry a střevem.

1.1.2. Vliv enterální nutrice

Perfúzní tlak ale není jedinou determinantou, která může průtok krve hepatosplanchnikem a jeho nároky na dodávku kyslíku ovlivnit. Například za fyziologických okolností vede podání výživy ke zvýšení průtoku krve touto oblastí (21,22). Na druhou stranu aplikace enterální nutrice (EN) oběhově nestabilním nemocným (tedy s rizikem alterované hepatosplanchnické makro/mikrocirkulace), je kontroverzní pro možné riziko zvýšení metabolických nároků a navození nepoměru mezi kompromitovanou dodávkou kyslíku a jeho zvýšenou spotřebou. U nemocných po kardiochirurgickém výkonu na katecholaminech však takové nežádoucí efekty EN nebyly pozorovány (23). Na druhou stranu ale nejsou k dispozici srovnatelná data, týkající se vlivu podání EN septickým nemocným. Přestože existují takovéto pochyby, je podání EN kriticky nemocným běžnou součástí jejich léčby a tato je považována za nejvhodnější způsob výživy u většiny z nich (24). Proto se stala otázka vlivu EN na hepatosplanchnickou oblast dalším okruhem, kterým jsme se rozhodli zabývat. Otázku jsme řešili v rámci klinické studie.

1.1.3 Vliv pronační polohy

Průtok krve hepatosplanchnikem mohou alespoň teoreticky v klinické praxi ovlivnit i procedury, které si přímo s touto oblastí nespojujeme. Jednou z takových je uvedení nemocného do pronační polohy. Otočení nemocných na břicho je při léčbě pacientů s těžkým akutním postižením plic (ALI/ARDS) poměrně častou terapeutickou intervencí. Jejím cílem je především zlepšení výměny plynů na úrovni plic za současného zmírnění agresivity umělé plicní ventilace (snížení frakce kyslíku ve vdechované směsi a snížení inspiračních tlaků) (25). Otočení nemocného do pronační polohy nebývá spojeno s významnou změnou v globální hemodynamice (26). Protože ale pronace může navodit zvýšení nitrobřišního tlaku

(IAP), nelze vyloučit, že může dojít k ovlivnění průtoku krve hepatosplanchnickým regionem. Nevíme tedy, zda naše snaha o zlepšení dodávky kyslíku do tkání nemůže paradoxně vést ke zhoršení perfúze diskutované oblasti. Proto jsme se rozhodli řešit tuto důležitou otázku v rámci klinické studie.

1.2. Možnosti podpory a náhrady funkce ledvin u kriticky nemocných

V rámci péče o kriticky nemocné je samozřejmě nejlépe rozvoji dysfunkce orgánů předcházet. Ne vždy se však tato snaha zdaří či je vůbec klinicky možná a proto je nutné pak funkci selhávajících orgánů podpořit či nahradit. Zatímco náhrada funkce jater se zatím v běžné klinické praxi (kromě transplantologie) příliš neprosadila, náhrada funkce ledvin je u kriticky nemocných běžná, proto jsme se jí v naší práci zabývali.

Problematika metod sloužících k náhradě funkce ledvin (RRT) u kriticky nemocných je mimořádně široká. Důsledné řešení nejen otázek, jak může RRT nemocnému prospět, ale i jak mu může teoreticky uškodit, je jedinou cestou, jak zlepšovat efektivitu RRT a ovlivňovat osud pacientů RRT léčených.

1.2.1. Trombogenita a biokompatibilita kontinuálních metod náhrady funkce ledvin

Jedním z aktuálních a velmi diskutovaných témat výzkumu je schopnost těchto metod odstraňovat mediátory zánětu. Je soustředěna velká pozornost na metody, které mohou clearance těchto působků zvýšit (27). Bohužel však zůstává poněkud v pozadí zájmu skutečnost, že i samotný mimotělní okruh RRT může sám o sobě při kontaktu z krví nemocného indukovat aktivaci různých kaskád- tzn. chovat se bioinkompatibilně (28) a tak (alespoň teoreticky) k tíži stavu nemocného přispívat. Kromě aktivace zánětlivých kaskád je

významným parametrem biokompatibility schopnost RRT aktivovat koagulaci a vyvolat tak v mimotělním okruhu srážení krve. Z tohoto důvodu je napojení na RRT obvykle spojené s nutností použití antikoagulace, jejímž cílem je optimalizovat délku použitelnosti filtru a zabránit krevním ztrátám způsobeným sražením krve v okruhu (29). Navíc špatně vedená antikoagulace (i když nevede přímo ke klinicky zjevnému časnému vysrážení okruhu) může aktivaci koagulačních kaskád nepříznivě zasáhnout do křehké a již tak často značně narušené koagulační rovnováhy nemocného (30). Neopominutelnou skutečností je též zbytečný nárůst nákladů na mimotělní eliminaci tam, kde je třeba často provádět výměny setů a filtrů. Na druhou stranu použití antikoagulace může způsobit krvácení, zvláště u kriticky nemocných, kteří jsou obecně ve zvýšeném riziku krvácení (31). Z těchto důvodů je nezbytné problematice koagulace v mimotělním oběhu a způsobům, jak jí zabránit, věnovat náležitou pozornost.

Jednou z běžně doporučovaných a často používaných metod, jak snížit trombogenitu umělých povrchů mimotělního oběhu RRT, je provedení jeho proplachu roztokem s vysokou koncentrací heparinu před zahájením vlastní procedury. Tímto by mělo být dosaženo snížení potřeby antikoagulancí během procedury. Na druhou stranu může toto opatření vést ke zvýšení rizika krvácení (vazba heparinu na umělé povrchy a jeho následné uvolnění do cirkulace nemocného během procedury). Navíc provedení takového proplachu představuje určitou pracovní a finanční zátěž navíc. Efektivita provedení heparinového proplachu u intermitentních metod u chronicky hemodialyzovaných nemocných byla naší skupinou zpochybněna (32). Nicméně u kriticky nemocných indikovaných k napojení na kontinuální náhradu funkce ledvin nemusí být situace identická. Kriticky nemocní vykazují řadu hemostatických defektů, které mohou být nadále akcentovány přítomností akutního selhání ledvin. Úloha heparinového proplachu před zahájením kontinuální eliminace však nebyla u této skupiny pacientů studována, proto jsme tuto otázku řešili v rámci klinické studie.

U některých kriticky nemocných není podání systémové antikoagulace (nefrakcionovaný či frakcionovaný heparin) možné z důvodu vysokého rizika rozvoje krvácivých komplikací (aktivně krvácející nemocní či nemocní krátce po operaci, traumatu, s významnou koagulační poruchou atd.). Rozumnou a prakticky použitelnou alternativou je v těchto situacích použití citrátové regionální antikoagulace. Metoda je založena na podání kontinuální infúze citrátu před hemofiltr, což vede k vyvázání kalcia se snížením plazmatické koncentrace ionizovaného kalcia (29). Vzhledem k tomu, že průběh srážení krve je na přítomnosti ionizovaného kalcia významně závislý, vede jeho snížení k inhibici koagulace. Aby bylo dosaženo účinné antikoagulace, je doporučováno dosáhnout v krvi mimotělního okruhu snížení koncentrace ionizovaného kalcia pod 0,35 mmol/l. Komplex Ca-citrát je částečně odstraněn konvekci a difúzí ve filtru, část vstupuje do systémové cirkulace pacienta. Zde je rychle metabolizován v játrech, ale také částečně i v ledvinách a svalech. Ztráta kalcia je hrazena kontinuální infúzí kalcia podávanou pacientovi nejčastěji cestou centrálního žilního katétru. Dostatečná hladina kalcia však není důležitá pouze pro aktivaci koagulace, ale také i pro aktivaci komplementu (33). Proto se nabízí otázka, zda dalším pozitivním důsledkem použití regionální citrátové antikoagulace nemůže být zlepšení biokompatibility mimotělní eliminační metody. Na tuto otázku jsme si pokusili odpovědět v klinické studii.

1.2.2. Vliv kontinuálních metod náhrady funkce ledvin na hemodynamiku a energetický metabolismus hepatosplanchnické oblasti

Bioinkompatibilita ale není jediným problémem, který může po napojení nemocného na RRT nastat. Klinicky zcela relevantní otázkou jsou problémy spojené s rozvojem oběhové nestability (34,35) a změnami tělesné teploty (36).

