

UNIVERZITA KARLOVA v PRAZE

1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Kateřinská 32, 121 08 Praha 2, Česká republika, tel.: 224 961 111, E-mail: office@lf1.cuni.cz

**Metabolické důsledky hypertermické izolované končetinové perfuze
HILP (Hyperthermic Isolated Limb Perfusion) u pacientů s maligním
melanomem**

(Magisterská diplomová práce)

Autor: Bc. Gabriela Hodková

Vedoucí magisterské práce: Doc.MUDr. Michal Semrád, CSc.

Školitel – konzultant: MUDr. Miroslav Špaček, Ph.D.

Pracoviště: II. chirurgická klinika kardiovaskulární chirurgie VFN a 1.LF UK v Praze

PRAHA 2011

Poděkování

Práci jsem psala na II. chirurgické klinice kardiovaskulární chirurgie VFN a 1.LF UK v Praze pod vedením doc. MUDr. Michala Semráda, CSc., kterému bych zde ráda vyjádřila poděkování za spolupráci, pomoc, cenné rady a podněty. Zároveň bych chtěla poděkovat doc. MUDr. Jaroslavu Lindnerovi, CSc., přednostovi II. chirurgické kliniky VFN za možnost využití podmínek pracoviště II. chirurgické kliniky k napsání práce a podporu programu HILP, MUDr. Miroslavu Špačkovi, Ph.D., za odborné konzultace k tématu HILP, Mgr. Ondřeji Pechovi, Ph. D. za konzultace v oblasti statistické analýzy dat a MUDr. Jiřímu Slavíkovi za odborné poradenství v období zavádění metody HILP do praxe na II. chirurgické klinice VFN a 1.LF UK.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby tato závěrečná práce byla archivována v Ústavu vědeckých informací 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a zde užívána ke studijním účelům. Za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou přednáškovou nebo publikační aktivitu, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v Digitálním repozitáři Univerzity Karlovy v Praze (<http://repozitar.cuni.cz>). Práce je zpřístupněna pouze v rámci Univerzity Karlovy v Praze.

Souhlasím – Nesouhlasím*

V Praze, 26. 5. 2011

Bc. Hodková Gabriela

Podpis.....

* Nehodící se škrtněte

Abstrakt

Hodková, Gabriela - Metabolické důsledky hypertermické izolované končetinové perfuze HILP (Hyperthermic Isolated Limb Perfusion) u pacientů s maligním melanomem

1. lékařská fakulta UK Praha 2, Kateřinská 32

Vedoucí práce : Doc. MUDr. Michal Semrád, CSc.

Školitel – konzultant: MUDr. Miroslav Špaček, Ph. D.

Cílem práce je zhodnocení metabolického důsledku izolace a perfuze zahřátým cytostatikem u končetiny postižené maligním procesem.

Teoretická část je věnována problematice maligního melanomu, charakteristice klinického hodnocení a léčbě. Uvedeny jsou metody léčby spočívající v konzervativním postupu nebo v chirurgickém řešení onemocnění. Metoda izolované končetinové perfuze patří k následné lokální léčbě, která je indikována v případě opětovného výskytu maligního ložiska při dále neresekovatelném nálezu po již absolvovaném chirurgickém zákroku.

V praktické části probíhal sběr laboratorních a klinických dat od pacientů, kteří byli na II. chirurgické klinice VFN a 1. LF UK podrobeni hypertermické perfuzi končetiny cytostatikem za užití přístroje pro mimotělní oběh.

Byly zkoumány předoperační, perioperační a pooperační vzorky vybraných laboratorních hodnot krevních plynů, vnitřního prostředí a hematologických parametrů. Výsledky byly podrobeny statistické analýze. Důvodem podrobného zkoumání vnitřního prostředí perfundované končetiny a systémového vnitřního prostředí je predikce možných závažných lokálních a systémových účinků metabolitů z končetiny po provedeném zákroku. Je prokázáno, že velmi agresivní metoda izolované končetinové perfuze cytostatikem nevykazuje toxický účinek na organismus proto, že je aplikována lokálně.

Klíčová slova: Maligní melanom, končetinová perfuze, izolace, Alkeran, laktát

Abstract

Hodková, Gabriela - Metabolic Effects Of Hyperthermic Isolated Limb Perfusion (HILP) in Malignant Melanoma Patients

First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Praha 2, Kateřinská 32

Head of the work: Doc. MUDr. Michal Semrád, CSc.

Supervisor – consultant: MUDr. Miroslav Špaček, Ph. D.

The aim of the study is to assess the metabolic consequences of mechanical isolation and hyperthermic cytostatic perfusion in a limb affected by malignant process.

The theoretical part refers to a topic of malignant melanoma, its clinical evaluation and treatment. Methods based on conservative and surgery treatments are described. The isolated hyperthermic cytostatic limb perfusion is a consecutive local treatment indicated in cases of recurrent malignant lesions following surgical resection, when next surgery is impossible.

In the practical part, the laboratory samples and clinical data were recorded in patients who had undergone hyperthermic cytostatic limb perfusion in the 2nd Surgical of The General Teaching Hospital and First Faculty of Medicine, Charles University Prague. The affected limb was flushed with a warm oxygenated blood containing cytostatic drugs using an extracorporeal circuit apparatus.

Selected arterial blood gas, metabolic and hematologic parameters were studied intra and postoperatively. All numeric results were statistically analysed. The reason for detailed limb and whole body homeostasis assesment is a prediction of any significant local and systemic negative effect of the metabolites from the limb after perfusion. The method of isolated hyperthermic cytostatic limb perfusion is very aggressive, but proven to be safe and not toxic for patient's body in case of local application.

Key words: malignant melanoma, limb perfusion, isolation, Alkeran, lactat

Identifikační záznam:

HODKOVÁ, Gabriela. Metabolické důsledky hypertermické izolované končetinové perfuze HILP (Hyperthermic Isolated Limb Perfusion) u pacientů s maligním melanomem [Metabolic Effects Of Hyperthermic Isolated Limb Perfusion (HILP) in Malignant Melanoma Patients]. Praha, 2011. 92 s. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav biofyziky a informatiky 1. LF UK. Vedoucí magisterské práce Michal Semrád.

Obsah

1. Úvod	9
2. Teoretická část	10
2.1. Maligní melanom	10
2.1.1. Rizika vzniku melanomu	10
2.1.2. Diagnostika melanomu	12
2.1.3. Léčba melanomu.....	16
2.1.3.1. Farmakologická léčba.....	18
2.1.3.2. Hyperthermic Isolated Limb Perfusion (HILP).....	21
2.1.3.3. Cévní přístupy pro chirurgickou kanylaci	25
2.2. Acidobazická rovnováha.....	27
2.2.1. Udržování acidobazické rovnováhy – centrální regulační systémy.....	27
2.2.1.1. Dýchací systém.....	27
2.2.1.2. Renální systém.....	28
2.2.1.3. Poruchy acidobazické rovnováhy	28
2.3. Mímotělní oběh, součásti systému	30
2.3.1. Přístroj a pumpy (čerpadla) pro vedení MO	30
2.3.2. Oxygenátor.....	33
2.3.3. Výměník tepla a tepelná jednotka HCU	34
2.3.4. Kanyly, tubing set	36
2.3.5. Terumo CDI500™	42
2.3.6. ABL700Series.....	43
2.3.7. Vedení mímotělního oběhu.....	45
2.3.7.1. Příprava k perfuzi	45
2.3.7.2. Zahájení a vedení MO	48
2.3.7.3. Monitorování během mímotělního oběhu	49
2.3.7.4. Ukončení MO	50
3. Praktická část	51
3.1. Použité pomůcky a prostředky	51
3.2. Metodika	55
3.2.1. Operační postup	55
3.2.2. Odběr krevních vzorků	58
3.3. Výsledky	60
3.3.1. Laktát	63
3.3.2. pH.....	66
3.3.3. Base Excess (BE).....	69
3.3.4. Hemoglobin	73

3.3.5.	Hematokrit	76
3.3.6.	Komentář k výsledkům	80
4.	Diskuze.....	82
5.	Závěr	84
6.	Seznam použité literatury	85
7.	Seznam zkratk použitých v textu	89
8.	Seznam grafů a obrazové dokumentace	91

1. Úvod

Tato práce se zabývá regionální perfuzí končetiny při léčbě mnohočetných lokálně izolovaných metastáz maligního melanomu v dolní končetině u indikovaných pacientů. Principem léčby je perfuze postižené končetiny okysličenou krví, do které je při dosažení požadované teploty (39°C) přidán roztok cytostatika.

Cílem práce je zhodnocení vlivu tohoto typu léčby na acidobazickou rovnováhu a metabolismus v izolované končetině během hypertermické perfuze cytostatikem. Vzhledem k nižším hodnotám hematokritu a hemoglobinu v perfundované končetině během výkonu je dalším úkolem práce zhodnotit riziko možného reperfuzního postižení končetiny, prozkoumat účinek regionální končetinové perfuze na celkovou metabolickou odpověď v těle nemocného a potvrdit hypotézu, že tato léčebná metoda nevykazuje dlouhodobý nežádoucí metabolický účinek na perfundovanou končetinu.

Porovnáváme metabolické parametry (laktát, BE, pH) a hematologické parametry (Hb, Htk) v tepenné krvi perfundované končetiny odebrané z perfuzní linky a v arteriální krvi z těla pacienta odebrané z arterie radialis u 17 pacientů. Pro izolovanou perfuzi používáme přístroj pro mimotělní oběh Stöckert S3 (S5), oxygenátor Medos Hilite[®] 2800-Series, směšovač plynů Sechrist, jednotku pro chlazení a ohřev Stöckert a tepennou a žilní kanylu Polystan. Krevní vzorky ze systémového krevního oběhu jsou odebrány před zahájením perfuze; v čase zahájení perfuze, během perfuze, při jejím ukončení odebíráme krevní vzorky jednak ze systémového krevního oběhu, jednak z perfuzátu. Pro sledování systémových metabolických změn pokračují odběry z arterie radialis v odstupu 2, 6, 12 a 24 hodin po operaci. Výsledky jsou podrobeny statistické analýze.

Prozkoumáním metabolických změn v perfundované tkáni a v celém organismu a posouzením jejich změn v čase získáme konkrétní představu o dostatečnosti krevního zásobení perfundované končetiny během výkonu a vlivu této perfuze na končetinu i na celý organismus. Výsledek této práce přispěje k potvrzení či změnám ve stávajícím protokolu regionální perfuze.

2. Teoretická část

2.1. Maligní melanom

Maligní melanom je jedním z nejzhoubnějších kožních nádorů. Jeho výskyt celosvětově stoupá. Jeho vysoká biologická invazivita není způsobena jen jeho místním invazivním růstem, ale především sklonem k velmi časnému vytvoření metastáz (vyslání nádorových buněk do vzdálených míst) mízní nebo krevní cestou. Hlavním vyvolávajícím faktorem je pravděpodobně sluneční záření. Také životní styl s častým sluněním a vystavováním kůže přímému slunečnímu záření vede k předčasnému stárnutí kůže a častějšímu vzniku kožních nádorů. I časté návštěvy solárií a opakované expozice kůže UV záření přináší riziko vzniku melanomu. Dalším rizikovým faktorem je světlá pleť nebo rezavé vlasy s pihami v obličeji, hovoříme dokonce o tzv. melanomovém fenotypu. Jedinci s těmito vzhledovými atributy by měli být zvláště opatrní při pobytu na slunci v poledních hodinách, ve vyšších nadmořských výškách, i u vodních hladin a na sněhu. Roli při vzniku maligního melanomu hrají v 2 – 5% výskytu melanomu i genetické faktory [1]. V rodině, kde se melanom již vyskytl, je u pokrevních příbuzných asi o 8-10% vyšší riziko dalšího výskytu proti ostatní populaci.

Vyskytují se rovněž melanomy, které souvislost se slunečním zářením nemají. Jde o tzv. akrolní melanomy vyrůstající v oblasti nehtových lůžek a také melanomy slizniční v ústech, v pochvě a jiných lokalizacích. Zvláštní formou je melanom oční. Tyto formy jsou méně časté, nicméně velmi agresivní a vznikají především na podkladě genetické poruchy. Za 30 let (v období let 1970 - 2000) byl v ČR zaznamenán nárůst počtů melanomů o 370% u mužů a o 330% u žen. Dobrou zprávou je jen to, že úmrtnost na toto onemocnění vzrostla „jen“ o 100% u mužů a o 76% u žen [2].

2.1.1. Rizika vzniku melanomu

V 70% případů vzniká melanom na kůži v místě, kde se dříve nenacházelo žádné mateřské znaménko, a asi ve 30% vzniká v místě mateřského znaménka.

Rizikové jsou pigmentové névy, které jsou větší než 5 mm v průměru, nepravidelného tvaru, s asymetrií v rozložení pigmentu. Jsou ploché a neprominují nad okolím. Zvýšenou pozornost zasluhují také pigmentace, které se v poslední době změnily jak tvarově tak i barevně. Mohou svědčit. Maligní melanom roste nejprve horizontálně, pak vertikálně. Může krváčet, ačkoli toto není pravidlem. Při jakýchkoli pochybnostech ohledně vývoje (růstu / krvácení) névu nebo jiné kožní neobvyklosti by měl pacient navštívit lékaře.

Pokud jde o prevenci, je důležité nevystavovat kůži přímému slunečnímu záření. Je doporučeno používat opalovací krémy s dostatečně vysokými UV filtry. Důležité je nošení tmavých brýlí pro ochranu očí. Péči a dohled potřebují zvláště děti. Pravidelné kontroly na kožních ambulancích se doporučují u pacientů s primárně zvýšeným počtem pigmentových névů, u pacientů se světlým typem pleti s pigmentacemi či pihami, s červeným pigmentem vlasů, a také u příbuzných pacienta, který již onemocněl melanomem. Rovněž u pacientů, kteří užívají dlouhodobě imunosupresivní léčbu (např. Prednison a jiné), je poukazováno na zvýšené riziko vzniku melanomu.

Diagnostika a terapie je týmová práce. Melanomová komise sloužící k využití pro širokou odbornou i laickou veřejnost je jednou z nejdéle působících institucí v oblasti problematiky maligního melanomu. Pomáhá při diagnostice a plánování terapie nejen melanomu, ale i jiných kožních nádorů. Členy komise jsou onkochirurg, plastický chirurg, chemoterapeut, radioterapeut a dermatolog. V kompetenci komise je i zajištění případné návaznosti na další lékařské obory. K tomu, aby mohla být diagnostika přesná, je potřeba značná klinická zkušenost. Komise se schází pravidelně 1x týdně. Odesílajícími / doporučujícími lékaři jsou u většiny pacientů s podezřením na kožní anomálii dermatologové, praktičtí lékaři, chirurgové a další. Pokud pacient přichází již po odstranění melanomu na jiném pracovišti, pracovníci komise vyžadují celý histologický nález a popis [2].

2.1.2. Diagnostika melanomu

Maligní melanom je zhoubný nádor vycházející z melanocytů, buněk neuroektodermového původu. Vyskytuje se na kůži trupu, končetin, na dlaních, ploskách, i pod nehtovými ploténkami. V úvahu připadá též výskyt na sliznicích dutiny ústní, nosní, vedlejších dutin nosních, na sliznici v oblasti genitálu i anu. Primárně může vznikat v oku [1], [3].

Melanom je nádor postihující převážně bílou rasu. Lze jej očekávat častěji u osob s typickým kožním fenotypem, tedy u osob se světlou kůží, kteří se při pobytu na slunci obvykle spálí. Melanom může ovšem vzniknout i u lidí se snědou kůží. Za rizikový faktor, který ovlivňuje vznik melanomu, je považováno především intermitentní prudké slunění (zahrnující i intenzivní slunění v soláriu) a opakované těžké spálení kůže, zejména proběhlo-li opakovaně v dětství [1].

Melanom vzniká především ve zdravé, předtím nepoškozené kůži, kde začne být patrná drobná, většinou hnědá, několik mm velká ploška. Pouze asi 1/3 případů se vyvíjí v terénu předchozího melanocytového névu. Známkou patologie v místě změněného névu nebo zmíněné nově se objevující plošky je růst útvaru, změna tvaru, barvy, krvácení, zánětlivá reakce v okolí ložiska, a asi v 50% případů svědivé projevy [1], [3].

Pro hodnocení změn typických pro počínající melanom byl vytvořen akronym ABCDE [1]:

A – asymetry. Melanom vytváří od počátku nepravidelná ložiska, růstem se zvýrazňuje asymetrie.

B – border. Okraje melanomu jsou nepravidelné, se zářezy a výběžky jako znakem šíření do okolí.

C – color. Barva je skvrnitá s různými odstíny hnědé a černé, časté jsou i šedé až šedomodré plošky.

D – diameter. Velikost bývá větší než u běžných névů, melanom má minimálně v jednom rozměru velikost 5 – 6 mm.

E – enlargement. Melanom se na rozdíl od névu trvale zvětšuje. Dynamika procesu jej tedy zásadně odlišuje od klidných névů [1].

Generalizované formy melanomu jsou hodnoceny na základě symptomatologie v závislosti na lokalizaci metastatického poškození. Při nedostatečně široké primární excizi se mohou tvořit lokální recidivy v jizvě nebo intranzitní kožní metastázy, které se projevují hnědými nebo amelanotickými uzlíky v kůži nebo podkoží. Nejčastěji se jako první objevují metastázy v regionálních lymfatických uzlinách. Jsou typické tuhou kulovitou rezistencí v příslušné oblasti. Melanom může metastazovat i do jiných orgánů. Plicní metastázy se projevují dušností a chronickým kašlem, jaterní metastázy hepatomegalií a alterací jaterních funkcí, kostní metastázy bolestí kosti a patologickou frakturou, mozkové metastázy rozličnou neurologickou symptomatologií [1], [3], [4].

Klinická diagnostika a diferenciální diagnostika je stanovována dermatologem – specialistou v problematice pigmentových lézí, v rámci melanomové poradny (*viz kap. 2.1.1.*). Kromě prosté aspekce je součástí klinického vyšetření i vyšetření dermatologické, které pomáhá v diferenciální diagnostice počínajícího melanomu. Konečná diagnóza je stanovena po excizi nádoru a mikroskopickém histologickém vyšetření tkáně [1]. Součástí histologického popisu musí být uvedení hodnot dle Breslowa (**tab. 1**), které určuje prognózu onemocnění [1]. Na základě zhodnocení pokročilosti a prognózy nádoru je stanoven i další vyšetřovací postup. Provádí se RTG hrudníku a UZV břicha a případně regionální lymfatické oblasti. Vyšetření se opakují v odstupu 6 – 12 měsíců, posouzeno podle stupně závažnosti primárního nádoru. Další vyšetřovací schéma je určeno individuálně podle nálezu a potíží nemocného. V případě kosterní nebo centrální symptomatologie je doplněna scintigrafie skeletu a CT hlavy, v některých případech je indikováno vyšetření PET [1].

Melanom je klasifikován podle následujících kritérií: místní a systémová lokalizace tumoru a jeho velikost (**tab. 2**), histologický nález (**tab. 3**).

Tab. č. 1 Hodnocení procenta prognózy přežití při invazi v rozsahu [mm] (Breslow, 1970,) [5]

Invaze [mm]	Pětileté přežití [%]
Do 0,75	98 - 100
0,76 – 1,5	90 – 95
1,51 – 2,25	80 – 85
2,26 – 3,0	70 – 75
Více než 3,0	45

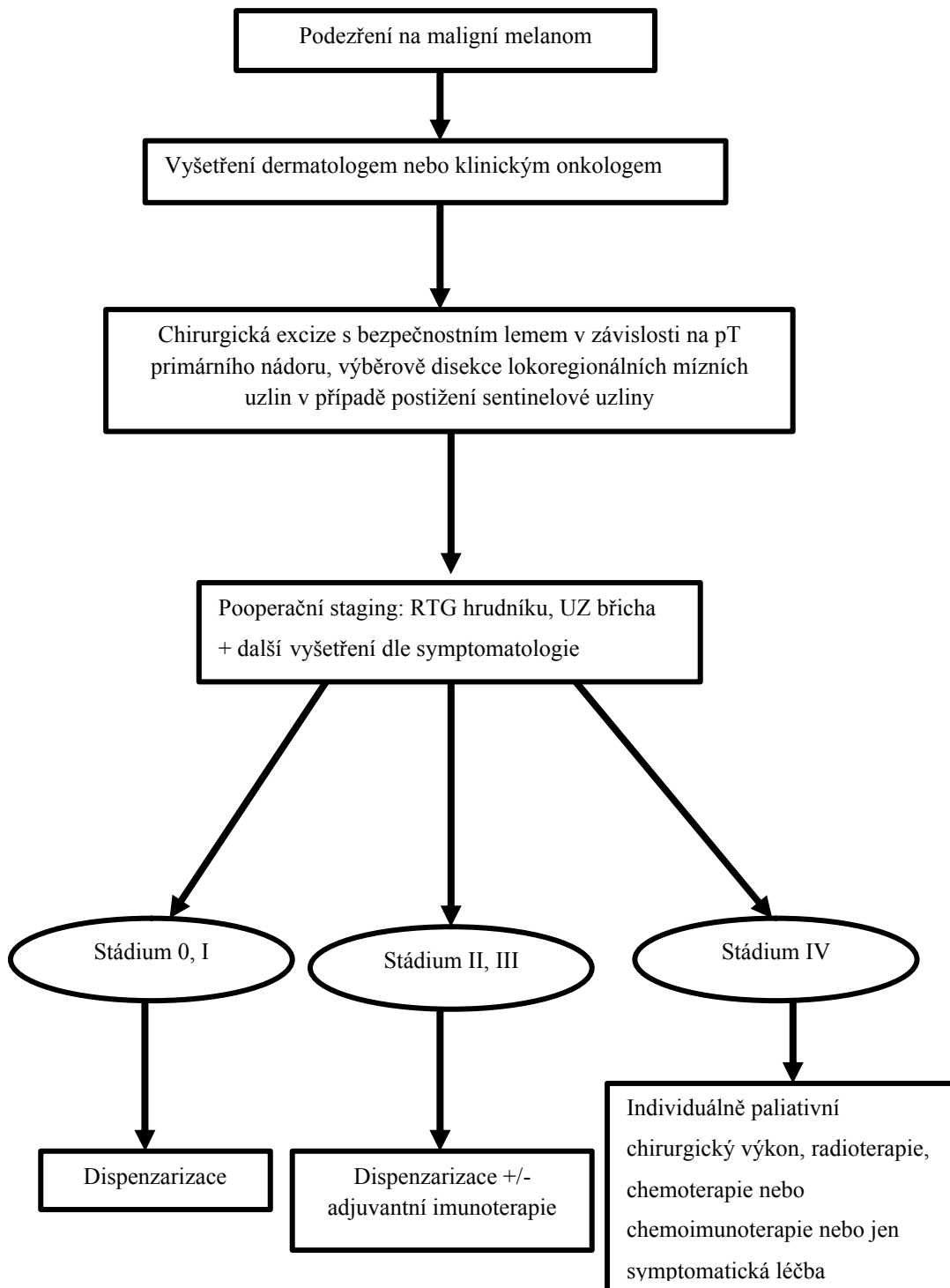
Tab. č. 2 Klasifikace stadií podle Andersona [5]

I	Primární ložisko melanomu
II	Lokální rekurence / metastáza do 3 cm
IIIA	Intradermální regionální metastáza
IIIB	Regionální metastáza do lymfatických uzlin
IIIAB	Intradermální a regionální metastáza do lymfatických uzlin
IVA	Vzdálená metastáza – kožní
IVB	Vzdálená metastáza – jakákoli viscerální

Tab. č. 3 Hodnocení histologické invaze (Clark, 1969) [2]

I	Melanoma in situ (neprorůstá bazální membránou)
II	Průnik přes bazální membránu do stratum papillare
III	Infiltrace stratum papillare
IV	Infiltrace stratum reticulare
V	Infiltrace podkoží

Graf č. 1 - Algoritmus používaný v diagnostice a léčbě melanomu, [1]



2.1.3. Léčba melanomu

Léčebný postup je při potvrzené diagnóze maligního melanomu rozdělen do stadií, která korespondují s histologickým hodnocením stadií onemocnění (*graf 1*). Nemocní v I. stadiu mohou být léčeni pouze excizí s 5 mm lemem zdravé tkáně. U nádoru II. stadia by se velikost lemu měla dodržet asi 2 cm při tloušťce nádoru do 1,5 mm. U nádorů o tloušťce nad 1 mm je navíc doporučeno vyšetřit sentinelovou uzlinu a exenteraci příslušné lymfatické oblasti provést v případě metastatického postižení sentinelové uzliny. Ve III. stadiu, při tloušťce nádoru mezi 1,5 – 4,0 mm by velikost bezpečnostního lemu včetně tloušťky excize měla být kolem 2 cm. U nádorů o tloušťce 1,5 – 4,0 mm je rovněž doporučeno vyšetřit sentinelovou uzlinu a exenteraci příslušné lymfatické oblasti provést v případě metastatického postižení sentinelové uzliny. Standardním postupem při léčbě nádoru ve IV. stadiu – tloušťka nádoru je nad 4,0 mm – je široká lokální excize s lemem o velikosti 3 cm. WHO je doporučeno vyšetřit sentinelovou uzlinu a exenteraci příslušné lymfatické oblasti provést pouze v případě metastatického postižení sentinelové uzliny. Zde již je navíc indikována pooperační adjuvantní chemoterapie interferonem alfa, neboť ve srovnání s neléčenými nemocnými prodlužuje čas do recidivy onemocnění i celkové přežití pacientů [1]. Melanom metastazující do mízních uzlin – V. stadium nádoru - je léčen chirurgicky, a to vždy radikální exenterací postižené lymfatické oblasti, nikdy ne pouze exstirpací postižené uzliny (lokální uzlinová recidiva se zde projeví prakticky okamžitě). V případě kontraindikace chirurgického výkonu připadá v úvahu aktinoterapie a chemoterapie cytostatikem. V případě izolovaných metastáz melanomu v játrech, slezině, plicích nebo mozku je možné provést chirurgický / neurochirurgický výkon a / nebo stereotaktické ozáření. Konvenční radiační terapie přispívá k symptomatické kontrole při postižení skeletu nebo při mozkových metastázách [1].

