

Změny výšky vrstvy endoteliálního glykokalyx po náhlé zástavě oběhu s kardiopulmonální resuscitací na experimentálním modelu srdeční zástavy u prasete domácího

Astapenko D.¹⁻³, Škulec R.^{1, 2, 4, 5}, Černá Pařízková R.^{1, 2}, Pinterová N.⁶, Hovanec T.², Mlýnková T.², Dudáková J.⁴, Bílská M.⁵, Pařízek T.⁵, Radochová V.⁷, Černý V.^{1-3, 5, 8}

¹Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Hradec Králové

²Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

³Centrum pro výzkum a vývoj, Fakultní nemocnice Hradec Králové

⁴Zdravotnická záchranná služba Středočeského kraje

⁵Klinika anesteziologie, perioperační a intenzivní medicíny, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví Praha

⁶Přírodovědecká fakulta v Praze, Univerzita Karlova

⁷Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany v Brně

⁸Dept. of Anesthesia, Pain Management and Perioperative Medicine, Dalhousie University, Halifax, Canada

Cíl studie: Endoteliální glykokalyx (EG) hraje ústřední roli v udržení vaskulární integrity a správné funkce mikrocirkulace. Poškození EG u pacientů po úspěšné kardiopulmonální resuscitaci bylo popsáno měřením hladin rozpadových produktů EG (syndekan-1, heparan sulfát). Poměrně novou metodou k hodnocení stavu EG je parametr perfundované hraniční zóny (PBR), který udává v μm boční rozptyl červených krvinek směrem k EG. Cílem této studie bylo zhodnotit změny PBR na zvířecím modelu srdeční zástavy u prasete domácího a zhodnotit použitelnost PBR jako indikátoru poškození EG.

Typ studie: Experimentální na zvířecím modelu srdeční zástavy u prasete domácího.

Materiál a metody: Srdeční zástava byla indukována nitrosrdeční elektrodou navozením fibrilace komor, která byla léčena defibrilací dle doporučení ERC 2015 po 15 minutách. Sublingvální mikrocirkulace byla vyšetřena ručním mikroskopem fungujícím na principu ortogonálně polarizované spektroskopie. Pořízené nahrávky byly hodnoceny automaticky programem, který poskytl hodnotu PBR. Hodnocení bylo ve třech časových bodech: základní měření (PBR_B), po návratu spontánní cirkulace (PBR_{ROSC}) a 20 minut poté (PBR_{ROSC_20}).

Výsledky: Hodnoty PBR byly získány od 11 prasat. Hodnoty PBR po ROSC nebyly statisticky signifikantně zvýšeny ($p = 0,47$). PBR_B bylo $2,129 (\pm 0,21) \mu\text{m}$, PBR_{ROSC} bylo $2,206 (\pm 0,27) \mu\text{m}$ and PBR_{ROSC_20} bylo $2,18 (\pm 0,19) \mu\text{m}$. Výsledky jsou ve tvaru průměr (směrodatná odchylka).

Závěr: Naše data udávají nevýznamné zvýšení parametru PBR v sublingvální oblasti po srdeční zástavě u prasete. Parametr PBR vyžaduje další testování, než by mohl být zaveden jako neinvazivní parametr udávající míru poškození EG na modelu srdeční zástavy u prasete.

Klíčová slova: endoteliální glykokalyx, náhlá zástava oběhu, kardiopulmonální resuscitace.

Changes of endothelial glycocalyx layer after cardiopulmonary resuscitation in porcine model of cardiac arrest

Objective: Endothelial glycocalyx (EG) plays key role in maintaining vascular integrity. Perturbation of the EG in patients after cardiac arrest has been described by measuring syndecan-1 and heparan sulphate levels. Non-invasive method of evaluating EG thickness by using Perfused Boundary Region (PBR) has been introduced recently. PBR represents the amount of lateral

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

prof. MUDr. Vladimír Černý, Ph.D., FCCM, cernyvla1960@gmail.com

Článek přijat redakcí: 15. 7. 2019; Článek přijat k tisku: 14. 9. 2019;

Cit. zkr: Anest intenziv Med. 2020; 31(5): 212–216

deviation of red blood cells towards the EG in μm . The aim of the study was to evaluate changes in PBR on porcine model of cardiac arrest in order to assess the usefulness of PBR as an indicator of glycocalyx damage.

Design: Experimental study on a porcine model of cardiac arrest.