Řada studií se zabývala vlivem teploty dialyzátu na hemodynamický stav chronicky dialyzovaných pacientů (34,37,38). Jako ukazatel hemodynamické stability byl v těchto studiích používán střední arteriální tlak (MAP). Nárůst MAP byl konzistentně pozorován tehdy, pokud byl oproti běžné praxi (37°C) použit chladnější dialyzační roztok o teplotě 35°C. Tento efekt byl připisován zvýšení vaskulární rezistence a cévní reaktivity (37,38). U kriticky nemocných jsou v posledních letech k náhradě funkce ledvin stále více používány spíše než intermitentní dialýza některé kontinuální techniky (CRRT, continuous renal replacement therapies). Přestože hemodynamická nestabilita je u těchto pacientů častým jevem, tak se otázkou dynamiky změn tělesné teploty navozených CRRT a jejich vztahu k hemodynamickému stavu nemocného systematicky zabývalo jen málo studií. Je nepochybné, že napojení na mimotělní okruh CRRT může postupně vést k ochlazení nemocného. Pokud je toto ochlazení příliš výrazné, tak vede dle některých autorů k třesu pacientů, přemrštěné periferní vasokonstrikci a dysfunkci imunity (39). Z obavy z těchto nežádoucích efektů je proto u kriticky nemocných v současné době běžnou klinickou praxí ohřev substitučního a/nebo dialyzačního roztoku. Na druhou stranu se však některé studie shodují, že mírné ochlazení tělesného jádra navozené CRRT může vést u kriticky nemocných ke zvýšení jejich MAP (36,40). Není ale jasné, zda toto zvýšení MAP není dosaženo za cenu přílišné vasokonstrikce s rizikem poškození perfúze orgánů. V tomto směru je třeba za jednu z nejrizikovějších považovat hepatosplanchnickou oblast. Proto jsme si dali za cíl zhodnotit u febrilních septických nemocných indikovaných k napojení na kontinuální veno-venozní hemofiltraci (CVVH) vliv metodou navozené mírné hypotermie na globální hemodynamické parametry, kinetiku kyslíku a energetickou bilanci v oblasti hepatosplanchnického regionu.

2. CÍLE PRÁCE

- I. Ověřit vliv různých, v intenzivní péči běžných, manipulací a postupů na perfúzi jater a střeva. Cílem bylo testovat hypotézy, že:
 - a. manipulace se středním arteriálním tlakem může v septickém šoku ovlivnit jak krevní průtok hepatosplachnickou oblastí tak její energetický metabolismus a kyslíkový transport.
 - b. podání enterální nutriční kriticky nemocným v sepsi může ovlivnit jak hemodynamiku tak energetický metabolismus hepatosplachnické oblasti.
 - c. otočení kriticky nemocného s ALI/ARDS do pronáční polohy může ovlivnit hemodynamiku, metabolismus a energetickou bilanci hepatosplachnické oblasti.

- II. U kontinuálních metod náhrady funkce ledvin zhodnotit vliv:
 - a. heparinového proplachu a regionální citrátové antikoagulace na trombogenitu a biokompatibilitu mimotělního okruhu.
 - b. metodou navozeného snížení tělesné teploty na parametry hemodynamiky, kinetiky kyslíku a energetické bilance v oblasti hepatosplachnického regionu.

3. LEGÁLNÍ A ETICKÉ ASPEKTY STUDIÍ

Experimentální práce byly provedeny v souladu se závaznými doporučeními pro práci s laboratorními zvířaty a schváleny etickou komisí. Klinické studie byly schváleny etickou komisí FN Plzeň.

4. METODOLOGICKÉ ASPEKTY STUDIÍ

Studijní protokoly a použité metodiky jsou detailně popsány v příložených originálních publikacích. Proto tato sekce stručně charakterizuje jen nejdůležitější aspekty vybraných metod.

6.1.1. Experimentální část:

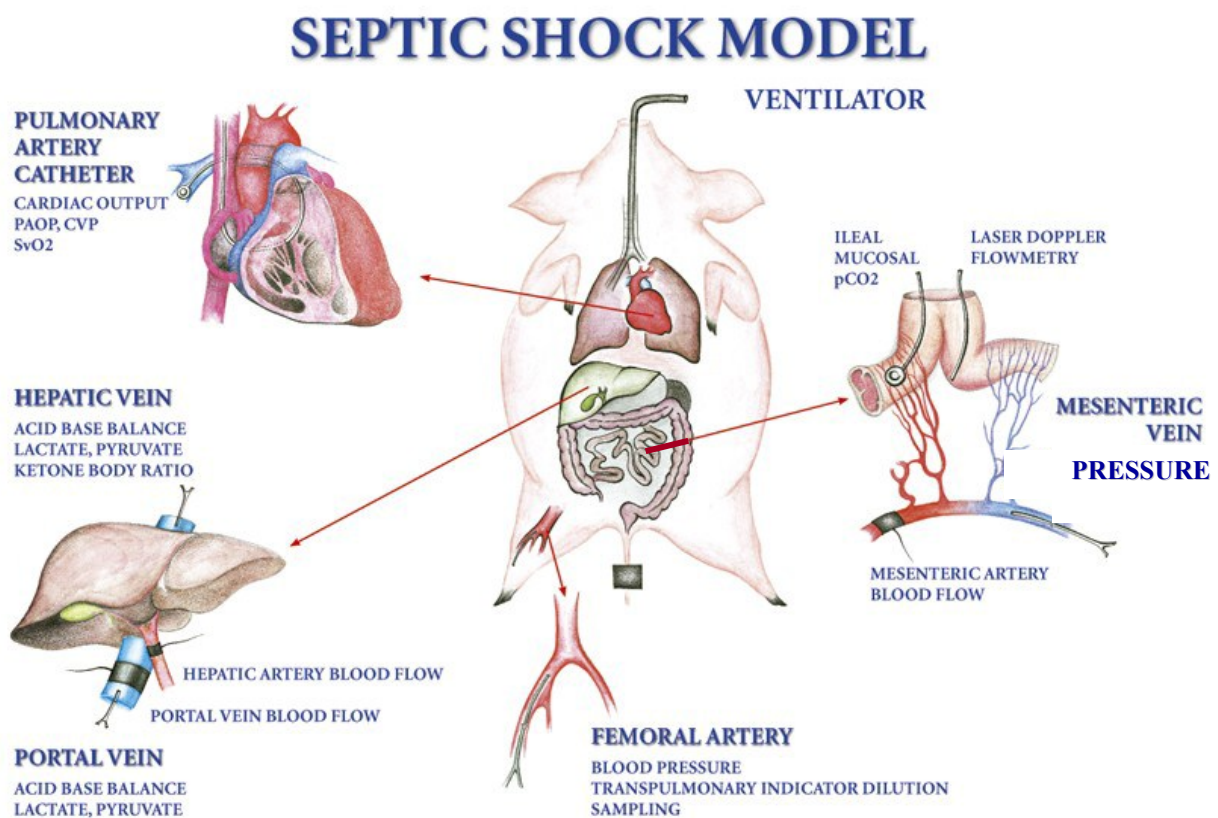
Zvířecí model:

použitý experimentální model byl vybrán tak, aby byl klinicky maximálně relevantní- tzn. aby co nejvíce imitoval aspekty sepse u lidí a splnil kritéria tak, jak bylo definováno Finkem (41). Vlastnosti našeho modelu zahrnují: (1) použití velkých zvířat, jejichž anatomické, fyziologické a metabolické parametry se co nejvíce blíží člověku (byla použita anestetizovaná selata) (2) použití velkých objemů tekutin ke korekci intravaskulární náplně s cílem vyloučení hypovolémie, která by mohla negativně ovlivnit hemodynamické a metabolické parametry (3) dosažení pro sepsi typické hyperdynamické cirkulace charakterizované zvýšením minutového srdečního výdeje a snížením systémové vaskulární rezistence (4) poruchy mikrocirkulace (5) rozvoj multiorgánové dysfunkce a (6) poruchy energetického metabolismu. Navíc model

s využitím selat umožnil nekomplikovaný operační přístup ke zkoumaným orgánům a k zavedení metod nutných k monitoraci parametrů hemodynamiky.

Po několikahodinové pooperační stabilizaci byla sepse navozena a udržována kontinuální nitrožilní infúzí živých bakterií (*Pseudomonas aeruginosa*). Kompletní model je zobrazen na schématu.

Schéma uspořádání experimentu:



Monitorace parametrů globální/regionální hemodynamiky a mikrocirkulace:

Globální hemodynamika byla sledována za pomoci plicnicového a arteriálního katétru (minutový srdeční výdej, tlaky ve velkém i malém oběhu a z nich vyplývající proměnné).

Parametry regionální cirkulace (průtok a. mesenterica superior, a. hepatica a v. portae) byly měřeny na cévách naloženými ultrazvukovými průtokovými sondami využívajícími Dopplerovský princip.

Mikrocirkulace:

Průtok krve mikrocirkulací sliznice ilea byl sledován za pomoci laser Dopplerometrické sondy zavedené do jednoho z lumen dvouhlavňové ileostomie. K monitoraci slizničního PCO_2 (PiCO_2) byla použita intestinální tonometrie. PiCO_2 je považován za index střevní slizniční perfúze, oxygenace a/nebo buněčné energetické rovnováhy (42).