Další léčebné možnosti nabízené s ohledem na klasifikaci onemocnění dle Andersona (*tab. 2*) jsou uplatněny u pacientů ve III. A a III. stadiu. V úvahu připadá chirurgická resekce kožních a podkožních metastáz prováděná v místní anestezii, aktinoterapie aplikovaná na mnohočetné kožní a podkožní metastázy nebo metastázy ve spádových mízních uzlinách v případě, kdy není možná chirurgická resekce,

intralezionální imunoterapie (injekční aplikace imunoterapeuticky působícího preparátu přímo do kožní nebo podkožní metastázy), lokální kryoterapie kryo-kauterem, izolovaná končetinová hypertermická perfuze (*viz kap. 2.1.3.2.*), exenterace mízních uzlin v celé postižené spádové oblasti (při průkazu metastáz v uzlinách histologicky nebo klinicky – ultrasonograficky). Pacienti ve stadiu IV jsou léčeni podle typu postiženého orgánu, stavu nemocného a dalších individuálních kritérií chirurgicky, aktinoterapií, chemoterapií cytostatiky, imunoterapií nebo chemoimunoterapií. Orgánovými metastázami jsou nejčastěji postiženy plíce, játra, mozek, kosti a další orgány [2].

Maligní melanom se vyznačuje poměrně značnou rezistencí k léčbě chemoterapií i ozařováním. Proto je léčba především chirurgická. Chirurgický přístup se uplatňuje i při diagnostice - excizní biopsie (tedy odstranění celé morfy s těsným lemem zdravé tkáně). Při potvrzení diagnózy je indikováno radikální chirurgické odstranění, prováděné podle výše uvedených postupů.

Rekurence maligního melanomu na horní nebo dolní končetině je obvykle indikována k lokální chirurgické resekci s případnou další onkologickou léčbou [2]. Jestliže počet, velikost nebo lokalizace primární léze nebo metastatických lézí nedovoluje tento typ léčby, je nádor označen jako lokálně neresekovatelný, a jsou-li splněny podmínky indikace k izolované končetinové hypertermické perfuzi, je nemocný ošetřen touto metodou [5]. Intransitní metastázy se vyskytují u 5 – 8% nemocných s vysoce rizikovým typem melanomu. Možnost prosté chirurgické excize bývá též limitována velikostí, četností lézí a stavem po předešlých léčebných procedurách, např. radioterapii [5]. Radioterapie, chemoterapie a / nebo imunoterapie má u maligního melanomu omezenou účinnost [5]. Způsob léčby nemocných v případě rekurentní léze je indikován individuálně. Možností je excize, radioterapie a lokální hypertermie, izolovaná hypertermická končetinová perfuze (i opakovaná), doplněná případnou chirurgickou excizí léze, chemoterapie, imunoterapie, a v extrémních případech, po posouzení a vyčerpání výše uvedených terapeutických možností, amputace končetiny [5].

2.1.3.1. Farmakologická léčba

K léčbě maligního melanomu a obecně malignit měkkých tkání končetin je standardně používáno cytostatikum Melphalan (Alkeran). Jde o cytotoxickou látku ze skupiny alkylujících látek. Tvorba meziproductů (organických iontů nesoucích pozitivní náboj na uhlíku) z každé ze dvou 2-chloretylových skupin umožňuje alkylaci pomocí kovalentní vazby s dusíkem v poloze 7 guaninu na DNA. Tím dojde ke zkříženému spojení dvou vláknem DNA, čímž je znemožněná replikace buněk [6]. Po aplikaci injekce Melphalanu je u pacientů v plazmě zjištěn monohydroxymelphalan a dihydroxymelphalan, dosahující maximálních koncentrací přibližně po 60 – 105 minutách. V lidském organismu Melphalan podléhá spontánní degradaci, není metabolizován v játrech. Jen zanedbatelné množství Melphalanu je vylučováno ledvinami v nezměněné formě [6].

Přípravek – komerční balení – obsahuje 50 mg léčivé látky (melphalanum) a pomocné látky (povidon, kyselina chlorovodíková 35%) v jedné lahvičce, a 10 ml lahvičku rozpouštědla složeného z dihydrátu citronanu sodného, propylenglykolu, 96% etanolu a vody na injekce [6]. V případě použití přípravku pro operaci metodou HILP, která je prováděna v případě pokročilé, avšak lokalizované formy onemocnění, je typické dávkovací rozmezí při perfuzi horní končetiny mezi 0,6 – 1,0 mg * kg⁻¹ tělesné hmotnosti, při perfuzi dolní končetiny mezi 0,8– 1,5 mg * kg⁻¹ tělesné hmotnosti [6]. Příprava injekčního roztoku Alkeranu spočívá v jednorázovém přidání 10 ml rozpouštědla k lyofilizovanému prášku a protřepávání obsahu lahvičky, dokud nevznikne čirý roztok. Je-li v roztoku zjištěn zákal nebo nerozpuštěné částičky, nelze jej použít a je nutné zlikvidovat jej v souladu s protokolem pro likvidaci nebezpečných látek [7]. Roztok k použití obsahuje v 1 ml ekvivalent 5 mg bezvodého Melphalanu a má hodnotu pH přibližně 6,5. Injekční roztok Melphalanu má časově omezenou stabilitu, připravuje se tedy těsně před aplikací. Příprava probíhá za pokojové teploty (přibližně 25°C) – rekonstituovaný roztok se nesmí ukládat do chladničky, neboť by došlo k precipitační reakci [6], [8]. Pokud se připravený roztok Alkeranu dále ředí infuzním roztokem, klesá více jeho stabilita a rychlost degradace se zvyšuje se stoupající teplotou. Od přípravy – rekonstituce – by neměla do aplikace injekce / infuze

uplynout doba delší než 90 minut [6]. Přípravek má k podání připravovat lékárník dobře obeznámený s vlastnostmi léku a s požadavky na bezpečné zacházení s ním, či musí mít nad přípravou přímý dozor. Rekonstituce léku probíhá v aseptické jednotce lékárny [6], nebo – jako v případě pracoviště FP VFN – ve specializovaném Centru pro přípravu cytostatik [7], [9]. Tato pracoviště jsou vybavena speciálním boxem s vertikálním laminárním prouděním vzduchu – digestoří [6], [9]. Osoby, které během přípravy s cytostatikem manipulují, musí používat ochranné pomůcky a prostředky [7], [9].

S výjimkou případů, kdy je Alkeran podán při indikované regionální arteriální perfuzi, a je tudíž aplikován do perfuzátu v mimotělním oběhu, je přípravek určen výhradně k nitrožilnímu použití [6], [9]. Frekvence výskytu nežádoucích účinků Melphalanu se liší individuálně v závislosti na indikaci a užití dávce, a také v závislosti na kombinaci s dalšími léčivy [6].

Dojde-li během manipulace s Alkeranem ke kontaminaci okolního prostředí, je nutné zasažené pracovní plochy, případně zasažená místa na těle pacienta nebo ošetřujícího personálu neprodleně dekontaminovat a materiál použitý k dekontaminaci likvidovat v souladu s protokolem o manipulaci s cytostatiky a likvidaci nebezpečného / toxického odpadu [7], [9].

Beromun je přípravek obsahující jako účinnou látku tasonermin. Jde o tumor-nekrotický faktor alfa-1a (TNF α -1a) vyrobený rekombinantní DNA technologií v *E. coli* [10]. Komerční balení obsahuje 1 mg účinné látky tasonerminum a 5 ml rozpouštědla. Po naředění přípravku obsahuje 1 ml roztoku 0,2 mg tasonerminu. Přípravek Beromun je užíván jako doplněk chirurgické léčby s následným odstraněním tumoru při prevenci nebo oddálení amputace končetiny, nebo k paliativní léčbě při chirurgicky neřešitelné malignitě měkkých tkání končetin. Aplikován je v kombinaci s Melphalanem za použití metody izolované hypertermické končetinové perfuze [10]. Celková dávka přípravku Beromun pro izolovanou perfuzi horní končetiny je 3 mg, pro izolovanou perfuzi dolní končetiny 4 mg. Dávka pro perfuzi se vypočítává podle objemu perfundované končetiny v $\text{mg} \cdot \text{litr}^{-1}$. Průtok perfuzátu izolovanou končetinou je vypočítán pomocí vzorce pro výpočet tělesného povrchu a průtoku během MO – pro standardní MO je to $2,4 \text{ l} \cdot \text{m}^{2(-1)} \cdot \text{min}^{-1}$, poté je výsledek výpočtu přepočítán na

procento parciálního objemu krve v končetině (horní končetina – 9%, dolní končetina – 18% celkového objemu krve [5]). Obecně je Beromun používán ve vypočítané dávce $13 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ perfundovaného objemu horní končetiny, a v dávce $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ perfundovaného objemu dolní končetiny do maxima dávky 150 mg [10].

Melphalan (Alkeran) je standardně užívaným cytostatikem. Léčebné odpovědi je dosahováno kombinací lokální hypertermie (kombinace podložky a izolované mimotělní cirkulace) a vysoké koncentrace cytostatika. Kompletní léčebné odpovědi při užití Melphalanu je dosaženo u 54 % nemocných [5]. Řada autorů doporučuje jeho kombinaci s Tumor Necrosis Faktorem alfa (TNF alfa), který však není t.č. do České republiky dovážen, nicméně jeho užití je pro tuto skupinu nemocných otázkou snad blízké budoucnosti. Po zavedení TNF alfa do klinické praxe v zahraničí v roce 1992 byly publikovány soubory dosahující kompletní léčebné odpovědi až u 73 % nemocných [5]. Synergii spojenou s profitem nemocných při kombinaci uvedených látek v perfuzátu popisuje např. E. Noorda et al. [11]. Mechanismus působení kombinace cytostatika a TNF alfa spočívá ve zvýšení prostupnosti cévního zásobení tumoru (účinkem TNF alfa), kdy se poté může v plné šíři uplatnit účinek Melphalanu. To je výhodou zejména u nemocných, kteří trpí nádorem ve formě nodulů, respektive rozsáhlejších nádorových mas. Jiní autoři popisují dosažení kompletní léčebné odpovědi ve 45 % případů ve skupině pacientů ošetřených metodou HILP (Melphalan) ve srovnání s 59 % případů ve skupině pacientů ošetřených metodou HILP (Melphalan+ TNF), kdy ve druhé skupině bylo tohoto stavu dosaženo o 1 měsíc dříve (2 vs. 3 měsíce), kdy však četnost rekurence a medián rekurence byl v obou skupinách stejný. Jakkoli v některých studiích statisticky nevýznamná, avšak zřejmá, je tendence k lepší léčebné odpovědi u nemocných léčených kombinací Melphalanu + TNF alfa [5].

Další, v průběhu devadesátých let minulého století podrobně studovanou kombinací chemoterapeutik byl Melphalan + TNF alfa + interferon-gamma. Jedná se zejména o Multicenter European phase 2 trial [5], [12], [13], která tento trend potvrdila. V této studii byli nemocní rozděleni do dvou skupin. První byla léčena kombinací Melphalan + TNF alfa, druhá kombinací Melphalan + TNF alfa + interferon gamma. Výsledky v těchto skupinách byly porovnány s výsledky v historické skupině

nemocných léčených pouze HILP s použitím Melphalanu, a potvrdily výsledky předešlých studií [5].

2.1.3.2. Hyperthermic Isolated Limb Perfusion (HILP)

Použití techniky MO umožňuje na určitou dobu zcela izolovat cévní řečiště postižené končetiny od systémového krevního oběhu a perfundovat je léky – cytostatiky - v koncentracích mnohonásobně vyšších než jsou v případě celkové parenterální aplikace, kdy je nutné kvůli toxicitě užívaných farmak aplikovat tyto léky jen v tolerovaných koncentracích. Metoda HILP – izolovaná hypertermická končetinová perfuze – je založena na termosenzitivitě nádorových buněk, potenciací účinku cytostatika při hypertermii, selektivitě cytostatika Melphalanu a na lokálním účinku při izolaci perfundované končetiny s minimálním toxickým vlivem na organismus jako celek.

Relativními nevýhodami metody jsou: riziko úniku cytostatika do systémového oběhu, s tím spojená možnost systémových komplikací, riziko lokálních komplikací, relativní složitost procedury a nutnost speciálního vybavení pracoviště s možností vedení mimotělního oběhu.

Indikací k tomuto způsobu léčby jsou melanomy, sarkomy, jiné nádory měkkých tkání lokalizované na končetinách bez možnosti lokální chirurgické resekce [11] a u nemocných s lokální recidivou tumoru bez průkazu vzdálených metastáz, nebo s metastázami izolovaně lokalizovanými na končetinách [5], [6], [14], [15]. Historicky byla nejprve používána normotermní perfuze – 1958, Creech a Krementz – z důvodu obav ze spazmu cév následkem hypertermie [5]. První hypertermická perfuze byla provedena roku 1962 [16]. Díky izolaci oběhu perfundované končetiny je tímto postupem možné dosáhnout více než dvacetinásobné tkáňové koncentrace cytostatika ve srovnání s maximální dosažitelnou koncentrací při systémovém podání [5]. Použití jednotlivých typů cytostatik, případně jejich vzájemné kombinace, přináší další zlepšení léčebných výsledků [5], [6], [10]. Maximální profit z léčby metodou HILP mají nemocní s rekurencí onemocnění, přítomností intranzitních metastáz melanomu,

případně s jinými (sarkom, karcinom) neresekovatelnými malignitami měkkých tkání. Obecnou podmínkou léčby metodou HILP je citlivost nádoru vůči Melphalanu [5] a jeho dobrá systémová tolerance.

Podle literárních údajů je pro dosažení kompletní léčebné odpovědi indikované stadium IIIA, resp. III podle MD Andersona (*tab. 2*). Pokročilejší stadia onemocnění před HILP znamenají horší prognózu, pokud jde o sledované parametry léčebné odpovědi. Stran prognózy celkového přežití nemocných je významným parametrem k dosažení kompletní léčebné odpovědi též velikost tumoru do 3 cm [5], [11].

Metoda HILP se tímto stává samostatnou léčebnou metodou, během níž dosahujeme kvalitní léčebné odpovědi kombinací lokální hypertermie a vysoké koncentrace cytostatika. Standardně užívaným lékem je Melphalan (Alkeran – viz *kap. 2.1.3.1.*). Samotné technické provedení operace spočívá v preparaci cév dané lokality (viz *kap. 2.1.3.3.*) a následné kanylaci pro zajištění mimotělního oběhu, případně v užití miniinvazivní punkční techniky ke zpřístupnění cév pro kanylaci [17]. U tumorů lokalizovaných od poloviny stehna distálně volíme jako místo kanylace femorální cévy. U tumorů, které zasahují horní část stehna až do oblasti tříselného vazy, je třeba kanylovat ilické cévy. V tomto případě chirurg volí šetrný extraperitoneální přístup (viz *kap. 2.1.3.3.*), [5]. Volba místa kanylace pro perfuzi horní končetiny rovněž vychází z lokalizace tumoru. Zde jsou nejčastěji kanylovány cévy brachiální, případně axilární, a to z krátké, kosmeticky příznivé excize [5].

Izolace kolaterálního oběhu je zajištěna kombinovaným způsobem – užitím dočasné zevní fixace Esmarchovými škrtidly a naložením cévních svorek na kolaterály patrné přímo v místě incize a vypreparovaného operačního pole tak, aby periferie perfundované končetiny byla maximálním možným způsobem izolována a nedocházelo k úniku hypertermického perfuzátu, resp. cytostatika o vysoké koncentraci, do systémového krevního oběhu.

Pomocí oxygenátoru, který je součástí setu na přístroji pro mimotělní oběh, zajistíme výměnu plynů v krevním roztoku, a tedy dostatečné okysličení krve protékající končetinou jako prevenci končetinové ischemie během operačního výkonu.

Krev je možné pomoci výměníku tepla i ohřívat, neboť některé léčebné metody kombinují lokální účinek chemoterapeutika podaného ve vysoké koncentraci s účinkem lokální hypertermie. Standardní doba ohřevu končetiny je asi 30 minut. Po dosažení cílové teploty perfuzátu (38,0 – 39,0°C) je do krve cirkulující v mimotělním okruhu přidána infuze cytostatika (Melphalan / Alkeran) v množství, které závisí na objemu perfundované končetiny [5], [6]. Poločas rozpadu cytostatika je krátký [6], proto je jeho příprava v Centru pro přípravu cytostatik FP a VFN zahájena na výzvu současně se zahájením perfuze [5], [9]. Od rekonstituce injekčního roztoku cytostatika do dokončení infuzního podání by neměla uplynout doba delší než 90 minut [5]. Stabilita a rychlost degradace se rychle zvyšuje se stoupající teplotou [5], [6]. Hlavním faktorem určujícím poločas rozpadu v lidském organismu je hlavně spontánní degradace, převažující nad enzymovou metabolizací [5]. Doba perfuze s cytostatikem je 60 minut (resp. 90 – 100 minut při použití kombinace cytostatik (*viz kap. 2.1.3.1.*)). Na konci perfuze jsou arteriální linkou aplikovány 2 – 3 litry izotonického krystaloidního infuzního roztoku k vymytí perfuzátu [5]. Součástí žilní linky systému musí tedy být odbočka s možností připojení sběrného vaku, do něhož je na konci perfuze vypuštěn tento objem, který obsahuje rezidua použitého chemoterapeutika [5], [18]. S ohledem na pokles v hodnotách krevního obrazu, který nastává logicky likvidací izolovaného perfuzátu a jeho dohrazení náhradním infuzním roztokem, jsou pro nemocného připraveny obvykle dvě transfuzní jednotky erytrocytového koncentrátu. Jejich podání je ale spíše výjimečné [5]. Možnost monitorace úniku perfuzátu během výkonu existuje za použití metod nukleární medicíny s použitím radioaktivně značené bílkoviny (Albumin) přidané do perfuzátu po aplikaci cytostatika [5]. Metabolické změny v perfundované končetině nevedly ke vzniku compartment syndromu u žádného z pacientů ošetřených ve VFN metodou HILP. Tato skutečnost je ve shodě s výsledky predikce rozvoje compartment syndromu po reperfuzi ischemické končetiny na základě biochemického monitoringu, kdy dostatečnou oxygenaci tkání zajišťuje zařazení oxygenátoru do systému mimotělního oběhu i při sníženém hematokritu vlastního perfuzátu.

Vlastní výkon se provádí po dohodě s nemocným v šetrné celkové anestezii, která je pro nemocného vzhledem k délce výkonu výhodnější. Standardní protokol operace zahrnuje zavedení epidurálního katetru k podávání analgezie, zejména však pro

pooperační období a též vzhledem k možným pooperačním komplikacím. Po operaci je nemocný 24 hodin monitorován na jednotce intenzivní péče. Další pobyt na standardním oddělení, který závisí na individuální rychlosti časné rekonvalescence a výskytu eventuálních lokálních komplikací, v průměru nepřesahuje 3 dny.

S ohledem na vypočtené malé průtoky systémem mimotělního oběhu je doporučováno použít low-flow systém – ideálně dětský oxygenátor, který je na nízkoprůtokový provoz přímo konstruovaný. Hadicový set je doporučený v rozměru 1/4“. Délka hadic by měla vzhledem k minimalizaci náplně systému pro izolovanou končetinovou perfuzi být co nejmenší. Optimalizací délky hadicového setu se rovněž předejde ztrátám tepla ze systému během perfuze.

Při výpočtu náplně a průtoku perfuzátu systémem vycházíme z obecně akceptovaného pravidla, že horní končetina představuje 9% a dolní končetina 18% celkového tělesného povrchu – (BSA – body surface area) [19]. Výpočetní algoritmus pro výpočet BSA je na kardiochirurgických pracovištích součástí softwaru monitorů na operačních sálech.