Material and Methods: Cardiac arrest was induced by intracardiac electrode triggering ventricular fibrillation and treated by defibrillation after 15 minutes in accordance with 2015 ERC guidelines. Sublingual microcirculation was measured by hand-held microscope working on the principle of orthogonal spectral imaging and PBR was computed automatically with specialized software in three timepoints. At baseline (PBR_B), after return of spontaneous circulation (PBR_ROSC) and 20 minutes after ROSC (PBR_ROSC_20).

Results: PBR data was obtained from 11 pigs. There was insignificant increase of PBR after ROSC ($p = 0.47$). The PBR_B was 2.129 (± 0.21), PBR_ROSC was 2.206 (± 0.27) and PBR_ROSC_20 was 2.18 (± 0.19), data are presented as mean and standard deviation.

Conclusions: Our data demonstrate insignificant increase of PBR after cardiac arrest in pig. The value of PBR as an indicator of EG shedding requires further study before introducing this parameter as a routine non-invasive tool in pig model of cardiac arrest.

Key words: endothelial glycocalyx, cardiac arrest, cardiopulmonary resuscitation.

Úvod

Endoteliální glykokalyx (EG) tvoří mikroskopickou výstelku intraluminálního povrchu endoteliálních buněk. Byla dokumentována jeho zásadní role ve fyziologii mikrocirkulace [1]. Svoji cukernou povahou (proteoglykany, glykoproteiny, glykosaminoglykany) je náchylným k degradaci, což vede k alteraci správné funkce kapilární membrány [2]. Nejčastěji se tak stává při septickém šoku, polytraumatu nebo při ischemicko-reperfučním syndromu po zástavě oběhu (NZO) [3].

Metody hodnocení EG *in vivo* jsou z podstaty sacharidového složení EG omezené [4]. Často užívanou metodou je hodnocení degradačních produktů glykokalyx v séru (např. syndekan-1, heparan sulfát, kyselina hyaluronová), což odráží celotělový obrát glykokalyx [5]. Neinvazivní metodou, která nepřímo udává míru poškození EG, je parametr perfundované hraniční zóny (*perfused boundary region*, PBR), který vyjadřuje míru deviace erytrocytů od středního proudu v kapilárách, a tedy penetraci blíže k endoteliálním buňkám [6]. Metoda využívá ortogonálně polarizovanou odrazovou stroboskopickou spektroskopii zeleného světla od proudících červených krvinek [7]. Přestože degradace EG po NZO a úspěšné resuscitaci byla prokázána v klinické studii měřením koncentrace rozpadových produktů EG (syndekan-1 a heparan sulfát) [8], parametr PBR pro tento klinický stav nebyl použit.

Provedli jsme experimentální studii na modelu NZO u samic prasete domácího (*sus scrofa f. domestica*), ve které jsme předpokládali, že EG bude poškozen při celotělové ischemii a perfuzi při NZO s úspěšnou kardiopulmonální resuscitací (KPR), přičemž doba zástavy oběhu byla minimálně 15 minut. Naším cílem bylo popsat změny PBR po obnově spontánní cirkulace (ROSC) a zhodnotit parametr PBR jako nepřímý indikátor poškození EG.

Soubor a metoda

Experiment byl proveden ve viváriu Fakulty vojenského zdravotnictví, Univerzity obrany. Projekt pokusů byl schválen Odbornou komisí pro výzkum na zvířatech Univerzity obrany v Brně, Fakulty vojenského zdravotnictví v Hradci Králové (28. 7. 2015, číslo jednání 45–21/2015–6848). Všem experimentálním zvířatům byla poskytnuta humánní péče v souladu s institucionálními pokyny a s doporučenými postupy Mezinárodní asociace konsenzu veterinárních vydavatelů o humánní etice a dobrých životních podmínkách zvířat.

