

UNIVERZITA KARLOVA
2. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



**Nové metody in vivo monitorace a ošetření dehiscence střevní
anastomózy na experimentálním modelu**

**New methods of in vivo monitoring and management of colonic
anastomoses leak in experimental study**

Jaroslav Kalvach

Praha, 2023

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu Experimentální chirurgie na Chirurgické klinice 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Ústřední vojenské nemocnice v Praze.

Školitel: prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc.
Chirurgická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Ústřední Vojenské Nemocnice v Praze. U vojenské nemocnice 1200, Praha 6, 169 02

Konzultant:

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady
dne v od
hod. Předsedou komise pro
obhajobu disertační práce byl jmenován: prof. MUDr. Zdeněk Krška, DrSc.
I. chirurgická klinika – břišní, hrudní a úrazové chirurgie 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, Praha 2, 128 08

Děkan fakulty: prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

Tato práce vznikla za podpory grantu Ministerstva obrany projekt: MO 1012.

S disertační prací je možno se seznámit na Oddělení Ph.D. studia děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 (tel. 224 435 836)

Obsah

1. Abstrakt	4
2. Abstract	5
3. Úvod do problematiky	7
4. Hypotézy a cíle disertační práce	8
4.1 Experiment č.1	9
4.1.1. Cíle	9
4.1.2. Hypotéza	9
4.1.3. Materiál a metodika	10
4.1.4. Výsledky	14
4.2. Experiment č.2	17
4.1.1. Cíle	17
4.1.2. Hypotéza	17
4.1.3. Materiál a metodika	17
4.1.4. Výsledky.....	21
5. Diskuze	24
5.1. Experiment č. 1	24
5.2. Experiment č. 2	25
6. Závěr	29
7. Souhrn	30
8. Literatura	33
Přehled publikační činnosti autora	37

Nové metody in vivo monitorace a ošetření dehiscence střevní anastomózy na experimentálním modelu

1. ABSTRAKT

Primárním cílem projektu bylo zhodnotit efektivitu minimálně invazivních technik TAMIS (transanální minimálně invazivní chirurgický přístup) a Overstitch (endoskopický uzávěr) ošetření dehiscence střevní anastomózy na experimentálním modelu. Sekundárním cílem bylo zhodnotit 2 nové metody mikrodialýza (MD) a konfokální laserová endomikroskopie (CLE), pooperační monitorace kolorektální anastomózy.

V první fázi projektu byl vytvořen model dehiscenční kolorektální anastomózy na velkém laboratorním zvířeti. Následně byly v randomizované studii srovnány výše uvedené techniky ošetření dehiscence s přímou chirurgickou suturou a standardním ošetřením v podobě laparotomie s rozpojením anastomózy a vyvedením stomie. Celkem se tedy jednalo o 4 intervenční skupiny a skupinu kontrolní, ve které byla dehiscence ponechána bez léčby.

V rámci sekundárního cíle byl vytvořen model kolorektální anastomózy s možností vyvolání ischemie. Na tomto modelu byla následně zhodnocena účinnost monitorace změn v anastomóze pomocí mikrodializačních čidel umístěných intramurálně a na seróze střeva a pomocí endomikroskopie prováděné v pravidelných intervalech.

V experimentální randomizované studii bylo prokázáno, že transanální ošetření dehiscence pomocí TAMIS a endoskopického uzávěru jsou technicky proveditelné a zaručují vysokou šanci na zhojení. Obě techniky přispěly k signifikantní redukci výskytu nitrobršních infekčních komplikací. Na experimentálním modelu umožňujícím monitorovat perfuzi střevní anastomózy bylo prokázáno, že mikrodialýza a endomikroskopie jsou schopné rychle zachytit hypoperfuzi v místě kolorektální anastomózy a tím časně rozpoznat možné

poruchy hojení vedoucí k dehiscenci. Na základě výsledků projektu byl rovněž vytvořen léčebný postup zvyšující šanci na záchranu dehiscenční anastomózy.

Klíčová slova: střevní anastomóza, dehiscence, monitorace, ošetření, model, zvíře, experiment

New methods of in vivo monitoring and management of colonic anastomoses leak in experimental study

2. ABSTRACT

The primary aim of the project was to assess two different minimally invasive techniques (Transanal minimally invasive surgical approach – TAMIS and endoscopic closure) in the treatment of colorectal anastomosis dehiscence on an experimental model. The secondary aim was to evaluate microdialysis (MD), and confocal laser endomicroscopy (CLE) as novel methods potentially suitable for postoperative monitoring of colo-rectal anastomosis.

In the first step, large animal model of dehiscenent colo-rectal anastomosis was developed. Two novel techniques of dehiscence closure were then compared with conventional surgical repair and laparotomy with anastomotic diversion. Thus 4 intervention groups and one untreated control group were included. Transanal repair using TAMIS and endoscopic closure were technically feasible with high healing rate. Both techniques reduced the incidence of intra-abdominal septic complications compared to control.

With regards to secondary aim, colorectal anastomosis was monitored using MD and CLE before and after the induction of ischaemia. Moreover, intramural and serosal positioning of MD sensors were compared. Both methods revealed

hypoperfusion of anastomosis promptly and were proven as suitable for early detection of impaired healing.

Based on the results of this project, a novel algorithm for management of anastomotic dehiscence was proposed with the aim to increase chance of anastomotic salvage and thus decrease the risk of permanent stoma.

Keywords: anastomosis, anastomotic leak, assessment, treatment, model, animal, experiment

3. ÚVOD

Tématem mé disertační práce je problematika zabývající se závažnou komplikací hojení střevní anastomózy tzv. anastomotickým leakem (AL). Zvláště ohroženou je kolorektální anastomóza po nízké resekci rekta (Mark H. et. al., 2015). AL je spojen se zvýšenou morbiditou, mortalitou, zhoršením onkologických výsledků, zvýšením nákladů na léčbu a v neposlední řadě sníženou kvalitou života (Volk A. et. al., 2011, Thornton M. et. al., 2011, Frye J. et. al., 2009). Je známa celá řada rizikových faktorů AL, z nichž některé jsou preventabilní. Došlo k pokroku v perioperační péči, rozvoji nových chirurgických technik a k dispozici jsou vyspělejší generace staplerů. Přesto některé anastomózy i v dnešní době selžou (Kojanka T. et. al., 2013, Yang S. et. al., 2020). Současné diagnostické metody nejsou obvykle schopné odhalit AL před plným rozvinutím klinických symptomů. Některé AL mohou být navíc klinicky němé. Přestože pozdně diagnostikovaný AL nevyžaduje urgentní chirurgické řešení, může vést k dlouhodobým komplikacím, výraznému zhoršení kvality života nebo potřebě trvalé stomie (Bryant CL. et. al., 2012). Na druhou stranu klinicky významný AL zachycený pozdě, tedy v době plně rozvinuté zánětlivé odpovědi s oběhovou nestabilitou, vyžaduje urgentní řešení, kterým je ve většině případů reoperace s laparotomií, rozpojením anastomózy a vyvedením terminální kolostomie (Phitayakorn R. et. al., 2008). Pozdní management AL je spojen s vysokou morbiditou, mortalitou a u více než poloviny pacientů je stomie trvalá (Nesbakken A. et. al., 2001). V současné době je AL diagnostikován obvykle mezi 5.–8. pooperačním dnem (Yang S. Y. et. al., 2020). Bez ohledu na celkový stav pacienta je při významném AL dehiscenční část anastomózy již retrahována. Záchrana anastomózy je možná jen v omezeném počtu případů (Krarup P. M. et. al., 2014). Cílem proaktivní monitorace a včasné diagnostiky AL je umožnit rychlou, pokud možno minimálně invazivní kontrolu zdroje sepse s ponecháním dehiscenční anastomózy in situ a následně se ihned pokusit o uzávěr defektu.

V poslední době došlo k rozvoji řady technik, jako například NOTES (Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery) nebo TAMIS (Transanal Minimally Invasive Surgery), které je možné potenciálně použít k časnému transanálnímu ošetření dehiscence kolorektální anastomózy (Atallah S. et. al., 2010). V klinické praxi však zatím tyto metody nejsou v této indikaci rutinně využívány.

Z výše uvedeného vyplývá, že otázka časně diagnostiky a způsobu ošetření dehiscence nejsou v klinické praxi zcela dořešené. Hledání řešení těchto otázek naráží v klinické praxi na technické a etické překážky. Experimentální model na druhé straně nabízí standardizované podmínky vhodné nejen k hodnocení nových technik, ale i k jejich nácviku.

4. HYPOTÉZY A CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

V experimentální části jsou prezentovány výsledky dvou studií. První z nich se zabývá monitorací střevní anastomózy pomocí dvou nových metod hodnocení perfuze – mikrodialýza a endomikroskopie. Druhá studie srovnává různé techniky ošetření dehiscenční anastomózy po nízké resekcii rekta. Ani jedna z těchto studií není z mnoha důvodů technicky proveditelná v humánní medicíně, proto byly pro účely projektu využity modely na velkém laboratorním zvířeti.

4.1. Experiment č. 1

Pooperační monitorace střevní anastomózy s pomocí nových metod mikrodializačního čidla a endomikroskopie – experimentální zvířecí studie

4.1.1. Cíle projektu

Hlavním cílem první části projektu bylo zhodnotit, zda jsou dvě nové metody, mikrodialýza (MD) a konfokální laserová endomikroskopie (CLE), vhodné pro pooperační monitoraci kolorektální anastomózy a zda jsou schopné časně zachytit poruchu perfuze v místě anastomózy a tím přispět k časné diagnostice AL. Nezbytnou podmínkou realizace projektu bylo vytvoření modelu ischemické kolorektální anastomózy.

Primárním cílem bylo ověřit, zda MD a CLE jsou schopné časně detekovat poruchy perfuze v oblasti anastomózy.

Sekundárním cílem bylo srovnat, která varianta umístění mikrodializačního čidla v místě střevní anastomózy je efektivnější. Zda umístění na serózu, nebo její intramurální uložení.