Složení vlastní náplně systému pro mimotělní oběh ani úroveň heparinizace se neliší od běžně používané náplně a dávky Heparinu pro standardní operace v mimotělním oběhu.

Kanyly volíme podle velikosti odpovídající průsvitu končetinových cév. Velikost spojek rovněž odpovídá vnitřním průměrům použitých kanyl a hadic systému pro mimotělní oběh. Vlastní zavedení kanyl do příslušných cév a jejich pokud možno dokonalá izolace od systémového krevního oběhu je starostí chirurga, který operaci vede, a který po kanylaci a důsledné kontrole izolace kanyl navíc nakládá dva až tři turnikety nebo Esmarchova škrtidla nad místo kanylace jako prevenci úniku perfuzátu do systémového krevního oběhu.

Po celou dobu izolované perfuze je perfuziolog povinen přesně sledovat náplň celého systému mimotělního oběhu. Nesmí dojít k úniku perfuzátu do systémového krevního oběhu. Při podezření na netěsnost izolace je nutno přerušit ihned

cirkulaci perfuzátu a ve spolupráci s chirurgem zrevidovat a upravit těsnost kanylace a izolace ošetřované končetiny.

Hodnocení odpovědi organismu ve smyslu toxického poškození je uspořádáno v tabulce Wieberdinkovy klasifikace akutní regionální toxicity (**tab. 4**), [5]. Ze středně a dlouhodobého hlediska jsou hodnoceny následující parametry: komplikace ve smyslu žilní trombózy, infekce v ráně, hojení *per secundam intentionem*. Jako parametry sledování dlouhodobé toxicity jsou uváděny: edém, neuropatie, atrofie svalstva, a obecně malfunkce končetiny [5].

Tab. č. 4 Wieberdinkova klasifikace akutní regionální toxicity, [5]

Charakteristika stupně postižení	Stupeň
Žádná reakce	1
Lehký erytém / edém	2
Významný erytém / edém s postižením motorické funkce	3
Extenzivní epidermolýza / postižení hlubokých měkkých tkání s funkčním postižením, přítomnost kompartment-syndromu	4
Reakce vyžadující amputaci končetiny	5

Léčba metodou HILP musí být prováděna ve specializovaných centrech chirurgickými týmy se zkušeností s procedurou izolované hypertermické končetinové perfuze. Okamžitá dostupnost jednotky intenzivní péče s vybavením pro nepřetržité monitorování úniku léčivého přípravku do systémové cirkulace je nutnou podmínkou realizace léčebné metody s využitím kombinace přípravků Melphalan + Beromun [10].

2.1.3.3. Cévní přístupy pro chirurgickou kanylaci

Arteria femoralis superficialis – dobře hmatná v třísle. Průběh arterie sleduje imaginární spojnicí přibližného středu *ligamentum inguinale* se středem mediálního kondylu tibie. Chirurgická incize je vedena od *ligamentum inguinale*. Vypreparovaná

arterie se v incizi nachází laterálně od *vena femoralis*, mediálně od *nervus femoralis*. Z tohoto chirurgického přístupu je též možno vypreparovat v případě potřeby *arteria femoralis profunda*. V okamžiku vypreparování dostatečně rozsáhlého úseku tepny a žíly na končetině a zajištění cévních odstupů a okolních struktur je teprve možná chirurgická kanylace tepny.

V případě potřeby kanylovat *arteria femoralis* ve střední části stehna se asi 8 cm dlouhá incize řídí průběhem *musculus sartorius*, který ale leží proximálně od arterie. Je nutné protnout fascii obalující *musculus sartorius* a odtáhnout sval laterálně. Poté se protne zadní list fascie, pod kterou se nachází cévní svazek. Cévy jsou dobře přístupné po otevření *canalis adductorius*.

Arteria iliaca interna - vzniká rozdělením *arteria iliaca communis*, probíhá do malé pánve směrem k *foramen ischiadicum majus* a *musculus piriformis*. Dorzálně má příslušnou věnu a horní část nervové sakrální pleteně. Její větvení vykazuje značnou variabilitu. Na tepně se rozlišuje dorzální a ventrální kmen (vznikají rozdělením této tepny krátce po jejím vzniku) a parietální a viscerální větve. Dorzální parietální větve jsou *arteria iliolumbalis*, *arteriae sacrales laterales* a *arteria glutea superior*. Ventrální parietální větve jsou *arteria obturatoria* a *arteria glutea inferior*. Viscerální větve vystupují z ventrálního kmene a jsou to *arteria umbilicalis*, *arteria vesicalis inferior*, *arteria ductus deferentis* (u muže), resp. *arteria uterina* (u ženy), *arteria rectalis media*, *arteria pudenda interna*.

Arteria brachialis – na paži hmatná v mediální bicipitální rýze. V tomto místě je snadno přístupná při správně polohované paži – abdukci a mírné rotaci. Chirurgická incize je vedena paralelně s průběhem *nervus medianus*. Po protěti fascie leží nerv přímo v ráně, je tedy třeba jej odtáhnout laterálně, neboť jinak brání přístupu k tepně. *Vena brachialis* kopíruje průběh brachiální tepny. V okamžiku dostatečně rozsáhlého úseku tepny a žíly na paži a zajištění cévních odstupů a okolních struktur je teprve možná chirurgická kanylace tepny [20].

2.2. Acidobazická rovnováha

Koncentrace vodíkových iontů v extracelulární tekutině, vyjadřovaná obvykle jako pH, je udržovaná v poměrně úzkém rozsahu hodnot (7,34 – 7,45). Tuto schopnost organismu nazýváme acidobazickou rovnováhou. Proti narušení této rovnováhy využívá lidský organismus tři obranné a vyrovnávací mechanismy. Nárazníkové (pufrovací) systémy neutralizují kyseliny a zásady přijaté v potravě nebo vzniklé během látkové přeměny v organismu. Respirační kompenzací jsou z těla odstraňovány kyseliny a zásady způsobem úměrným jejich tvorbě při vstupu do organismu. Tím je v tělesných tekutinách udržována stálá koncentrace H^+ iontů. Klíčovou roli v tomto regulačním procesu mají plíce a ledviny.

Hlavním nárazníkovým systémem v extracelulární tekutině je systém bikarbonátový, který je tvořen dvojicí HCO_3^-/CO_2 . Oxid uhličitý (CO_2) trvale vzniká jako jeden z konečných produktů metabolismu. Z těla je eliminován plícemi úměrně jeho tvorbě. Množství HCO_3^- v plazmě je regulováno ledvinami. Kapacita iontu HCO_3^- jako akceptoru H^+ je omezená, ale jeho zvýšená potřeba může být saturována zvýšenou činností ledvin (zvýšenou resorbci, případně produkcí nově vytvořeného HCO_3^-). V případě alkalózy může být bikarbonátový ion ledvinami vylučován [21].

2.2.1. Udržování acidobazické rovnováhy – centrální regulační systémy

2.2.1.1. Dýchací systém

Dýchací systém reguluje pH zvýšením nebo snížením alveolární ventilace. To vede ke zvýšení nebo snížení pH změnou vylučování CO_2 , neboť pCO_2 je v rovnováze s H^+ díky reakci CO_2 s H_2O katalyzované karboanhydrázou:



Zvýšení alveolární ventilace vede ke zvýšené eliminaci CO_2 z extracelulární tekutiny, a tedy k posunu pufrační reakce doleva, ke snížení koncentrace iontů H^+ . Snížená ventilace má opačný účinek. Na rozdíl od prostého pufrování H^+ iontů je tedy respirační kompenzace skutečným regulačním mechanismem, který dokáže uplatněním záporné zpětné vazby zvrátit změny pH. Aby však bylo možné zvrátit změny pH ke zcela fyziologickým hodnotám, je nezbytné, aby se regulačního (kompenzačního) procesu kromě dýchacího systému účastnil i další, renální systém [21], [22].

2.2.1.2. Renální systém

Kompenzační mechanismy ledvin jsou nejpomalejší ze všech tří obranných linií, fungují řádově v hodinách až desítkách hodin, a jsou založeny na regulaci a vylučování iontů H^+ a HCO_3^- . Mechanismus regulace funguje tak, že pokud koncentrace iontů H^+ v plazmě roste, ledviny zvyšují jejich sekreci a současně zvyšují i resorbci iontů HCO_3^- . Pokud naopak koncentrace iontů H^+ v plazmě klesá, sekrece iontů H^+ a resorbce iontů HCO_3^- se v ledvinách snižuje. Oba procesy jsou vzájemně propojené [21], [22].

2.2.1.3. Poruchy acidobazické rovnováhy

Kyselost – pH (z angl. – potential of hydrogen) je číslo, kterým je v chemické terminologii vyjádřeno, zda vodný roztok reaguje kyselé či naopak zásaditě. Jedná se o logaritmickou stupnici s rozsahem hodnot 0 – 14 (hodnota pH je definována jako záporně vzatý dekadický logaritmus aktivity oxoniových kationtů), přičemž neutrální voda má $\text{pH} = 7$. Jako kyseliny jsou uvažovány látky s pH v rozsahu 0 – 6,9, kdy platí, že čím blíže je číslo k nule, o tím silnější kyselinu se jedná. Jako zásady jsou uvažovány látky s pH v rozsahu 7,1 – 14. Síla látky je posuzována vzhledem ke stupnici tak, že čím blíže je číslo ke 14, tím je zásada silnější [8], [22], [23].

BE / BD – base excess (přebytek bazí) / base deficit (nedostatek bazí) v mmol/l je metabolický parametr, který udává, o kolik je v jednom litru plné a plně okysličené krve za fyziologických podmínek (37°C , pCO_2 5,35 kPa) více / méně bazí

než má být, aby pH této krve bylo 7,4. Nedostatek bazí, BD – base deficit, bývá také označován jako záporný BE – záporný base excess. Jde o přebývající mmol/l kyseliny. Referenční interval pro BE je +2,5 - -2,5 mmol/l [22], [23].

Metabolická acidóza je nejčastější poruchou acidobazické rovnováhy. Obecně ji lze pojednat ve dvou kategoriích: 1) metabolická acidóza ze ztráty hydrogenuhličitanů – zvýšení koncentrace H^+ iontů s následným snížením plazmatických bikarbonátů; 2) metabolická acidóza bez ztrát hydrogenuhličitanů – spočívá v hromadění organických kyselin, hypoperfuzi tkání, vysoké koncentraci laktátu v krvi.

Laktát je sůl kyseliny mléčné. Za normálních podmínek při zajištění dostatečného přísunu kyslíku je konečným produktem glykolýzy pyruvát. V anaerobních podmínkách je pyruvát dále prostřednictvím enzymu laktátdehydrogenázy redukován na laktát. V anaerobních podmínkách buňky přejdou do mechanismu anaerobní glykolýzy, laktát je jejím konečným produktem. Tvoří se v mozku, svalech, erytrocytech i jinde, pokud je tkáň nedostatečně okysličovaná. Laktátová acidóza vzniká při zvýšené tvorbě laktátu nebo jeho snížené utilizaci. Obvykle se vyvine při nedostatečném přísunu kyslíku do tkání, při jeho nedostatečném využití ve tkáni, ale může nastat i u stavů s normální tkáňovou oxygenací.

Stanovení hladiny laktátu v krvi se provádí za standardních podmínek z arteriální krve (má-li pacient v rámci intenzivní péče zaveden katetr, kterým lze odebrat arteriální krev), a ze žilní krve. Je možné stanovení i z arteriální nebo žilní plazmy a z likvoru. Referenční hodnoty pro laktát u dospělého pacienta jsou v arteriální krvi < 1,5 mmol/l, v arteriální plazmě < 1,8 mmol/l, ve venózní krvi < 1,8 mmol/l, ve venózní plazmě < 2,2 mmol/l, v likvoru v rozmezí 1,2 – 2,1 mmol/l [8], [22], [23], [24]. Zvýšená hladina laktátu je projevem porušené rovnováhy mezi tvorbou laktátu a jeho využitím. Je tedy známkou probíhající anaerobní glykolýzy, nebo svědčí o nedostatečném odstraňování laktátu z organismu. U některých hypermetabolických stavů se může vyskytnout mírné zvýšení laktátu v krvi bez současného snížení pH krve. U tohoto stavu jsou obvykle hodnoty laktátu nižší než 5 mmol/l. U pravé laktátové acidózy jsou hodnoty laktátu v krvi vyšší než 5 mmol/l [23].

2.3. Mimotělní oběh, součásti systému

2.3.1. Přístroj a pumpy (čerpadla) pro vedení MO

Od počátku operací prováděných v mimotělním oběhu je používána jen s drobnými změnami, týkajícími se oblasti mechaniky a elektroniky, rotační válečková pumpa. Základem přístroje je elektromotor, který pohání rotor se dvěma válečky, které jsou proti sobě v opačné poloze (180°). Válečky rotují v pevném statoru, k jehož stěnám přitlačují vloženou pružnou hadici, kterou protéká krev. Vlastní mechanické součásti přístroje pro mimotělní oběh tedy nikdy nepřicházejí do styku s biologickým materiálem (krví) [19] (*obr. 1*).

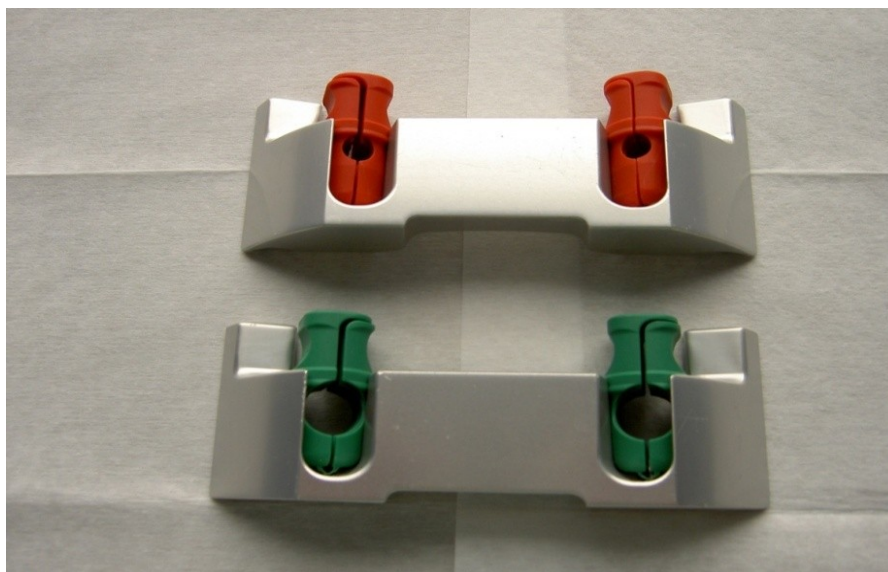
Obr. č. 1 - Statory přístroje pro MO s výměnnými přístrojovými součástmi pro použití tubing insertů různých velikostí



Velikost krevního průtoku je dána šířkou a délkou hadice vložené do statoru a počtem otáček rotoru. Každý čerpadlový modul přístroje pro mimotělní oběh musí proto být přesně kalibrován – in vitro se přesně změří průtok hadicí určitého průměru ve vztahu k otáčkám za jednu minutu. Během vlastní perfuze totiž nelze rutinně měřit skutečný průtok systémem, avšak na displeji odpovídajícího – používaného – modulu mámě k dispozici hodnotu průtoku odvozenou z počtu otáček rotoru a průměru vložené hadice. Každý jednotlivý modul přístroje pro mimotělní oběh přitom připouští manuální nastavení zvolených parametrů ještě před vlastním začátkem perfuze. Kalibrace jednotlivých pump přístroje se musí v pravidelných intervalech kontrolovat [19].

Založení hadic do statoru pumpy je pro bezpečné vedení mimotělního oběhu velmi důležité. Příliš dlouhá nebo naopak velmi krátká smyčka je nebezpečná – hrozí zde perforace hadice, respektive její předčasné přílišné opotřebení vzniklé nárazy vodících lišt rotoru na nesprávně uloženou hadici. Proto musíme hadici do statoru vložit tak, aby pokud možno přesně kopírovala jeho obvod. Na vstupu i na výstupu statoru je hadice pevně fixována úchyty – tubing inserts. Přístroje pro mimotělní oběh používané na našem pracovišti mají pro jednotlivé průměry hadic úchyty odpovídající velikosti (*obr. 2*).

Obr. č. 2 – Tubing inserts pro rozměr 1/4“, 1/2“



Rotor pumpy musí být při chodu přístroje z bezpečnostních důvodů zakrytý. Současné přístroje mají každý modul vybavený krytem, který má obvykle akustický nebo i světelný alarm signalizující špatnou polohu krytu. V některých případech je s chybně umístěným krytem modulu spojená i bezpečnostní funkce zastavení chodu příslušného čerpadla.

Před každým jednotlivým použitím setu a systému pro mimotělní oběh je nezbytné nastavení okluze na hadicích setu. Tím se rozumí nastavení přítlačné síly válečků rotoru čerpadla, kterou je tlačena vložená hadice ke stěně statoru pumpy. Příliš velká okluze způsobuje nadměrnou kompresi hadice ve statoru pumpy, a tím i nadměrné mechanické poškozování krevních elementů během i kratších perfuzí. Výsledkem této chyby je masivní hemolýza a nadměrné opotřebení vložené hadice. Opačný stav – nedostatečná okluze – způsobuje nedostatečný průtok krve pumpou [19]. Oba stavy s sebou nesou riziko krajně nepříznivého vlivu na organismus zejména jako celek v případě celkového mimotělního oběhu při kardiochirurgických výkonech, nicméně ani v případě použití parciálního mimotělního oběhu při operacích typu HILP nesmí perfuziolog zanedbat žádný z úkonů v procesu přípravy přístroje pro mimotělní oběh [25].

Protože u přístrojů pro mimotělní oběh se jedná o elektrické přístroje, je rovněž nezbytné, aby byl po celou dobu jejich použití k dispozici funkční záložní zdroj elektrického proudu. Je přípustné používat přístroj vybavený náhradním bateriovým zdrojem, nebo lze použít náhradní zdroj operačních sálů – tento ale musí pracovat takovým způsobem, aby po výpadku proudu nedošlo k zastavení přístroje pro mimotělní oběh.

Všechny kabely k přístroji pro mimotělní oběh musí být na operačním sále vedeny tak, aby byly mimo dosah procházejícího personálu. Perfuziolog musí být o možnostech použití všech variant náhradních zdrojů zevrubně informován. Přístroj pro mimotělní oběh je navíc vybaven klikami pro ruční pohon rotoru.

Za naprosto nezbytné je dále považováno dokonale viditelné označení směru otáčení rotorů čerpadel, a sice šipkami se světelnou signalizací, které jsou umístěny na ovládacím panelu čerpadla. Pro bezpečnost perfuze je nezbytné, aby se perfuziolog

vždy ujistil o správném založení hadic do statoru o správně nastaveném směru otáček čerpadla. U přístrojů, které umožňují obousměrné otáčení rotorů pump, je doporučováno na všech současně používaných rotorech nastavit shodný směr otáček [19].

2.3.2. Oxygenátor

V současné době jsou na pracovištích používajících soupravy pro vedení mimotělního oběhu užívány oxygenátory z dutých vláken, konfigurované tak, že plyn protéká uvnitř a krev vně vláken – hollow fibre extraluminal blood flow oxygenators (*obr. 3*).

Obr. č. 3 – Set pro celkový mimotělní oběh, kardiotoomický rezervoár, oxygenátor



Materiálem pro výrobu membrány je mikroporézní polypropylen, z něj jsou vyrobeny kapiláry o vnitřním průměru 200 - 280 mikronů a o síle stěny 25 – 50 mikronů. Tato dutá vlákna jsou pospojována a umístěna do pevné schránky, kde vytvářejí síť napodobující plicní řečiště. Stěna membrány obsahuje mikropóry menší než 1 mikron, které neumožňují prostup ani plynů ani krevních elementů a plazmy membránou. Na počátku perfuze sice dochází skrz membránu k přechodnému přímému kontaktu mezi krví a plynem, po velmi krátké době však bílkovinný povlak a rozhraní plynů a krve dalšímu kontaktu zabrání. Průniku tekutiny mikropóry brání povrchové napětí, které zabezpečí dostatečnou difuzní kapacitu membrány jak pro O₂ tak pro CO₂. Vlákna jsou rozličnými způsoby uspořádána tak, že síť z tohoto uspořádání vzniklá umožňuje co největší kontakt krve s povrchem membrán a snižuje tak velikost mrtvého prostoru oxygenátoru (volný prostor mezi vlákny). Krev obvykle teče jedním směrem a v protisměru protéká plyn – směs kyslíku se vzduchem. Membránové oxygenátory jsou v okruhu MO zařazeny vždy za arteriální pumpou, protože jejich větší rezistence vyžaduje transport krve pod určitým tlakem. Účinnost oxygenátoru je závislá na rychlosti průtoku krve oxygenátorem, na její viskozitě, na zevním průměru dutého vlákna, na velikosti nevyužitého prostoru mezi vlákny a na specifické geometrii vláken v oxygenátoru. Kombinace těchto faktorů umožňuje v současné době konstrukci velmi účinných oxygenátorů o velikosti povrchu pro výměnu plynů mezi 1,7 a 2,5 m² pro dospělé pacienty, a o velikosti od 0,35 m² pro oblast dětské kardiochirurgie [26]. Oxygenátory jednotlivých výrobců jsou navzájem odlišné právě uspořádáním vláken, jejich povrchem, směrem k průtoku krve, průtokovou rezistencí, objemem náplně oxygenátoru a velikostí mrtvého prostoru [19].

2.3.3. Výměník tepla a tepelná jednotka HCU

Při vedení mimotělního oběhu je během operace teplota cirkulujícího perfuzátu regulována a udržována pomocí výměníku tepla, který je součástí oxygenátoru. Konstrukce výměníku předpokládá naprosté oddělení cirkulující vody a perfuzátu. Řešení spočívá v tom, že na jedné straně povrchu výměníku protéká perfuzát a na straně druhé protéká cirkulující voda. Obě tekutiny jsou odděleny tepelně vodivým materiálem

(obvykle jde o anodizovaný hliník, nerezovou ocel nebo plast). Materiál výměníku je tvarován tak, aby byla splněna podmínka maximálního povrchu při minimálním objemu chladičí / ohřívací komůrky. Směr toku vody a perfuzátu obvykle bývá protisměrný.

Před každým jednotlivým naplněním hadicového systému pro mimotělní oběh je perfuziolog povinen zkontrolovat těsnost výměníku tepla pro vodu. Je nutné začít s cirkulací vody dříve, než se okruh systému pro mimotělní oběh naplní infuzním roztokem používaným k odvodu setu. V případě jakékoli netěsnosti není možno systém s integrovaným výměníkem použít – smísení vody a perfuzátu (krve) by způsobilo hemolýzu a pravděpodobně by vedlo i ke smrti pacienta [19].

Zdrojem teplé a studené (nesterilní) vody jsou tepelné jednotky – heating & cooling unit (HCU) (*obr. 4*).