6.1.2. Klinická část

V klinických studiích zabývajících se vlivem perfúzního tlaku, enterální výživy, pronační polohy a CVVH indukované hypotermie na hemodynamiku a energetickou rovnováhu hepatosplanchniku byly získávány následující údaje:

Systémová hemodynamika:

Tlaky ve velkém, malém krevním oběhu a srdeční výdej byly měřeny za pomoci standardního arteriálního a plicnicového termodilučního katétru.

Hemodynamika hepatosplanchniku:

Pod kontrolou ultrazvuku byl cestou pravé vnitřní jugulární žíly zaveden do jaterní žíly angiografický katétr. Stanovení krevního průtoku hepatosplanchnickou oblastí bylo provedeno za pomoci kontinuální infúze indocyaninové zeleně. Použití této techniky bylo u kriticky nemocných detailně popsáno (43).

Měření systémové výměny kyslíku a výměny kyslíku v hepatosplanchniku:

Byly stanovovány plyny v krvi arteriální, smíšené venózní a v krvi z jaterní žíly. Systémová i regionální dodávka a spotřeba kyslíku byla pak stanoveny na základě výpočtu dle standardních vzorců. Energetická bilance žaludeční mukózy byla sledována za pomoci automatické vzduchové tonometrie.

Metabolické parametry systémové a regionální:

Při každém sběru dat byla stanovována acidobazická rovnováha v krvi arteriální, smíšené a v krvi z jaterní žíly, měřen poměr spektrofotometricky laktát/pyruvát v krvi arteriální a krvi z jaterní žíly jako ukazatel cytozolického redoxního stavu. Dále byla kontinuálně prováděna nepřímá kalorimetrie ukazující spotřebu kyslíku a produkci oxidu uhličitého.

Ve studiích zabývajících se biokompatibilitou a trombogenitou RRT jsme sledovali především parametry:

- aktivace koagulace: komplexy trombin-antitrombin, aPTT a počet trombocytů
- aktivace destiček: beta-tromboglobulin a destičkový faktor-4
- aktivace fibrinolýzy: D-dimery
- aktivace komplementu: C5a anafylatoxin
- koncentrace heparinu

Aby byl vyloučen vliv adsorpce ukazatele na membránu dialyzátoru či jeho ztráty do ultrafiltrátu, byla provedena stanovení nejen z krve před dialyzátorem (tj. z krve nemocného) ale i za dialyzátorem a vybrané parametry byly sledovány i v ultrafiltrátu (heparin, komplexy trombin-antitrombinu, beta-tromboglobulin, D-dimery a C5a).

5. SOUHRN PRACÍ

Tato stať je stručným souhrnem realizovaných studií. Podrobnosti týkající se jejich metodiky a podrobné diskuze lze v plném znění nalézt v příložených publikacích.

(I.)

Manipulace s perfúzním tlakem v experimentální sepsi: vliv na střevní hemodynamiku

Cíl: V experimentální studii zjistit, zda za podmínek tzv. „normotenzní“ hyperdynamické sepse (tj. s MAP \geq 65 mmHg) noradrenalinem navozené zvýšení perfúzního tlaku (s cílem přiblížit se preseptické hodnotě) může ovlivnit krevní zásobení střeva- a to jednak na úrovni regionálního průtoku krve a jednak na úrovni střevní slizniční mikrocirkulace.

Metody: Devíti selatům byla kontinuálním intravenózním podáním *Pseudomonas aeruginosa* (PSAE) indukována hyperdynamická sepse tak, aby došlo k významnému poklesu středního arteriálního tlaku (MAP), ale zároveň aby tento tlak nepoklesl pod 65 mmHg. Ke zvýšení MAP byl použit noradrenalin s cílem zvýšit jeho hodnotu o 10-15%. Před zvýšením MAP, 60 minut po jeho zvýšení a následně 60 minut po vypnutí noradrenalinu byly sledovány tyto proměnné: globální hemodynamika, průtok krve horní mezenterickou tepnou, mikrocirkulace střevní sliznice a rozdíl mezi PCO₂ střevní sliznice a ve vydechovaném vzduchu.

Výsledky: během 12 hodin infúze PSAE došlo u všech zvířat k rozvoji hyperdynamické sepse se signifikantním poklesem MAP. Přestože průtok krve horní mezenterickou tepnou zůstal nezměněn, vedlo podání bakterií k signifikantnímu zhoršení střevní slizniční mikrocirkulace, které bylo spojeno s progresivním nárůstem PCO₂ rozdílu. Zvýšení perfúzního tlaku noradrenalinem nevedlo ke změně průtoku krve horní mezenterickou tepnou ani ke změně

v jeho podílu na minutovém srdečním výdeji. Stejně tak noradrenalin nezpůsobil změny v oblasti střevní mikrocirkulace a PCO_2 rozdílu.

Závěr: Naše výsledky ukazují, že dosažení tzv. „lepšího“ perfúzního tlaku, tak aby se MAP blížil normální preseptické hodnotě, nevede ke zlepšení mezenterické perfúze ani střevní slizniční mikrocirkulace.

Diskuze: Ačkoliv zvýšení perfúzního tlaku střevní cirkulaci nezlepšilo, tak tato manipulace nebyla ani spojena se zhoršením sledovaných proměnných. Toto zjištění může mít důležité klinické souvislosti: např. ledviny mohou mít autoregulační práh výše než ostatní orgány (dle některých autorů MAP až okolo 80 mmHg) (12). Navíc někteří klinici mají tendenci používat vyšší perfúzní tlaky u jedinců s pokročilou arteriosklerózou či anamnézou významné arteriální hypertenze, protože takoví nemocní mohou mít posunut autoregulační práh výše ve srovnání s jinak zdravými jedinci. Na druhou stranu však může být relevantní obava, že právě dosahování těchto vyšších hodnot krevního tlaku za cenu vyšší dávky noradrenalinu by mohlo negativně ovlivnit mikrocirkulaci jiných orgánů. Dle našich výsledků se ale zdá, že k negativnímu ovlivnění mikrocirkulace střevní sliznice a základních parametrů jejího metabolismu nedochází. Je ale třeba zmínit některé limitace této studie. Za první, použití katecholaminů či manipulace s jejich dávkou mohou mít kromě cirkulačního též významný metabolický efekt (44). Přestože jsme k posouzení energetické rovnováhy střevní sliznice použili rozdíl mezi vydechovaným pCO_2 a pCO_2 střevní mukózy, je tento ukazatel pouze hrubou informací o metabolickém stavu. Aby bylo možné provést definitivní závěry a z nich vyvodit doporučení, bylo by nutné mít k dispozici další a podrobnější metabolická data. Za druhé, přestože náš model velmi dobře napodoboval lidskou hyperdynamickou sepsi, byla vlastní intervence noradrenalinem z klinického pohledu relativně krátká. Proto nemůžeme spolehlivě vyloučit, že by dlouhodobé podávání noradrenalinu mohlo vést k poněkud odlišným výsledkům. Za třetí, protože byl nárůst v MAP 9 mmHg, nelze se též vyjádřit, jaký

efekt by mělo event. zvýšení tlaku ještě o vyšší hodnotu. Je si též třeba uvědomit, že námi získané výsledky se týkají pouze noradrenalinu a že je nelze automaticky extrapolovat na jiné vazopresory. Na závěr je třeba zdůraznit, že experimentální zvířata byla mladá a zdravá. Proto nemohou být naše výsledky automaticky extrapolovány na staré pacienty s těžkou generalizovanou aterosklerózou či anamnézou významné arteriální hypertenze.

(II.)

Průtok krve játry za septických a neseptických podmínek: vliv změn perfúzního tlaku.

Tato studie již byla dokončena a manuskript je připraven k odeslání (přikládáme v přílohách).

Cíl: V experimentální studii zjistit, zda noradrenalinem navozené zvýšení perfúzního tlaku může ovlivnit krevní průtok játry. Zjistit, zda změny perfúzního tlaku mají rozdílný vliv za podmínek tzv. „normotenzní“ hyperdynamické sepse (tj. s MAP \geq 65 mmHg) a za podmínek neseptických.

Metody: Osmi selatům byly operačně implantovány ultrazvukové snímače průtoku krve na jaterní tepnu a portální žílu. Následně byl titrována kontinuální infúze noradrenalinu s cílem zvýšit střední arteriální tlak o 10-15%. Před zvýšením MAP, 60 minut po jeho zvýšení a následně 60 minut po vypnutí noradrenalinu byly sledovány tyto proměnné: celkový průtok krve játry, průtok krve a. hepatica a průtok krve v. portae. Po stabilizaci, která následovala po vypnutí noradrenalinu byla kontinuálním intravenózním podáním *Pseudomonas aeruginosa* (PSAE) indukována hyperdynamická sepe tak, aby došlo k významnému poklesu s MAP, ale zároveň aby tento tlak nepoklesl pod 65 mmHg. Po rozvinutí sepse byl opět podán noradrenalin tak, aby došlo ke zvýšení MAP o 10-15% (aby se MAP přiblížil preseptické hodnotě). Před zvýšením MAP, 60 minut po jeho zvýšení a následně 60 minut po vypnutí

noradrenalinu byly znovu sledovány globální hemodynamika, celkový průtok krve játry, průtok krve a. hepatica a průtok krve v. portae.