V případě CLE bylo sekundárním cílem nalézt objektivní kritéria, která by bylo možné využít při hodnocení ischemických změn v místě střevní anastomózy.

4.1.2. Hypotéza

Obě hodnocené metody jsou schopné detekovat poruchy perfuze v oblasti anastomózy. Tím přispějí k časné diagnostice AL a poskytnou dostatečné terapeutické okno pro jeho ošetření. Umožní tak dosáhnout vyššího počtu zachráněných anastomóz.

4.1.3. Metodika

Projekt probíhal na experimentálním pracovišti Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Liběchově. Se zvířaty bylo po celou dobu zacházeno v souladu s platnými právními předpisy na ochranu zvířat (č. 246/1992, 207/2004) a protokol pokusu byl schválen odbornou komisí na ochranu zvířat Akademie věd ČR. V první části experimentu bylo zařazeno celkem 15 laboratorních setat. Z toho 6 do skupiny MD a 9 do skupiny hodnocené pomocí CLE. Po nezbytné předoperační přípravě byl vytvořen nejprve model střevní anastomózy s následnou ischemií a provedena plánovaná měření.

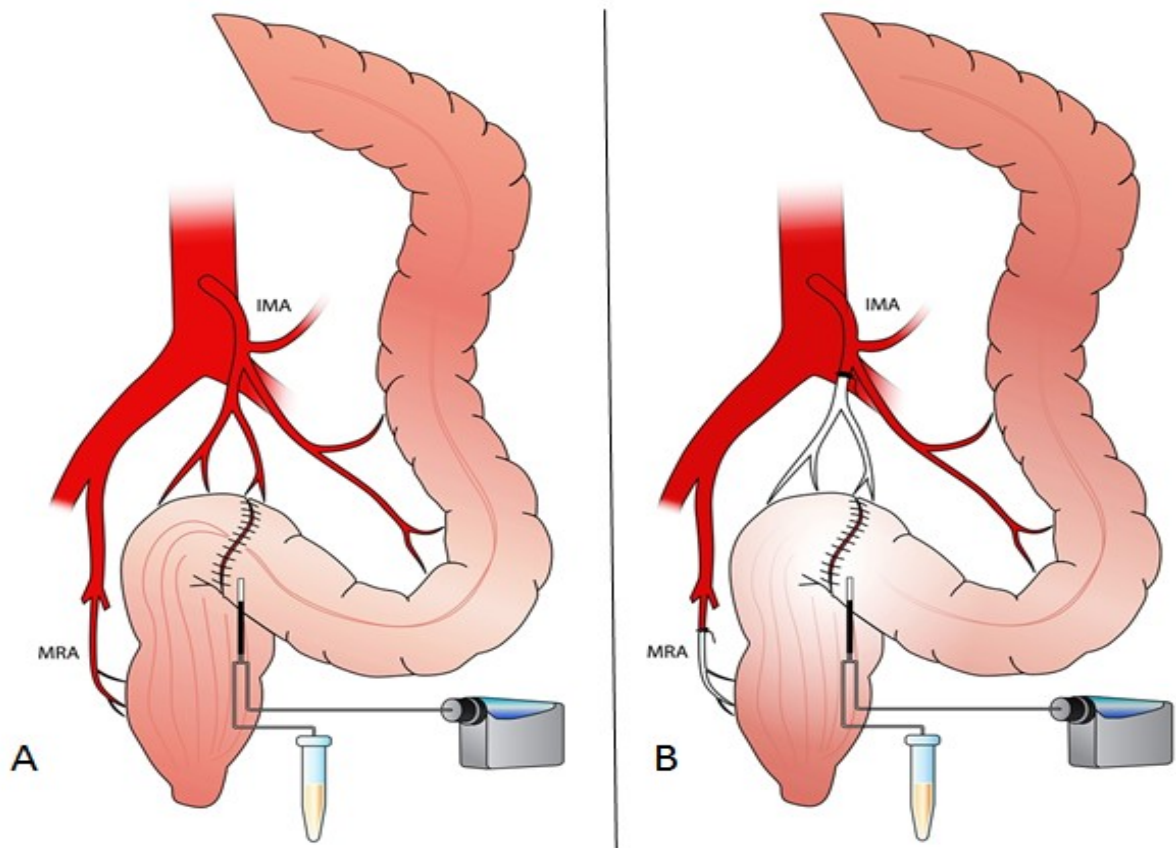
Chirurgický model střevní ischemie

Po nezbytné přípravě byla v celkové anestezii provedena dolní střední laparotomie. Následovala punkce a kanylace močového měchýře k monitoraci diurézy. Poté vyhledání esovité kličky a rekta. Nejprve po obou stranách esovité kličky discize zadního listu peritonea. Poté šetrně ostrou a tupou preparací provedena mobilizace esovité kličky a rekta. Střevo bylo přerušeno v úrovni proximálního rekta s ponecháním intaktního závěsu. Následovala obnova střevní kontinuity. Střevní anastomóza byla konstruována jako ručně šitá, kolorektální anastomóza, koncem ke konci v jedné vrstvě pokračujícím stehem vláknem – Vicryl 3-0 (Ethicon US LLC, OH, USA).

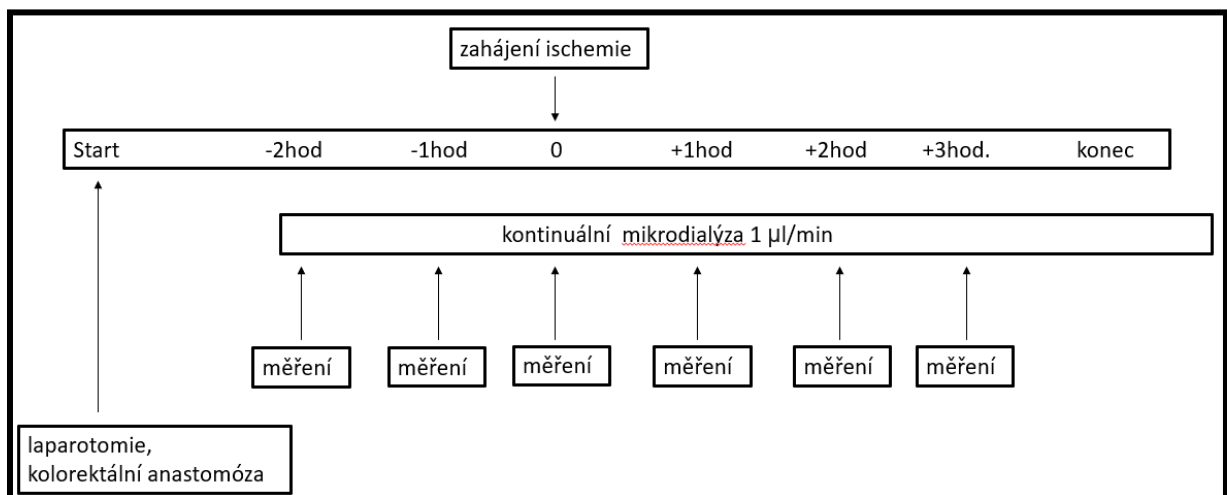
V další části pokusu přišlo na řadu vytvoření modelu ischemie střevní anastomózy. Ischemie bylo dosaženo vyhledáním a podvazem dolní mezenterické arterie a střevo bylo skeletizováno v oblasti anastomózy v rozsahu 4 cm orálním i aborálním směrem. Po dokončení modelu ischemie byla dutina břišní zakryta pomocí sterilních roušek a následovala další plánovaná měření.

Mikrodialýza

Ve skupině sledující účinnost mikrodialýzy bylo zařazeno celkem 6 probandů. K monitoraci prostředí v oblasti anastomózy byl použit mikrodialyzační katétr šířky 0,9 mm s membránou o délce 30 mm (63 MD catheter, 40/30, M Dialysis AB, Švédsko). Po dokončení střevní anastomózy byl jeden katétr přiložen extramurálně na serózu střeva 0,5 cm od okraje anastomózy a fixován k seróze pomocí stehu vláknem Vicryl 3-0 (Ethicon US LLC, OH, USA). Druhý katétr byl zaveden intramurálně opět ve vzdálenosti 0,5 cm od okraje anastomózy a fixován stejným způsobem jako u katétru umístěného na serózu (Obr. č. 1). Oba katétry byly následně připojeny k analyzátoru a proplachovány perfuzním roztokem (T1 peripheralperfusion fluid, M Dialysis AB, Švédsko) rychlostí 1 ul/min. pomocí pumpy (107 MD pump, M Dialysis AB, Švédsko). První 3 měření proběhla à 60 min. na intaktní střevní anastomóze, tedy ještě před indukcí ischemie. Další měření pokračovala zvyklým způsobem i po navození ischemie. Dle plánu byla provedena další 3 měření opět v hodinových intervalech (Obr. č. 2). V dialyzátu byly pomocí analyzátoru (ISCUS flex MD analyzátor, M Dialysis AB, Švédsko) stanovovány hladiny následujících látek: laktát, pyruvát, glukóza a glycerol.