Příprava zvířat

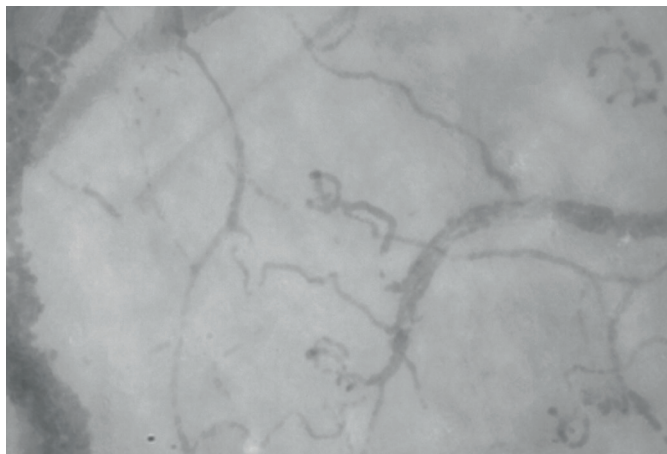
Zvířata byla premedikována intramuskulární injekcí azaperonu (2,0 mg/kg; Stresnil, Sanochemia Pharmazeutika AG, Neufeld/Leitha, Rakousko), atropinu (0,2 mg/kg; Atropin Biotika, HBM Pharma, Martin, Slovensko) a ketaminu (20,0 mg/kg; Calypsol, Gedeon Richter Plc., Budapešť, Maďarsko) 30 minut před zahájením protokolu. V premedikaci byla zvířata oholena a transportována na operační sál, na bolestivý podnět reagovala motoricky a korneální reflex byl zachován. Na operačním sále byl zaveden periferní žilní katétr do ušní žíly v supinační poloze (Vasofix® Safety, BBraun, Melsungen, Německo, 18 G). Po tracheální intubaci byla zahájena umělá plicní ventilace anesteziologickým přístrojem (Cirrus Trans2/Vent 2, Datex, Helsinky, Finsko), při dechové frekvenci 19 za minutu a inspirační koncentraci kyslíku 40 %. Dechové objemy byly upraveny pro vydechované rozmezí koncentrace oxidu uhličitého (EtCO_2) 4–5,7 kPa. Anestezie byla udržována kontinuální infuzí fentanylů v dávce 5–20 $\mu\text{g/kg/h}$ (Fentanyl Torrex, Chiesi Pharmaceuticals GmbH, Vienna, Rakousko) a isofluranem v koncentraci 1,5 % ve vdechované směsi (Forane, AbbVie Inc., Chicago, IL, USA). Zvířata dostávala kontinuální infuzi balancovaného krystaloidu Plasmalyte (Baxter SA, Belgie) při pokojové teplotě o rychlosti 50 ml/h. Fyziologické funkce, včetně EKG, byly kontinuálně monitorovány. Hrudní aorta byla kanylována cestou společné krkavice vpravo pomocí katétru Certofix Duo (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Německo, 7 F, 200 mm) pro kontinuální monitoring a záznam aortálního krevního tlaku. Pravá vnitřní jugulární žíla byla kanylována perkutánním zavaděčem (Intro-Flex, Edwards Lifesciences LLC, Irvine, CA, USA, 8,5 F) až do úrovně *sinus venosus* (kontrolováno EKG záznamem) pro pozdější zavedení bipolární stimulační elektrody a pro kontinuální záznam tlaku v pravé srdeční síni. Byla provedena kraniotomie návrtem o průměru 5 mm v horní části frontální kosti vlevo pro zavedení intrakraniálního tlakového čidla 20 mm do čelního laloku (Codman, Johnson & Johnson, Raynham, MA, USA).

Protokol experimentu

Po přípravě a stabilizaci byla celkem 11 zvířatům o průměrné hmotnosti 33 ± 2 kg po nočním hladovění navozena fibrilace komor střídavým proudem o 5–10 mA za použití nitrosrdeční bipolární stimulační elektrody, která byla zavedena do pravé komory. Srdeční zástava byla

potvrzena ve chvíli, kdy pulz na femorální i krční tepně již nebyl hmatný. Zvířata byla po indukci NZO ponechána 2 minuty bez intervence, poté 3 minuty resuscitována kontinuální nepřímou srdeční masáží použitím přístroje pro nepřímou srdeční masáž (Lucas 2 – Lund University cardio-pulmonary assist system, Physio-Control, Redmond, WA, USA), a poté 10 minut kombinací 30 stlačení hrudníku a 2 vdechy přes tracheální rourku (FIO₂ 1,0). Lucas 2 byl naložen na zvíře před zahájením protokolu po ukončení zajišťování. V patnácté minutě byla zvířata defibrilována v souladu s doporučením Evropské resuscitační rady z roku 2015 [9]. ROSC byl zaznamenán ve chvíli, kdy byly hmatné pulzace na jedné ze společných krkavic. Doba KPR byla počítána od spuštění Lucas 2 do doby hmatné pulzace. Sublingvální mikrocirkulace byla vyšetřena ručním mikroskopem (KK kamera, Research Technology Limited, Alliance Court, Honiton, Velká Británie) a její nahrávky následně automaticky hodnoceny programem GlycoCheck (GlykoCheck B.V., Maastricht, Nizozemí) s využitím parametru PBR. Mikrocirkulace byla vyšetřena ve třech časových bodech: před indukci NZO (PBR_B), po ROSC (PBR_ROSC) a 20 minut po ROSC (PBR_ROSC_20). Po skončení experimentu byla