Výsledky: U neseptických zvířat vedlo podání noradrenalinu k signifikantnímu zvýšení jak MAP tak srdečního výdeje. Nárůst těchto proměnných ale nebyl následován vzestupem průtoku jaterní tepnou a žilou, tím pádem nedošlo ani ke změně celkového průtoku krve játry. Podíl průtoku krve játry na minutovém srdečním výdeji se tedy snížil. Po podání PSAE došlo u všech zvířat k rozvoji hyperdynamické sepse se signifikantním nárůstem minutového srdečního výdeje a signifikantním poklesem systémové vaskulární rezistence. I přes nárůst srdečního výdeje došlo k signifikantnímu poklesu středního arteriálního tlaku. Přestože podání noradrenalinu vedlo k signifikantnímu zvýšení MAP a dalšímu signifikantnímu zvýšení srdečního výdeje, tak průtok krve játry se signifikantně nezměnil a ani nedošlo ke změně jeho podílu na minutovém srdečním výdeji.

Závěr: U neseptických zvířat nevede zvýšení MAP za pomoci noradrenalinu ke zvýšení průtoku krve játry, naopak, vzhledem ke zvýšení minutového srdečního výdeje dochází ke snížení podílu průtoku krve játry na minutovém srdečním výdeji. Vysvětlením pro tuto skutečnost by měla být redistribuce krevního průtoku do jiných orgánových oblastí. Zvýšení perfúzního tlaku o 10-15% v sepsi nevedlo k ovlivnění průtoku krve játry ani jeho podílu na minutovém srdečním výdeji. Na podkladě našich výsledků se domníváme, že perfúze jater není tlakově dependentní v rozsahu MAP 65-95 mmHg.

Diskuze: Pokud je nám známo, tak jsme byli první, kteří testovali změny perfúze jater (a jejích komponent) v závislosti na perfúzním tlaku, přičemž jeho změny se pohybovali v rozsahu tlaků, které by měly být vyšší než předpokládaný autoregulační práh. Protože vyšetřování změn průtoku jater je z anatomických důvodů v humánní medicíně velmi obtížné, zvolili jsem pro účely této studie zvířecí model. Přestože by se mohla objevit námitka, proč byla provedena manipulace s perfúzní tlakem u zvířat, která nebyla septická (a tedy bez

hypotenze), domníváme se, že takový model dobře simuluje klinickou situaci, při které je noradrenalinem zvyšován perfúzní tlak například z důvodu otoku mozku. Navíc s ohledem na sepsí indukované narušení vazoregulace, je možné, že se změny perfúze jater mohou po manipulaci s tlakem za septických okolností chovat jinak než za neseptických. U neseptických zvířat byl nárůst perfúzního tlaku doprovázen nárůstem srdečního výdeje, přičemž došlo k poklesu podílu průtoku krve játry na minutovém srdečním výdeji. Toto zjištění koreluje s výsledky jiných studií, dle kterých podání noradrenalinu vedlo ke snížení celkového průtoku játry se zvýšením průtoku srdcem (45) a snížení průtoku mezenterickou tepnou (46). U septických zvířat jsme zjistili, že zvýšení perfúzního tlaku nevedlo ke změně ani celkového průtoku játry ani jeho komponent, nedošlo též ke změně jejich podílu na minutovém srdečním výdeji. Domníváme se tedy, že manipulace s krevním tlakem byla provedena v autoregulačním rozsahu. Tento výsledek je v soulasu s výsledkem studie (20), ve které byla manipulace s perfúzní tlakem provedena u septických potkanů v několika krocích, kdy první vzestup tlaku byl navozen z MAP 52 mmHg, což je jasně pod autoregulační prahem a tento vzestup tlaku byl provázen vzestupem průtoku portální žilou. Další vzestup tlaku z 65 mmHg byl již stran nárůstu průtoku krve portou negativní. Je třeba i upozornit na limitace naší studie, které se shodují limitacemi uvedenými v předchozí diskuzi studie zabývající se manipulací s MAP a jejím vlivem na perfúzi střeva.

Manipulace s tkáňovým perfúzním tlakem u nemocných v septickém šoku: vliv na hemodynamiku a energetický metabolismus hepatosplanchnického systému.

Cíl: Ověřit u nemocných v septickém šoku vliv dvou různých úrovní středního arteriálního tlaku (65 a 85 mmHg), dosažených titrováním noradrenalinu, na makro- a mikrocirkulaci a energetický metabolismus hepatosplanchnické oblasti.

Metody: Pacientům splňujícím kritéria septického šoku je nejdříve dávka noradrenalinu upravena tak, aby bylo dosaženo MAP 65 mmHg. Po 60 minutách stabilního stavu je provedeno první měření. Následně je dávka noradrenalinu postupně upravena tak, aby bylo dosaženo středního arteriálního tlaku 85 mmHg. Po uběhnutí dalších 60 minut hemodynamicky stabilního stavu je provedena druhá sada měření. Nakonec je dávka noradrenalinu postupně upravena tak, aby bylo během 30 minut znovu dosaženo středního arteriálního tlaku 65 mmHg. Pak po dalších 60 minutách hemodynamicky stabilního stavu je proveden poslední sběr dat. Při každém sběru dat jsou měřeny tyto proměnné: systémová hemodynamika; průtok krve hepatosplanchnikem (kontinuální infúze indocyaninové zeleně); energetická bilance žaludeční mukózy (automatické vzduchová tonometrie); systémová výměna kyslíku a výměna kyslíku v hepatosplanchniku; metabolické parametry systémové a regionální (acidobazická rovnováha, poměr laktát/pyruvát, poměr acetoacetát/ β -hydroxybutyrát); systémová spotřeba kyslíku a produkce oxidu uhličitého (nepřímá kalorimetrie).

Výsledky: Klinická studie, týkající se manipulace ze středním arteriálním tlakem u septických pacientů a jejího vlivu na perfúzi hepatosplanchnické oblasti, nebyla zatím kompletně dokončena. Dosud bylo vyšetřeno 5 nemocných.

Při předběžném zhodnocení dosud získaných individuálních výsledků jsme zatím zjistili, že zvýšení středního arteriálního tlaku z hodnoty 65 mmHg na hodnotu 85 mmHg dosažené za pomoci zvýšení dávky noradrenalinu u pacientů v septickém šoku nevede k ovlivnění minutového srdečního výdeje (CI 2,5-2,6-2,6 l/min/m²) ani neovlivňuje plicní tlaky obou srdečních komor (PAOP 16-17-14 mmHg, CVP 14-13-13 mmHg) ani střední arteriální tlak v plicnici (25-27-24 mmHg). Došlo k významnému zvýšení systémové cévní rezistence (1790-2431-1980 dyn sec m²/cm⁵), plicní cévní rezistence zůstala neovlivněna (311-323-330 dyn sec m²/cm⁵). Zvýšení perfúzního tlaku neovlivnilo průtok krve hepatosplanchnickou

oblastí (0,92-0,84-0,78 l/min/m²) ani podíl tohoto průtoku na minutovém srdečním výdeji. Z parametrů, které vypovídají o energetické rovnováze této oblasti, je dosud k dispozici rozdíl mezi arteriálním pCO₂ a pCO₂ gastrické mukózy, ve kterém též nedošlo k signifikantním změnám (1-0,4-0,9 kPa). Ostatní parametry energetického metabolismu (laktát a pyruvát z tepenné krve a krve z jaterní žíly, acetoacetát a betahydroxybutyrát z krve z jaterní žíly) dosud nebyly stanoveny, neboť vzorky krve jsou dosud zamražené a měření budou provedena až u všech pacientů najednou po ukončení studie. Proto se k efektu zvyšování dávky noradrenalinu na energetický metabolismus zatím nelze definitivně vyjádřit. Zvýšení středního arteriálního tlaku ale vedlo ke zvýšení hodinové diurézy (60-100-90 ml/h). Tento výsledek je v souladu s výsledky jiných studií (13,46,15).

(III.)

Vliv podávání enterální výživy na hemodynamiku a energetický stav hepatosplanchniku.

Cíl: Zhodnotit u nemocných v těžké sepsi/septickém šoku vliv post-pyloricky podávané nutriční na: hemodynamiku hepatosplanchniku, celkový energetický metabolismus a energetickou rovnováhu žaludeční sliznice.