Obr. č. 1 Schéma monitorace kolorektální anastomózy pomocí mikrodialýzy před a po vyvolání ischemie (Ryska O. et al., 2021)



Obr. č. 2 Časový průběh monitorace střevní anastomózy pomocí mikrodialýzy (zdroj: archiv autora)

Konfokální laserová endomikroskopie (CLE)

Ve skupině sledující hodnocení perfuze pomocí metody CLE bylo zařazeno celkem 9 probandů. Ti byli rozděleni do dvou skupin. S intaktní kolorektální anastomózou (n=3) a ischemickou anastomózou (n=6). Po dokončení modelu intaktní a následně ischemické anastomózy byly obě skupiny podrobeny vyšetření pomocí sondy Gastro-Flex UHD (Cellvizio, Mauna Kea Technologies, Paříž, Francie) (Obr. č. 3). Sonda byla zavedena do místa anastomózy pomocí standardního dvoukanálového endoskopu (GIF 2T160; Olympus Medical, Tokio, Japonsko). Samotné vyšetření bylo zahájeno přiložením sondy k místu anastomózy a poté spuštěno snímkování. K analýze obrazu byl použit originální procesor Cellvizio s monitorem (Mauna Kea Technologies, Paříž, Francie). Dvě minuty před zahájením snímkování anastomózy byl podán intravenózně fluorescein (1,0–5,0 ml 10% roztoku). Snímkování proběhlo následně bezprostředně po konstrukci anastomózy a dále ve 30 min. intervalech celkem po dobu 3 hodin. Ve skupině ischemie byla u šesti zvířat po 20 minutách od operace anastomóza ischemizována, a to výše uvedeným způsobem. Skupina s intaktní anastomózou, tedy bez vyvolání ischemie, kde byla zařazena 3 zvířata, sloužila jako kontrolní skupina. Snímky byly následně hodnoceny na přítomnost ischemických změn – intenzita obrazu, charakter intersticia, vzhled buněk, větvení krypt a okraj epitelu. Míra edému byla objektivně hodnocena pomocí kalkulace počtu příčně zachycených krypt na jedno zorné pole. Počítáno bylo vždy minimálně 15 zorných polí z každého skenu. Následně byly srovnány hodnoty získané ze sledování normální a ischemické anastomózy.

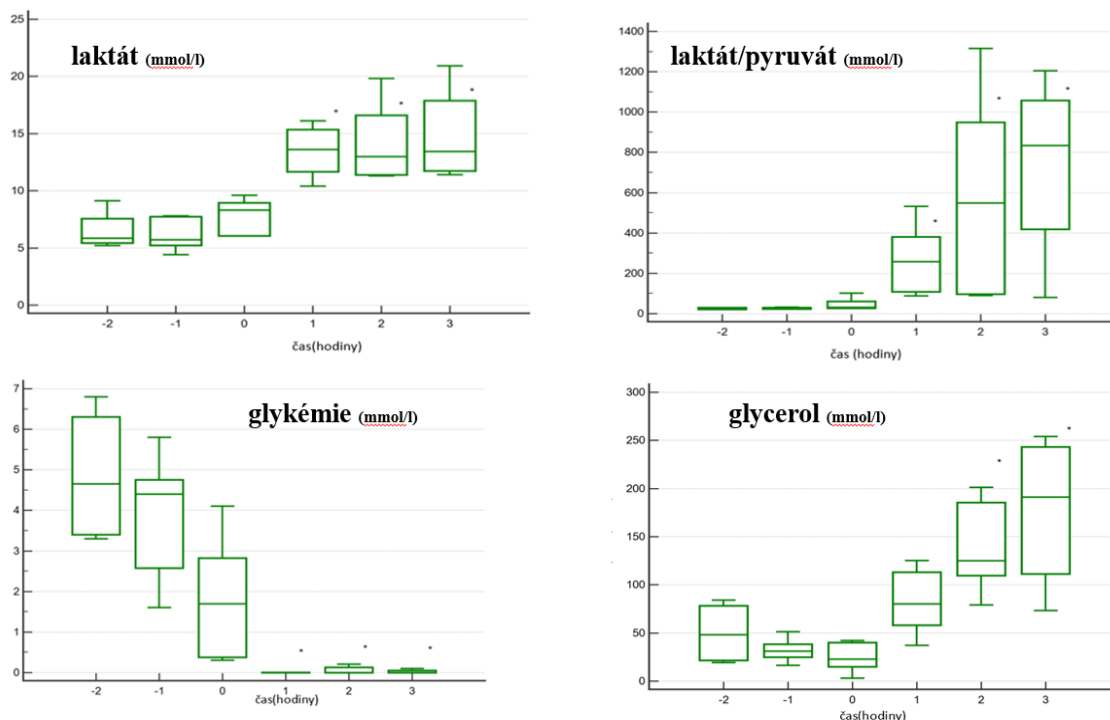
4.1.4. VÝSLEDKY

Model střevní dehiscence

U všech 15 probandů proběhla operace a následující monitorace bez komplikací a závažnějších technických potíží. Pouze u 2 prasat došlo při manipulaci se střevem během indukce ischemie k poškození dialyzační membrány a katétr musel být na druhou fázi pokusu vyměněn.

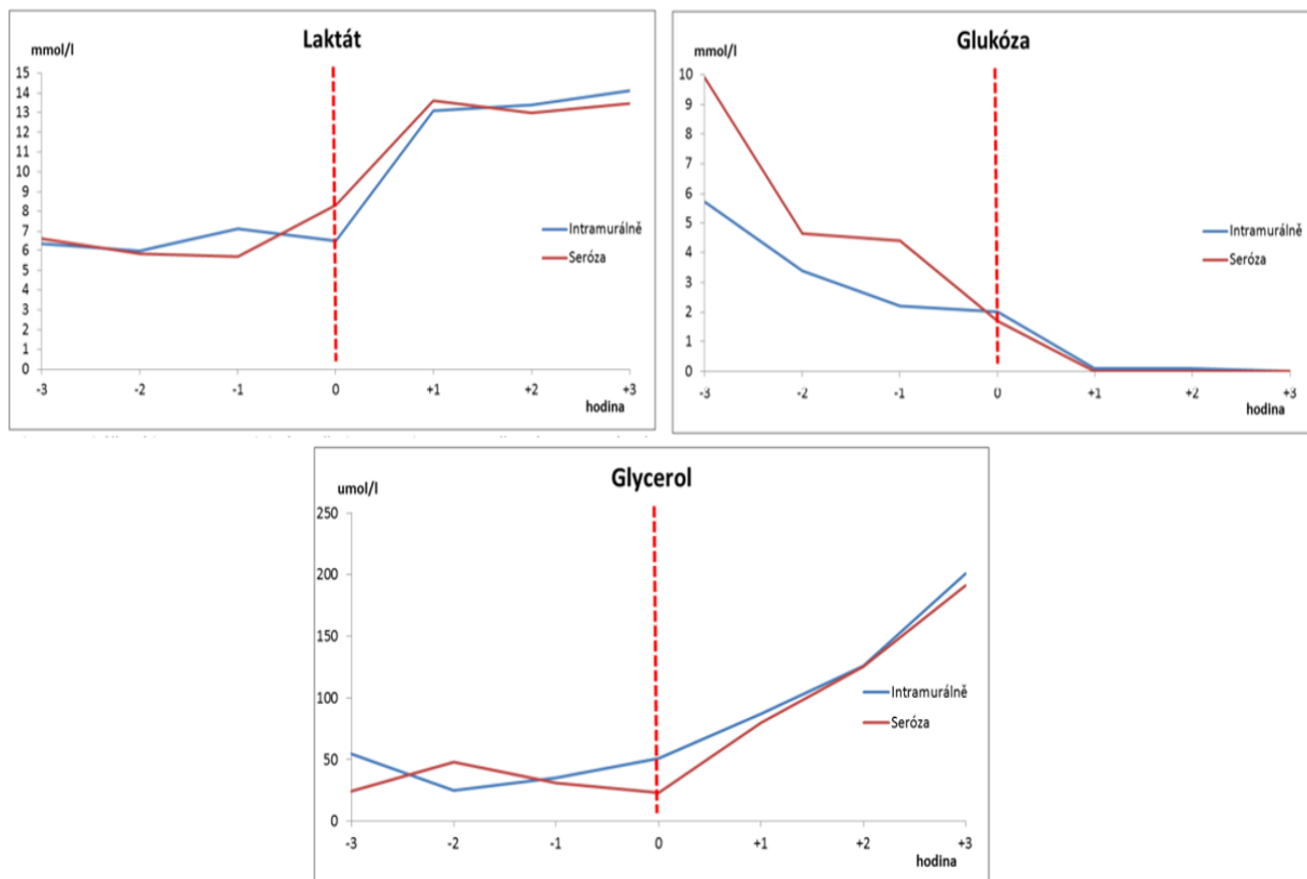
Mikrodialýza

Hodnoty parametrů měřených pomocí MD byly během prvních tří hodin stabilní. Pouze u hodnot tkáňové glykemie byl zaznamenán sestupný trend. Po vyvolání ischemie došlo u parametrů (laktát, laktát/pyruvát,) k rychlému vzestupu hladin, které se staly signifikantní po 2 respektive 3 hod od jejího vyvolání. V případě glycerolu došlo po vyvolání ischemie také k rychlému vzestupu jeho hladin se statistickou významností za 2 hod. Hladiny glykemie od začátku postupně klesaly. Úroveň statisticky významného rozdílu hodnoty dosáhly bezprostředně po ischemii a zůstaly velmi nízké až do konce experimentu (Graf. č.1)



Graf č. 1 hladiny parametrů měřených čidlem na seróze

Během měření nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly mezi hodnotami získanými z katetru umístěném na seróze nebo intramurálně (Graf č. 2).