Obr. 1. *Obraz sublingvální mikrocirkulace získaný KK kamerou. Sublingvální mikrocirkulace získaná mikroskopickou metodou SDF (Side-stream Dark Field technology imaging). Zobrazená plocha sliznice: 915 × 686 μm. Zvětšení: 325x. Pozitivní signál tvoří proudící erytrocyty.*



Obr. 2. *Zpracování získaného obrazu sublingvální mikrocirkulace programem GlycoCheck. Dlouhé tmavě šedé linky sledují kapiláry vhodného rozměru, krátké kolmé tmavě šedé úsečky oddělují kapilární segmenty vybrané k analýze, bílé úsečky oddělují vyřazené úsečky.*



zvířata utrácena bezexcitační eutanázií nitrožilním podáním preparátu T61 (Intervet International B.V., Boxmeer, Nizozemí) v dávce doporučené výrobcem dle hmotnosti zvířete.

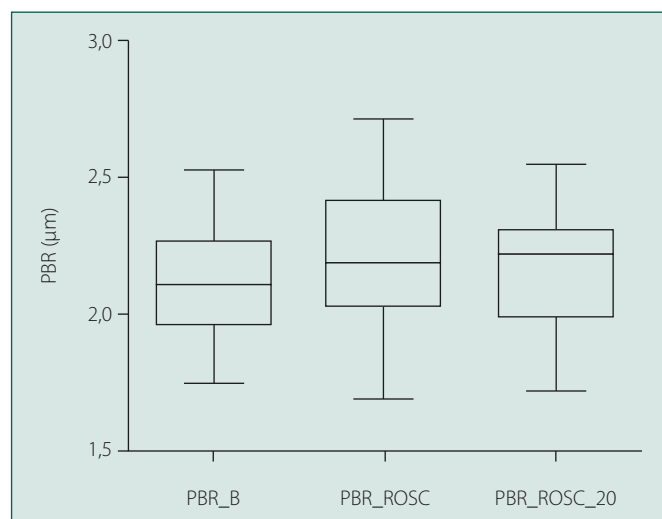
Parametr PBR

Pro výzkum EG byl ve spojení s technologiemi fungujícími na principu ortogonálně polarizované spektroskopie [10] vyvinut automatizovaný program GlykoCheck (GlykoCheck B.V., Maastricht, Nizozemí), který nepřímě hodnotí jeho tloušťku parametrem PBR (*Perfused Boundary Region* – hraniční perfundovaná zóna). Záznam sublingvální mikrocirkulace je pořízen plně dle navigace programu. Kvalitního rozlišení plně kompatibilního se softwarem dosahuje KK kamera (Research Technology Limited, Alliance Court, Honiton, Velká Británie). Po stabilizaci obrazu, optimální intenzitě a zaostření, začne automatický záznam (**obr. 1**), který je ukončen po uložení nejméně 3000 kapilárních segmentů o délce 10 μm a průměru 5–25 μm (**obr. 2**). Program dále automaticky vypočítává průměr středního proudu erytrocytů v kapilárních segmentech a jejich rozptyl odečtením průměru kapiláry od průměrné hodnoty středového sloupce erytrocytů. Výsledný numerický údaj v μm představuje PBR a udává míru penetrace erytrocytů do EG. Čím je vyšší, tím více se erytrocyty přibližují endoteliálním buňkám, což demonstruje ztenčení vrstvy EG. U zdravých jedinců jsou hodnoty PBR nižší než 2 μm. Hodnoty vyšší než 2,5 μm jsou asociovány s těžkým poškozením EG.

Statistická analýza

Pro statistické hodnocení byla otestována normalita dat D'Agostino-Pearson omnibus testem a použit test analýzy rozptylu (ANOVA) pro hodnoty s Gaussovým rozložením a Kruskal-Wallisův test pro hodnoty bez Gaussova rozložení na hladině významnosti $p = 0,05$. Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka, nebo medián a kvartilové rozpětí.