Obr. č. 4 – Výměník tepla – heating & cooling unit (HCU)



Tyto samostatné jednotky jsou spojeny s oxygenátorem hadicovým setem pro opakované použití. Koncovky hadicového setu jsou přizpůsobeny konektorům na vstupu / výstupu vody do / z oxygenátoru. Pro případ používání různých typů a velikostí

oxygenátorů jsou hadicové sety HCU vybaveny odpovídajícími redukcemi. U každého typu oxygenátoru je třeba řídit se instrukcemi výrobce ohledně způsobu připojení hadic pro cirkulující vodu. U některých typů oxygenátorů na směr toku vody nezáleží, jinde konstrukce výměníku předpokládá dodržení pokynu výrobce ohledně směru cirkulace vody. V takovém případě je směr toku zřetelně vyznačen šipkami na konektorech výměníku [19], [27].

Výrobci oxygenátorů také doporučují po celou dobu trvání perfuze nepřerušovat tok cirkulující vody výměníkem – existuje teoretická možnost rizika, které spočívá v tom, že v důsledku poklesu tlaku cirkulující vody by mohlo dojít ke zmenšení objemu výměníku a na základě mikroskopického pohybu jeho stěn by mohlo dojít k uvolnění mikrobublin, přítomných vždy na jeho povrchu, do cirkulujícího perfuzátu [19].

Je vhodné, aby se HCU nacházela v pracovním prostoru perfuziologa, a to jednak z důvodu snadné manipulace s ovládacími prvky HCU, dále pak z důvodu optimalizace délky hadic – jsou-li co nejkratší, dochází k minimální ztrátě tepla cirkulující vody proti původně nastavené požadované teplotě na ovládacím panelu HCU. Nezanedbatelná je i minimalizace rizika úrazu, případně poškození oxygenátoru nevhodnou manipulací s hadicemi HCU.

Před každou operací je povinností perfuziologa zkontrolovat, zda je v tepelné jednotce dostatek vody, případně vodu doplnit. V případě nutnosti udržení vysoké teploty cirkulující vody je nutné mít na pracovišti rezervní HCU.

2.3.4. Kanyly, tubing set

Okruh pro standardní MO se skládá z následujících základních součástí:

- žilní (venózní, odvodná) kanyla / kanyly
- žilní (venózní) linka hadicového systému
- žilní (venózní) a kardiotorický rezervoár, otevřený a uzavřený systém MO
- odsávání z operačního pole – koronární sání

- pumpy (čerpadla pro vedení MO), pomocné pumpy pro sání, podávání kardioplegie
- okysličovací zařízení – oxygenátor + výměník tepla
- tepenná (arteriální) linka hadicového systému
- tepenný (arteriální) filtr
- tepenná (arteriální, přívodná) kanyla
- dekompresní systémy srdeční (venty)
- přídatná zařízení (hemokoncentrátory, systémy pro krevní kardioplegii) [3].

Žilní krev může být odváděna do kardiotoomického rezervoáru pomocí gravitace kanylou, zavedenou do pravé srdeční síně (PS), nebo kanylami, které jsou přes pravou srdeční síň zavedeny do horní a dolní duté žíly. Žilní drenáž je možné zajistit i kanylací dutých žil cestou femorální žíly. K zajištění dostatečného žilního návratu je v tomto případě obvykle nutné použít aktivní sání krve. V praxi jsou používány následující metody aktivního sání:

- podtlakové sání za pomoci rigidního venózního rezervoáru, jež je napojen na zdroj kontrolovaného podtlaku, který v rezervoáru udržuje nad hladinou krve stabilní negativní tlak (VAVD – vacuum assisted venous drainage). Přístroj je vybaven systémem bezpečnostních chlopní, které automaticky umožňují odsátí vzduchu, který je do rezervoáru nasáván koronárním sáním (*viz kap. 2.2.7.*) a tím brání vzniku přetlaku v rezervoáru. Ten by měl za následek zhoršení žilního návratu nebo dokonce transport vzduchu do žilního systému pacienta;
- sání pomocí centrifugální pumpy, která je zařazena v žilní lince (KAVD - kinetic assisted venous drainage) [19].

Kanyly jsou vyrobeny z měkkého PVC a jsou určeny výhradně na jedno použití. Je nezbytné přesně znát jejich průtokové charakteristiky, které musí být uvedeny výrobcem. Pro kvalitní žilní drenáž se obvykle používají dva druhy žilních kanyl s 1/2“ koncem pro spojení s odvodnou linkou MO:

- společná, dvojitá, dvoustupňová kanyla (two-stage venous cannula) – silná kanyla s košem, který je umístěn ve dvou třetinách délky kanyly a je zaveden do PS. Kanyla dále pokračuje tenčí částí s otvory na konci, která je zavedena

v dolní duté žíle. V případě použití této kanyly přitéká žilní krev z horní duté žíly do PS. Způsob tohoto oběhu bez selektivní drenáže obou dutých žil a s možným plněním PS se nazývá částečný, parciální MO;

- separátní kanylace horní a dolní duté žíly kanylami, které jsou zavedeny přes PS. Turnikety, které jsou dotaženy kolem obou dutých žil, zamezí toku krve do PS, a tak je veškerá krev z obou dutých žil odváděna do systému MO. Tento oběh se nazývá totální mimotělní oběh [19].

Dodávka okysličené krve do tepenného systému pacienta je zajištěna tepennou kanylou. Tepenná kanyla je nejužším místem celého systému MO, v úzkém hrotu kanyly má proudící krev vysokou rychlost a dochází k její velké turbulenci. Vysoké rychlosti toku krve produkují tzv. tryskový efekt, který může poškodit vnitřní stěnu tepny nebo uvolnit ateromatózní pláty, které mohou embolizovat. Výrobci kanyl proto doporučují zvolit takový rozměr kanyly, aby ani při maximálním předpokládaném průtoku nebyla překročena hodnota 100 mmHg. Obvyklým místem pro zavedení tepenné přívodné kanyly je vzestupná aorta. Zavedení je snadné, lze použít dostatečně silnou kanylu, tok krve není směřován přímo proti zadní stěně aorty, ale ve směru přirozeného toku krve. Kontraindikací tohoto způsobu kanylace jsou aneuryzmata vzestupné aorty, disekce aorty, těžké kalcifikace ve stěně aorty a další, v tomto případě lze zvolit pro kanylaci buď femorální nebo ilickou tepnu, další možností pro zavedení přívodné kanyly MO je podklíčková nebo axilární tepna.

V současnosti je k dispozici celá řada nejrůznějších tepenných kanyl, podle tvaru hrotu lze použít rovné pro kanylaci v tříse, či různým způsobem zahnuté (od 90° do 110°) pro aortální kanylaci. Opačný konec kanyly má 3/8“ zakončení a bývá vybaven konektorem pro spojení s tepennou linkou MO. Stejně jako u žilních jsou kanyly určené výhradně pro jedno použití. Přívodná hadice těsně před kanylou musí být nejvyšším místem tepenné linky, před spuštěním MO je nutno pohledem zkontrolovat nepřítomnost zbytkových vzduchových bublin v tomto nejvyšším místě. Během každé perfuze musí být v tepenné lince MO standardně měřen tlak [19].

Žilní linka standardního MO má obvyklý vnitřní rozměr 1/2“, tepenná linka MO má obvyklý vnitřní rozměr 3/8“. Koncovky kanyl a hadic pro připojení do žilního systému mají obvykle modrou barvu, koncovky hadic a kanyl pro připojení do

tepenného systému mají obvykle barvu červenou. Výrobní materiál musí splňovat požadavek na co nejmenší poškození krevních elementů při styku s povrchem hadic, šíře hadic by měla být co nejmenší, aby bylo dosaženo co nejnižšího objemu základní náplně systému MO, zároveň musí být dostatečná, aby hadicový set kladl toku krve co nejmenší odpor. Hadice musí na spojkách dokonale těsnit, aby se zabránilo úniku tekutiny či nasátí vzduchu do systému, doporučuje se všechny spoje hadic s konektory zajistit pásky proti sklouznutí hadice.

Kvalitní hadice musí být maximálně hladké, nesmáčivé, netoxické, dokonale průhledné, elastické, ohebné, ale zároveň co nejméně zalomitelné. Jejich stěna musí být dostatečně tuhá a pevná, vyrobená z materiálu, který se po nárazu válečků rotoru pumpy co nejméně otírá. Musí být odolné vůči různým způsobům sterilizace a splňovat požadavek na hemokompatibilitu.

Takovými materiály jsou:

- polyvinylchlorid (PVC) v medicínské kvalitě – sterilizaci lze provádět pouze pomocí etylenoxidu nebo radiací;
- silikon v medicínské kvalitě - možno sterilizovat v autoklávech [19].

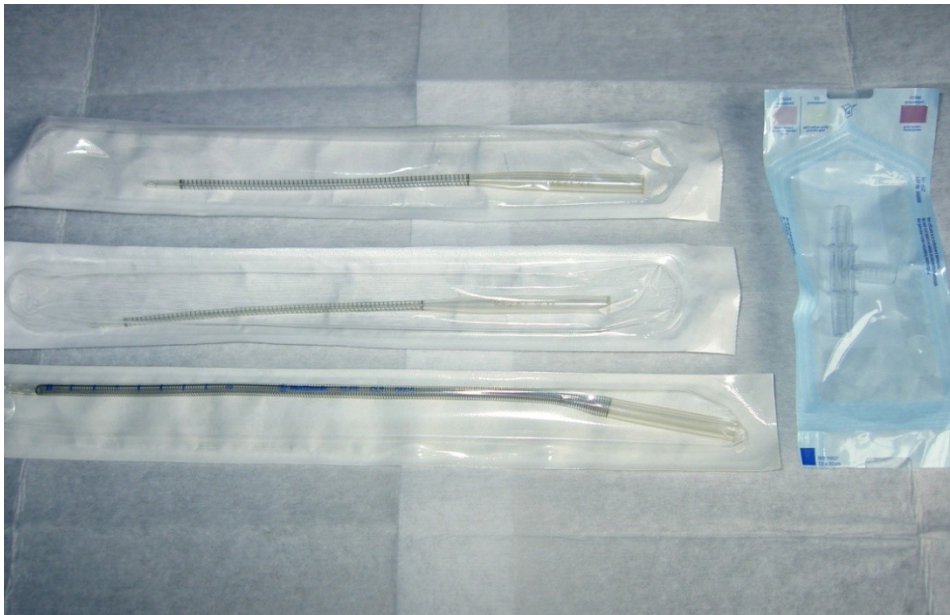
Hadicové sety pro standardní MO jsou obvykle vyrobeny na zakázku podle specifických požadavků kardiochirurgického pracoviště. Vždy jsou dodávány sterilní, v ochranném obalu, a jsou určeny výhradně na jedno použití

Tuhé plastové konektory jsou vyráběny z polykarbonátů a jsou rovněž určeny výhradně na jedno použití [25].

Pro operace vedené s použitím částečného MO – izolované končetinové perfuze – je hadicový set modifikován tak, aby ideálně vyhovoval tomuto typu výkonu. Vzhledem k průtoku krve, který je mnohem nižší, než u celkového MO při kardiochirurgické operaci, se používají hadice s vnitřním průměrem 1/4“, a to pro žilní i tepennou linku MO. Vlastnosti hadicového setu pro tento typ operace jsou shodné s vlastnostmi hadicového setu používaného při vedení standardního MO.

Kanyly pro izolované končetinové perfuze jsou použity vždy po dohodě s operujícím chirurgem podle rozměru (průsvitu) a dalších vlastností (typicky snížená elasticita, ateroskleróza atd.) cév preparovaných pro kanylaci (**obr. 5**).

Obr. č. 5 – Kanyly pro HILP



Obvyklá místa pro kanylaci pro MO při izolované končetinové perfuzi jsou popsána výše (*viz kap. 2.1.3.2.*).

Při izolovaných končetinových operacích je používán dětský nízkoprůtokový oxygenátor s otevřeným kardiotoomickým rezervoárem, na našem pracovišti jde o výrobek firmy MEDOS Medizintechnik AG, HILITE[®]2400LT/HILITE[®]2800-Series (**obr. 6**).

Obr. č. 6 - Uspořádání systému pro mimotělní oběh při hypertermické izolované končetinové perfuzi - kardiotoomický rezervoár, dětský low-flow oxygenátor



Jedná se o membránový oxygenátor s integrovaným tepelným výměníkem pro regulaci teploty perfuzátu během výkonu. Systém oxygenátor / výměník HILITE® 2800-Series, který je používán pro tyto operace na našem pracovišti, umožňuje použití v doporučeném rozsahu následujících kritérií:

- maximální průtok krve $2,8 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$;
- maximální průtok plynů $5,6 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$;
- statická náplň 98 ml [23].

Hemokompatibilita systému je zde zajištěna ošetřením povrchu iontově vázaným heparinem – Rheoparin®, Medos [19], [26].

Výměník plynů oxygenátoru je vyroben z polypropylenu technologií mikroporovaných dutých vláken. Povrch výměníku činí 0,8 m².

Teplný výměník tvoří neporézní polyesterová dutá vlákna o celkovém povrchu 0,16 m². Systém umožňuje bezpečný provoz v teplotním rozsahu 15°C - 40°C [26].

2.3.5. Terumo CDI500™

Monitorovací zařízení Terumo CDI500™, které je napojeno na operačním sále přímo na systém MO, je při izolovaných končetinových perfuzích používáno k monitorování teploty perfuzátu (*obr. 7*).

Obr. č. 7 – Terumo™CDI500



Zařízení pracuje na principu kontinuálního měření celkem jedenácti parametrů krevních plynů. Měření probíhá kontinuálně – vřazením průtokového senzoru do recirkulační hadičky okruhu mimotělního oběhu - metodou optické fluorescence.

Před zahájením operačního výkonu probíhá v rámci přípravy přístroje a doplňků automatizovaná dvoufázová plynová kalibrace měřícího zařízení (**obr. 8**).

Obr. č. 8 - Kalibrační souprava pro Terumo™ CDI500



Vlastní měření pak podává výsledky ve standardní vysoké laboratorní kvalitě. Integrovaná tiskárna nabízí možnost tisku průběhu měření pro archivaci.

2.3.6. ABL700Series

Acidobazický analyzátor krevních plynů Radiometer ABL700 Series je systém, pomocí něhož jsou z odebraného vzorku krve stanoveny hodnoty pH, BE, iontů, laktátu, Hb, Htk, pO₂, pCO₂ při teplotě 37° C. V případě odběru krve při hypertermii si tedy přístroj vzorek nejprve upraví na tuto teplotu a teprve poté jej analyzuje. Před vložením vzorku krve do analyzátoru je třeba ze vzorku odstranit vzduchové bubliny a předejít tak možnému zkreslení výsledku analýzy, a vzorek ve stříkačce pořádně promíchat (asi 1 minutu). Na dotykové obrazovce vybere pracovník, který předkládá krevní vzorek k rozboru, z nabídky typ vyšetřovaného materiálu, zadá pacientovy identifikační údaje,

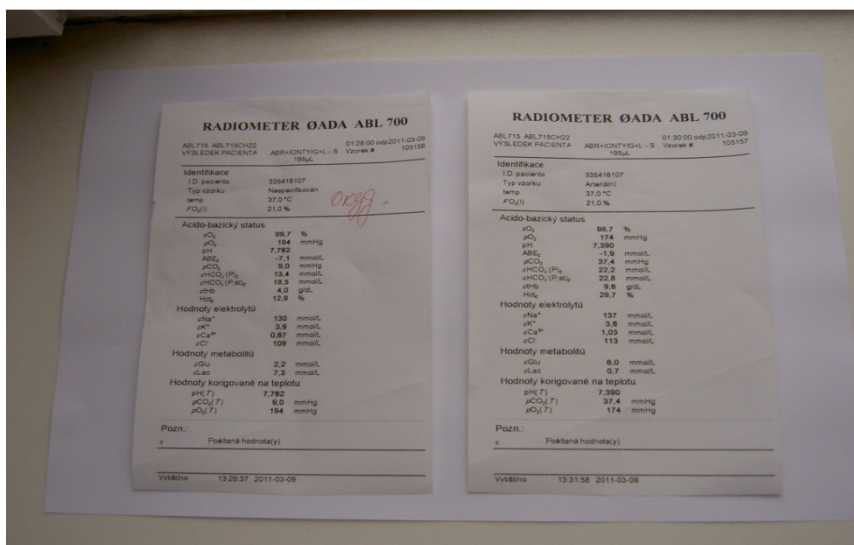
potvrdí po kontrole správnost údajů a předepsaným způsobem vloží stříkačku s krevním vzorkem do prostoru odběrové kapiláry.

Přístroj pracuje na elektrochemickém principu, jednotlivé analyty jsou měřeny pomocí příslušných elektrod. Pro měření $p\text{CO}_2$ a pH se užívá potenciometrický měřicí princip, pro měření $p\text{O}_2$ ampérometrický měřicí princip. Pro stanovení SO_2 , hemoglobinu a jeho derivátů přístroj používá stejně jako Terumo spektrofotometr, metodou stanovení je ovšem viditelná absorbní spektroskopie, jejíž podmínkou je ještě před měřením v kyvetě hemolýza krevního vzorku. Pro stanovení laktátu se laboratorně užívá viditelná spektrofotometrie na vlnové délce 546 nm, přístroj ABL700 Series používá ampérometrickou elektrodu s enzymovou membránou. Přístroj je vybaven displejem (*obr. 9*) a vestavěnou tiskárnou (*obr. 10*).

Obr. č. 9 - Přístroj pro analýzu krevních plynů Radiometer ABL 700 Series



Obr. č. 10 - Grafický výstup z tiskárny ABL 700



Pro zajištění regulérnosti provozu přístroje a správnosti výsledků je nezbytná pravidelná kalibrace. Ta probíhá automaticky v časových intervalech nedefinovaných k přístroji výrobcem. Kontrolu a servis přístroje provádí pravidelně pověřený laboratorní inženýr.

2.3.7. Vedení mimotělního oběhu

2.3.7.1. Příprava k perfuzi

Ve fázi přípravy na operaci s použitím mimotělního oběhu zvolí perfuziolog vhodné vybavení a způsob vedení mimotělního oběhu. Předpokládá se, že perfuziolog zná operační postup plánovaného operačního výkonu. Přesto je obvyklé, aby ještě v předoperační fázi konzultoval rozsah a způsob plánovaného operačního výkonu s operujícím chirurgem.

Před započítím operace je třeba získat ze zdravotní dokumentace pacienta údaje o výšce a váze pro kalkulaci tělesného povrchu a průtoku během MO i pro volbu velikosti kanyl, oxygenátoru a rezervoárů. Dále je nutno zkontrolovat a zaznamenat předoperační výsledky krevního obrazu a hodnoty metabolických a hematologických ukazatelů – pH, BE, laktát, Hb, Htk.

Poté provede perfuziolog výpočet tělesného povrchu a průtoku během MO – pro standardní MO je to $2,4 \text{ l} * \text{m}^{2(-1)} * \text{min}^{-1}$ - a ze vzorce pro výpočet objemu krve spočítá předpokládaný objem náplně systému pro MO. Základem náplně je vždy krystaloidní roztok, Heparin v dávce $3,5 \text{ mg} * \text{kg}^{-1}$, v omezeném množství lze přidat humánní albumin, syntetický koloidní roztok, případně po dohodě s chirurgem a anesteziologem další aditiva (např. kortikosteroidy, antibiotika, atd). Zředěná krev proniká do kapilární sítě organismu s menším odporem a tím se zlepšuje tkáňová perfuze [19].

Příprava přístroje pro MO probíhá umístěním hadicového setu, kontrolou funkce všech modulů, centrálního zdroje plynů a funkce tepelných jednotek. Poté je set založen do příslušných pump, u kterých je nutno nastavit okluzi. V této fázi se již plní kardiotoomický rezervoár, na jehož výstup je naložena hadicová svorka, zvolenými náhradními roztoky podávanými vstupem, který ústí do filtru rezervoáru. Před naplněním celého systému je třeba zkontrolovat všechny spoje hadic se spojkami, případně zajistit bezpečnostními pásky, dotáhnout všechny uzávěry výstupů ze systému a uvolnit kryty ze vstupu a výstupu plynů na oxygenátoru a kardiotoomickém rezervoáru. Před naplněním systému je také nutno k tepelnému výměníku oxygenátoru připojit přívod vody z tepelné jednotky a provést zkoušku těsnosti výměníku tepla.

Po sejmutí svorky z hadice se napustí náplň do systému. Při odvzdušňování se postupuje od žilního rezervoáru a poklepem na hadice při řízeném průtoku kolem $1000 \text{ ml} * \text{min}^{-1}$ se odstraní bubliny vzduchu. Po naplnění a prvním odvzdušnění je třeba zvýšit na několik minut průtok a náplň ponechat mírně cirkulovat hadicemi při teplotě 36°C . Poté se připojí všechna používaná monitorovací zařízení a zdroje plynů k oxygenátoru, průtok plynů oxygenátorem však začíná až při zahájení MO. Rovněž se v této fázi aktivují používaná bezpečnostní zařízení, jejichž úkolem je při správném

použití upozornit perfuziologa zvukovým nebo světelným alarmem na nežádoucí situaci a zároveň (zejména v případě hlavního čerpadla) zastavit rotor pumpy. K prevenci masivní vzduchové embolie se takto používá hladinový senzor, případně bublinový senzor na arteriální lince, který zastaví rotor hlavního čerpadla v případě, že hladina perfuzátu v kardiotoomickém rezervoáru klesne na úroveň senzoru.

Těsně před rozpojením hadic na arteriální a žilní linku v operačním poli perfuzionista ještě jednou vyšším průtokem procirkuluje celý systém, aby odstranil případné bubliny plynů, a na tepennou i žilní linku naloží svorky na hadice nebo uzavře žilní linku mechanickým uzávěrem. Po zavedení kanyl a jejich spojení s příslušnými hadicovými linkami je systém připraven k zahájení MO.

Dostatečná úroveň antikoagulace je nezbytná k tomu, aby nedošlo k tvorbě trombů a k sekundární fibrinolýze v systému MO poté, co se krev dostane do styku s jeho umělým povrchem. K tomuto účelu se používá heparin, který podává anesteziolog do centrální žíly (nebo, v případě kardiovýkonu operatér vpichem do pravé síně) ještě před zavedením kanyl pro MO. Heparin v obvyklé dávce 5000 U je přidáván i do náplně pro MO v případě předpokládaného kardiochirurgického výkonu; při přípravě přístroje a systému pro mimotělní oběh pro operaci izolované končetiny je do náplně MO přidán Heparin v poloviční dávce – 2 500 U. Za 3-5 minut po jeho podání se odebere pacientovi krev na vyšetření úrovně antikoagulace. Vyšetření se stanovuje zpracováním malého množství krevního vzorku v přístroji, který měří čas od vložení vzorku do vytvoření prvního koagula. Dokud není znám výsledek tohoto vyšetření, který musí odpovídat úrovni antikoagulace doporučené výrobcem oxygenátoru (obvykle 480 sekund do vytvoření koagula), nesmí být spuštěn MO ani odsávána krev z operačního pole do kardiotoomického rezervoáru.