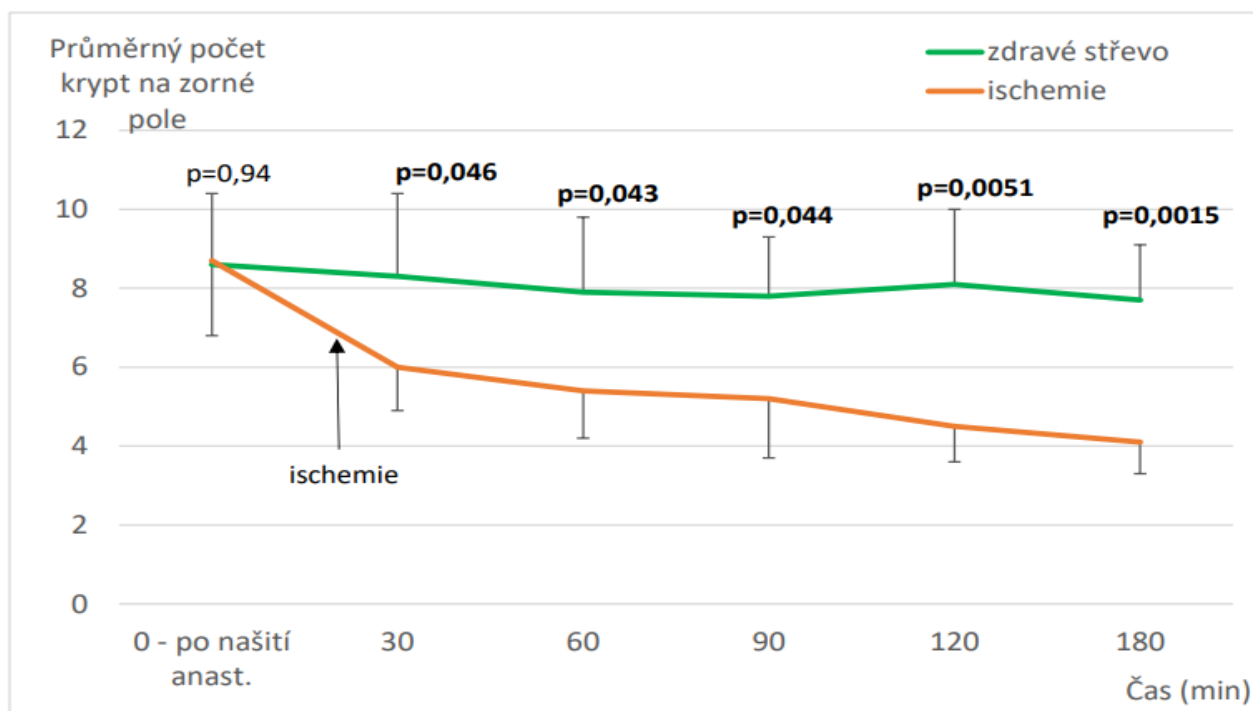


Graf. č. 2 porovnání hodnot naměřených u čidla umístěného na seróze a intramurálně

Konfokální laserová endomikroskopie (CLE)

CLE u zvířat s ischemickou anastomózou vykazovala charakteristické znaky. Typické bylo nehomogenní sycení obrazu s hypodenzitou v kryptách. Epitel měl nerovnoměrné okraje. Kolem buněk bylo zřejmé haló, které nebylo přítomné u Zvířat s normální anastomózou. V průběhu sledování po ischemizaci bylo pozorováno čím dál četnější větvení krypt naznačující postupnou poruchu struktury epitelu.

Při kvantifikaci edému byl prokázán statisticky významný rozdíl hned v prvním měření po vyvolání ischemie (Graf č. 3).



Graf č. 3 Průměrný počet krypt na zorné pole hodnocené pomocí CLE u skupin s normální a ischemickou anastomózou

4.2. Experiment č. 2

Randomizovaná experimentální studie srovnávající minimálně invazivní techniky transanálního ošetření dehiscenční kolorektální anastomózy

4.2.1. CÍLE

Hlavním cílem druhé části projektu bylo zhodnotit proveditelnost a účinnost nových minimálně invazivních technik TAMIS a Overstitch při ošetření dehiscence kolorektální anastomózy.

Vedlejším cílem bylo vyvinout pro účely projektu nový snadno reprodukovatelný zvířecí model simulující dehiscenci anastomózy po nízké resekcí rekta.

4.2.2 HYPOTÉZA

Nové minimálně invazivní techniky umožní uzávěr defektu anastomózy. Ve srovnání s konvenčním chirurgickým ošetřením povedou ke zvýšení procenta zhojených anastomóz. Díky nižší operační zátěži sníží zánětlivou odpověď organismu a budou zatíženy nižším rizikem pooperačních komplikací.

4.2.3 METODIKA

Do studie bylo zahrnuto celkem 74 probandů (samců prasat) o střední hmotnosti 45 (31–63) kg. Z celkového počtu 74 probandů bylo 18 vyhrazeno pro vytvoření samotného modelu nízké kolorektální anastomózy. Z těchto 18 probandů bylo zařazeno 8 do kontrolní skupiny s intaktní kolorektální anastomózou (SHAM) a 10 probandů do skupiny s aktivně vytvořenou dehiscenční anastomózou (model AL). Poté, co jsme ověřili, že model dehiscenční anastomózy po nízké resekcí rekta je použitelný pro další pokus, byla zahájena další část protokolu. V té bylo zbylých 56 probandů 2. pooperační den randomizováno pomocí generátoru

náhodných čísel a zařazeno do 4 intervenčních skupin po 14 probandech a jedné kontrolní skupiny ponechané bez ošetření (Tab. č. 1).

Tab. č. 1 Způsob ošetření AL – intervenční skupiny ošetření.

intervenční skupina	způsob ošetření	počet probandů
SUTURE	prostá transanální sutura	n=14
TAMIS	transanální minimálně invazivní sutura	n=14
APOLLO	endoskopická sutura (OverStitch)	n=14
HAR	rozpojení anastomózy + stomie	n=14

Sledované parametry

A) model dehiscentní anastomózy:

- intraabdominální septické komplikace (IASC – absces, výpotek), defekt v anastomóze, srůsty, stenóza, hodnoceno při pitvě 9. pooperační den.

B) porovnání technik ošetření AL:

a) technická proveditelnost uzávěru defektu – třístupňové skóre

I – defekt zcela uzavřen

II – defekt uzavřen s viditelnými mezerami

III – uzávěr technicky neproveditelný

b) odběr krve hodnoceno metodou ELISA

- ##### c) pitva 9. pooperační den – IASC absces, výpotek, makroskopické hodnocení anastomózy (tlaková zkouška, stenóza, viditelný defekt).

Chirurgický model dehiscenční anastomózy

Po premedikaci a nezbytné přípravě byla zvířata dopravena na sál a uvedena do celkové anestezie. Nejprve bylo pomocí Veresovy jehly založeno kapnoperitoneum na 15 mmHg. Následovalo zavedení 5 mm portu pro optiku (Olympus Medical, Tokio, Japonsko) a pod zrakovou kontrolou dále zavedeny do „čtverce“ tři 5 mm a jeden 13 mm port. Poté pomocí standardních laparoskopických nástrojů byla provedena disekce mesorekta na pánevní dno. Rektum bylo přerušeno pomocí endoskopického stapleru (Endo GIA™, Covidien Medtronic, MN, USA) přibližně 5 cm od anu. Střevo bylo vybaveno z dutiny břišní z minilaparotomie v levém podbřišku a pomocí tabákových kleští provedena jeho resekce. Střevní kontinuita byla obnovena pomocí cirkulárního stapleru velikosti 28 (EEA™, Covidien Medtronic, MN, USA). Dehiscence anastomózy bylo dosaženo vyjmutím poloviny svorek v rozsahu cirkumference od čísla 3–9 bráno po směru hodinových ručiček, což zajistilo dehiscenci v dorzální polovině anastomózy. Ve skupině SHAM byla vytvořena standardní staplerová anastomóza bez extrakce svorek. Výška anastomózy a rozsah defektu byly vždy ověřeny digitálním vyšetřením na konci operace. Takto vytvořený model dehiscenční anastomózy byl připraven k ošetření jednou ze stanovených technik.

Jednotlivé techniky ošetření dehiscenční anastomózy – intervenční skupiny

TAMIS

Ve skupině TAMIS byl v celkové anestezii zaveden transanálně speciální port – GelPOINT Path Transanal Access Platform (Applied Medical, CA, USA) se třemi 5mm pracovními vstupy který byl po obvodu fixován pomocí stehu ke kůži tak, aby bylo dosaženo stabilní polohy portu a nedocházelo k jeho dislokaci. Poté byl port napojen na insuflátor umístěný ve standardní laparoskopické věži a nastaveno pneumorektum o tlaku 15–18 mmHg. Při samotné operaci byly použity dva

standardní laparoskopické jehelce a 5mm kamera. Ty byly zavedeny pracovními vstupy v portu. Defekt byl uzavřen pomocí jednotlivých stehů.

Endoskopie – OverStitch (Apollo)

Ve skupině ENDO jsme využili metodu endoskopického uzávěru defektu pomocí instrumentária (Apollo OverStitch Endosurgery, TX, USA). V celkové anestezii byl po divulzi anu zaveden standardní dvoukanálový endoskop (GIF 2T160; Olympus Medical, Tokio, Japonsko) na jehož proximální část byla nasazena hlavice systému Apollo se speciální zakřivenou pohyblivou jehlou. Prvním krokem bylo zachycení okraje defektu pomocí malé ostré vývrtky zavedené do druhého kanálu endoskopu. Okraj defektu byl přitažen a pohybem jehly došlo k jeho prošití v celé tloušťce stěny. Obdobnými kroky bylo dosaženo postupného uzávěru defektu. Na závěr bylo vlákno dotaženo pohybem endoskopu a fixováno speciální koncovkou.

Transanální sutura

V další intervenční skupině SUTURE byl defekt v místě anastomózy ošetřen přímou chirurgickou suturou, jednotlivými stehy vláknem Vicryl, pomocí standardního jehelce a pinzety. Pro snazší transanální přístup a manipulaci byl použit rozvěrač Lone Star (Cooper Surgical, CT, USA).

Hartmann

Ve skupině Hartmann byla provedena revize dutiny břišní, dehiscenční anastomóza rozpojena a vyvedena stomie. Kvůli specifickým anatomickým podmínkám u samce selete (průběh močové trubice) byla dutina břišní otevřena z pararektálního řezu vlevo.