Graf 1. *Výsledky stavu endoteliálního glykokalyxu hodnoceny parametrem PBR. Krabicový graf shrnující výsledky stavu EG hodnoceného parametrem PBR. PBR_B – základní hodnota PBR, PBR_ROSC – hodnota PBR po návratu spontánní cirkulace, PBR_ROSC_20 – hodnota PBR ve 20. minutě po obnově spontánní cirkulace. Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku a úsečky v krabicových grafech medián. PBR – perfundovaná hraniční zóna (Perfused Boundary Region).*



Tab. 1. Výsledky stavu endoteliálního glykokalyx po náhlé zástavě oběhu

| PBR [μm] | Průměr | Směrodatná odchylka | Medián | Interkvartilové rozpětí | 95% CI průměru |
|-------------|--------|---------------------|--------|-------------------------|----------------|
| PBR_B | 2,13 | 0,21 | 2,11 | 1,97–2,27 | 2,05–2,21 |
| PBR_ROSC | 2,21 | 0,27 | 2,19 | 2,03–2,42 | 2,10–2,31 |
| PBR_ROSC_20 | 2,18 | 0,19 | 2,22 | 1,99–2,31 | 2,10–2,27 |

PBR_B – základní hodnota PBR, PBR_ROSC – hodnota PBR po návratu spontánní cirkulace, PBR_ROSC_20 – hodnota PBR ve 20. minutě po obnově spontánní cirkulace. PBR – perfundovaná hraniční zóna (Perfused Boundary Region). 95% CI – intervaly spolehlivosti.

Tab. 2. Data monitorovaných fyziologických funkcí v průběhu experimentu

| Fyziologické funkce | Základní hodnoty | Během resuscitace | Po obnově cirkulace | 20 minut po obnově cirkulace | p hodnota |
|---------------------|--------------------|-------------------|---------------------|------------------------------|-----------|
| DF | 25,1 (8,67) | 10 (0) | 31,33 (14,35) | 30,83 (11,65) | 0,36 |
| SpO ₂ | 98,33 (2,43) | 87 (78–91) | 97,00 (3,41) | 98,50 (94,50–100,00) | 0,49 |
| EtCO ₂ | 5,95 (0,73) | 4,63 (1,6) | 5,55 (5,63–6,53) | 5,41 (1,05) | 0,26 |
| TF | 96 (88,25–108,5) | – | 114,20 (25,6) | 96,83 (24,73) | 0,16 |
| STK | 95,25 (8,45) | 57,92 (14,58) | 85,50 (60,5–105,3) | 53,17 (10,15) | < 0,0001 |
| DTK | 57,42 (8,3) | 23,09 (4,4) | 44,83 (12,40) | 34,50 (9,22) | < 0,0001 |
| sTK | 70,03 (8,16) | 34,7 (6,66) | 58,83 (43,42–73,08) | 40,72 (9,08) | < 0,0001 |
| CVPS | 13,00 (4,37) | 100,3 (41,23) | 21,17 (3,71) | 19,08 (4,52) | 0,0001 |
| CVPD | 7,33 (3,28) | 9 (5–11) | 9,50 (6,00–13,00) | 11,00 (8,25–12,75) | 0,08 |
| sCVP | 10,00 (9,00–11,75) | 40 (29–51) | 13,75 (2,49) | 14,00 (11,50–15,00) | 0,004 |
| CoPP | 49,57 (9,95) | 14 (11–19) | 34,29 (9,83) | 24,71 (9,48) | < 0,0001 |
| TT v jícnu | 36,31 (0,47) | 36,15 (35,8–36,3) | 36,10 (0,64) | 36,05 (0,73) | 0,56 |
| ICP | 15,08 (2,07) | 21,9 (6,27) | 16,00 (13,50–17,75) | 14,50 (13,00–17,00) | 0,63 |

DF – dechová frekvence, SpO₂ – saturace periferní kapilární krve kyslíkem, EtCO₂ – koncentrace oxidu uhličitýho na konci výdechu, TF – tepová frekvence, STK – systolický krevní tlak, DTK – diastolický krevní tlak, sTK – střední arteriální krevní tlak, CVPS – centrální žilní tlak v systole, CVPD – centrální žilní tlak v diastole, sCVP – střední centrální žilní tlak, CoPP – perfuzní tlak koronárního řečiště, TT – tělesná teplota, ICP – intrakraniální tlak. Výsledky jsou ve tvaru: průměr (směrodatná odchylka), nebo medián (interkvartilové rozpětí). P hodnota náleží testu variací one-way ANOVA, nebo Kruskal-Wallisově testu pro data bez Gaussova rozložení.