Nedílnou součástí předoperační přípravy je pro perfuziologa sestavení a vedení dokumentace příslušné konkrétnímu operačnímu výkonu v mimotělním oběhu. Záznam o mimotělním oběhu není pro všechna kardiochirurgická pracoviště v ČR jednotný, je tedy používán podle zvyklostí a dohod platných na jednotlivých kardiochirurgických pracovištích. Musí ale vždy obsahovat identifikační údaje pacienta (příjmení, jméno, rodné číslo, případně adresu bydliště a číslo zdravotní pojišťovny),

dále jeho tělesné parametry (výšku, váhu, vypočítaný tělesný povrch a vypočítanou rychlost průtoku krve systémem pro MO), jména členů operačního týmu (operující chirurg, asistent, perfuziolog, anesteziolog), záznam o čase podání Heparinu a o výsledku kontroly úrovně antikoagulace, a časové údaje o průběhu konkrétních fází, událostí a změn během operace mezi začátkem a koncem MO.

Součástí záznamu jsou i hodnoty laboratorních výsledků a údaje z čidel vřazených do okruhu MO, složení a objem náplně MO a přidaných roztoků a léků. K důležitým položkám dokumentace patří i tzv. pre-bypass checklist. Jedná se o seznam úkonů, které musí perfuziolog provést nebo zkontrolovat během přípravy přístroje a setu pro MO ještě před zahájením operace. Jde o kontrolu okluze, založení hadic do statorů přístroje, zajištění spojů hadic a konektorů bezpečnostními pásky, připojení tlakových hadic směšovače plynů k centrálnímu zdroji plynů, podání Heparinu do náplně MO, odstranění plastových krytů z otvorů pro vyrovnávání tlaků v systému, připojení hadic HCU správným způsobem (zajišťujícím cirkulaci vody správným směrem) k výměníku tepla oxygenátoru, instalace a zapojení hladinového senzoru, případně bublinového senzoru, a připojení čidel k monitoraci hodnot tlaku krevních plynů během perfuze. Smyslem tohoto bezpečnostního postupu je minimalizace rizika chyby [19].

2.3.7.2. Zahájení a vedení MO

MO začíná na pokyn operujícího chirurga poté, co sejme všechny svorky z hadic v operačním poli. Perfuziolog na základě tohoto pokynu (nikoli tedy pokynu asistujícího chirurga nebo anesteziologa) nastaví hodnoty průtoku plynů do oxygenátoru, sejme svorku z tepenné linky a postupně zvyšuje otáčky rotoru pumpy. Zároveň pomalu uvolňuje žilní linku, sleduje tlak v tepenné lince a kvalitu návratu krve z pacienta. V okamžiku dosažení spočítaného průtoku MO a stabilizace žilního návratu vede samostatně perfuzi v souladu s předpokládaným operačním výkonem v dohodnutém rozsahu, přičemž po celou dobu operace komunikuje s operujícím

chirurgem – oboustranné dostatečné informace o průběhu perfuze opět minimalizují riziko vzniku nežádoucích událostí.

Aktivní ochlazování nebo ohřívání perfuzátu probíhá prostřednictvím cirkulující vody z HCU tepelným výměníkem v oxygenátoru. Úroveň požadované teploty vody nastavuje perfuziolog na ovládacím panelu HCU.

2.3.7.3. Monitorování během mimotělního oběhu

Během MO je nezbytné sledovat nejen funkce systému pro MO, ale i základní fyziologické funkce pacienta. Mezi sledované fyziologické funkce patří: systémový (perfuzní) tlak, který je měřen nepřímou metodou, neinvazivně, manžetou, obvykle v pětiminutových intervalech. Toto měření funguje jako srovnávací alternativa přímé kontinuální metody, která je prováděna kanylací periferní tepny (nejčastěji arteria radialis) speciální kanylou. Výše perfuzního tlaku závisí na velikosti periferní cévní rezistence organismu a při standardním celkovém mimotělním oběhu i na velikosti průtoku krve pumpou. Tělesná teplota – aktuální teplota tělesného jádra (centrální teplota) se měří v distálním jícnu či nasopharyngu, lze také měřit teplotu bubínku, avšak za nejpřesnější se považuje měření teploty v močovém měchýři. Vhodné je sledovat teplotu v tepenné a žilní lince MO. Pro sledování periferní teploty se nejčastěji využívá rektum. Pokud není k dispozici možnost kontinuálního měření teploty perfuzátu, měly by na pracovišti být k dispozici vpichové teploměry k přímému měření nitrosvalové teploty při izolované končetinové perfuzi. Sleduje se diuréza – měří se množství moči odvedené močovou cévkou, při operacích v normotermii je produkce moči ve fyziologickém rozmezí, při hypotermii produkce moči klesá. Jsou zaznamenávány hodnoty acidobazické rovnováhy a krevních plynů (ASTRUP), hladina iontů (Na^+ a K^+), krevní obraz a úroveň heparinizace.

2.3.7.4. Ukončení MO

Aby mohl být standardní mimotělní oběh po provedení kardiochirurgického výkonu ukončen, musí být splněny následující podmínky: dostatečně dlouhá doba reperfuze myokardu, v případě vedení MO v hypotermii / hypertermii dosažení normální tělesné teploty, krátce před očekávaným ukončením MO příposlední odběru krve kontrola hladiny iontů (Na^+ a K^+), hematokritu a acidobazické rovnováhy. V případě odchylek od normy se provádí jejich korekce (dodání kalia, krve, bikarbonátu apod.). Je-li vše splněno, perfuziolog na chirurgův pokyn postupně uzavírá žilní návrat a přiměřenou rychlostí doplňuje krevní oběh pacienta. Po doplnění krevního oběhu uzavře perfuziolog žilní i tepennou linku svorkami na hadice a ukončí tak MO.

Na konci mimotělního oběhu je pacientovi podána bílkovina protamin, která neutralizuje účinek heparinu [19].

Ukončení mimotělního oběhu po operaci s použitím metody HILP se od ukončení MO po provedeném kardiovýkonu liší především tím, že namísto doplnění systémového krevního oběhu musí perfuziolog nejprve zajistit proplach izolované končetiny krystaloidním roztokem, během doby proplachu musí zároveň snížit teplotu perfuzátu (z původních cca 39°C na 37°C), a veškerý v tomto procesu použitý roztok včetně původního perfuzátu shromáždit ve sběrném vaku k pozdější likvidaci (*viz kap. 2.1.3.2*). V okamžiku ukončení proplachu operované končetiny zastaví perfuziolog otáčky rotoru čerpadla, uzavře svorkami na hadice tepennou i žilní linku okruhu MO a ukončí MO.

Vedení záznamu o perfuzi je nezbytnou součástí dokumentace o operaci, zaznamenávají se všechny časové údaje (doba heparinizace, začátek a konec MO, doba zástavy oběhu apod.), hodnoty tlaků, průtoky krve a plynů, teplota, laboratorní výsledky, údaje z čidel zařazených v linkách MO, složení a objem náplně, přidávaných roztoků a léků. Během perfuze se do protokolu zapisuje každá změna některého ze sledovaných parametrů.

V případě izolované končetinové perfuze je mimotělní oběh ukončen po dohodě s operujícím chirurgem v okamžiku, kdy je z izolované končetiny všechn

perfuzát s případným reziduem degradovaného cytostatika dostatečnou dávkou krystaloidního roztoku vymyt z končetiny a kdy je ošetřená končetina opatřena vysokou elastickou bandáží. Poté je i v případě tohoto typu operace s užitím MO pacientovi podán protamin, následuje dekanylace a chirurgické ošetření kanyláčnických incizí, a postupné dokončení operace.

3. Praktická část

3.1. Použité pomůcky a prostředky

Přístroj pro mimotělní oběh

Stöckert S5 resp. S3, na němž je nutné před zahájením perfuze nakonfigurovat hlavní čerpadlo na jiný než standardní průměr použité hadice (1/2 → 1/4), a přiměřeně nastavit okluzi při plnění okruhu. Použití jiného čerpadla již nastaveného na průtok hadicí o rozměru 1/4“ není výhodné – během izolované perfuze je nezbytné používat hladinový senzor, který je přiřazen hlavnímu čerpadlu.

HCU (heating & cooling unit)

Jednotka pro chlazení a ohřev s možností použít dva na sobě nezávislé okruhy – první okruh pro ohřev náplně ve vodní matraci, která je pod pacientem na operačním stole, je během vlastního výkonu přepojen na vodní matraci, kterou (sterilně povlečenou) je během operace obalená perfundovaná končetina; druhý okruh používáme k ohřevu náplně oxygenátoru – dle potřeby jsou zde hadice okruhu doplněny o redukce nutné k připojení na vodní vstup a výstup oxygenátoru.

Oxygenátor MEDOS HILITE® 2800-Series, otevřený systém

Používáme malý systém, (dětský) s využitím možnosti minimalizovat náplň – statická náplň odpovídá cca 350 ml, dynamická cca 600 ml roztoku. Ve prospěch minimalizace tepelných ztrát během hypertermické perfuze umístíme oxygenátor do samostatného držáku, který je na konstrukci přístroje pro mimotělní oběh připevněn co nejbližší místu kanylace (*obr. 11*).

Obr. č. 11 - Uspořádání systému pro mimotělní oběh při HILP



Hadicový set pro okruh MO

Hadicový systém – vzhledem k malému počtu ošetřených pacientů nemáme typizovaný tubing set pro HILP, používáme silikonový hadicový set 1/16 → 1/4“ spojený konektory s odstupy pro využití možnosti napojení monitorovací soupravy pro měření tlaků v systému, a pro napojení odpadního vaku, do kterého se vypouští perfuzát na konci procedury (*obr. 12*). K naplnění systému a k závěrečnému proplachu končetiny velkým objemem krystaloidního roztoku používáme 1/4“ filling set .

Obr.č. 12 - Hadicový set pro HILP – část setu pro okruh MO



Směšovač plynů

K zajištění oxygenace během výkonu používáme směšovač Sechrist s konstantním nastavením air-flow 0,4 l/min a FiO₂ 30% (*obr. 13*).

Obr. č. 13 - Směšovač plynů Sechrist



Kanyly

Pro kanylaci tepny a žíly preparované pro perfuzi se osvědčily kanyly Polystan v rozměru 12 – 16Fr. s 1/4" konektory ke spojení s okruhem pro perfuzi (**obr. 14**). Odstupů na konektorech lze využít k měření tlaků v systému během perfuze.

Obr. č. 14 - Kanyly používané při HILP, konektor 1/4" s odstupem luer (F)



Teploměry

Standardně je používán nasofaryngeální teploměr ke kontrole celkové tělesné teploty pacienta během výkonu, k měření teploty perfuzátu používáme průtokový senzor Terumo™CDI 500 vřazený do systému za oxygenátor – z odstupu z oxygenátoru vede průtokovým senzorem hadička, která ústí zpět do venózního rezervoáru, měření teploty perfuzátu tak probíhá kontinuálně. Z dostupné literatury víme, že některá zahraniční pracoviště používají při HILP teploměry na měření podkožní a nitrosvalové teploty – na našem pracovišti toto měření diskutujeme s ohledem na momentální nedostupnost měřicí techniky.

Priming

Náplní systému pro mimotělní oběh (priming) je 200 ml 10% Manitolu, 400 ml krystaloidního roztoku Hartmann, 2,500 j. Heparinu. Krystaloidní roztok v náplni lze po dohodě s anesteziologem nahradit koloidem (Gelofusine, Voluven) ve stejném množství.

3.2. Metodika

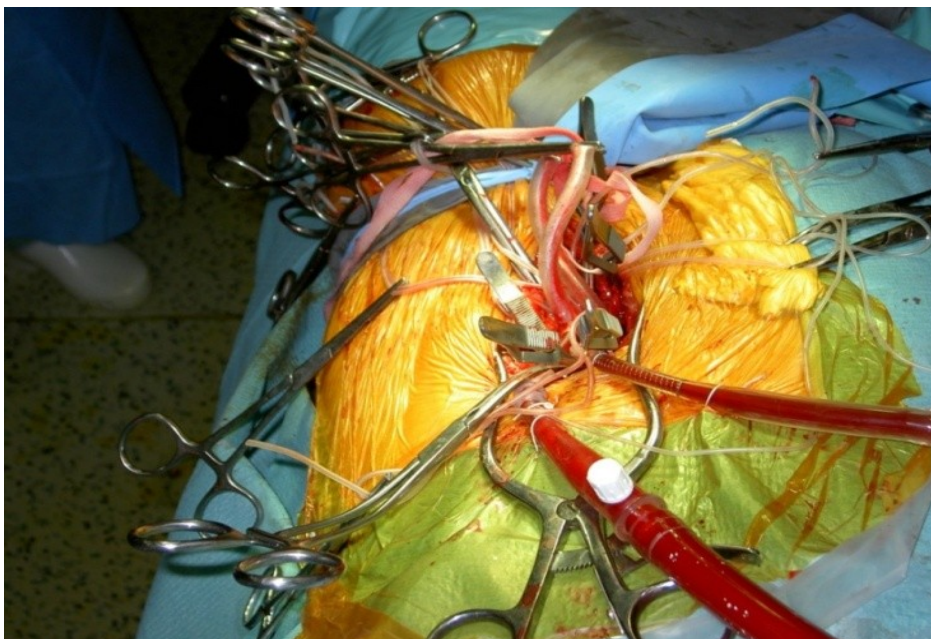
3.2.1. Operační postup

Po sestavení systému pro mimotělní oběh, výběru kanyl a umístění izolačních a ohřívacích prvků (Esmarchova škrtidla vysoko do třísla na končetině připravované k izolaci, sterilně povlečená ohřívací podložka pod a přes připravenou, dezinfikovanou a vysoko bandážovanou končetinu připravenou k izolaci) následuje odvodušnění okruhu pro mimotělní oběh, zasvorkování a přerušování hadic okruhu a označení tepenné a žilní části systému.

Pacientovi je aplikován Heparin celkově v dávce 2 – 3 mg/kg pro dosažení ACT 300 – 400 sekund. Dosažení dostatečné antikoagulace je nezbytnou podmínkou pro spuštění mimotělního oběhu s vřazeným oxygenátorem (viz parametry oxygenátoru – uživatelský manuál produktu MEDOS).

Po chirurgické kanylaci arterie a vény jsou na zafixované kanyly napojeny označené hadice a končetina je nad invazemi mechanicky izolována – zaškrcena – gumovými Esmarchovými škrtidly. Tato jsou násobně zajištěna proti povolení silnými peány (*obr. 15*).

Obr. č. 15 - Mechanická izolace, zajištění cévních kolaterál svorkami



Při spuštění mimotělního oběhu je ještě před zahájením ohřívání izolované končetiny nezbytné důsledně kontrolovat (a podle potřeby po dohodě s chirurgem korigovat) stabilitu cirkulace objemu v izolované končetině; v dalším textu uvádím následně situace vyžadující dočasné zastavení perfuze a úpravu stavu:

1) množství perfuzátu ve venózním rezervoáru se zmenšuje – vysvětlením je nedostatečný návrat krve žilní kanylou, případně leak do celkového krevního oběhu. Tento leak je nutno vyloučit vždy ještě před dosažením cílové hypertermie a před aplikací cytostatika! K nápravě stavu vede chirurgická repozice žilní kanyly, kontrola možných žilních kolaterál v místě kanylace a izolace (a jejich případné zajištění cévními svorkami), odstranění příčiny nedostatečného žilního návratu, fixace kanyly a opětovné spuštění mimotělního oběhu s kontrolou stavu. Je-li po nápravě situace stabilní ve smyslu nemění se náplně v žilním rezervoáru mimotělního oběhu, je možné pokračovat v perfuzi dle protokolu;

2) množství perfuzátu ve venózním rezervoáru se zvětšuje – do systému přitéká větší množství krve, než odpovídá stavu při zahájení perfuze. K nápravě (po zastavení mimotělního oběhu) vede opět chirurgická kontrola lokalizace tepenné

kanyly, kontrola tepenných kolaterál v okolí kanylované arterie, případně nalezení a zajištění cévy, kterou do systému pro perfuzi přitéká krev z celkového krevního oběhu. Po nápravě stavu ve smyslu nemění se náplně v rezervoáru mimotělního oběhu je opět možné pokračovat v perfuzi dle protokolu.

V okamžiku nastolení stabilního stavu zahajuje perfuziolog nastavením teplotní hranice na HCU na 41,5°C ohřev izolované končetiny s využitím přímého ohřívání perfuzátu pomocí tepelného výměníku, který je součástí oxygenátoru, a řízeným ohříváním náplně vodní matrace, která obaluje izolovanou končetinu.

Do perfuzátu je aplikováno 10 ml 1% Mesocainu v souladu s protokolem pro vedení HILP. Telefonicky je kontaktováno centrum pro přípravu cytostatik VFN s FP, kde je zajištěno ředění látky, která se po dosažení požadované hypertermie přidává z infuze do perfuzátu.

Pro pacienty ošetřené metodou HILP na našem pracovišti se používá cytostatikum Alkeran (*viz kap. 2.1.3.1.*). Jde o lék s krátkým degradačním poločasem – z toho důvodu je infuze připravovaná teprve na telefonickou výzvu – není možné mít naředený lék připravený předem, neboť by mohla být negativně ovlivněna jeho účinnost. Interval od zahájení ohřevu izolované končetiny do dosažení požadované cílové teploty (ideálně 39,5°C) poskytuje nicméně dostatečný čas pro přípravu a dopravení infuze Alkeranu na operační sál k aplikaci.

Při dosažení cílové požadované teploty v izolované končetině je infuze s cytostatikem aplikována do perfuzátu a končetina je perfundována 60 minut.

Poté – za stále trvající mechanické izolace končetiny – je teplota perfuzátu řízeně snížena na úroveň normotermie, resp. celkové tělesné teploty pacienta (odpovídá 37°C) a velkým objemem krystaloidního roztoku (3000 ml Hartmannova roztoku) je z izolované končetiny odstraněn perfuzát s reziduem cytostatika, a to do sběrného odpadního vaku, který je vřazen do okruhu pro mimotělní oběh před žilní rezervoár – návratu proplachu do rezervoáru a končetiny je zabráněno naložením svorky na hadici, která ústí do rezervoáru, a zároveň sejmutím svorky z hadičky ústící do odpadního vaku je zajištěn odtok perfuzátu a proplachu.

Během této fáze operace je z izolované končetiny sejmuta ohřívací podložka, a novou vysokou bandáží elastickými obinadly je stlačením měkkých tkání končetiny podpořen maximální odtok perfuzátu a proplachu do odpadního vaku.

Po ukončení proplachu a zastavení mimotělního oběhu následuje uvolnění Esmarchových škrtidel, chirurgická dekanylace a ošetření tepny a žíly využitě k zajištění mimotělního oběhu, a obnovení celkového krevního oběhu. Po kontrole cév po kanylaci a sutuře a kontrole potenciálních krvácivých zdrojů je v případě předchozí indikace provedena excize lymfatických uzlin, následuje sutura měkkých tkání a kůže a ukončení operačního výkonu.

Likvidace perfuzátu a závěrečného proplachu, který je po ukončení perfuze shromážděn ve sběrném vaku, a likvidace veškerého kontaminovaného materiálu (komponenty setu pro mimotělní oběh, kanyla, plastové konektory, infuzní lahve a sety, jednorázový oděv a ochranné pomůcky – rukavice, použitý operační obvazový materiál atd.) proběhne po skončení operace v souladu s protokolem pro likvidaci nebezpečného a toxického odpadu. Tento protokol je v plném znění dostupný na intranetu VFN v sekci SOP – Příprava a aplikace cytostatik a SOP – Manipulace s cytostatiky ve VFN. V souladu s protokolem probíhá likvidace použitého materiálu ve Fakultní poliklinice v rámci oddělení pro přípravu cytostatik. Vzhledem k tomu, že toto oddělení není v téže budově jako operační sály, je materiál určený k likvidaci transportován ve speciálním ochranném boxu poslem do budovy Fakultní polikliniky na místo konečného zpracování.

3.2.2. Odběr krevních vzorků

Během operace od okamžiku chirurgické incize do doby ukončení perfuze, resp. operace, a v časném pooperačním období do 24 hodin po operaci byly odebírány k laboratornímu zpracování krevní vzorky podle následujícího časového schématu:

Odběr 1. - odběr arteriální krve před MO ze systémového krevního oběhu

Odběr 2. - odběr arteriální krve při spuštění MO ze systémového krevního oběhu +

tepennou odběrovou linkou z perfuzátu

Odběr 3. - odběr arteriální krve při podání infuze Alkeranu ze systémového krevního oběhu + tepennou odběrovou linkou z perfuzátu

Odběr 4. - odběr arteriální krve 30 minut od podání infuze Alkeranu ze systémového krevního oběhu + tepennou odběrovou linkou z perfuzátu

Odběr 5. - odběr arteriální krve 60 minut od podání infuze Alkeranu ze systémového krevního oběhu + tepennou odběrovou linkou z perfuzátu, zároveň se zahájením promývání končetiny izolovaným krystaloidním roztokem a řízeným návratem k normotermii končetiny před uvolněním izolace

Odběr 6. - odběr arteriální krve po ukončení MO ze systémového krevního oběhu

Odběr 7. - odběr arteriální krve ze systémového krevního oběhu 2 hodiny po operaci

Odběr 8. - odběr arteriální krve ze systémového krevního oběhu 6 hodin po operaci

Odběr 9. - odběr arteriální krve ze systémového krevního oběhu 12 hodin po operaci

Odběr 10. - odběr arteriální krve ze systémového krevního oběhu 24 hodiny po operaci

Ve zpracovaných výsledcích jsme se zaměřili na následující parametry: pH, BE, laktát, Hb, Htk, které byly podrobeny statistické analýze.

Po celou dobu operačního výkonu byl veden dokumentační protokol o výkonu, jehož titulní strana je vyplněna pro každého pacienta v souladu s protokolem o mimotělním oběhu (*viz kap. 2.3.7.1.*), na jeho zadní straně pak vedeme časový záznam průběhu operace ve smyslu událostí během výkonu a laboratorních měření (**obr. 16**).