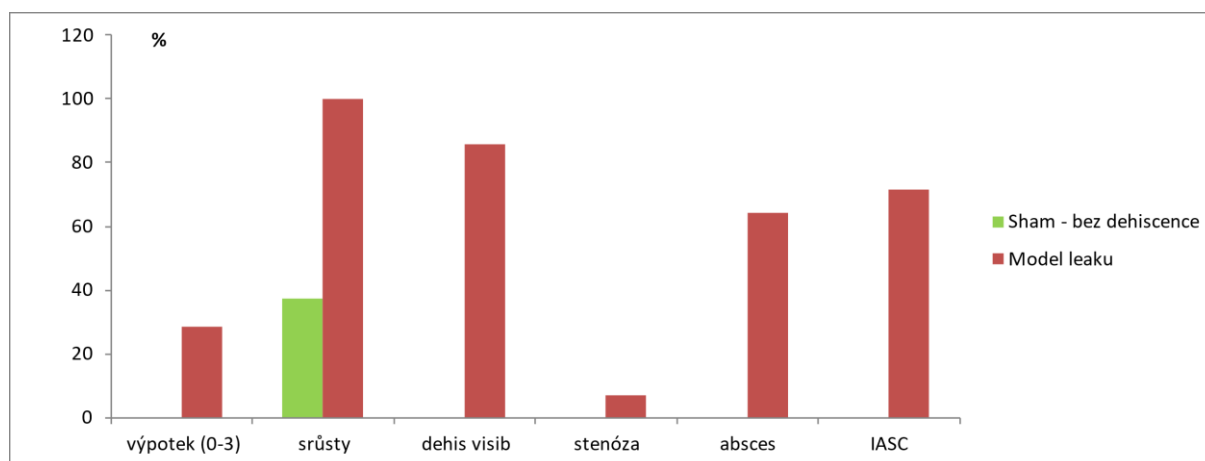
Control

V kontrolní skupině CONTROL byla dehiscenční anastomóza ponechána bez ošetření.

4.2.4 VÝSLEDKY

A) Model dehiscenční nízké kolorektální anastomózy

Všechna zvířata v obou skupinách přežila. Ve skupině Model leaku byla pozorována signifikantně vyšší míra pánevních srůstů, intraabdominálních abscesů i celkového výskytu IASC ve srovnání se skupinou SHAM. Anastomotický defekt byl viditelný u (8/10) prasat ve skupině Model leaku. Ve skupině SHAM nebyl pozorován žádný AL v době pitvy. Frekvence hnisavého nebo sterkorálního výpotku byla ve skupině Model leaku (3/10). Ve skupině SHAM nebyl patologický výpotek pozorován. Stenóza se vyskytla u (1/10) ve skupině Model leaku a u žádného ze skupiny SHAM (Graf č. 4).

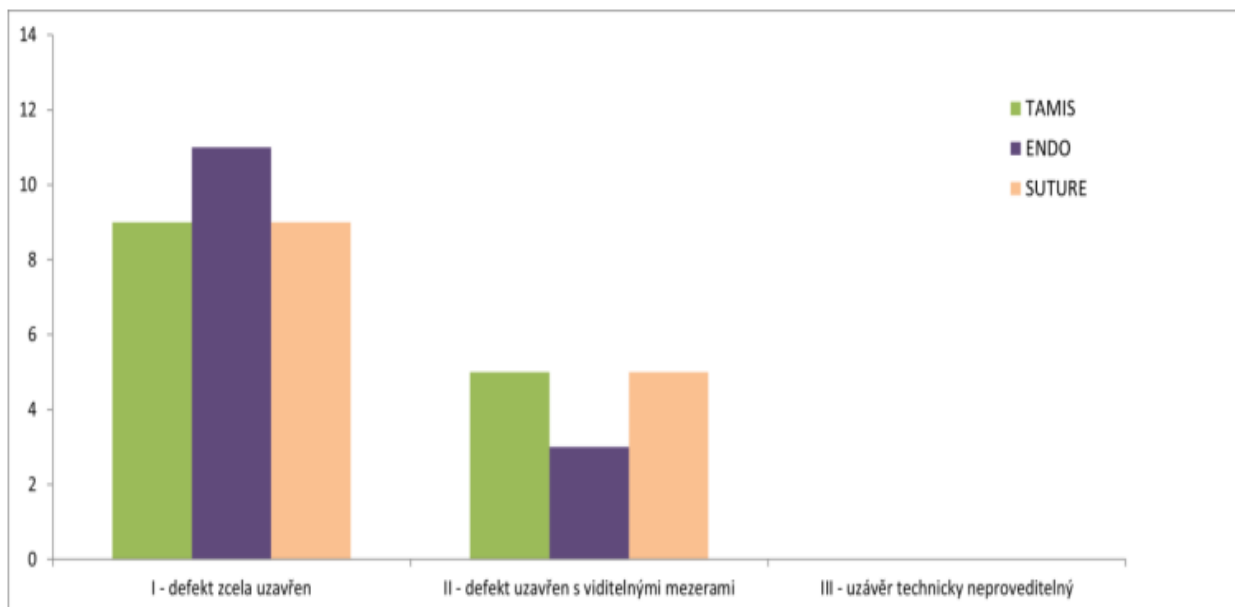


Graf č. 4 Graf porovnávající lokální komplikace a stav anastomózy po nízké resekci rekta u intaktní anastomózy zelená skupina (SHAM) a u skupiny s dehiscenční anastomózou červená skupina (Model leaku).

B) Porovnání technik ošetření – randomizovaná kontrolovaná studie

Všechna zvířata podstoupila laparoskopickou nízkou přední resekci bez závažných perioperačních komplikací. Dehiscence v rozsahu poloviny obvodu anastomózy byla před plánovanou intervencí potvrzena u všech zvířat. Ošetření defektu anastomózy bylo technicky možné u všech 42 zvířat. Nejvyššího skóre proveditelnosti uzávěru bylo dosaženo ve skupině ENDO (skóre I u 11 zvířat),

následované skupinami TAMIS a SUTURE (skóre I u 9 zvířat). Rozdíl nebyl statisticky významný ($p=0,641$) (Graf č. 5).



Graf č. 5 Skóre technické proveditelnost uzávěru defektu v anastomóze hodnocené v jednotlivých intervenčních skupinách.

Laboratorní výsledky

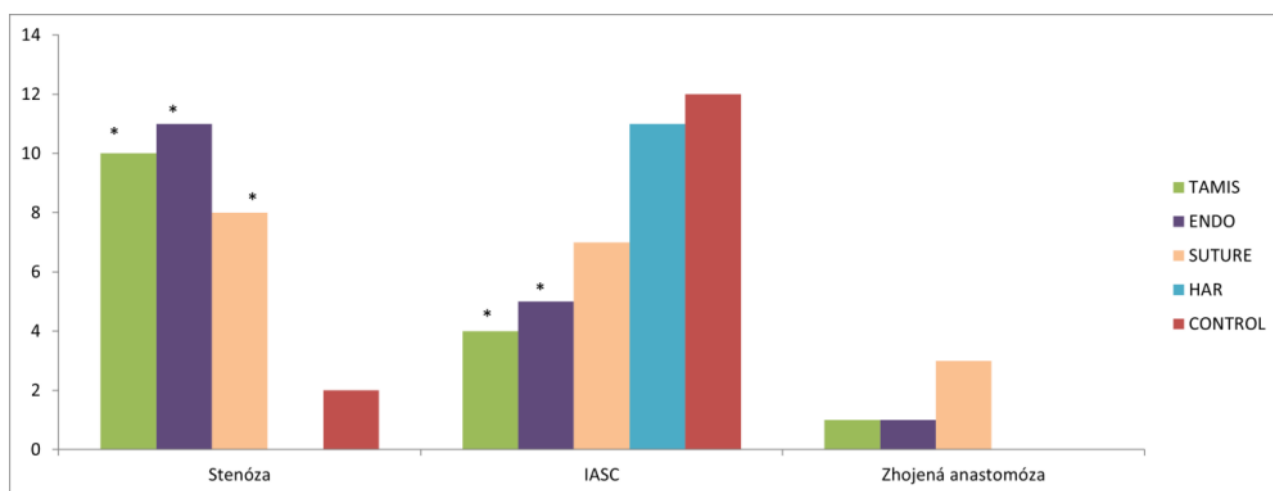
Hodnoty hladin bílých krvinek kulminovaly 1. den po provedení nízké resekce. Poté klesly a opět začaly stoupat v průběhu následujících 3–4 dní. Kulminovaly znovu mezi 5.–8.dnem sledování. Rozdíly mezi skupinami nebyly signifikantní. V hladinách prozánětlivých cytokinů nebyly pozorovány signifikantně významné rozdíly mezi intervenčními a kontrolní skupinou.

Pitva

Pitva byla provedena u všech zvířat 9. pooperační den s výjimkou dvou subjektů ze skupiny ENDO, které byly utraceny pro zhoršení klinického stavu z důvodu sepse čtyři a pět dní po ošetření AL. Pitva u nich odhalila sterkorální peritonitidu a četné fibrózní adheze v pánvi. Ze stejných důvodů musela být předčasně utracena 4 zvířata ze skupiny HAR (jedno 3. a tři 4. pooperační den). Příčinou zhoršení stavu byla i u těchto zvířat progresse nitrobřišní sepse. Kompletně zhojená

anastomóza byla nalezena u 10/14 ($p=0,002$), 11/14 ($p=0,0006$) a 8/14 ($p=0,019$) ve skupinách TAMIS, ENDO a SUTURE ve srovnání se 2/14 zvířaty z kontrolní skupiny, u kterých došlo ke spontánnímu zhojení dehiscence.

Výskyt IASC byl významně nižší ve skupinách TAMIS a ENDO ve srovnání se skupinou CONTROL. Skupiny SUTURE a HAR se v tomto parametru od kontrolní skupiny nelišily. Stenóza v anastomóze byla nalezena u jednoho zvířete ze skupin TAMIS a ENDO a u tří zvířat ve skupině SUTURE. Žádná ze stenóz nevedla ke střevní obstrukci (Graf č. 14).