Výsledky

Kardiopulmonální resuscitace trvala v průměru 16 minut a 55 vteřin a průměrně bylo podáno $1,6 \pm 0,8$ výbojů. Kompletní data parametru PBR byla získána u 11 prasat a prošla testem normality. Zvýšení PBR po ROSC, ani 20 minut po ROSC nebylo statisticky významné (ANOVA, $p = 0,47$). PBR před navozením NZO bylo $2,13 \mu\text{m}$ ($\pm 0,21$) a PBR_ROSC bylo $2,21 \mu\text{m}$ ($\pm 0,27$). PBR_ROSC_20 bylo $2,18 \mu\text{m}$ ($\pm 0,19$), data jsou prezentována jako průměr (směrodatná odchylka). Hodnoty parametru PBR nekorelovaly s délkou NZO (Pearsonův korelační koeficient $r = -0,16$). Data o stavu EG uvádí **tabulka 1** a **graf 1**. Hodnoty monitorovaných fyziologických funkcí v průběhu experimentu uvádí **tabulka 2**.

Diskuze

V naší studii jsme použili relativně novou mikroskopickou metodu popisu změn endoteliálního glykokalyx, která hodnotí parametr PBR na modelu NZO u prasete domácího. Zvýšení parametru PBR nebylo statisticky signifikantní. PBR ani nekorelovalo s délkou NZO. Trend zvýšení PBR ovšem signalizuje ztenčení EG. Srdeční zástava dle doby trvání způsobí více či méně vyjádřený syndrom ischemie – reperfuze, nazývaný syndrom po srdeční zástavě (*post cardiac arrest syndrome*). Ten vede k oxidačnímu poškození EG a jeho degradaci [11].

Naše výsledky naznačují, že samotná zástava oběhu nemá na EG zásadní vliv při použití parametru PBR. K významnému zvýšení PBR nedošlo ani po 20 minutách celotělového reperfuzečního syndromu, ale můžeme předpokládat, že by se hodnota PBR dále zvyšovala (a tím i poškození EG). Grundmann et al. popsali statisticky signifikantní zvýšení koncentrací degradačních produktů EG v rámci syndromu po srdeční zástavě v klinické studii. Hladiny byly až dvojnásobně zvýšené

u pacientů bezprostředně po úspěšné resuscitaci [8]. Kontrolní skupinu tvořili hemodynamicky stabilní pacienti s akutním koronárním syndromem.

V rámci syndromu po srdeční zástavě dochází k zánětové odpovědi mnoha orgánů i samotných cév. Tento stav byl označen za zánět endotelu, tedy „endotelitidu“ [12]. Jako indikátor endoteliálního poškození lze použít sérovou hladinu syndekanu-1. Ukázalo se, že tato hladina koreluje s indikátorem zánětu (interleukin 6), aktivací endotelu (E-selektin) a poškozením endotelu (trombomodulin) [13]. Degradací produkty EG jsou ovšem odrazem poškození glykokalyx i na krevních elementech, čímž jsou jejich hladiny obtížně porovnatelné s parametrem PBR. Dále se jejich hladiny dynamicky mění dle aktuálního stavu EG a též závisí na funkci ledvin [14]. Popis stavu EG parametrem PBR se těmto problémům vyhýbá. Limitací naší experimentální studie bylo použití jediné metody k analýze EG. PBR se ukazuje jako nedostatečná metoda k hodnocení EG při malém počtu zařazených subjektů kvůli vysokému rozptylu hodnot mezi jednotlivými měřeními [15, 16]. Další limitací je poměrně krátká doba sledování zvířat po návratu spontánní cirkulace, jelikož lze předpokládat, že se plně vyjádřený syndrom po zástavě oběhu rozvine v delším časovém intervalu. V neposlední řadě, program GlycoCheck byl konstruován pro hodnocení lidské mikrocirkulace.