Metody: Deseti hemodynamicky stabilizovaným septickým pacientům byla kontinuálně postpyloricky podána hypokalorická enterální výživa (EN). Před jejím podáním, 120 minut po jejím podání a 120 minut po přerušení jejího podávání byly sledovány tyto parametry: systémová hemodynamika; průtok krve hepatosplanchnikem (kontinuální infúze indocyaninové zeleně); energetická bilance žaludeční sliznice (automatické vzduchová tonometrie); systémová výměna kyslíku a výměna kyslíku v hepatosplanchniku; metabolické parametry systémové a regionální (acidobazická rovnováha, poměr laktát/pyruvát); systémová spotřeba kyslíku a produkce oxidu uhličitého (nepřímá kalorimetrie).

Výsledky: Během podání EN zůstal MAP stabilní, přičemž došlo k signifikantnímu nárůstu minutového srdečního výdeje a k signifikantnímu poklesu systémové vaskulární rezistence. Souběžně s nárůstem minutového srdečního výdeje došlo k signifikantnímu nárůstu průtoku krve hepatosplanchnickou oblastí. V jaterní žilní krvi nedošlo ke změnám pH, poměru laktát/pyruvát a v extrakci kyslíku, nedošlo též ke změně žaludeční pCO₂ difference.

Závěr: Zahájení EN vede k paralelnímu zvýšení srdečního výdeje i průtoku krve hepatosplanchnickou oblastí. Podání EN nebylo spojeno u septických nemocných s narušením energetického a kyslíkového metabolismu hepatosplanchnického regionu ani s narušením energetické rovnováhy na úrovni žaludeční sliznice.

Diskuze: U nemocných v těžké sepsi s nutností podpory oběhu vazopresorem je často se zahájením časně EN váháno. Z našich výsledků ale usuzujeme, že podání enterální výživy je u těchto nemocných bezpečné – minimálně u těch, kteří nepotřebují k podpoře oběhu velkou dávku noradrenalinu. Pokud vezmeme v potaz, že časně zahájení EN má pravděpodobně pro nemocné jiné příznivé efekty (24), domníváme se, že naše studie může mít důležité důsledky pro běžnou klinickou praxi.

Přestože jsou naše výsledky slibné, jejich plošná klinická aplikace má ale několik limitací: (1) většina pacientů zařazených ve studii potřebovala k podpoře oběhu relativně nízkou dávku noradrenalinu. Nelze tedy jednoznačně predikovat, jaká by byla tolerance EN u nemocných, kteří by byli v septickém šoku s nutností podání vysokých dávek vazopresoru. (2) dávka EN ve studii podaná byla hypokalorická (tzn. nedosahující předpokládané energetické potřeby nemocného). Podání výživy v izokalorické dávce by teoreticky mohlo mít jiný, než námi pozorovaný efekt. (3) Design naší studie neumožňoval sledovat efekt EN v dlouhodobém horizontu (dny). Proto námi pozorované „akutní“ efekty EN nelze automaticky extrapolovat na prolongované podávání EN. Z těchto důvodů je třeba naše výsledky dále potvrdit ve studiích, jejichž cílem bude i odpovědět na tyto otázky.

(IV.)

Vliv pronační polohy na hemodynamiku a energetickou rovnováhu hepatosplachniku.

Cíle: Ověřit, jaký má vliv otočení kriticky nemocného s ALI/ARDS do pronační polohy na hemodynamiku, metabolismus a energetickou bilanci hepatosplachnické oblasti.

Metody: Byly sledovány tyto proměnné: globální hemodynamika; nitrobřišní tlak; průtok krve hepatosplachnikem (kontinuální infúze indocyaninové zeleně); energetická bilance žaludeční mukózy (automatické vzduchová tonometrie); systémová výměna kyslíku a výměna kyslíku v hepatosplachniku; metabolické parametry systémové a regionální (acidobazická rovnováha, laktát). První měření byla provedena nejdříve v supinační poloze, druhá měření po 90 minutách uvedení nemocného do pronační polohy a poslední měření po 90 minutách znovuuvedení nemocného do supinační polohy.

Výsledky: Pronační poloha nevedla ke změnám ani v globální ani v regionální (hepatosplachnické) hemodynamice. Během studie nedošlo též ke změnám v nitrobřišním tlaku, v energetické rovnováze žaludeční sliznice a v jaterní funkci (dokumentované nezměněným rozdílem $p\text{CO}_2$ žaludeční sliznice, stabilním odstraňováním laktátu a extrakcí indocyaninové zeleně).

Závěr: Pronační poloha u pacientů s ALI nekompromituje ani perfúzi hepatosplachnické oblasti ani energetickou rovnováhu žaludeční sliznice.

Diskuze: Důležitými faktory, které mohou průtok krve hepatosplachnickou oblastí významně ovlivnit, jsou zvýšení nitrobřišního tlaku (IAP) a změny v globální hemodynamice (minutový srdeční výdej, perfúzní tlak) (47,48). A právě uvedení nemocného do pronační polohy může k těmto změnám přispět. Přestože lze v tomto směru naše pacienty považovat za rizikové (u 5 z 11 byla nutná podpora oběhu noradrenalinem), tyto nežádoucí efekty jsme

v naší studii nepozorovali (dokumentujeme stabilními IAP a hemodynamikou) a tak můžeme jejich vliv vyloučit. Je však třeba zdůraznit, že do naší studie byli zařazeni pouze nemocní s nechirurgickou povahou onemocnění a bez zjevných známek nitrobřišní hypertenze. Proto tč. nelze s jistotou odpovědět na otázku, zda nemocní po nitrobřišním operačním výkonu, nemocní s intraabdominální sepsí či nemocní s již preexistující intraabdominální hypertenzí nemohou na pronaci reagovat jiným způsobem. Z našich výsledků tedy soudíme, že z pohledu hepatosplanchnické oblasti lze považovat proceduru uvedení nemocného do pronační polohy za bezpečnou za podmínek, že po otočení nemocného do pronační polohy zůstanou IAP a srdeční výdej stabilní.

(V.)

Vliv heparinového proplachu na biokompatibilitu kontinuální veno-venozní hemodiafiltrace.

Cíle: Popsat hemostázu u kriticky nemocných indikovaných k léčbě kontinuální náhradou funkce ledvin (CRRT). Zhodnotit, zda u těchto nemocných má provedení proplachu mimotělního okruhu heparinem před procedurou smysl či ne.

Metody: U jedenácti kriticky nemocných indikovaných k napojení na CRRT (kontinuální veno-venozní hemodiafiltrace v postdilučním uspořádání) byly před zahájením procedury, v 15., 60. a 360. minutě procedury sledovány parametry trombogenity a aktivace komplementu. Procedury byly provedeny za třech různých situací: i) po proplachu okruhu fyziologickým roztokem s heparinem o koncentraci heparinu 2000 IU/l ii) po proplachu fyziologickým roztokem s heparinem o koncentraci 10000 IU/l a iii) po proplachu pouze fyziologickým roztokem bez přidání heparinu. Kromě rozdílu v proplachu se antikoagulační strategie u jednotlivých procedur nelišila.

Výsledky: Ve srovnání se zdravými jedinci měli pacienti před zahájením procedury signifikantně nižší počet trombocytů, delší aPTT, vyšší D-dimery, betatromboglobulin. Mezi procedurami provedenými s rozdílnými proplachy před zahájením nebyl nalezen rozdíl ani v parametrech trombogenity ani v parametrech aktivace komplementu.

Závěr: Pacienti, kteří jsou indikováni ke kontinuální náhradě funkce ledvin vykazují známky významného narušení hemostázy jak v koagulačních tak fibrinolytických parametrech. Provedení proplachu mimotělního okruhu heparinovým roztokem před zahájením procedury nemá smysl, ať již z pohledu ovlivnění trombogenity okruhu či snížení jeho schopnosti aktivovat komplement.

Diskuse: Na podkladě výsledků soudíme, že provedení heparinového proplachu před napojením na CRRT je zbytečné. V důsledku tohoto byla též změněna praxe na našem pracovišti a dále již provádíme proplach mimotělního okruhu pouze fyziologickým roztokem bez přídavku heparinu. Domníváme se, že taková změna má nezanedbatelný klinický dopad: i) řada kriticky nemocných je oběhově nestabilních a proto jejich napojení na CRRT představuje potenciální riziko dalšího prohloubení oběhové nestability způsobené ztrátou cirkulujícího volumu naplněním mimotělního oběhu krví. Tuto situaci lze řešit provedením napojení nemocného s tzv. „náplní“- tedy předplněným mimotělním okruhem tekutinou, která zbyla po proplachu. Nicméně pokud je použit proplach s heparinem, je třeba počítat s tím, že tímto způsobem bude nemocnému aplikována nezanedbatelná dávka heparinu, která může způsobit nežádoucí poruchu srážlivosti a zvýšit riziko krvácení. Pokud je tedy použit proplach bez přídavku heparinu, je toto riziko eliminováno. ii) Je nepochybné, že vypuštění zbytné procedury redukuje jednak náklady a jednak pracovní nároky na personál.