Obr. č. 16 - Záznam časového průběhu operace, záznam výsledků laboratorních vyšetření

Událost	Čas	Průtok	MAP	CVP	SpO ₂	t _{sk}	t _{mc}	SvO ₂	Air+O ₂	FiO ₂	PaO ₂	paO ₂	pH	BE	pCO ₂	K ⁺	Hb	Hk	Lac	
											8-1	77	7.38	-2.7	35.0	3.5	10.6	12	0.6	
START	10.14	0.6	76	10	98.5	-	-	0.4	0.3	0	97.1	101	7.38	-2.2	35.4	3.5	11.5	11.4	0.4	
											0x	97.3	106	7.5	3.9	38.1	4.0	11.7	11.4	
ALKERAN	0.15	0.6	70	8	97.2	-	-	0.4	0.3	0	98.1	121	7.37	-2.6	34.0	3.4	11.6	11.4	0.9	
											0x	97.4	107	7.28	3.2	34.9	3.6	12.3	12.3	4.0
	11.25	0.6	64	8	97.1	-	-	0.4	0.3	0	98.0	112	7.41	-3.1	32.5	3.6	10.1	11.9	0.9	
											0x	97.1	100	7.63	3.7	32.1	3.7	11.5	11.5	4.5
PRODRAHA	11.55	0.6	76	7	97.1	-	-	0.4	0.3	0	98.3	122	7.43	-2.2	32.4	3.8	9.7	10.0	1.7	
											0x	97.3	100	7.64	3.9	32.7	3.9	12.5	12.5	4.9
STOP	12.10										0-2	98.5	145	7.28	5.1	32.2	3.9	9.3	11.9	1.5
Kardioplegie I																				
Kardioplegie II																				

3.3. Výsledky

Izolovaná končetinová hypertermická perfuze je léčebná metoda, která je aplikována pacientům podle následujících indikací: melanom metastazující ohraničeně v končetině, recidiva melanomu po chirurgickém výkonu. Obecný počet indikací pro tuto léčebnou metodu tvoří jen asi 2% pacientů léčených jinými metodami (viz kap. 2.1.3.) pro diagnózu maligního melanomu, většina pacientů z hlediska např. pokročilosti onemocnění nebo z důvodu souvisejících komplikací nesplňuje indikační podmínky.

Na pracovišti II. chirurgické kliniky KVCH VFN a 1. LF UK Praha jsme po dohodě s MUDr. J. Slavíkem (perfuziolog – Brno) při uvedení této metody do praxe vyšli z protokolu používaného pro vedení mimotělního oběhu při operaci izolované končetiny hypertermickou perfuzí v Brně, později jsme protokol přizpůsobili možnostem a zvyklostem našeho pracoviště (viz kap. 3.2.).

V období 2009 – 2011 jsme na pracovišti II. chirurgické kliniky VFN ošetřili metodou HILP 17 pacientů, z nichž tři podstoupili z důvodu rozšíření indikace a pokračování v léčbě s příznivou léčebnou odpovědí izolovanou končetinovou perfuzi opakovaně. Celkem bylo operováno 14 žen (2 opakovaně) a 3 muži (jeden opakovaně). Perfuzi horní končetiny jsme provedli 2x, dolní končetina byla promývána cytostatikem 15x. Indikací k výkonu byl melanom 16x a karcinom 1x.

Průměrný objem náplně MO byl 568 ml (400 – 700)

Průměrný čas ohřevu perfuzátu byl 38 minut (24 - 64)

Čas perfuze – 60 minut (konstantní hodnota)

Průměrný čas proplachu končetiny byl 10 minut (5 - 18)

Průměrný celkový čas operace byl 142 minuty (82 - 136)

Průměrná dosažená cílová teplota byla 38,8°C (37,2 - 39,7)




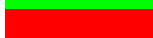
Detailní údaje o vedení HILP u těchto nemocných ukazuje **tabulka 5**.

Tab. č. 5 – Soubor pacientů ošetřených metodou HILP – detailní údaje o perfuzi

_	pohlaví	konč.	dg.	oxvg.	prime [ml]	čas ohř.[min.]	čas perf.[min.]	čas propl.[min.]	celk. čas[min.]	tt [°C]
1	F	pdk	mm	M800LT	700	24	60	7	91	38,3
2	M	ldk	mm	M2400LT	700	37	60	11	109	38,9
3	F	ldk	mm	M800LT	700	62	60	7	129	38,7
4	F	pdk	mm	M1000	700	45	60	10	115	38,6
5	F	lhk	mm	M1000	700	64	60	12	136	37,5
6	F	pdk	mm	M2800	500	32	60	16	108	39,6
7	F	ldk	mm	M1000	600	55	60	14	129	38,1
8	F	lhk/re	mm	M1000	400	33	60	13	106	37,2
9	M	ldk/re	mm	M2800	600	34	60	18	112	38
10	F	pdk	mm	M2800	500	26	60	9	95	38,8
11	F	ldk	ca	M2800	700	31	60	5	96	39,2
12	F	pdk	mm	M2800	500	23	60	7	90	39,2
13	F	ldk/re	mm	M2800	550	16	60	6	82	39,5
14	M	ldk	mm	M2800	500	16	60	7	83	39,7
15	F	ldk	mm	M2800	400	30	60	8	98	39,7
16	F	pdk	mm	M2800	600	43	60	15	118	39,6
17	F	pdk	mm	M2800	600	41	60	15	116	39,1

Data získaná během práce v rámci měření zvolených metabolických a hematologických parametrů byla podrobena statistické analýze. Statistická významnost rozdílů průměrů byla testována na třech hladinách ($p < 0,05$, $p < 0,01$ a $p < 0,001$) (*obr. 17*). U dat byla nejprve testována normalita pomocí Kolmogorov-Smirnovova testu. Jelikož převážná většina proměnných měla normální rozdělení, bylo možné použít parametrické testy pro analýzu opakovaných měření.

Obr. č. 17 – Barevné identifikátory úrovní statistické signifikance

	nesignifikantní
	$p < 0,05$
	$p < 0,01$
	$p < 0,001$

Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu (ANOVA) s opakovaním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (poznámka: toto je statisticky korektnější než párové t-testy mezi všemi dvojicemi opakovaných měření). Veškeré výpočty byly provedeny v programu SPSS (verze 17.0). Grafy byly zhotoveny v programu Statistica (verze 9.0).

Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémových hodnot, respektive vzorků odebraných z izolované končetiny je uspořádáno v tabulkách pro jednotlivé markery. Identifikátory C, OX jsou definována místa odběru krevních vzorků. C – odběr ze systémového krevního oběhu k vyšetření celkových hodnot, OX – odběr z izolované končetiny tepennou odběrovou linkou oxygenátoru.

3.3.1. Laktát

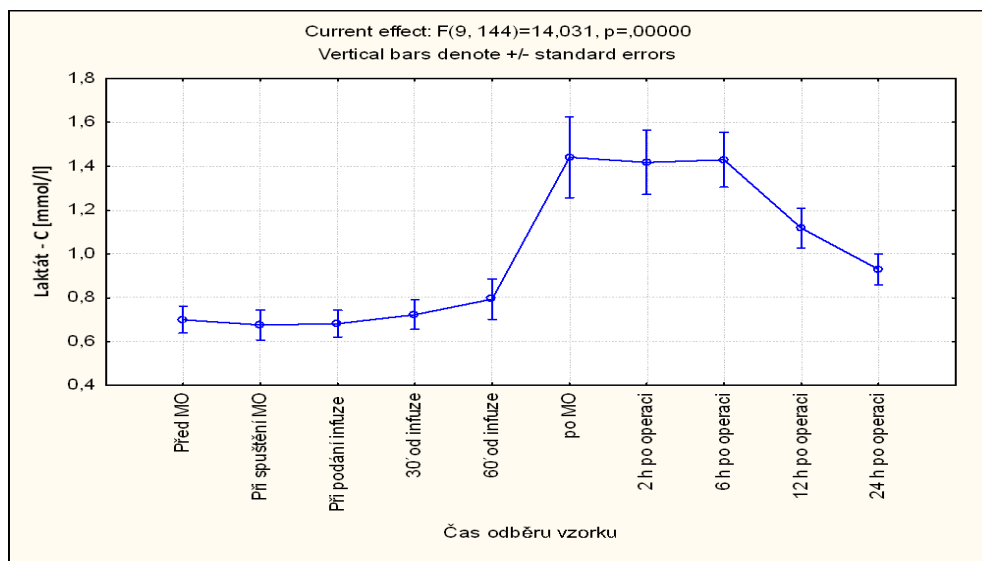
Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémové laktatemie (laktát – C) a vzorků odebraných z izolované končetiny během HILP (Laktát – OX) ukazuje **tabulka 6**.

Tabulka č. 6 – Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření laktátu

LAC - C	Čas odběru vzorku	LAC- OX	Čas odběru vzorku
lac_1	Před MO		
lac_2_1	Při spuštění MO	lac_2_2	Při spuštění MO
lac_3_1	Při podání infuze	lac_3_2	Při podání infuze
lac_4_1	30' od infuze	lac_4_2	30' od infuze
lac_5_1	60' od infuze	lac_5_2	60' od infuze
lac_6	po MO		
lac_7	2 h po operaci		
lac_8	6 h po operaci		
lac_9	12 h po operaci		
lac_10	24 h po operaci		

Průměr výsledků a dynamika **systémové (celotělové) laktatemie** během HILP je přehledně uvedena v **grafu 2**.

Graf č. 2 - Časový záznam vývoje systémové laktatemie během operace melanomu



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (*tab. 7*) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (*tab. 8*).

Tab. č. 7 - Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné laktát - C

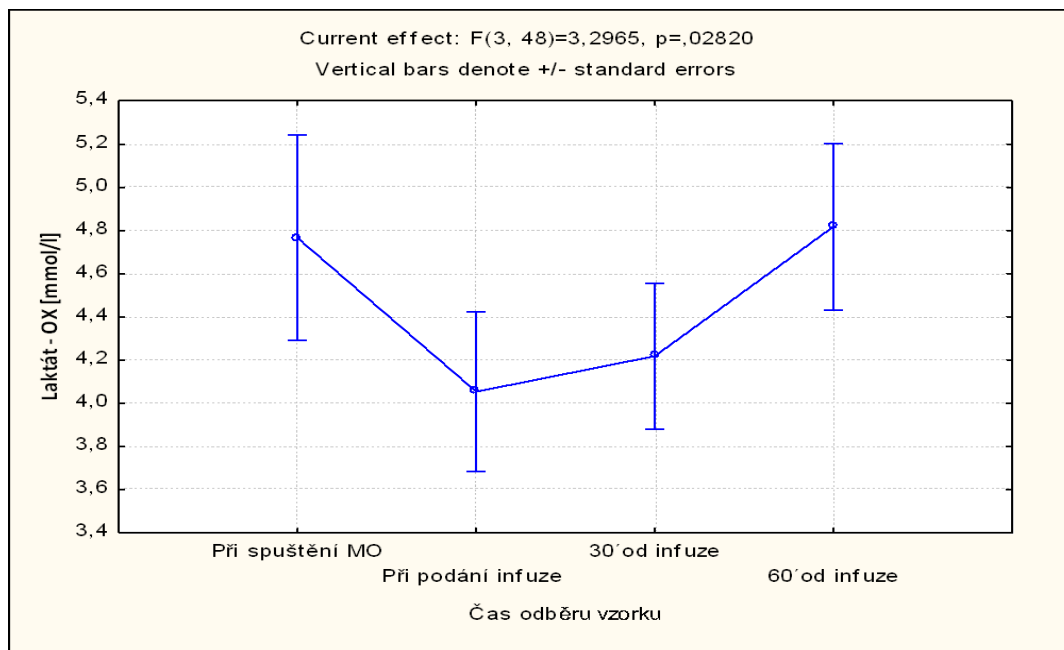
	tabulka ANOVA				
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	167,0132	1	167,0132	249,6516	0,000000
Error	10,7038	16	0,6690		
TIME	16,7603	9	1,8623	14,0307	0,000
Error	19,1127	144	0,1327		

Tab. č. 8 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné laktát - C

	Fisherův post-hoc test										
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
1	lac_1		0,851	0,888	0,851	0,453	0,000	0,000	0,000	0,001	0,068
2	lac_2_1	0,851		0,963	0,707	0,348	0,000	0,000	0,000	0,001	0,045
3	lac_3_1	0,888	0,963		0,742	0,373	0,000	0,000	0,000	0,001	0,050
4	lac_4_1	0,851	0,707	0,742		0,573	0,000	0,000	0,000	0,002	0,102
5	lac_5_1	0,453	0,348	0,373	0,573		0,000	0,000	0,000	0,011	0,281
6	lac_6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,851	0,925	0,011	0,000
7	lac_7	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,851		0,925	0,018	0,000
8	lac_8	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,925	0,925		0,014	0,000
9	lac_9	0,001	0,001	0,001	0,002	0,011	0,011	0,018	0,014		0,134
10	lac_10	0,068	0,045	0,050	0,102	0,281	0,000	0,000	0,000	0,134	

Průměr výsledků a dynamika laktátemie perfundované končetiny (odběry z okruhu mimotělního běhu) během HILP je přehledně uvedena v **grafu 3**.

Graf č. 3 – Časový záznam vývoje laktátemie (LAC – OX) v izolované končetině během HILP



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (**tab. 9**) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (**tab. 10**).

Tab. č. 9 - Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné laktát – OX

	tabulka ANOVA				
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	1354,5919	1	1354,5919	162,5422	0,000000
Error	133,3406	16	8,3338		
TIME	7,5675	3	2,5225	3,2965	0,028
Error	36,7300	48	0,7652		

Tab. č. 10 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné laktát – OX

	Fisherův post-hoc test				
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}
1	lac_2_2		0,022	0,074	0,861
2	lac_3_2	0,022		0,586	0,014
3	lac_4_2	0,074	0,586		0,051
4	lac_5_2	0,861	0,014	0,051	

3.3.2. pH

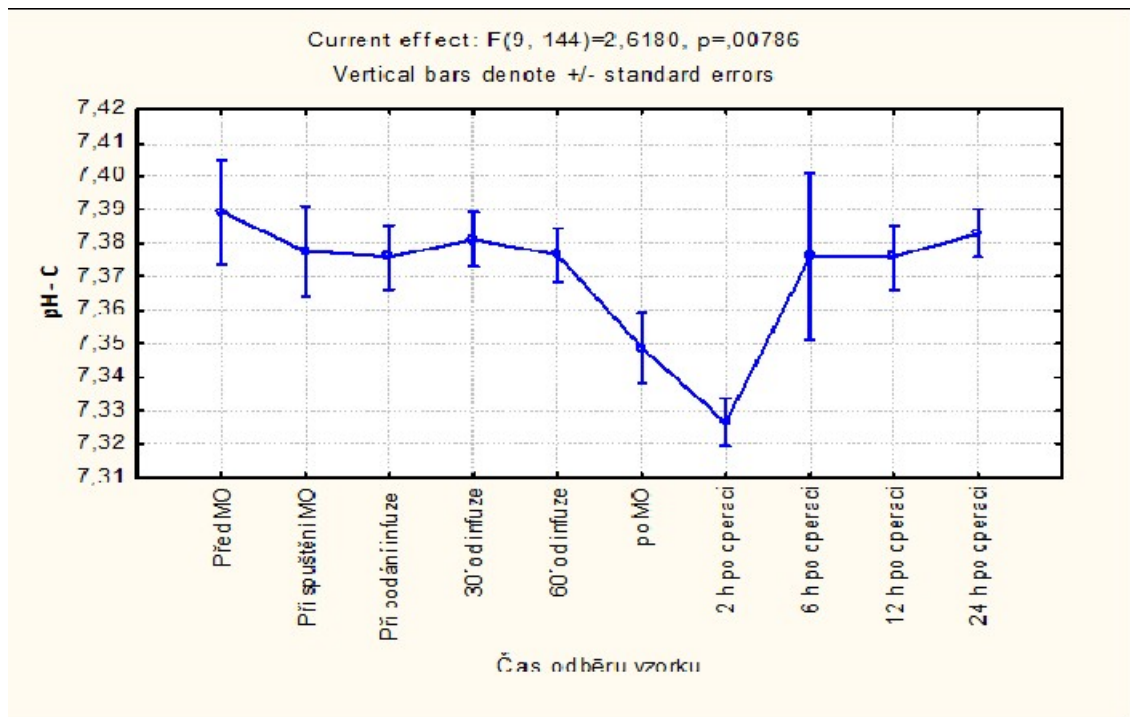
Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémového pH (pH – C) a vzorků odebraných z izolované končetiny během HILP (pH – OX) ukazuje *tabulka 11*.

Tab. č. 11 - Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémového pH (pH – C) a vzorků odebraných z izolované končetiny během HILP (pH – OX)

pH - C	Čas odběru vzorku	pH - OX	Čas odběru vzorku
pH_1	Před MO		
pH_2_1	Při spuštění MO	pH_2_2	Při spuštění MO
pH_3_1	Při podání infuze	pH_3_2	Při podání infuze
pH_4_1	30' od infuze	pH_4_2	30' od infuze
pH_5_1	60' od infuze	pH_5_2	60' od infuze
pH_6	po MO		
pH_7	2 h po operaci		
pH_8	6 h po operaci		
pH_9	12 h po operaci		
pH_10	24 h po operaci		

Průměr výsledků a dynamika **systemového (celotělového) pH** během HILP je přehledně uvedena v **grafu 4**.

Graf č. 4 – Časový záznam vývoje systémového pH během operace melanomu



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (**tab. 12**) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (**tab. 13**).

Tab. č. 12 - Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné pH - C

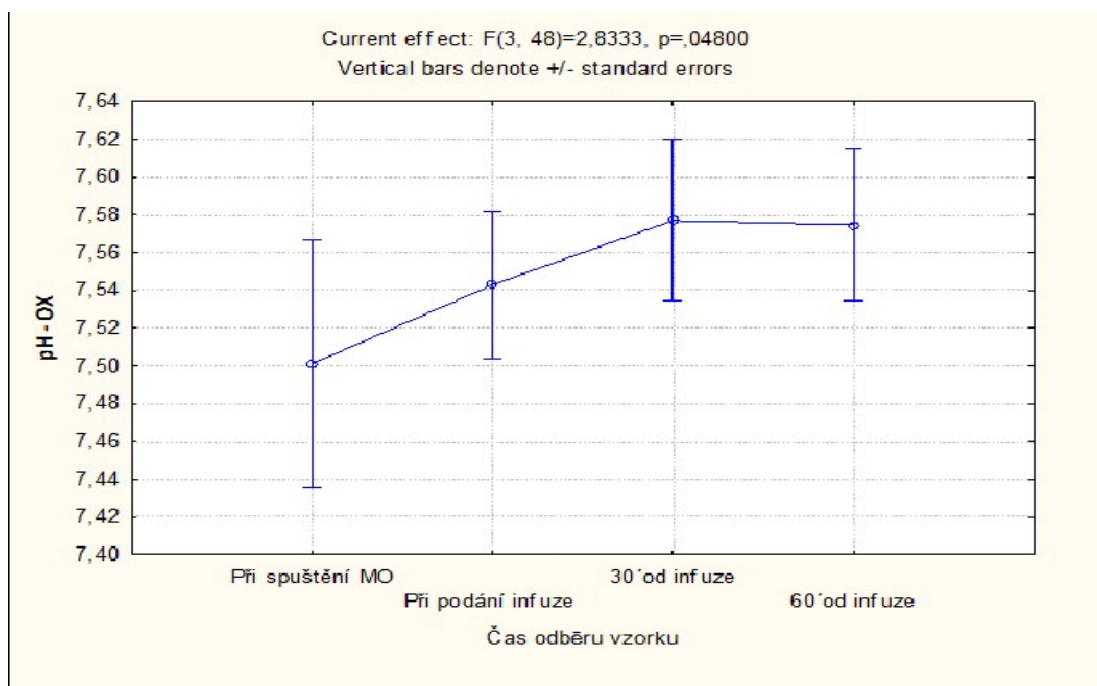
	tabulka ANOVA			F	p
	SS	Degr. of	MS		
Intercept	9236,5264	1	9236,5264	1554162,7559	0,000000
Error	0,0951	16	0,0059		
TIME	0,0545	9	0,0061	2,6180	0,008
Error	0,3330	144	0,0023		

Tab. č. 13 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné pH – C

	Fisherův post-hoc test										
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
1	pH_1		0,477	0,413	0,618	0,434	0,015	0,000	0,413	0,413	0,695
2	pH_2_1	0,477		0,915	0,831	0,943	0,083	0,002	0,915	0,915	0,749
3	pH_3_1	0,413	0,915		0,749	0,972	0,103	0,003	1,000	1,000	0,669
4	pH_4_1	0,618	0,831	0,749		0,776	0,052	0,001	0,749	0,749	0,915
5	pH_5_1	0,434	0,943	0,972	0,776		0,096	0,003	0,972	0,972	0,695
6	pH_6	0,015	0,083	0,103	0,052	0,096		0,177	0,103	0,103	0,040
7	pH_7	0,000	0,002	0,003	0,001	0,003	0,177		0,003	0,003	0,001
8	pH_8	0,413	0,915	1,000	0,749	0,972	0,103	0,003		1,000	0,669
9	pH_9	0,413	0,915	1,000	0,749	0,972	0,103	0,003	1,000		0,669
10	pH_10	0,695	0,749	0,669	0,915	0,695	0,040	0,001	0,669	0,669	

Průměr výsledků a dynamika pH perfundované končetiny (odběry z okruhu mimotělního běhu) během HILP je přehledně uvedena v grafu 5.

Graf č. 5 – Časový záznam vývoje pH v izolované končetině během HILP



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (*tab. 14*) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (*tab. 15*).

Tab. č. 14 - Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné pH - OX

	tabulka ANOVA				
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	3875,1131	1	3875,1131	28524,9012	0,000000
Error	2,1736	16	0,1359		
TIME	0,0641	3	0,0214	2,8333	0,048
Error	0,3621	48	0,0075		

Tab. č. 15 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné pH - OX

	Fisherův post-hoc test				
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}
1	pH_2_2		0,167	0,014	0,017
2	pH_3_2	0,167		0,258	0,292
3	pH_4_2	0,014	0,258		0,937
4	pH_5_2	0,017	0,292	0,937	

3.3.3. Base Excess (BE)

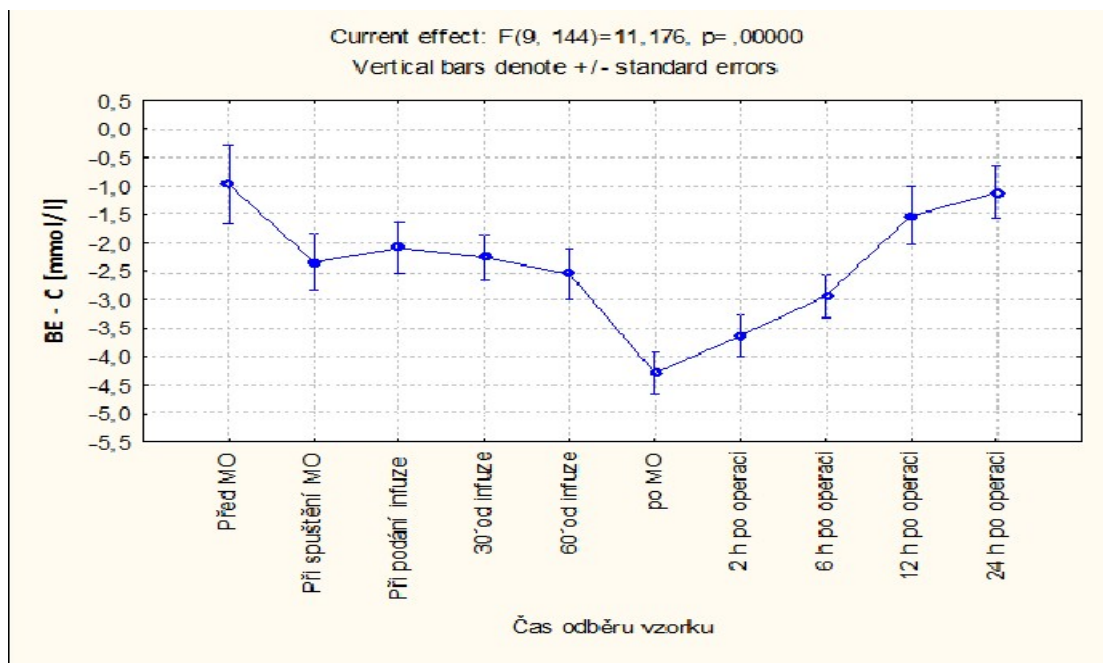
Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémového BE (BE – C) a vzorků odebraných z izolované končetiny během HILP (BE – OX) ukazuje *tabulka 16*.