Závěr

Náhlá zástava oběhu s následnou kardiopulmonální resuscitací nevedla k významné změně parametru PBR, měřenému jak po návratu spontánní cirkulace, tak s odstupem 20 minut. Alterace endoteliálního glykokalyx nebyla na modelu srdeční zástavy na praseti prokázána.

PROHLÁŠENÍ AUTORŮ: Prohlášení o původnosti: Práce je původní, nebyla publikována ani zaslána k recenznímu řízení do jiného média. Byla prezentována na kongresu Euroanaesthesia 2016 formou posterového sdělení. **Střet zájmů:** Autoři prohlašují, že nemají střet zájmů v souvislosti s tématem práce. **Podíl autorů:** Autoři rukopis četli, souhlasí s jeho zněním a zasláním do redakce časopisu Anesteziologie a intenzivní medicína. AD = příprava protokolu, sběr dat, analýza dat, příprava publikace, ŠR = analýza dat, příprava publikace, ČPR = sběr dat, spolupráce v průběhu experimentu, PN, HT, MT, DJ, BM, PT, RV = spolupráce v průběhu experimentu, ČV = příprava grantu, příprava protokolu, analýza dat, příprava publikace a finální editace. **Financování:** Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-31881 A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

LITERATURA

1. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, Marc AMJ van Zandvoort, Mirjam GA oude Egbrink. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch* 2007; 454(3): 345–359.
2. Nelson A, Johansson J, Tydén J, Bodelsson M. Circulating syndecans during critical illness. *APMIS* 2017; 125(5): 468–475.
3. Ushiyama A, Kataoka H, Iijima T. Glycocalyx and its involvement in clinical pathophysiology. *J Intensive Care* 2016; 4(1): 59.
4. Cerný V, Astapenko D, Burkovskiy I, Hyspler R, Ticha A, Trevors MA, et al. Glycocalyx in vivo measurement. *Clin Hemorheol Microcirc* 2017; 67(3–4): 499–503.
5. Bass MD, Morgan MR, Humphries MJ. Syndecans shed their reputation as inert molecules. *Sci Signal* 2009; 2(64): pe18.
6. Martens RJH, Vink H, Oostenbrugge RJ Van, Staals J. Sublingual microvascular glycocalyx dimensions in lacunar stroke patients. *Cerebrovasc Dis* 2013; 35(5): 451–454.
7. Cerný V, Turek Z, Pařízková R. Orthogonal polarization spectral imaging. *Physiol Res* 2007; 56(2): 141–147.
8. Grundmann S, Fink K, Rabadzheva L, Bourgeois N, Schwab T, Moser M, et al. Perturbation of the endothelial glycocalyx in post cardiac arrest syndrome. *Resuscitation* 2012; 83(6): 715–720.
9. Monsieurs KG, Nolan JP, Bossaert LL, Greif R, Maconochie IK, Nikolaou NI, et al. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015. *Resuscitation* 2015; 95: 1–80.
10. Goedhart PT, Khalilzadeh M, Bezemer R, Merza J, Ince C. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. *Opt Express* 2007; 15(23): 15101–15114.
11. Cerný V, Astapenko D, Brettner F, Benes J, Hyspler R, Lehmann Ch, et al. Targeting the endothelial glycocalyx in acute critical illness as a challenge for clinical and laboratory medicine. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2017; 54(5): 343–357.
12. Callaway CW. Endothelial damage after cardiac arrest—„Endotheliitis.“ *Resuscitation* 2012; 83(6): 667–668.
13. Bro-Jeppesen J, Johansson PI, Hassager C, Wanscher M, Ostrowski SR, Bjerre M, et al. Endothelial activation/injury and associations with severity of post-cardiac arrest syndrome and mortality after out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation* 2016; 107: 71–79.
14. Hahn RG, Hasselgren E, Björne H, Zdolsek M, Zdolsek J. Biomarkers of endothelial injury in plasma are dependent on kidney function. *Clin Hemorheol Microcirc* 2019; 72(2): 161–168.
15. Donati A, Damiani E, Domizi R, Romano R, Adrario E, Pelaia P, et al. Alteration of the sublingual microvascular glycocalyx in critically ill patients. *Microvasc Res* 2013; 90: 86–89.
16. Astapenko D, Dostál P, Černá Pařízková R, Škulec R, Černý V. Analýza sublingvální mikrovaskulární glykokalyx u pacientů v intenzivní péči – prospektivní observační studie. *Anest Intenziv Med* 2019; 30(1): 14–21.