K metodologii této studie lze namítnout, že byly použity dva různé druhy dialyzačních/hemofiltračních membrán- jednak polyakrylonitrilové (AN69) a jednak polysulfonové, kterou mohou mít biokompatibilitu různé úrovně. Nicméně tento efekt byl

vyložen tím, že každý pacient byl sám sobě kontrolou, byla u něj použita stejná membrána při testování všech druhů proplachů, přičemž nás zajímala především dynamika změn, která se mezi různými membránami nelišila. Lze též namítnout, že výsledky z těchto dvou membrán nelze generalizovat na membrány z jiných materiálů. V tomto směru by mohla vykazovat jiné výsledky membrána AN69ST, která by měla, alespoň dle předběžných výsledků studií, vykazovat větší schopnost adsorbovat na svůj povrch heparin (49). Tato membrána však nebyla v době provádění studie k dispozici. Abychom vyloučili eventuální efekt predilučního uspořádání substituce, byla studie provedena v postdilučním uspořádání. Aby byl vyloučen efekt eventuálních ztrát sledovaných markerů do ultrafiltrátu při použití high-flux membrán, byly tyto též sledovány. Jejich koncentrace v ultrafiltrátu ale nelze považovat za signifikantní, jejich vliv na hodnocení vyšetření tedy byl zanedbatelný.

(VI.)

Vliv regionální citrátové antikoagulace na trombogenitu a biokompatibilitu kontinuální veno-venozní hemodiafiltrace

Cíle: Posoudit hlavní ukazatele trombogenity a biokompatibility mimotělního okruhu u kriticky nemocných léčených kontinuální veno-venozní hemodiafiltrací (CVVHDF) s použitím regionální citrátové antikoagulace.

Metody: U devíti kriticky nemocných s akutním selháním ledvin bylo provedeno jedenáct procedur CVVHDF s použitím citrátové antikoagulace. Byly sledovány parametry aktivace trombocytů, koagulace, fibrinolýzy a aktivace komplementu. Měření byla provedena ze systémové krve před zahájením procedury a pak v 15., 60., 360. a 1440. minutě procedury

z krve před dialyzátorem, za dialyzátorem a z ultrafiltrátu. Jako srovnávací skupina byli ve stejném designu sledováni čtyři nemocní, u nichž bylo provedeno deset procedur vedených s heparinovou antikoagulací.

Výsledky: Adekvátního antikoagulačního účinku bylo dosaženo v mimotělním okruhu u obou metod antikoagulace- jak regionální citrátové tak heparinové. Nicméně pacienti s heparinovou antikoagulací měli ve srovnání s citrátovou antikoagulací signifikantně prodloužené systémové koagulační časy. Mezi dvěma způsoby antikoagulace nebyl pozorován rozdíl v aktivaci komplementu.

Závěr: Ačkoliv podání regionální citrátové antikoagulace vede k účinnému překonání trombogenity mimotělního okruhu, nevede ke kompletní eliminaci aktivace komplementu a přechodné leukopenie v průběhu CVVHDF.

Diskuse: Konzistence výsledků studie by mohla být poněkud zpochybněna, protože byly použity dva typy membrán- polyakrylonitril AN69 a polysulfon, navíc vzhledem k tomu, že se jednalo o membrány od různých výrobců nebyl jejich povrch identický. Takže lze namítnout, že rozdílné materiály membrán a jejich velikost mohou vést k rozdílným úrovním aktivace kaskády koagulace i komplementu (AN69 je schopna komplement adsorbovat) (28). Nicméně když jsme provedli srovnání ukazatelů trombogenity pro oba typy membrán, byly tyto srovnatelné. Naše studie jednoznačně prokázala, že regionální citrátová antikoagulace vede efektivně k potlačení krevního srážení v mimotělním okruhu. Tato skutečnost nebyla na rozdíl od jiných studií prokázána pouze klinicky (tzn. posouzením délky funkčnosti mimotělního okruhu do vytvoření sraženiny) ale exaktně na podkladě stanovení citlivých markerů trombogenity. Nepodařilo se potvrdit teoretický předpoklad, že citrátová antikoagulace by měla vést i k potlačení aktivace komplementu - citrátová antikoagulace stejně jako standardní antikoagulace heparinem nedokázala potlačit významný nárůst aktivity C5a po napojení na CRRT, kdy maximum nárůstu bylo pozorováno během první hodiny

procedury. Nelze vyloučit, že k potlačení aktivace komplementu by bylo třeba dosažení ještě nižších koncentrací ionizovaného kalcia v mimotělním okruhu, než je nutné k dosažení antikoagulačního efektu.

(VII.)

Efekt ochlazení navozeného kontinuálního hemofiltrací na globální hemodynamiku a kinetiku kyslíku a energetickou rovnováhu v oblasti hepatosplanchniku

Cíle: Zhodnotit u febrilních septických nemocných indikovaných k napojení na kontinuální veno-venozní hemofiltraci (CVVH) vliv metodou navozené mírné hypotermie na globální hemodynamické parametry, kinetiku kyslíku a energetickou bilanci v oblasti hepatosplanchnického regionu.

Metody: U devíti febrilních septických pacientů byly během CVVH sledovány tyto parametry: globální hemodynamika; v jaterní žíle saturaci hemoglobinu kyslíkem, laktát, pyruvát; rozdíl $p\text{CO}_2$ mezi žaludeční sliznicí a arteriální krví. První měření byla provedena při teplotě tělesného jádra vyšší než $37,5^\circ\text{C}$, druhá po 120 minutách snížení tělesné teploty navozené vypnutím ohříváče na přístroji a třetí po dalších 120 minutách po opětovném zapnutí ohříváče.

Výsledky: Během CVVH došlo k signifikantnímu poklesu teploty tělesného jádra, který byl doprovázen signifikantním vzestupem středního arteriálního tlaku a systémové cévní rezistence. Ochlazení bylo spojeno se signifikantním poklesem srdeční frekvence, srdečního výdeje, systémové dodávky a spotřeby kyslíku. Během ochlazení nedošlo v jaterní žilní krvi ke změně saturace kyslíkem, poměru laktát a pyruvát ani pH. Nezměnila se též splanchnická extrakce kyslíku a rozdíl v tenzi $p\text{CO}_2$ mezi žaludeční sliznicí a arteriální krví.

Závěr: Přestože mírné ochlazení tělesného jádra vede k významným změnám v globální hemodynamice, tak není spojeno se změnami v kyslíkové a energetické rovnováze hepatosplachnické oblasti.

Diskuze: Ochlazení nemocných vedlo k signifikantnímu nárůstu středního arteriálního tlaku, kdy tento nárůst byl způsoben především zvýšením systémové vaskulární rezistence (spojeno s mírným snížením srdečního výdeje a srdeční frekvence se zachovaným tepovým objemem). Muselo tedy alespoň v některých regionech dojít k vazokonstrikci. Tato vazokonstrikce by mohla mít negativní efekt na perfúzi tkání. My jsme však v naší studii prokázali, že během snížení tělesné teploty nedošlo v krvi z jaterní žíly ke změnám saturace hemoglobinu kyslíkem ani k nárůstu poměru laktát/pyruvát, nedošlo též ke změnám energetické rovnováhy v oblasti žaludeční sliznice. Proto lze soudit, že mírné snížení tělesné teploty perfúzi/metabolismus hepatosplachnické oblasti negativně neovlivňuje, naopak může alespoň částečně přispět k oběhové stabilizaci pacientů. Saturaci hemoglobinu kyslíkem v jaterní žíle určují dvě základní proměnné - jednak dodávka kyslíku a jednak spotřeba kyslíku touto oblastí (50). Vzhledem k tomu, že jsme v rámci naší studie nestanovovali průtok krve hepatosplachnikem, nelze se ke skutečnosti, jak byla která z proměnných ovlivněna, vyjádřit. Přesto se ale domníváme, že mírné snížení teploty tělesného jádra není pro perfúzi/metabolismus hepatosplachnické oblasti škodlivé a naopak může alespoň částečně přispět k oběhové stabilizaci nemocných. S ohledem na nárůst systémové cévní rezistence nelze na druhou stranu s jistotou říci, zda-li u nemocných nemohlo dojít ke zhoršení perfúze/metabolismu jiných důležitých regionů, které jsme nesledovali. Navíc intervence v naší studii trvala dvě hodiny- nelze tedy s jistotou odhadnout efekt dlouhodobějšího snížení tělesné teploty. Dále je třeba zvážit skutečnost, že nemocní do naší studie zařazení neměli problémy s minutovým srdečním výdejem- nelze tedy určit, jaké důsledky by měla hypotermie u nemocných v sepsi komplikované syndromem nízkého srdečního výdeje, kdy

by nárůst periferní cévní rezistence mohl vést k dalšímu zhoršení srdečního výdeje. Navíc použití hypotermie často vyžaduje použití event. navýšení sedace (třes atd.), jejíž vedlejší efekty mohou být nežádoucí. Na druhou stranu by mohlo snížení teploty krve v mimotělním okruhu přispět ke zlepšení parametrů biokompatibility a ke snížení potřeby antikoagulancií (51). Tyto skutečnosti ale dosud v klinické praxi ověřeny nebyly.