Graf č. 6 Výskyt komplikací v intervenčních skupinách a v kontrolní skupině

Maximální tlak dosažený při roztržení zhojené anastomózy byl srovnatelný ve všech intervenčních skupinách: 190 (110–300) mmHg v TAMIS, 200 (100–300) mmHg v ENDO a 200 (90–250) mmHg ve skupině SUTURE ($p=0,644$)

5. DISKUZE

5.1. Pooperační monitorace střevní anastomózy s pomocí nových metod mikrodializačního čidla a endomikroskopie – experimentální zvířecí studie

Naše studie je první experimentální práce, která potvrdila, že ischemii kolorektální anastomózy lze detekovat mikrodialyzačním katétrem umístěným na seróze tlustého střeva. Prokázali jsme, že změny všech parametrů dosáhly významnosti během prvních dvou hodin po indukci ischemie. Nejrychlejší odpověď byla pozorována u tkáňových hladin laktátu, které se významně zvýšily po 60 minutách. Podobné změny byly zjištěny v experimentální studii zkoumající mikrodialýzu jako nástroj vhodný pro sledování metabolismu při transplantaci střev. Katétr byl umístěn do mezenteria tenkého střeva a kromě laktátu byly také pozorovány velmi významné změny v poměru laktát/pyruvát a hladinách glukózy hodinu po indukci žilní a arteriální ischemie (Birke-Sorensen H. et. al., 2010). Dvě další dánské studie stejného autora sledovaly ischemii tenkého střeva pomocí různě umístěných katétrů. Obě potvrdily rychlé zvýšení laktátu a pokles glykemie tkání (Sommer T., Larsen J. F. et. al., 2004, Sommer T., Larsen J. F. et. al., 2003). Hladiny glycerolu naopak rostly pomaleji ve všech 3 studiích, což bylo v souladu s prezentovanými výsledky (Sommer T., Larsen J. F. et. al., 2004, Sommer T., Larsen J. F. et. al., 2003, Birke-Sorensen H. et. al., 2010). To lze vysvětlit skutečností, že glycerol se uvolňuje během lipolýzy, a jeho hladiny proto korelují s prodloužením cytolýzy, ke které dochází s určitou latencí po navození ischemie (Juel I. et. al., 2007). Tkáňové hladiny glukózy v prezentované studii se během pozorování před navozením intervence skutečně nestabilizovaly. Hodnoty od začátku experimentu klesaly a po ischemii klesly na minimum. Některé změny ve výchozích hladinách glukózy byly také detekovány Sommerem a kol. na tenkém střevě. Ty však nebyly tak významné a pokles byl pomalejší i během ischemie (Sommer T. et. al., 2004). Při srovnání s naší studií byla výše uvedená studie provedena na normálním tenkém střevě, a lze tedy předpokládat, že tkáňová hypoglykemie souvisela s chirurgickým traumatem spojeným se stavbou

kolorektální anastomózy. Hladina glukózy se proto nezdá být vhodná pro včasnou detekci AL. Druhou hodnocenou metodou byla konfokální laserová endomikroskopie (CLE). CLE je v současné době využívána převážně v diagnostice lézí trávicí trubice, zejména v oblasti jícnu a žaludku (Karstensen J. et. al., 2014, Li W. et. al., 2019). V době realizace projektu nebyla publikována žádná studie zabývající se možnostmi využití CLE při hodnocení perfuze v oblasti střevní anastomózy. Naše studie jako první prokázala, že tato metoda je schopná velmi rychle zachytit změny vyvolané poruchou perfuze. Charakteristické znaky byly viditelné již v průběhu prvních 30 minut po vyvolání ischemie. Během studie byl zaveden nový způsob hodnocení pomocí stanovení míry otoku a rozdílu v počtu krypt na zorné pole, které byly statisticky významné již 10 minut po navození ischemie anastomózy. Možnosti využití konfokální laserové mikroendoskopie hodnotil v recentní experimentální studii také (Liu X. et. al., 2022). Na králičím modelu po otevřené kolektomii vytvořil obdobně model ischemické anastomózy a poté provedl vyšetření střeva pomocí CLE sondy přiložené na serózu. Taktéž prokázal snížení perfuze a nižší počet kapilár ve skupině s ischemickou anastomózou. Při porovnání je však postup a přiložení sondy na sliznici v naší studii blíže klinickému postupu.

5.2. Randomizovaná experimentální studie srovnávající minimálně invazivní techniky transanálního ošetření dehiscenční kolorektální anastomózy

Základní podmínkou pro realizaci naší studie bylo vytvoření jednoduchého a reprodukovatelného zvířecího modelu AL po nízké resekcii rekta. Existují různé zvířecí modely AL (Nordentoft T. et. al., 2007, Hoepfner J. et. al., 2009). Žádný však nevyhovoval potřebám této studie. Proto jsme se rozhodli vytvořit nový model, který napodobuje techniku operace tak, jak se provádí u lidí. Současně v průběhu tohoto výkonu vytvořit dehiscenční anastomózu odpovídající rozsahu klinicky významného AL (Rahbari N. et. al., 2010). Pro tento experiment bylo

vybráno prase domácí, a to pro jeho vysokou podobnost orgánů dutiny břišní s anatomií člověka. Velikost také umožňovala provedení jednotlivých intervencí s pomocí nástrojů a techniky shodné s postupy v humánní medicíně. Dvě zvířata z kontrolní skupiny do jisté míry splňovala kritéria spontánního uzdravení, protože při pitvě nebyla pozorována žádná viditelná dehiscence. Nicméně při testování anastomózy v průběhu tlakové zkoušky byly u těchto dvou subjektů naměřené hodnoty velmi nízké ve srovnání se zhojenou anastomózou v intervenčních skupinách. Náš model byl snadno reprodukovatelný s jednotným nálezem v místě anastomózy při randomizaci. Na tomto modelu byla následně testována endoskopická metoda uzávěru defektu v anastomóze technikou OverStitch. Důvodem je, že se v současné době jedná o jediný schválený a široce komerčně dostupný endoskopický systém šití. Mimo jiné byl použit při léčbě různých chirurgických komplikací včetně AL a píštělí v horním gastrointestinálním traktu s celkovou klinickou úspěšností mezi 27–56 % (Fernandez-Hevia M. et. al., 2015, Perivoliotis K. et. al., 2020). Účinnost tohoto zařízení v léčbě AL v oblasti tlustého střeva a rekta byla dokumentována pouze v několika kazuistikách (van Vledder M. et. al., 2016). V literatuře nebyla uvedena žádná experimentální studie hodnotící tuto techniku na relevantním zvířecím modelu. V naší studii bylo dosaženo úspěšného zhojení u 11/14 (79 %) zvířat. Nicméně 2 zvířata v této skupině zemřela v důsledku sterkorální peritonitidy a sepse a 5 zvířat vyvinulo intraabdominální septické komplikace, a to včetně 2 zvířat, u kterých bylo dosaženo uzávěru defektu v anastomóze. Předpokládáme, že tyto komplikace mohou souviset s kontaminací způsobenou při dislokaci endoskopu mimo střevní lumen během zákroku. Stalo se tak i přesto, že všechny zákroky prováděli dva zkušení endoskopisté, kteří byli s touto technikou obeznámeni. Z toho lze vyvodit, že tato technika vyžaduje dlouhé učení, což může být její nevýhodou.

V případě techniky TAMIS byla v této studii pozorována vysoká míra úspěšnosti zhojení ošetřené anastomózy a to v 10/14 (72 %). Ve srovnání s endoskopickou

skupinou jsme nezaznamenali ve skupině TAMIS žádné úmrtí a pouze několik subjektů mělo při pitvě známky intraabdominálních septických komplikací. Věříme, že takto slibného výsledku bylo dosaženo díky tomu, že TAMIS nabízí nejen dobrou vizualizaci, ale také snadné umístění jednotlivých stehů standardními laparoskopickými nástroji a umožňuje založení stehů při sutuře s větší jistotou. K tomu přispěl i model s anastomózou v distálním konečniku, protože tato výška se zdá být ideální pro platformu portu GelPOINT. Ve studii CLEAN byla představena nová léčba časně diagnostikované AL zahrnující vakuově asistovanou drenáž následovanou transanálním uzávěrem. Autorům se podařilo anastomotický defekt uzavřít buď cestou GelPOINT, nebo s pomocí retraktoru Lone Star u 13, resp. 17 pacientů. Střevní kontinuitu se podařilo obnovit u (67 %) pacientů. Čím dříve po primární operaci byla léčba AL zahájena, tím bylo dosaženo vyšší úspěšnosti zhojení (Borstlap W. et. al., 2018).

Ve třetí intervenční skupině byla sutura defektu provedena pomocí Lone Star retraktoru, aby byl zajištěn přístup k defektu v místě anastomózy. Tato technika byla již dříve hlášena jako proveditelná v případě ošetření časně diagnostikovaného AL u nízkých anastomóz včetně ošetření defektů ileopauch anální anastomózy (Stewart D. et. al., 2007, Rosenberger L. et. al., 2014, Gardenbroek T. et. al., 2015). Při srovnání s výsledky v naší studii byla úspěšnost přímého chirurgického šití nejnižší. Při pitvě bylo zhojení potvrzeno pouze v 8 případech. Kromě toho byl výskyt intraabdominálních septických komplikací a striktur nejvyšší v porovnání s výsledky v ostatních intervenčních skupinách. Předpokládáme, že výsledky byly do určité míry určeny lokalizací anastomózy, která byla v našem modelu výše než ve výše uvedených studiích.

Skupina s ošetřením resekcí dle Hartmanna byla zařazena do studie vzhledem k tomu, že se jedná o standardní výkon prováděný u pacientů s klinicky významným AL. V této skupině byla pozorována nejvyšší pooperační morbidita a mortalita – Lze se domnívat, že tyto výsledky byly zkreslené zátěží spojenou s druhou velkou

operací v průběhu 48 hodin od nízké resekce a že takový stres byl pro organismus zvířete příliš velký. Díky negativnímu vlivu na imunitní systém prasete došlo u většího počtu subjektů k progresi sepse a pokus musel být ukončen předčasně. Vzhledem k tomu není srovnání s ostatními intervenčními skupinami smysluplné. Zhojení anastomózy bylo po jejím ošetření hodnoceno pomocí testu tlakové zkoušky. Mezi intervenčními skupinami nebyl žádný významný rozdíl v mediánu naměřených hodnot tlaku. V experimentální studii na zvířecím modelu hodnotil (Stewart D. et. al., 2007) staplerovou kolorektální anastomózu pomocí tlakového testu u 18 prasat. Průměrný tlak, při kterém došlo k prasknutí anastomózy, byl 29,9 mmHg ihned po vytvoření anastomózy a 250 mmHg o dva týdny později. Naše studie ukázala střední tlak mezi 190–200 mmHg u zhojené anastomózy sedm dní po opravě AL. Pouze jedna anastomóza v každé skupině selhala při tlaku nižším než 150 mmHg. Vzhledem ke kratší době hojení a manipulaci s anastomózou během jejího ošetření, která může být příčinou zpomaleného hojení ve zdravé části anastomózy, lze soudit, že výsledky potvrzují, že všechny zhojené anastomózy v naší studii byly patentní.