Tab. č. 16 - Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémového BE (BE – C) a vzorků odebraných z izolované končetiny během HILP (BE – OX)

BE - C	Čas odběru vzorku	BE - OX	Čas odběru vzorku
BE_1	Před MO		
BE_2_1	Při spuštění MO	BE_2_2	Při spuštění MO
BE_3_1	Při podání infuze	BE_3_2	Při podání infuze
BE_4_1	30' od infuze	BE_4_2	30' od infuze
BE_5_1	60' od infuze	BE_5_2	60' od infuze
BE_6	po MO		
BE_7	2 h po operaci		
BE_8	6 h po operaci		
BE_9	12 h po operaci		
BE_10	24 h po operaci		

Průměr výsledků a dynamika systémového (celotělového) BE během HILP je přehledně uvedena v *grafu 6*.

Graf č. 6 – Časový záznam vývoje systémového BE během operace melanomu



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (*tab. 17*) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (*tab. 18*).

Tab. č. 17 - Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné BE - C

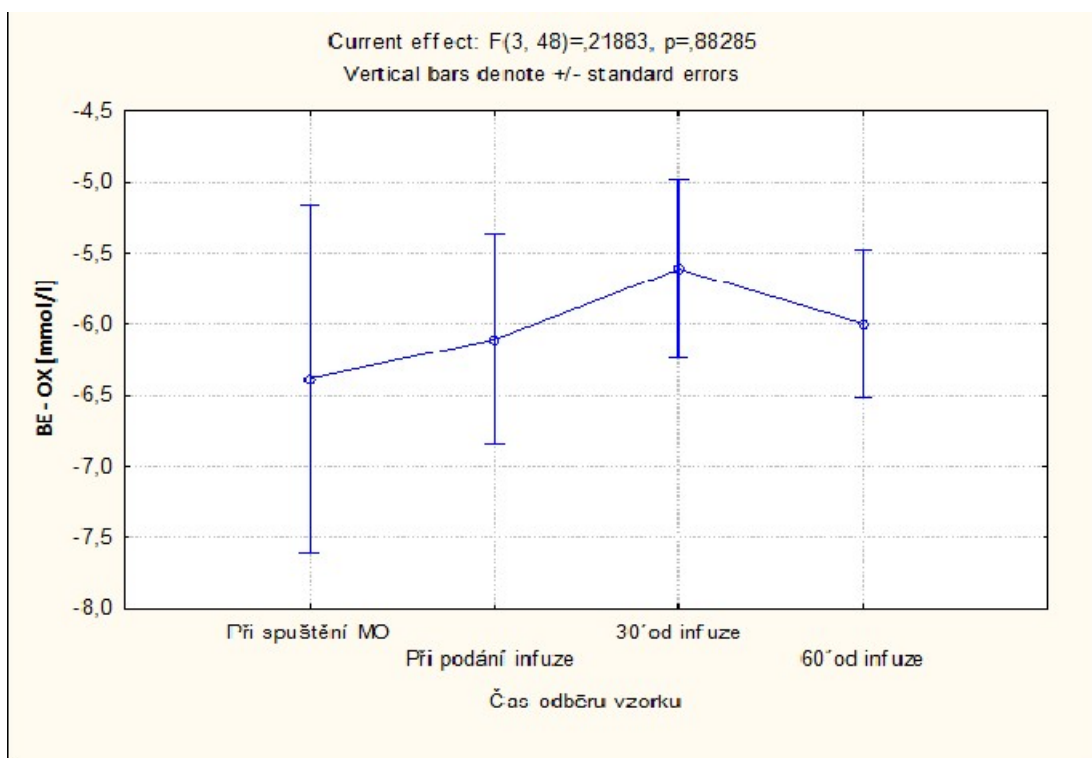
	tabulka ANOVA				
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	953,9252	1	953,9252	44,6158	0,000005
Error	342,0938	16	21,3809		
TIME	169,5083	9	18,8343	11,1756	0,000
Error	242,6827	144	1,6853		

Tab. č. 18 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné BE – C

	Fisherův post-hoc test										
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
1	BE_1		0,003	0,013	0,005	0,001	0,000	0,000	0,000	0,216	0,752
2	BE_2_1	0,003		0,580	0,854	0,626	0,000	0,004	0,180	0,070	0,007
3	BE_3_1	0,013	0,580		0,712	0,298	0,000	0,001	0,059	0,207	0,030
4	BE_4_1	0,005	0,854	0,712		0,502	0,000	0,002	0,128	0,104	0,011
5	BE_5_1	0,001	0,626	0,298	0,502		0,000	0,017	0,392	0,022	0,002
6	BE_6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,141	0,003	0,000	0,000
7	BE_7	0,000	0,004	0,001	0,002	0,017	0,141		0,121	0,000	0,000
8	BE_8	0,000	0,180	0,059	0,128	0,392	0,003	0,121		0,002	0,000
9	BE_9	0,216	0,070	0,207	0,104	0,022	0,000	0,000	0,002		0,357
10	BE_10	0,752	0,007	0,030	0,011	0,002	0,000	0,000	0,000	0,357	

Průměr výsledků a dynamika BE **perfundované končetiny (odběry z okruhu mimotělního běhu)** během HILP je přehledně uvedena v *grafu 7*.

Graf č. 7 – Časový záznam vývoje BE v izolované končetině během HILP



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (*tab. 19*) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (*tab. 20*).

Tab. č. 19 - Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné BE – OX

tabulka ANOVA					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	2467,2376	1	2467,2376	111,2880	0,000000
Error	354,7174	16	22,1698		
TIME	5,2012	3	1,7337	0,2188	0,883
Error	380,2838	48	7,9226		

Tab. č. 20 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné BE - OX

	Fisherův post-hoc test				
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}
1	BE_2_2		0,776	0,429	0,689
2	BE_3_2	0,776		0,611	0,908
3	BE_4_2	0,429	0,611		0,694
4	BE_5_2	0,689	0,908	0,694	

3.3.4. Hemoglobin

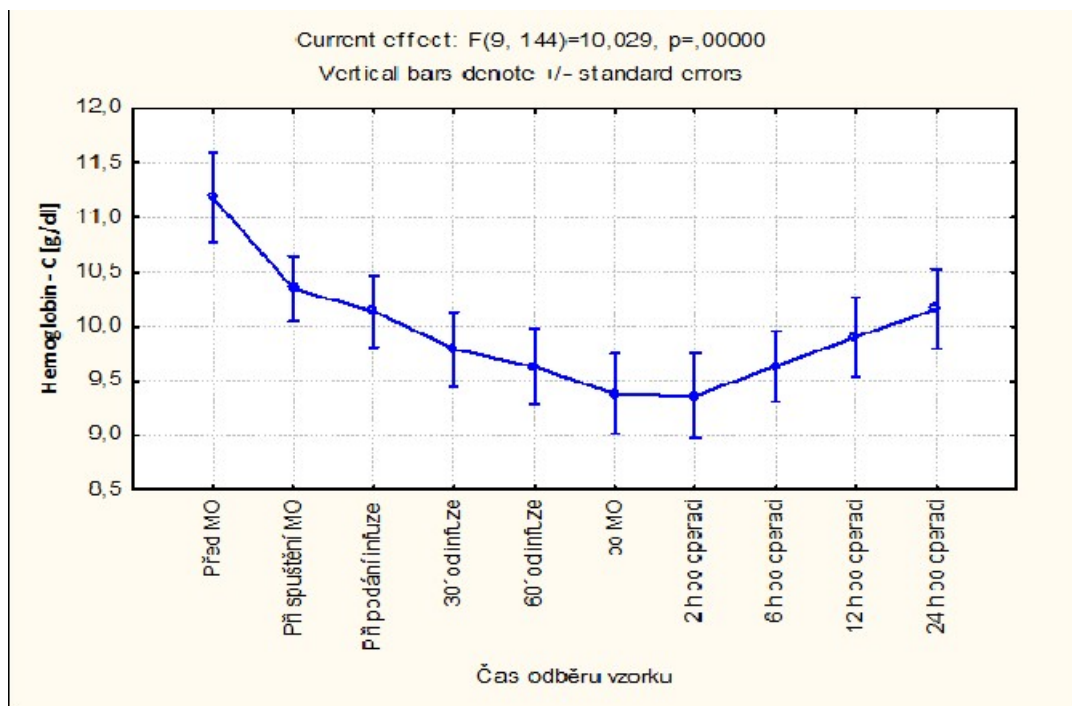
Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémového Hemoglobinu (Hb – C) a vzorků odebraných z izolované končetiny během HILP (Hb – OX) ukazuje *tabulka 21*.

Tab. č. 21 - Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémových hodnot hemoglobinu (Hemoglobin – C) a vzorků odebraných z izolované končetiny během HILP (Hemoglobin – OX)

Hb - C	Čas odběru vzorku	Hb - OX	Čas odběru vzorku
Hb_1	Před MO		
Hb_2_1	Při spuštění MO	Hb_2_2	Při spuštění MO
Hb_3_1	Při podání infuze	Hb_3_2	Při podání infuze
Hb_4_1	30' od infuze	Hb_4_2	30' od infuze
Hb_5_1	60' od infuze	Hb_5_2	60' od infuze
Hb_6	po MO		
Hb_7	2 h po operaci		
Hb_8	6 h po operaci		
Hb_9	12 h po operaci		
Hb_10	24 h po operaci		

Průměr výsledků a dynamika **systemového (celotělového) Hemoglobinu** během HILP je přehledně uvedena v **grafu 8**.

Graf č. 8 – Časový záznam systémových změn hodnot hemoglobinu během operace melanomu



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (**tab. 22**) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (**tab. 23**).

Tab. č. 22- Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné Hemoglobin - C

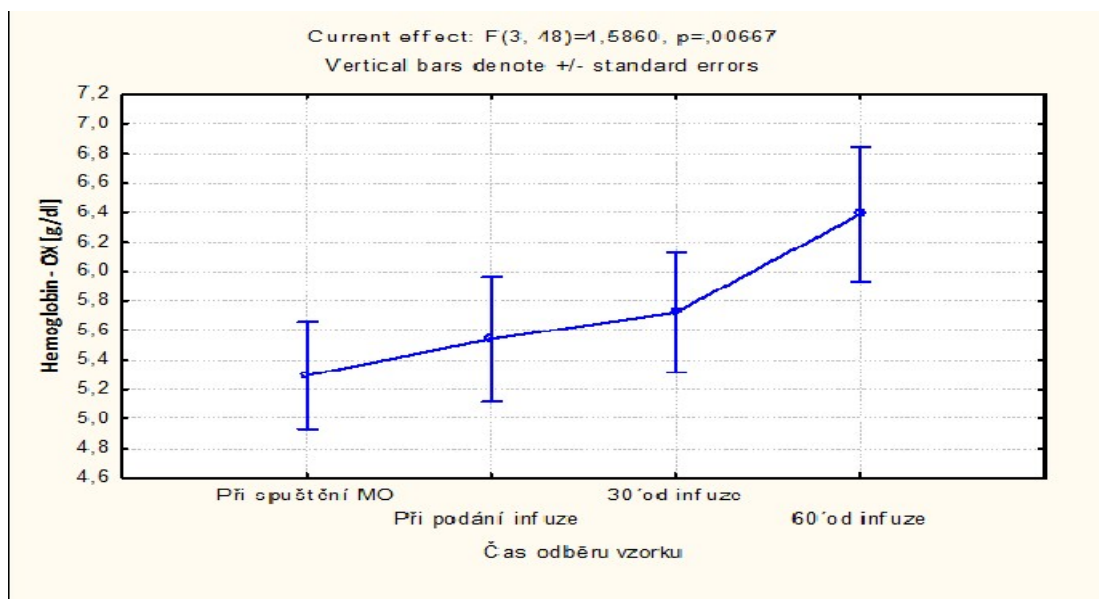
tabulka ANOVA					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	16844,3579	1	16844,3579	990,2034	0,000000
Error	272,1761	16	17,0110		
TIME	45,0362	9	5,0040	10,0290	0,000
Error	71,8498	144	0,4990		

Tab. č. 23 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné Hemoglobin - C

Fisherův post-hoc test											
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
1	Hb_1		0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	Hb_2_1	0,001		0,397	0,024	0,004	0,000	0,000	0,004	0,071	0,438
3	Hb_3_1	0,000	0,397		0,154	0,036	0,002	0,002	0,039	0,333	0,942
4	Hb_4_1	0,000	0,024	0,154		0,498	0,091	0,078	0,513	0,645	0,134
5	Hb_5_1	0,000	0,004	0,036	0,498		0,310	0,276	0,981	0,256	0,030
6	Hb_6	0,000	0,000	0,002	0,091	0,310		0,942	0,298	0,032	0,002
7	Hb_7	0,000	0,000	0,002	0,078	0,276	0,942		0,266	0,027	0,001
8	Hb_8	0,000	0,004	0,039	0,513	0,981	0,298	0,266		0,266	0,032
9	Hb_9	0,000	0,071	0,333	0,645	0,256	0,032	0,027	0,266		0,298
10	Hb_10	0,000	0,438	0,942	0,134	0,030	0,002	0,001	0,032	0,298	

Průměr výsledků a dynamika Hemoglobinu perfundované končetiny (odběry z okruhu mimotělního běhu) během HILP je přehledně uvedena v grafu 9.

Graf č. 9 – Časový záznam změn hodnot hemoglobinu v izolované končetině během HILP



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (*tab. 24*) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (*tab. 25*).

Tab. č. 24 - Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné Hemoglobin - OX

	tabulka ANOVA				
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	2237,9119	1	2237,9119	242,3858	0,000000
Error	147,7256	16	9,2328		
TIME	11,1993	3	3,7331	4,5860	0,007
Error	39,0732	48	0,8140		

Tab. č. 25 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné Hemoglobin - OX

	Fisherův post-hoc test				
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}
1	Hb_2_2		0,429	0,172	0,001
2	Hb_3_2	0,429		0,558	0,009
3	Hb_4_2	0,172	0,558		0,037
4	Hb_5_2	0,001	0,009	0,037	

3.3.5. Hematokrit

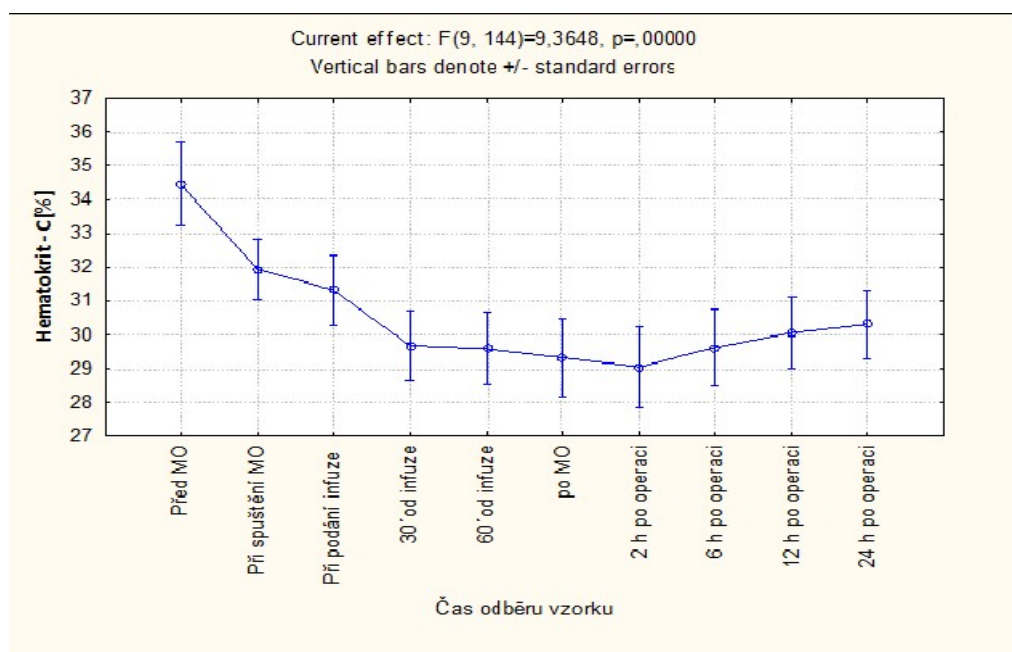
Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémového Hematokritu (HTK – C) a vzorků odebraných z izolované končetiny během HILP (HTK – OX) ukazuje *tabulka 26*.

Tab. č. 26 - Časové schéma odběru krevních vzorků na vyšetření systémových hodnot hematokritu (Hematokrit – C) a vzorků odebraných z izolované končetiny během HILP (Hematokrit – OX)

HTK - C	Čas odběru vzorku	HTK - OX	Čas odběru vzorku
Htk_1	Před MO		
Htk_2_1	Při spuštění MO	Htk_2_2	Při spuštění MO
Htk_3_1	Při podání infuze	Htk_3_2	Při podání infuze
Htk_4_1	30' od infuze	Htk_4_2	30' od infuze
Htk_5_1	60' od infuze	Htk_5_2	60' od infuze
Htk_6	po MO		
Htk_7	2 h po operaci		
Htk_8	6 h po operaci		
Htk_9	12 h po operaci		
Htk_10	24 h po operaci		

Průměr výsledků a dynamika **systémového (celotělového) Hematokritu** během HILP je přehledně uvedena v **grafu 10**.

Graf č. 10 – Časový záznam změn systémových hodnot hematokritu během operace melanomu



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (*tab. 27*) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (*tab. 28*).

Tab. č. 27 - Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné Hematokrit - C

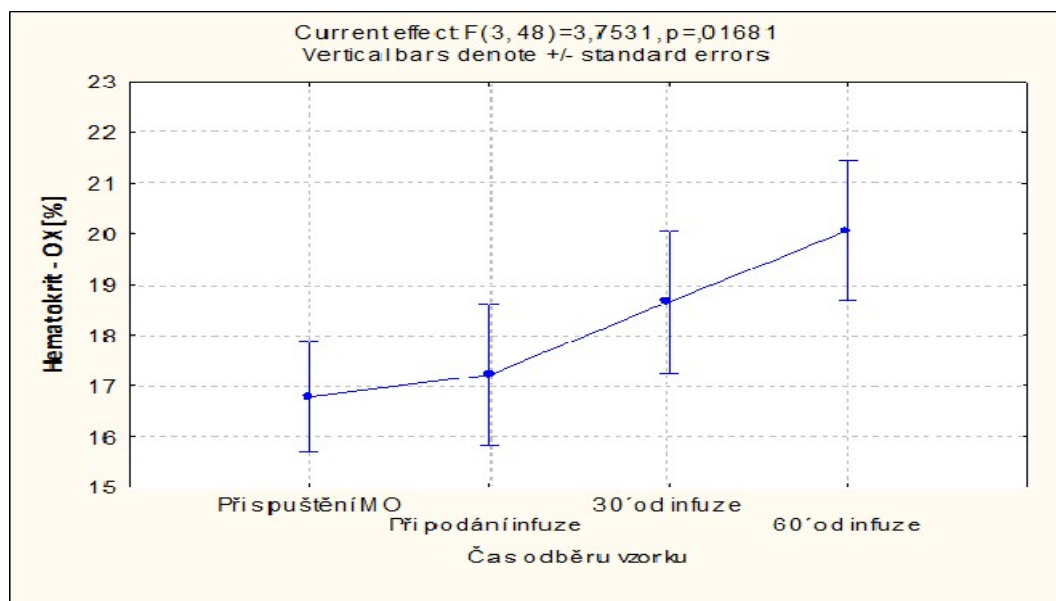
	tabulka ANOVA				
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	158520,9261	1	158520,9261	1015,3731	0,000000
Error	2497,9339	16	156,1209		
TIME	414,6092	9	46,0677	9,3648	0,000
Error	708,3708	144	4,9192		

Tab. č. 28 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné Hematokrit - C

	Fisherův post-hoc test										
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
1	Htk_1	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	Htk_2_1	0,001	0,427	0,004	0,002	0,001	0,000	0,003	0,015	0,035	
3	Htk_3_1	0,000	0,427	0,032	0,023	0,009	0,003	0,026	0,099	0,183	
4	Htk_4_1	0,000	0,004	0,032	0,896	0,638	0,409	0,938	0,616	0,409	
5	Htk_5_1	0,000	0,002	0,023	0,896	0,734	0,488	0,957	0,527	0,339	
6	Htk_6	0,000	0,001	0,009	0,638	0,734	0,723	0,694	0,332	0,196	
7	Htk_7	0,000	0,000	0,003	0,409	0,488	0,723	0,454	0,186	0,100	
8	Htk_8	0,000	0,003	0,026	0,938	0,957	0,694	0,454	0,563	0,367	
9	Htk_9	0,000	0,015	0,099	0,616	0,527	0,332	0,186	0,563	0,746	
10	Htk_10	0,000	0,035	0,183	0,409	0,339	0,196	0,100	0,367	0,746	

Průměr výsledků a dynamika Hematokritu perfundované končetiny (odběry z okruhu mimotělního běhu) během HILP je přehledně uvedena v *grafu 11*.

Graf č. 11 – Časový záznam změn hodnot hematokritu v izolované končetině během HILP



Pro testování rovnosti průměrů v čase byla použita analýza rozptylu ANOVA (tab. 29) s opakováním měření. Za účelem porovnávání všech dvojic průměrů byl použit Fisherův post-hoc test (tab. 30).