6. SEZNAM ORIGINÁLNÍCH PUBLIKACÍ PŘÍMO SOUVISEJÍCÍCH S ŘEŠENOU PROBLEMATIKOU

Tato dizertační práce je založena na originálních studiích, na které je odkazováno v textu jejich římskými číslicemi.

- I. Krouzecky A, Matejovic M, Radej J, Rokyta R Jr, Novak I. **Perfusion pressure manipulation in porcine sepsis: effects on intestinal hemodynamics.** *Physiol Res.* 2006;55(5):527-533
- II. Krouzecky A, Matejovic M, Radej J, Novak I. **Liver blood flow under septic and non-septic conditions: effects of norepinephrine induced pressure manipulations.** Manuskript je dokončen a připraven k odeslání.
- III. Rokyta R Jr, Matejovic M, Krouzecky A, Senft V, Trefil L, Novak I. **Post-pyloric enteral nutrition in septic patients: effects on hepato-splanchnic hemodynamics and energy status.** *Intensive Care Med.* 2004;30(4):714-717
- IV. Matejovic M, Rokyta R, Radermacher P, Krouzecky A, Sramek V, Novak I. **Effect of prone position on hepato-splanchnic hemodynamics in acute lung injury.** *Intensive Care Med* 2002;28 (12):1750-1755
- V. Opatrny K Jr, Polanska K, Krouzecky A, Vit L, Novak I, Kasal E. **The effect of heparin rinse on the biocompatibility of continuous veno-venous hemodiafiltration.** *Int J Artif Organs* 2002;25(6):520-528

- VI. Polanska K, Opatrny K Jr, Rokyta R Jr, Krouzecky A, Vit L, Kasal E. **Effect of regional citrate anticoagulation on thrombogenicity and biocompatibility during CVVHDF.** Ren Fail. 2006;28(2):107-118
- VII. Rokyta R Jr, Matejovic M, Krouzecky A, Opatrny K Jr, Ruzicka J, Novak I. **Effects of continuous venovenous haemofiltration-induced cooling on global haemodynamics, splanchnic oxygen and energy balance in critically ill patients.** Nephrol Dial Transplant. 2004;19(3):623-630

7. SEZNAM ORIGINÁLNÍCH PUBLIKACÍ NAVAZUJÍCÍCH NA ŘEŠENOU PROBLEMATIKU

Kroužecký A, Rokyta R jr, Matějovič M, Novák I. **Akutní selhání ledvin u kriticky nemocných a možnosti jeho prevence.** Čas Lék Česk. 2003;142(1):19-23

Novák I, Kroužecký A, Matějovič M, Raděj J. **Akutní renální selhání v rámci multiorgánové dysfunkce/selhání a možnosti jeho léčení.** Postgraduální medicína 2004, 6 (5): 505-508

Rokyta R, Matejovic M, Krouzecky A, Novak I. **Enteral nutrition and hepatosplanchnic region in critically ill patients - friends or foes?** Physiol Res. 2003;52(1):31-37

Matejovic M, Krouzecky A, Martinkova V, Rokyta R Jr, Radej J, Kralova H, Treska V, Radermacher P, Novak I. **Effects of tempol, a free radical scavenger, on long-term hyperdynamic porcine bacteremia.** Crit Care Med. 2005;33(5):1057-1063

Matejovic M, Krouzecky A, Martinkova V, Rokyta R Jr, Kralova H, Treska V, Radermacher P, Novak I. **Selective inducible nitric oxide synthase inhibition during long-term hyperdynamic porcine bacteremia.** Shock. 2004;21(5):458-465

Matejovic M, Krouzecky A, Rokyta R Jr, Radej J, Kralova H, Treska V, Radermacher P, Novak I. **Effects of combining inducible nitric oxide synthase inhibitor and radical scavenger during porcine bacteremia.** Shock. 2007;27(1):61-68

Matejovic M, Krouzecky A, Radej J, Rokyta R Jr, Kralova H, Radermacher P, Novak I. **Coagulation and endothelial dysfunction during longterm hyperdynamic porcine bacteremia - effects of selective inducible nitric oxide synthase inhibition.** Thromb Haemost. 2007;97(2):304-309

Opatrny K Jr, Krouzecky A, Polanska K, Mares J, Tomsu M, Bowry SK, Vienken J. **Does an alteration of dialyzer design and geometry affect biocompatibility parameters?** Hemodial Int. 2006;10(2):201-208

Leverve X, Mustafa I, Novak I, Krouzecky A, Rokyta R, Matejovic M, Ichai C. **Lactate metabolism in acute uremia.** J Ren Nutr. 2005;15(1):58-62

8. PODĚKOVÁNÍ

Experimentální studie byly provedeny v laboratoři centrálního zvěřince LFUK Plzeň.

Klinické studie byly provedeny na JIP I. interní kliniky a na lůžkové stanici ARK LFUK a FN Plzeň.

Rád bych vyjádřil své vřelé díky všem, kteří se podíleli jak na vzniku této dizertační práce tak na jednotlivých studiích. Jedná se především o:

doc. MUDr. Martina Matějoviče, Ph.D., mého školitele, bez kterého bych tuto práci nikdy nerealizoval. Martin Matějovič je nejen vynikající lékař a vědec ale především můj přítel. Svým talentem, neutuchající pracovitostí, cílevědomostí a vědeckou i lidskou čestností mě vždy velmi inspiroval.

prof. MUDr. Karla Opatrného jr., DrSc. (* 4.7.1954 - † 9.3.2006), který mě k lékařskému výzkumu přivedl, seznámil s jeho základy a umožnil mi do programu doktorandského studia vstoupit, přičemž v jeho úvodní části byl mým školitelem. Spolupracovat s prof. Opatrným jr. mi bylo velkou ctí.

kolegy a přátele, jejichž podíl na zrodu jednotlivých studií a trpělivost v době vzniku vlastní dizertace jsou neocenitelné. Jedná se především o MUDr. Ivana Nováka, MUDr. Jaroslava Raděje a doc. MUDr. Richarda Rokytu jr., Ph.D.

Na závěr bych rád vyjádřil své díky a lásku mé manželce Evě a synovi Tomášovi, bez jejichž existence, podpory a trpělivosti by vše ostatní postrádalo smysl.

9. PODPORA PRÁCE

Tato práce byla podpořena:

Grantem IGA č. ND 6989-3: Manipulace s tkáňovým perfúzním tlakem u septického šoku: vliv na hemodynamiku a energetický metabolismus hepatosplanchnického systému,

Grantem IGA č. ND 4004-3: Biokompatibilita kontinuálních mimotělních metod nahrazujících funkci ledvin.

Hlavním výzkumným záměrem č. MSM 0021620819 Náhrada a podpora funkce některých životně důležitých orgánů.

10. REFERENCE

1. Maynard ND, Bihari DJ, Dalton RN, Beale R, Smithies MN, Mason RC. Liver function and splanchnic ischemia in critically ill patients. *Chest* 1997; 111:180-187
2. Aurora RN, Milite F, Carlon G. Preventing renal failure in critically ill patients. *Crit Care Med.* 1999;27(9):2044-5.
3. Vincent JL, Ferreira FL. Multiple organ failure: Clinical syndrom. In *Mechanisms of organ dysfunction in critical illness.* Ewans TW, Fink MP (eds). Springer Berlin 2002. 394-403.
4. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet.* 2005; 365(9457):417-30.
5. Pastor CM, Billiar TR, Losser MR, Payen DM. Liver injury during sepsis. *J Crit Care.* 1995;10(4):183-97.
6. Szabo G, Romics L Jr, Frenzl G. Liver in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Clin Liver Dis.* 2002;6(4):1045-66.
7. Brezis M, Rosen S. Hypoxia of the renal medulla--its implications for disease. *N Engl J Med.* 1995; 9;332(10):647-55.
8. Johnson PC: Autoregulation of blood flow. *Circ Res* 1986; 59: 483-95.