6. Závěr

Tato práce prokázala, že pooperační monitorace kolorektální anastomózy pomocí MD nebo CLE je proveditelná a že je pomocí sledovaných parametrů možné časně zachytit poruchu perfuze. Prokázala také, že umístění mikrodialyzačního katetru na seróze je stejně účinné jako jeho intramurální uložení a je navíc méně traumatické. Z výsledků vyplývá, že kontinuální sledování anastomózy pomocí mikrodialýzy může přispět k časnému odhalení poruchy hojení a předejít tak rozvoji sepse. Léčba takto časně diagnostikovaného AL u stabilního pacienta má potenciál k záchraně anastomózy, a tím ke zvýšení pravděpodobnosti obnovení střevní kontinuity. V případě CLE spočívá její potenciál v tom, že na základě jejího vyšetření během operace může být například indikováno vyvedení pojistné ileostomie. Obě techniky jsou připravené k testování v rámci klinické studie.

V druhé části experimentu se podařilo prokázat, že miniinvazivní laparoskopická technika TAMIS i endoskopická sutura OverStitch jsou vhodné pro časné ošetření AL s vysokou šancí na jeho zhojení. Přístup pomocí TAMIS nabízí velmi dobrou vizualizaci v oblasti anastomózy v distálním rektu a při uzávěru umožňuje využít standardní laparoskopické nástroje. To lze považovat za velkou výhodu pro případné využití této techniky v klinické praxi. Endoskopická metoda OverStitch se zdá být efektivnější při ošetření anastomóz umístěných ve vyšších etážích tračníku. Na základě výše uvedených výsledků byl sestaven léčebný algoritmus použitelný v klinické praxi, který má potenciál zvýšit procento zachrannitelných anastomóz.

Jako vedlejší produkt byl v rámci projektu vytvořen a otestován jednoduchý reprodukovatelný a reverzibilní model dehiscentní kolorektální anastomózy simulující AL po nízké přední resekci rekta. Tento model nabízí možnosti dalšího využití při hodnocení nových technik a chirurgického tréninku.

7. SOUHRN

Kolorektální anastomóza po nízké resekci rekta je i v dnešní době zatížena vysokým počtem komplikací. Jednou z nejzávažnějších je takzvaný anastomotický leak. Přestože jsou známy některé rizikové faktory a byla zavedena řada preventivních opatření, některé anastomózy i tak selžou. Klinicky významný AL vyžaduje obvykle operační řešení s rozpojením anastomózy a vyvedením stomie. To je spojeno s vysokou morbiditou a mortalitou a je známo, že až 50 % stomií po takovém způsobu ošetření zůstává trvalých.

Zásadní problém představuje pozdní diagnostika AL. Současné klinické metody často nejsou schopné rozpoznat rizikovou anastomózu ani dostatečně časně diagnostikovat AL v pooperačním období. Ideálně v době, kdy nejsou plně rozvinuté septické komplikace, a je tudíž snazší jejich management. V takovém případě je možné se pokusit o záchranu anastomózy a tím snížit riziko trvalé stomie. Současně není jasné, jaká technika uzávěru defektu anastomózy je nejvhodnější.

Experimentální projekt prokázal účinnost mikrodialýzy a konfokální laserové endomikroskopie v časné detekci hypoperfuze. Metody mohou být využitelné k pooperační monitoraci hojení anastomózy. MD na seróze je stejně účinná jako intraluminální, navíc je méně invazivní a nepoškozuje tkáň v okolí anastomózy. U CLE by pravděpodobnou cestou bylo zavedení sondy během operace a ponechání „in situ“ (koncept tzv. chytrých drénů). Před širším zavedením do praxe je nutné vyřešit některé problémy (jako fixace drénu) a zhodnotit metody v klinické studii.

V druhé části experimentu byla v randomizované studii prokázána vysoká úspěšnost nových technik ošetření dehiscence. TAMIS i endoskopický uzávěr zaručují dobrou vizualizaci. TAMIS se zdá být univerzálnější a využívá standardní laparoskopické instrumentarium. Endoskopický uzávěr je na druhou stranu jediný použitelný pro výše uložené anastomózy, je však technicky

náročnější a vyžaduje zvládnutí pokročilých endoskopických technik a stále relativně nového instrumentária.

Další výzkum by bylo vhodné zaměřit na stanovení hodnot na základě kterých by bylo možné indikovat anastomózu k jejímu ošetření bezprostředně po vzniku dehiscence anebo lépe ještě před jejím vznikem. Jednou z možností by mohlo být např. stanovení „cutt off“ hodnot anaerobního metabolismu, zjištěného při kontinuální monitoraci anastomózy pomocí MD či na základě histologického obrazu perfuze při vyšetření pomocí CLE.

7. SUMMARY

Colorectal anastomosis after low anterior resection is burbened with a high number of complications even today. One of the most serious complication is anastomotic leak. Although some risk factors are known and a number of preventive measures have been implemented, some anastomosis will still fail. Clinically significant AL usually requires a surgical sollution with connection of the anastomosis and removal of the stoma. This is associated with high morbidity and mortality and up to 50 % of stomas are known to remain permanent after such treatment. A major problem is the late diagnosis of AL. Current clinical methods are often unable to recognize risky anastomosis or to diagnose AL early enough in the postoperative period. Ideally at a time when septic complications are not fully developed and therefore their management is easier. In such a case, it is possible to try to save the anastomosis and thereby reduce the risk of a permanent stoma. At the same time, it is not clear, which technique of closing the anastomotic defect is the most appropriate. An experimental project demonstrated the effectiveness of microdialysis and confocall laser endomicroscopy in the early detection of hypoperfusion. The mothods can be used for postoperative monitoring of anastomotic healing. MD on serosa is as effective as intraluminal, in addition, it is less invasive and does not damage the tissue around the

anastomosis. For CLE, the likely route would be to insert the probe during surgery and leave it „in situ“ (the concept of so called smart drains). Before a wider introduction into practice, it is necessary to solve some problems (such as drain fixation) and to evaluate the methods in a clinical trial. In the second part of the experiment a high success rate of new dehiscence treatment techniques was demonstrated in a randomized study. Both TAMIS and endoscopic closure guarantee good visualization. TAMIS appears to be more versatile and uses standard laparoscopic instruments. Endoscopic closure on the other hand is the only one that can be used for higher placed anastomoses, but it is technically more demanding and requires the mastery of advanced endoscopic techniques and still relatively new instruments. Further research would be appropriate to focus on determining the values based on which it would be possible to indicate the anastomosis for its treatment immediately after the occurrence of dehiscence, or better even before occurrence based on determination of e.g. „cut off“ values of anaerobic metabolism detected during continuous monitoring of the anastomosis using MD or on the basis of the histological picture of perfusion during examination with CLE.

8. LITERATURA

- [1] ATALLAH, S., M. ALBERT a S. LARACH, 2010. Transanal minimally invasive surgery: a giant leap forward. In: *Surgical Endoscopy* [online]. s. 2200–2205. ISSN 0930-2794. Dostupné z: doi:10.1007/s00464-010-0927-z.
- [2] BIRKE-SORENSEN, H. a N. T. ANDERSEN, 2010. Metabolic Markers Obtained by Microdialysis can Detect Secondary Intestinal Ischemia: an Experimental Study of Ischemia in Porcine Intestinal Segments. In: *World Journal of Surgery* [online]. s. 923–932. ISSN 0364-2313. Dostupné z: doi:10.1007/s00268-010-0502-8.
- [3] BRYANT, C. L. C., P. J. LUNNISS, Ch. H. KNOWLES, M. A. THAHA a Christopher L. H. CHAN, 2012. Anterior resection syndrome. In: *The Lancet Oncology* [online]. e403-e408. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(12)70236-X.
- [4] CALLAHAN, Z. M., B. SU, K. KUČHTA, et al., 2020. Endoscopic Suturing Results in High Technical and Clinical Success Rates for a Variety of Gastrointestinal Pathologies. In: *Journal of Gastrointestinal Surgery* [online]. s. 278–287. ISSN 1091-255X. Dostupné z: doi:10.1007/s11605-019-04485-6.
- [5] CIBIČEK, N., H. ŽIVNÁ, Z. ZADÁK, J. KULIR, E. ČERMÁKOVÁ a V. PALIČKA. Colon submucosal microdialysis: a novel in vivo approach in barrier function assessment – a pilot study in rats. In: *Physiological Research* [online]. s. 611–617. ISSN 1802-9973. Dostupné z: doi:10.33549/physiolres.931004.
- [6] FERNÁNDEZ-HEVIA, M., S. DELGADO, A. CASTELLS, et al., 2015. Transanal Total Mesorectal Excision in Rectal Cancer: short-term outcomes in comparison with laparoscopic surgery. In: *Annals of Surgery* [online]. s. 221–227. ISSN 0003-4932. Dostupné z: doi:10.1097/SLA.0000000000000865.
- [7] FRYE, J., E. L. BOKEY, P. H. CHAPUIS, G. SINCLAIR a O. F. DENT, 2009. Anastomotic leakage after resection of colorectal cancer generates

prodigious use of hospital resources. In: *Colorectal Disease* [online]. s. 917–920. ISSN 14628910. Dostupné z: doi:10.1111/j.1463-1318.2008.01728.x.

[8] GARDENBROEK, T. J., G. D. MUSTERS, C. J. BUSKENS, C. Y. PONSIOEN, G. R. A. M. D'HAENS, M. G. W. DIJKGRAAF, TANIS a W. A., 2015. In: *Colorectal Disease* [online]. s. 426–432. ISSN 14628910. Dostupné z: doi:10.1111/codi.12867.