Tab. č. 29 - Přehled výsledků testu rovnosti průměrů (ANOVA) u proměnné Hematokrit - OX

	tabulka ANOVA				
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	22473,3888	1	22473,3888	250,0445	0,000000
Error	1438,0412	16	89,8776		
TIME	113,1406	3	37,7135	3,7531	0,017
Error	482,3294	48	10,0485		

Tab. č. 30 - Přehled výsledků Fisherova post-hoc testu, porovnání dvojic průměrů u proměnné Hematokrit - OX

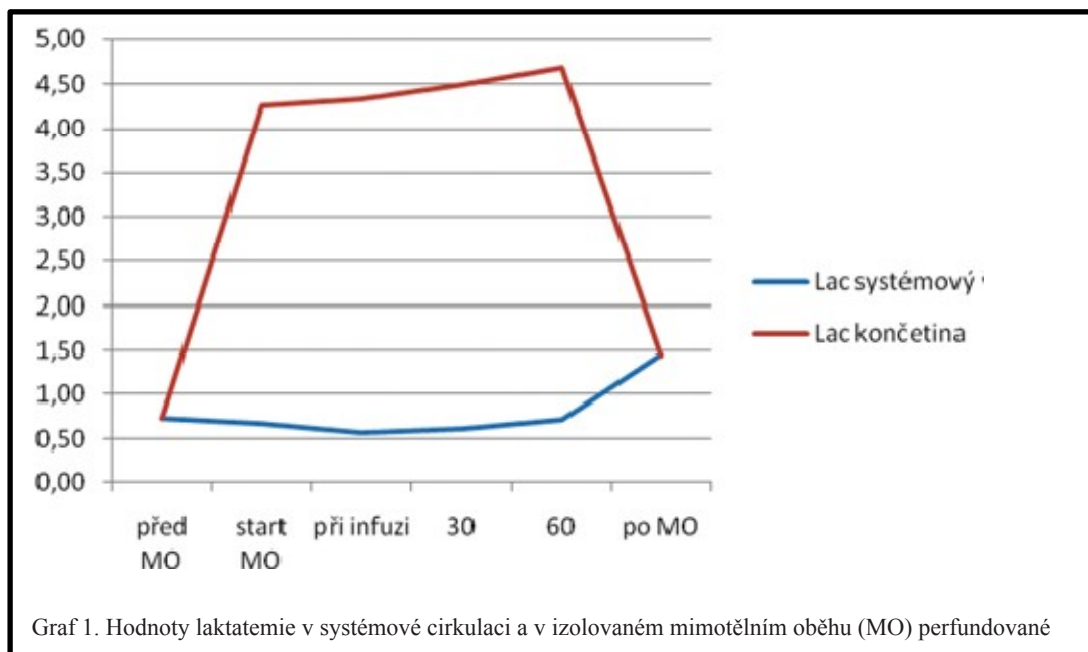
	Fisherův post-hoc test				
	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}
1	Htk_2_2		0,691	0,092	0,004
2	Htk_3_2	0,691		0,193	0,012
3	Htk_4_2	0,092	0,193		0,200
4	Htk_5_2	0,004	0,012	0,200	

3.3.6. Komentář k výsledkům

Při analýze deseti opakovaných měření u celkového oběhu bylo zjištěno, že se celkově statisticky významně liší průměry u proměnných (veličin) laktát-C ($p < 0,001$), pH-C ($p = 0,008$), BE-C ($p < 0,001$), hemoglobin-C ($p < 0,001$), i hematokrit-C ($p < 0,001$). V případě mimotělního oběhu se celkově statisticky významně liší průměry čtyř opakovaných měření u proměnných laktát-OX ($p = 0,028$), pH-OX ($p = 0,048$), hemoglobin-OX ($p = 0,007$) a hematokrit-OX ($p = 0,017$). Rozdíly v průměrech proměnné BE-OX nebyly statisticky signifikantní ($p = 0,883$).

Pomocí post-hoc testů bylo ukázáno, že se u proměnné laktát-C statisticky významně liší průměry měření před mimotělním oběhem a následující tři měření po MO ($p < 0,001$), 12 hodin po operaci začíná docházet k návratu k hodnotám před MO ($p < 0,05$) a 24 hodin po operaci už některé rozdíly nejsou statisticky významné. V případě proměnné laktát-OX se průměrné hodnoty při podání infuze liší od průměrných hodnot při spuštění MO ($p = 0,022$) a od hodnot 60 min od infuze ($p = 0,014$) (graf 12).

Graf č. 12 – Hodnoty laktatemie v celkovém a parciálním krevním oběhu během HILP [5]



Proměnná pH-C průběžně klesá a svého minima dosahuje 2h po operaci, pak začíná růst. Průměrné hodnoty tohoto minima se statisticky významně liší od všech zbývajících devíti hodnot ($p < 0,01$).

Proměnná pH-OX od okamžiku spuštění MO roste a průměry při spuštění MO se významně liší od průměrů 30 min od infuze ($p = 0,014$) a 60 min od infuze ($p = 0,017$).

Podobný průběh jako pH-C má i proměnná BE-C. Průměrné hodnoty se v čase snižují a minimum nastává po MO, přičemž průměry jsou v tomto minimu statisticky významně různé od všech ostatních hodnot ($p < 0,01$).

Od tohoto okamžiku dochází k návratu k výchozím hodnotám, což dokládá fakt, že rozdíly v průměrech před MO a 24 hodin po operaci nejsou signifikantní ($p = 0,752$).

Z výsledků dále vyplývá, že časové vývoje průměrných hodnot proměnných hemoglobin-C a hematokrit-C jsou velmi podobné. Průměry před MO jsou statisticky významně vyšší než zbývajících 9 měření jak u proměnné hemoglobin-C ($p < 0,001$), tak i u proměnné hematokrit-C ($p < 0,01$). U obou proměnných jsou pozorovány nejnižší průměrné hodnoty 2 hodiny po operaci, pak následuje vzestup těchto hodnot. V případě proměnné hemoglobin-C se průměrná hodnota vrátí na úroveň druhého měření (při spuštění MO) ($p = 0,438$). Proměnná hematokrit-C se vrátí jen na úroveň třetího měření ($p = 0,183$). Analogicky i u proměnných hemoglobin-OX a hematokrit-OX je patrný podobný, rostoucí trend. Průměrné hodnoty hemoglobin-OX 60 min od infuze se významně liší od průměrů 30 minut od infuze ($p = 0,037$), při podání infuze ($p = 0,009$) i při spuštění MO ($p < 0,001$). Průměrné hodnoty hematokritu-OX odebrané 60 min od infuze se pak liší od odběru provedeného při podání infuze ($p = 0,012$) a při spuštění MO ($p = 0,004$).

4. Diskuze

Vzhledem k malému počtu pacientů ošetřených v uvedeném období metodou HILP nelze dojít k jednoznačným závěrům v oblasti hodnocení metabolických změn v izolované končetině. Z výsledků statistické analýzy vyplývají nicméně signifikantní rozdíly ve výsledcích vyšetření vybraných metabolických a hematologických parametrů krevních vzorků odebraných v perioperačním období podle schématu odběrů, které uplatňujeme na pracovišti II. chirurgické kliniky VFN (viz *kap. 3.2.*)

Inspirací k sestavení schématu odběrů krevních vzorků k laboratornímu vyšetření metabolických parametrů byla úvaha o možném reperfučním poškození tkáně při vysoké laktatemii perfuzátu během HILP, vycházející z rozsáhlé studie na téma postperfuzního syndromu u pacientů s kritickou končetinovou ischemií, která probíhá s podporou grantu IGA MZČR NS 9787-3 na pracovišti II. chirurgické kliniky VFN. U pacientů zařazených do této studie je posuzována nutnost provedení fasciotomie při hraničním postperfuzním syndromu pacientům ošetřeným pro kritickou končetinovou ischemií. V době trvání ischemie je u všech pacientů ve studii vyšetřena laktatemie ze vzorku krve odebrané z cévního řečiště postižené končetiny. Po obnovení toku krve je laktatemie ze vzorku krve odebrané z cévního řečiště postižené končetiny vyšetřena opakovaně ve stanovených časových intervalech. Z výsledků studie podporované grantem IGA MZČR NS 9787-3 dosud vyplynulo, že zvýší-li se hodnota laktatemie třikrát vzhledem k hodnotě zaznamenané v okamžiku trvání ischemie končetiny, postperfuzní proces vede k nutnosti provedení fasciotomie.

S odkazem na reference indikujícího pracoviště (Dermatovenerologická klinika VFN) je metoda HILP shledána výhodnou z hlediska využití vysoké termosenzitivity nádorové tkáně, možnosti působení cytostatika v násobně vyšší koncentraci proti systémovému podání přímo na cílovou izolovanou tkáň, vyloučení ischemie končetiny během izolace vřazením oxygenátoru do systému pro mimotělní oběh. Sledované parametry, byť ukazují na podstatné změny metabolismu v končetině během perfuze, nejsou do té míry výrazné, aby následná perfuze vyvolávala klinicky významný compartment syndrom. Ukázalo se, že z hlediska predikce compartment syndromu není operace tak negativním zásahem do dalšího osudu končetiny ani celého

organismu a vzhledem k použití oxygenátoru během perfuze, i přes nařazení základního krevního kompartmentu končetiny primingem systému mimotělního oběhu, můžeme výkon provádět bezpečně a zabezpečit základní metabolické potřeby končetiny (viz průměrný maximální laktát v končetině během perfuze) a ani následné obnovení systémové cirkulace do končetiny na konci výkonu nepřináší významné zhoršení ve smyslu systémové laktatemie.

Metoda HILP přispívá k prodloužení života pacienta, aniž by bylo nutné radikální řešení – amputace končetiny postižené melanomem. Podle údajů indikujícího pracoviště, kam jsou pacienti po operaci s použitím metody HILP překládáni zpět k doléčení a dispenzarizaci, dochází k remisi – zmenšení až vymizení nádorové léze – u nadpoloviční většiny pacientů ošetřených na II. chirurgické klinice VFN metodou HILP. V blízké budoucnosti navíc počítáme se standardním využíváním metody detekce úniku perfuzátu do celkového krevního oběhu. Tato metoda spočívá v použití radionuklidem (Tc) značeného Albuminu aplikovaného do náplně mimotělního oběhu krátce před infuzí Alkeranu. Rozvoj metody je plánován ve spolupráci s pracovníky Ústavu nukleární medicíny VFN a 1. LF UK.

Jako relativní nevýhodu metody HILP je třeba zmínit složitost procedury vyžadující řadu specifických vyšetření a speciální přípravu pacienta na operační výkon tohoto typu, dále nutnost speciálního vybavení pracoviště (přístroj pro vedení mimotělního oběhu, materiál pro mimotělní oběh, přístrojové vybavení pro monitoraci metabolických a hematologických parametrů, přístroje pro kontinuální monitoraci životních funkcí během operačního výkonu, atd.) K nevýhodám metody patří i riziko systémových komplikací, které mohou souviset s částečným únikem cytostatika do celkového krevního oběhu.

Vzhledem k tomu, že pracoviště KVCH VFN je velmi nadstandardně vybavené včetně vysoké úrovně pooperační jednotky intenzivní péče, je na místě vyslovit přesvědčení, že v oblasti rizik a relativně nevýhodných epizod spojených s realizací léčby metodou HILP jsme připraveni ke zvládnutí nepříznivých situací na všech úrovních ve prospěch pacientů ošetřených na našem pracovišti.

5. Závěr

Operovaná končetina je během výkonu s použitím metody HILP vystavena extrémním podmínkám z hlediska lokálního metabolismu. Vlivem izolace končetiny nastává dočasná absence regulačních metabolických mechanismů. Porovnáním výsledků vybraných sledovaných parametrů ve zpracovaných krevních vzorcích odebraných podle časového schématu používaného na našem pracovišti, a po podrobení zaznamenaných dat statistické analýze docházíme k závěru, že dočasné agresivní změny metabolických hodnot po dobu izolované končetinové perfuze, jakkoli vypovídají o zásadních změnách metabolismu v končetině během perfuze, nejsou tak výrazné, aby následná reperfuze vyvolala klinicky významný compartment syndrom. Následná reperfuze nevyvolává klinicky významný compartment syndrom ani přes značné naředění základního krevního distribučního prostoru končetiny primingem systému mimotělního oběhu. Výkon tedy můžeme provádět bezpečně a zabezpečit základní metabolické potřeby končetiny (viz průměrný maximální laktát v končetině během perfuze), a ani následné obnovení systémové cirkulace do končetiny na konci výkonu nepřináší významné zhoršení ve smyslu systémové laktacie. Použití metody HILP tedy nemá na operovanou končetinu ani na organismus pacienta jako celek z dlouhodobého hlediska negativní vliv.

6. Seznam použité literatury

- [1] Maligní melanom, ČLS J. E. Purkyně, projekt s podporou grantu IGA MZ ČR 5390-3, http://www.pmfhk.cz/VZL/VZL1_2005/03Cap.pdf, 15. 5. 2004
- [2] Arenberger, P. - Dermatovenerologická klinika 3. LF UK FNKV, (rec.: Vorlíček, J. – ČOS ČLS JEP): Maligní melanom a ostatní nádory kůže, <http://www.dermis.cz>, <http://www.melanomy.cz>, 27. 4. 2011
- [3] Krajsová, I.: Atlas kožního melanomu, Maxdorf 2008, ISBN: 978-80-7345-151-6
- [4] Krajsová, I.: Kožní nádory, Mladá fronta 2001, ISBN:13-978-80-204-2404-4
- [5] Špaček, M., Mitáš, P., Lacina, L. et al.: Cytostatická hypertermická perfuze izolované končetiny (HILP) ve VFN, Rozhledy v chirurgii 2011, roč. 90, č. 1, s podporou grantu IGA MZ ČR NS 9787-3
- [6] ALKERAN (Melphalanum), prášek pro přípravu injekčního roztoku, 50 mg léčivé látky/dávka; souhrn údajů o přípravku, příbalová informace léku
- [7] Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, <http://intranet>, úsek pro nelékařská zdravotnická povolání, Standardní ošetřovatelský postup – Manipulace s cytostatiky, 27. 4. 2011
- [8] Štern, P. et al.: Obecná a klinická biochemie pro bakalářské obory studia, Nakladatelství Karolinum, Praha 2005, ISBN: 80-246-1025-6
- [9] Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, <http://intranet>, úsek pro nelékařská zdravotnická povolání, Standardní ošetřovatelský postup – Příprava a aplikace cytostatik, 27. 4. 2011
- [10] BEROMUN, prášek pro přípravu injekčního roztoku s rozpouštědlem, 1 mg/5 ml; souhrn údajů o přípravku, příbalová informace léku
- [11] Noorda, E., Vrouenraets, B., Nieweg, O., et al.: Isolated limb perfusion for unresectable melanoma of the extremities, Arch. Surg., 2004: 139:1237-1242

- [12] Koops, H. S.: Isolated limb perfusion of metastatic malignant melanoma of the extremity worthwhile, *Eur. J. Cencer*, 1996, 32:1633-1640
- [13] Kremenz, E. T., Sutherland, C. M., Muchmore, J. H.: Isolated hyperthermia chemotherapy perfusion for limb melanoma, *Surg. Clin. North Am.*,
- [14] McMahon, N., Cheng, T. Y., Beasley, G. M., et al.: Optimizing Melphalan pharmacokinetics in regional melanoma therapy: does correcting for ideal body weight alter regional response or toxicity? *Ann Surg Oncol* 2006, 16:953-61
- [15] Brady, M. S., Brown, K., Patel, A. et al.: Isolated limb infusion with melphalan and dactinomycin for regional melanoma and soft-tissue sarcoma of the extremity: final report of a phase II clinical trial, *Melanoma Res* 2009, 19:106-11
- [16] Lichtenberg, J.: Izolovaná perfuze cytostatiky v léčbě zhoubných nádorů končetin, *Prakt. lék.*, 42, 1962, p. 781-783
- [17] Abdel-Wahab, O. I., Grubbs, E., Viglianti, B. L., et al.: The role of hyperthermia in regional alkylating agent chemotherapy, *Clin Cancer Res* 2004, 10:5919-29
- [18] Grobmyer, S. R., Filichia, L., Robinson, A. R. et al.: Use of an automated circuit for isolated limb infusion for malignancy, *The Journal of Cancer Surgery, EJSO* 36 (2010) 1215-1219
- [19] Lonský, V.: *Mimotělní oběh v klinické praxi*, Grada publishing, a. s., Praha 2004, ISBN: 80-247-0653-9
- [20] Grewe, H. E., Kremer, K: *Atlas chirurgických operací*, Avicenum & Grada publishing, a.s., Praha 1993, ISBN: 80-7169-028-7
- [21] Kittnar, O., Mlček, M.: *Atlas fyziologických regulací*, Grada publishing, a. s., Praha 2009, kat. 1648, ISBN: 978-80-2722-6
- [22] Kittnar, O. a kolektiv: *Lékařská fyziologie*, Grada publishing, a. s., Praha 2011, ISBN: 978-80-247-3068-4

- [23] Vokurka, M. a spolupracovníci: Patofyziologie pro nelékařské směry, Nakladatelství Karolinum, UK Praha, 2005, ISBN: 80-246-0896-0
- [24] Smith, I., Kumar, P., Molloy, S., R et al.: Base excess and lactate as prognostic indicators for patients admitted to Intensive care, Intensive Care Med (2001) 27: 74-83
- [25] Rozman J, a kol.: Elektronické přístroje v lékařství, Academia, Praha 2006, ISBN: 80-200-1308-3
- [26] MEDOS Medizintechnik AG, HILITE[®]2400/HILITE[®]2800-Series, Instruction for use
- [27] Stöckert S3 Stöckert[™] operator's manual, Stöckert S5 Stöckert[™] operator's manual
- [28] Mizock, B. A., Falk, J. L.: Lactic acidosis in critical illness, Crit Care Med 1992, 20:80-93
- [29] Thompson, J. F., Kam, P. C., Waugh, R. C. et al.: Isolated limb infusion with cytotoxic agents: a simple alternative to isolated limb perfusion, Semin Surg Oncol 1998, 14:238-47
- [30] Kroon, H. M., Moncrieff, M., Kam, P. C. et al.: Outcomes following isolated limb infusion for melanoma, A 14-year experience, Ann Surg Oncol 2008, 15:3003-13
- [31] McDermot, P., Lawson, D. S., Walczak Jr., R. et al.: An isolated limb infusion technique: a guide for the perfusionist, J Extra Corpor Technol 2005, 37:396-9
- [32] Beasley, G. M., Petersen, R. P., Yoo, J., et al.: Isolated limb infusion for intransit malignant melanoma of the extremity: a well-tolerated but less effective alternative to hyperthermic isolated limb perfusion, Ann. Surg. Oncol. 2008, 15:2195-205

- [33] Lasithiotakis, K., Economou, G., Gogas, H. et al.: Hyperthermic isolated limb perfusion for recurrent melanomas and soft tissue sarcomas: Feasibility and reproducibility in a multi-institutional Hellenic collaborative study, 2009, *Oncology Reports* 23:1077-1083
- [34] Bříza, J., Lichtenberg, J., Teršíp, K. et al.: Naše zkušenosti s izolovanou regionální perfuzí cytostatiky u končetinových nádorů, *Rozhl. Chir.*, 68, 1989, No. 2, p. 113-116
- [35] Grunhagen, D., van Etten, B., Brunstein, F., et al.: Efficacy of repeat isolated limb perfusion with tumor necrosis factor alpha and melphalan for multiple in-transit metastases in patients with prior isolated limb perfusion failure, *Ann. Surg. Oncol.*, 12(8):609-615, 1996, 76:1313-1330

7. Seznam zkratek použitých v textu

ACT	activated clotting time, aktivovaný srážecí čas, hemokoagulační parametr
AirO ₂	plynná směs kyslíku se vzduchem
BD	base deficit, nedostatek bazí, metabolický parametr
BE	base excess, přebytek bazí, metabolický parametr
BSA	body surface area, tělesný povrch [m ²]
C	celková hodnota, popis osy v grafu statistického zpracování dat
CT	computed tomography, výpočetní tomografie
DNA	deoxyribonukleová kyselina – dolní končetina
ECC	extracorporeal circuit, mimotělní oběh
E. coli	Escherichia coli
F	female, žena
FiO ₂	frakce kyslíku v plynné směsi [%]
FP	fakultní poliklinika
Hb	hemoglobin
HCU	heating & cooling unit, tepelná jednotka
HILP	hyperthermic isolated limb perfusion, hypertermická izolovaná končetinová perfuze
hk	horní končetina
Htk	hematokrit
j.	jednotka
kg	kilogram
KAVD	kinetic assisted venous drainage, mechanicky řízený žilní návrat
KVCH	kardiovaskulární chirurgie
l	litr
M	male, muž
m	metr
mg	miligram
min	minuta

ml	mililitr
MO	mimotělní oběh
N	number, číslo / počet
OX	oxygenátor, popis osy v grafu statistického zpracování dat
PET	positron emission tomography, pozitronová emisní tomografie
pH	potential of hydrogen
PS	pravá síň
RTG	rentgen
SOP	standardní operační postup
Tc	Technecium
TNF	tumor necrosis factor
TNF α	tumor necrosis factor alfa
UZV	ultrazvukové vyšetření
VAVD	vacuum assisted venous drainage, pod tlakem řízený žilní návrat
VFN	Všeobecná fakultní nemocnice
VFN s FP	Všeobecná fakultní nemocnice s Fakultní poloklinikou
WHO	World hospital organization, světová zdravotnická organizace

8. Seznam grafů a obrazové dokumentace

Graf 1: Algoritmus používaný v diagnostice a léčbě melanomu

Graf 2: Časový záznam vývoje systémové laktatemie během operace melanomu

Graf 3: Časový záznam vývoje laktatemie (LAC – OX) v izolované končetině během HILP

Graf 4: Časový záznam vývoje systémového pH během operace melanomu

Graf 5: Časový záznam vývoje pH v izolované končetině během HILP

Graf 6: Časový záznam vývoje systémového BE během operace melanomu

Graf 7: Časový záznam vývoje BE v izolované končetině během HILP

Graf 8: Časový záznam systémových změn hodnot hemoglobinu během operace melanomu

Graf 9: Časový záznam změn hodnot hemoglobinu v izolované končetině během HILP

Graf 10: Časový záznam změn systémových hodnot hematokritu během operace melanomu

Graf 11: Časový záznam změn hodnot hematokritu v izolované končetině během HILP

Graf 12: Hodnoty laktatemie v celkovém a partiálním krevním oběhu během HILP

Obrázek 1: Statory přístroje pro MO s výměnnými přístrojovými součástmi pro použití tubing insertů různých velikostí

Obrázek 2: Tubing inserts pro rozměr 1/4“, 1/2“

Obrázek 3: Set pro celkový mimotělní oběh, kardiotoický rezervoár, oxygenátor

Obrázek 4: Výměník tepla – heating & cooling unit (HCU)

Obrázek 5: Kanyly pro HILP

Obrázek 6: Uspořádání systému pro mimotělní oběh při hypertermické izolované končetinové perfuzi - kardiotoický rezervoár, dětský low-flow oxygenátor

Obrázek 7: Terumo™CDI500

- Obrázek 8:** Kalibrační souprava pro Terumo™ CDI500
- Obrázek 9:** Přístroj pro analýzu krevních plynů Radiometer ABL 700 Series
- Obrázek 10:** Grafický výstup z tiskárny ABL 700
- Obrázek 11:** Uspořádání systému pro mimotělní oběh při HILP
- Obrázek 12:** Hadicový set pro HILP – část setu pro okruh MO
- Obrázek 13:** Směšovač plynů Sechrist
- Obrázek 14:** Kanyly používané při HILP, konektor ¼“ s odstupem luer (F)
- Obrázek 15:** Mechanická izolace, zajištění cévních kolaterál svorkami
- Obrázek 16:** Záznam časového průběhu operace, záznam výsledků laboratorních vyšetření
- Obrázek 17:** Barevné identifikátory úrovní statistické signifikance