9. Kirchheim HR, Ehmke H, Hackenthal E, Lowe W, Persson P. Autoregulation of renal blood flow, glomerular filtration rate and renin release in conscious dogs. *Pflugers Arch.* 1987;410(4-5):441-9
10. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, Gea-Banacloche J, Keh D, Marshall JC, Parker MM, Ramsay G, Zimmerman JL, Vincent JL, Levy MM: Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2004; 30: 536-555.
11. Terborg C, Schummer W, Albrecht M, Reinhart K, Weiller C, Rother J: Dysfunction of vasomotor reactivity in severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2001;27:1231-4.
12. Bellomo R, Giantomasso DD: Noradrenaline and the kidney: friend or foes? *Crit Care* 2001;5: 294-298.
13. Bellomo R, Kellum JA, Wisniewski SR, Pinsky MR: Effects of norepinephrine on the renal vasculature in normal and endotoxemic dogs. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1186-1192.
14. Di Giantomasso D, May CN, Bellomo R: Norepinephrine and vital organ blood flow during experimental hyperdynamic sepsis. *Intensive Care Med* 2003;29: 1774-1781.

15. Albanese J, Leone M, Garnier F, Bourgoin A, Antonini F, Martin C: Renal effects of norepinephrine in septic and nonseptic patients. *Chest* 2004;126: 534-539.
16. LeDoux D, Astiz ME, Carpati ChM, Rackow EC: Effects of perfusion pressure on tissue perfusion in septic shock. *Crit Care Med* 2000;28: 2729-2732.
17. Bourgoin A, Leone M, Delmas A, Garnier F, Albanese J, Martin C: Increasing mean arterial pressure in patients with septic shock: Effects on oxygen variables and renal function. *Crit Care Med* 2005;33: 780-786.
18. Lautt WW. Mechanism and role of intrinsic regulation of hepatic arterial blood flow: the hepatic arterial buffer response. *Am J Physiol* 1985; 249: G549-556.
19. Ayuse T, Brienza N, Revelly JP, Boitnott JK, Robotham JL. Role of nitric oxide in porcine liver circulation under normal and endotoxemic conditions. *J Appl Physiol*. 1995;78(4):1319-29
20. Treggiari MM, Romand JA, Burgener D, Suter PM, Aneman A: Effect of increasing norepinephrine dosage on regional blood flow in a porcine model of endotoxin shock. *Crit Care Med* 2002;30:1334-1339.
21. Kato M, Naruse S, Takagi T, Shionoya S. Postprandial gastric blood flow in conscious dogs. *Am J Physiol*. 1989;257:G111-7.

22. Takagi T, Naruse S, Shionoya S. Postprandial celiac and superior mesenteric blood flows in conscious dogs. *Am J Physiol.* 1988;255:G522-8.
23. Revelly JP, Tappy L, Berger MM, Gersbach P, Cayeux C, Chiolero R. Early metabolic and splanchnic responses to enteral nutrition in postoperative cardiac surgery patients with circulatory compromise. *Intensive Care Med.* 2001;27(3):540-7.
24. Kreymann KG, Berger MM, Deutz NE, Hiesmayr M, Jolliet P, Kazandjiev G, Nitenberg G, van den Berghe G, Wernerman J; DGEM (German Society for Nutritional Medicine); Ebner C, Hartl W, Heymann C, Spies C; ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition). ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Intensive care. *Clin Nutr.* 2006;25(2):210-23.
25. Tobin A, Kelly W. Prone ventilation--it's time. *Anaesth Intensive Care.* 1999;27(2):194-201.
26. Jolliet P, Bulpa P, Chevrolet JC. Effects of the prone position on gas exchange and hemodynamics in severe acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 1998;26(12):1977-85.
27. Ronco C. Recent evolution of renal replacement therapy in the critically ill patient. *Crit Care.* 2006;10(1):123.
28. Opatrný K Jr. Biokompatibilita dialyzačních membrán. Euroverlag Plzeň s.r.o. III/2000.

29. Oudemans-van Straaten HM, Wester JP, de Pont AC, Schetz MR. Anticoagulation strategies in continuous renal replacement therapy: can the choice be evidence based? *Intensive Care Med.* 2006;32(2):188-202.
30. Davenport A. The coagulation system in the critically ill patient with acute renal failure and the effect of an extracorporeal circuit. *Am J Kidney Dis.* 1997;30(5 Suppl 4):S20-7.
31. van de Wetering J, Westendorp RG, van der Hoeven JG, Stolk B, Feuth JD, Chang PC. Heparin use in continuous renal replacement procedures: the struggle between filter coagulation and patient hemorrhage. *J Am Soc Nephrol.* 1996;7(1):145-50.
32. Opatrny K Jr, Bouda M, Kohoutkova L, Vit L, Sefrna F. A clinical study to assess the effect of heparin in dialyzer rinsing solutions. *Int J Artif Organs.* 1997;20(2):112-8.
33. Gabutti L, Ferrari N, Mombelli G, Keller F, Marone C. The favorable effect of regional citrate anticoagulation on interleukin-1beta release is dissociated from both coagulation and complement activation. *J Nephrol.* 2004;17(6):819-25.
34. Maggiore Q, Pizzarelli F, Dattolo P, Maggiore U, Cerrai T. Cardiovascular stability during haemodialysis, haemofiltration and haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15 Suppl 1:68-73.
35. Daugirdas JT. Pathophysiology of dialysis hypotension: an update. *Am J Kidney Dis.* 2001;38(4 Suppl 4):S11-7.

36. Yagi N, Leblanc M, Sakai K, Wright EJ, Paganini EP. Cooling effect of continuous renal replacement therapy in critically ill patients. *Am J Kidney Dis.* 1998;32(6):1023-30.
37. van Kuijk WH, Luik AJ, de Leeuw PW, van Hooff JP, Nieman FH, Habets HM, Leunissen KM. Vascular reactivity during haemodialysis and isolated ultrafiltration: thermal influences. *Nephrol Dial Transplant.* 1995;10(10):1852-8.
38. van der Sande FM, Kooman JP, Konings CJ, Leunissen KM. Thermal effects and blood pressure response during postdilution hemodiafiltration and hemodialysis: the effect of amount of replacement fluid and dialysate temperature. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12(9):1916-20.
39. Manthous CA, Hall JB, Olson D, Singh M, Chatila W, Pohlman A, Kushner R, Schmidt GA, Wood LD. Effect of cooling on oxygen consumption in febrile critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151(1):10-4.
40. Matamis D, Tsagourias M, Koletsos K, Riggos D, Mavromatidis K, Sombolos K, Bursztein S. Influence of continuous haemofiltration-related hypothermia on haemodynamic variables and gas exchange in septic patients. *Intensive Care Med.* 1994;20(6):431-6
41. Fink MP, Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res.* 1990;49(2):186-96.

42. Uusaro A, Lahtinen P, Parviainen I, Takala J. Gastric mucosal end-tidal PCO₂ difference as a continuous indicator of splanchnic perfusion. *Br J Anaesth.* 2000;85(4):563-9.
43. Uusaro A, Ruokonen E, Takala J. Estimation of splanchnic blood flow by the Fick principle in man and problems in the use of indocyanine green. *Cardiovasc Res.* 1995;30(1):106-12.
44. Träger K, Radermacher P, Leverve X: The adrenergic coin: perfusion and metabolism. *Intensive Care Med* 2003;29:150-153.
45. Priebe HJ, Noldge GF, Armbruster K, Geiger K. Differential effects of dobutamine, dopamine, and noradrenaline on splanchnic haemodynamics and oxygenation in the pig. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1995;39(8):1088-96.
46. Di Giandomasso D, May CN, Bellomo R: Norepinephrine and vital organ blood flow during experimental hyperdynamic sepsis. *Intensive Care Med* 2003;29: 1774-1781.
47. Malbrain ML, Cheatham ML, Kirkpatrick A, Sugrue M, De Waele J, Ivatury R. Abdominal compartment syndrome: it's time to pay attention! *Intensive Care Med.* 2006;32(11):1912-4.
48. Toyota S, Amaki Y. Hemodynamic evaluation of the prone position by transesophageal echocardiography. *J Clin Anesth.* 1998;10(1):32-5.

49. Renaux JL, Thomas M, Crost T, Paris JM. Heparin adsorption on Nephral ST: In vitro/ex vivo results. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: A165
50. Takala J, Jakob SM. Splanchnic perfusion in intensive care patients. *Minerva Anesthesiol.* 2000;66(5):333-6.
51. Otte KE, Jensen PB, Svendsen P, Gram J, Starklint H, Jorgensen KA. Heparin-free hypothermic hemodialysis at 20 degrees C improves biocompatibility. *Blood Purif.* 1997;15(3):200-7.

11. PŘÍLOHA- PRÁCE PUBLIKOVANÉ A PŘIPRAVENÉ K PUBLIKACI

I.

Krouzecky A, Matejovic M, Radej J, Rokyta R Jr, Novak I. **Perfusion pressure manipulation in porcine sepsis: effects on intestinal hemodynamics.** *Physiol Res.* 2006;55(5):527-533