[9] HOEPPNER, J., V. CRNOGORAC, U. T. HOPT a H.-F. WEISER, 2009. The Pig as an Experimental Model for Colonic Healing Study of Leakage and Ischemia in Colonic Anastomosis. In: *Journal of Investigative Surgery* [online]. s. 281–285. ISSN 0894-1939. Dostupné z: doi:10.1080/08941930903040098.

[10] JUEL, I. S., E. SOLLIGÅRD, E. SKOGVOLL, P. AADAHL a J. E. GRØNBECH, 2007. Lactate and Glycerol Released to the Intestinal Lumen Reflect Mucosal Injury and Permeability Changes Caused by Strangulation Obstruction. In: *European Surgical Research* [online]. s. 340–349. ISSN 0014-312X. Dostupné z: doi:10.1159/000105132.

[11] KRARUP, P.-M., L. N. JORGENSEN a H. HARLING, 2014. Management of Anastomotic Leakage in a Nationwide Cohort of Colonic Cancer Patients. In: *Journal of the American College of Surgeons* [online]. s. 940–949. ISSN 1072-7515. Dostupné z: doi:10.1016/j.jamcollsurg.2014.01.051.

[12] LIU, X., Y. TANG, Z. LI, et al., 2022. In vivo real-time assessment of the anastomotic blood supply in colorectal surgery using confocal laser endomicroscopy in an anastomotic model: a Qualitative Systematic Review. In: *Surgical Endoscopy* [online]. s. 4136-4144. ISSN 0930-2794. Dostupné z: doi:10.1007/s00464-021-08738-x.

[13] NESBAKKEN, A., K. NYGAARD a O. C. LUNDE, 2001. Outcome and late functional results after anastomotic leakage following mesorectal excision for rectal cancer. In: *British Journal of Surgery* [online]. s. 400–404. ISSN 0007-1323. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2168.2001.01719.x.

- [14] NORDENTOFT, T. a M. SØRENSEN, 2007. Leakage of Colon Anastomoses: Development of an Experimental Model in Pigs. In: European Surgical Research [online]. s. 14–16. ISSN 0014-312X. Dostupné z: doi:10.1159/000096975.
- [15] PERIVOLIOTIS, K., I. BALOYIANNIS, Ch. SARAKATSIANOU a G. TZOVARAS, 2020. Comparison of the transanal surgical techniques for local excision of rectal tumors: a network meta-analysis. In: International Journal of Colorectal Disease [online]. s. 1173–1182. ISSN 0179-1958. Dostupné z: doi:10.1007/s00384-020-03634-7.
- [16] PHITAYAKORN, R., C. P. DELANEY, H. L. REYNOLDS, B. J. CHAMPAGNE, A. G. HERIOT, P. NEARY a A. J. SENAGORE, 2008. Standardized Algorithms for Management of Anastomotic Leaks and Related Abdominal and Pelvic Abscesses After Colorectal Surgery. In: World Journal of Surgery [online]. s. 1147–1156. ISSN 0364-2313. Dostupné z: doi:10.1007/s00268-008-9468-1.
- [17] RAHBARI, N. N., J. WEITZ, W. HOHENBERGER, et al., 2010. Definition and grading of anastomotic leakage following anterior resection of the rectum: A proposal by the International Study Group of Rectal Cancer. In: Surgery [online]. s. 339–351. ISSN 00396060. Dostupné z: doi:10.1016/j.surg.2009.10.012.
- [18] ROSENBERGER, L. H., A. SHADA, L. A. RITTER, D. M. MAURO, M. J. MENTRIKOSKI, S. H. FELDMAN a D. E. KLEINER, 2014. Delayed Endoluminal Vacuum Therapy for Rectal Anastomotic Leaks after Rectal Resection in a Swine Model: A New Treatment Option. In: Clinical and Translational Science [online]. s. 121–126. ISSN 1752-8054. Dostupné z: doi:10.1111/cts.12140.
- [19] SOMMER, T. a J. F. LARSEN, 2004. Intraperitoneal and intraluminal microdialysis in the detection of experimental regional intestinal ischaemia.

In: *British Journal of Surgery* [online]. s. 855–861. ISSN 0007-1323. Dostupné z: doi:10.1002/bjs.4586.

[20] STEWART, D., S. HUNT, R. PIERCE, DONGLI MAO, M. FRISELLA, K. COOK, B. STARCHER a J. FLESHMAN, 2007. Validation of the NITI Endoluminal Compression Anastomosis Ring (EndoCAR) Device and Comparison to the Traditional Circular Stapled Colorectal Anastomosis in a Porcine Model. In: *Surgical Innovation* [online]. s. 252–260. ISSN 1553-3506. Dostupné z: doi:10.1177/1553350607312241.

[21] THORNTON, M., H. JOSHI, Ch. VIMALACHANDRAN, R. HEATH, P. CARTER, U. GUR a P. ROONEY, 2011. Management and outcome of colorectal anastomotic leaks. In: *International Journal of Colorectal Disease* [online]. s. 313–320. ISSN 0179-1958. Dostupné z: doi:10.1007/s00384-010-1094-3.

[22] YANG, S. Y., Y. D. HAN, M. S. CHO, H. HUR, B. S. MIN, K. Y. LEE a N. K. KIM, 2020. Late anastomotic leakage after anal sphincter saving surgery for rectal cancer: is it different from early anastomotic leakage. In: *International Journal of Colorectal Disease* [online]. s. 1321–1330. ISSN 0179-1958. Dostupné z: doi:10.1007/s00384-020-03608-9.

8. PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA

1. Původní vědecké práce in extenso, které jsou podkladem disertace s IF

- **Kalvach J.**, Ryska O., Martinek J., et al., 2022. Randomized experimental study of two novel techniques for transanal repair of dehiscence low rectal anastomosis. *Surgical Endoscopy*. 36(6), 4050-4056. doi:10.1007/s00464-021-08726-1. **(IF 3,453)**
- Ryska O., **Kalvach J.**, Pazin J., et al., 2021. Surface Microdialysis for Detection of Colorectal Anastomosis Ischemia-An Experimental Study. *Surgical Research*. 261:293-300. doi: 10.1016/j.jss.2020.12.021. **(IF 2,24)**

2. Původní vědecké práce in extenso bez vztahu k tématu disertace s IF

- Lukas M., Kolar M., Ryska O., ...**Kalvach J.** et al., 2021. A novel postgraduate endoscopic course using a large animal model of secondary Crohn's disease stricture. *Surgical Endoscopy*. 35(6), 3199-3204. doi: 10.1007/s00464-021-08360 **(IF 3,453)**
- Lukas M., Kolar M., Ryska O., ...**Kalvach J.**, 2021. Novel porcine model of Crohn's disease anastomotic stricture suitable for evaluation and training of advanced endoscopic techniques. *Gastrointestinal Endoscopy*. 93(1), 250-256. doi: 10.1016/j.gie.2020.05.063 **(IF 6.337)**
- Ryska O. Serclova Z., Martinek J., ...**Kalvach J.**, et al., 2017. A new experimental model of calculous cholecystitis suitable for the evaluation

and training of minimally invasive approaches to cholecystectomy.
Surgical Endoscopy 31(2), 987-994. doi: 10.1007/s00464-016-5061-0
(IF 3,117)

- Dolezel R., Ryska O., Kollar M., ...**Kalvach J.** et al. 2016. A comparison of two endoscopic closures: over-the-scope clip (OTSC) versus KING closure (endoloop + clips) in a randomized long-term experimental study. Surgical Endoscopy. 30(11), 4910-4916. DOI: 10.1007/s00464-016-483
(IF 3,747)

3. Původní vědecké práce in extenso bez vztahu k tématu disertace bez IF

- **Kalvach J.**, Ryska O., Pazin J. et al., 2018. Postoperative monitoring of colorectal anastomosis - experimental study. Rozhledy v Chirurgii. 97(5), 202-207.
- **Kalvach J.**, Ryska O., Ryska M., 2016. Existing laparoscopic simulators and their benefit for the surgeon? Rozhledy v Chirurgii. 95(1), 4-12.
- Langer D., Vočka M., **Kalvach J. et al.**, 2018. Assessment of anastomosis perfusion by fluorescent angiography in robotic low rectal resection: the results of a non-randomized study. Rozhledy v Chirurgii. 98(3), 110-114.
- Pohnán R., Ryska M., **Kalvach J., et al.**, 2018. Laparoscopic versus open left pancreatectomy: surgical stress response comparison in the porcine model. Rozhledy v Chirurgii. 97(5), 234-238.

4. Vybrané přednášky a posterová sdělení na odborných sympóziích

- Digestive Disease Week (DDW), Washington DC. USA 2018 **Kalvach J.**, Ryska O., Pazin J., et al., TAMIS (Transanal Minimally Invasive Surgery) is feasible for treatment of low colorectal anastomosis leak - experimental study.
- Digestive Disease Week (DDW), Washington DC. USA 2018 Ryska O., **Kalvach J.**, Pazin J., et al., Different techniques of microdialysis in monitoring of ischemia in colorectal anastomosis - experimental study.
- Digestive Disease Week (DDW) San Diego, USA 2019, Lukas M., Kolar M., Ryska O., ... **Kalvach J.**, et al., A novel porcine model of Crohns disease anastomotic stricture (poster),
- European Society of Coloproctology (ESCP) Vien, Austria, 2019 **Kalvach J.**, Ryska O., Pazin J. et al., Apollo and TAMIS - New minimal invasive techniques in management of colorectal anastomotic leak - experimental study
- United European Gastroenterology Week, (UEGW), Barcelona, Spain 2019 **Kalvach J.**, Ryska O., Pazin J. et al., Endoscopic suturing is feasible for treatment of low colorectal anastomotic leak – experimental study
- European Society of Coloproctology (ESCP) Nice, France, 2018 Kalvach J. Ryska O. Pazin J. et al., Transanal repair of low colorectal anastomotic leak using minimally invasive surgery (TAMIS) - experimental study