

## SOUBORNÝ REFERÁT

## Neinvazivní optické metody k posouzení mikrocirkulace v experimentu a klinické praxi – Orthogonal polarization spectral (OPS) imaging a Sidestream dark-field (SDF) imaging

Turek Z., Pařízková R., Černý V.

Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Fakultní nemocnice Hradec Králové

### Souhrn

Mikrocirkulace má za fyziologických i patofyziologických okolností klíčovou úlohu v interakcích mezi krví a tkáněmi. Přes prokázanou zásadní roli v patofyziologii a vývoji řady akutních i chronických onemocnění včetně hypertenze, diabetu či sepse jsou naše možnosti přímé vizualizace a rychlého funkčního vyhodnocení mikrocirkulační sítě v reálné klinické praxi velmi omezené. Orthogonal polarization spectral (OPS) imaging a vývojově ještě vylepšená metoda Sidestream dark-field (SDF) imaging jsou relativně nové optické neinvazivní technologie inkorporované do lehce ovladatelné příruční sondy s možností vyšetřit a vizualizovat mikrocirkulaci slizničních povrchů včetně podjazykové krajiny u člověka. Principy obou metod, výsledky validačních studií, současné možnosti využití v experimentu a v klinické praxi včetně výhod a technických omezení jsou probírány v této práci.

**Klíčová slova:** mikrocirkulace – orthogonal polarization spectral imaging (OPS) – sidestream dark-field imaging (SDF)

### Abstract

**Non-invasive optical methods for microcirculatory assessment in experiment and in clinical practice: Orthogonal polarization spectral (OPS) imaging and Sidestream dark-field (SDF) imaging**

Microcirculation plays an essential role in the interaction between the blood and target tissues. Despite its evident importance in the pathophysiology and development of numerous acute and chronic diseases such as hypertension, diabetes or sepsis, currently available methods allowing direct visualization of the microcirculatory network and its assessment in clinical practice are very limited. Orthogonal polarization spectral (OPS) imaging and its improved successor Sidestream dark-field (SDF) imaging are relatively new optical non-invasive technologies incorporated in a hand-held examination probe for visualization of the mucosal surface microcirculation including the human sublingual area. The basic principles of these methods, an appraisal of the validation studies, the current options of experimental and clinical applications and the advantages and technical limitations of the methods are discussed in this review.

**Key words:** microcirculation – orthogonal polarization spectral (OPS) imaging – sidestream dark-field (SDF) imaging

*Anest. intenziv. Med., 18, 2007, č. 4, s. 231–235.*

### Úvod

Mikrocirkulace má klíčovou úlohu v interakci mezi krví a tkáněmi, a to jak za fyziologických, tak za patofyziologických stavů. Možnost vizualizovat a analyzovat průtok krve na úrovni mikrocirkulace může být jedinečnou příležitostí ke studiu vývoje různých onemocnění na mikrocirkulační úrovni [1]. I přes zásadní roli mikrocirkulace v patofyziologii řady závažných onemocnění včetně sepse a multiorgánového selhání [2–4] jsou metody přímé vizualizace a kvantitativního vyhodnocení mikrocirkulační sítě – zejména v klinické praxi – velmi omezené. Úsilí přímo monitorovat mikrohemodynamiku je stále větší, a to s ohle-

dem na nové objevy patofyziologických principů na molekulární úrovni. Základní metodou pro zobrazení mikrocirkulace je intravitální mikroskopie (IVM), nicméně nezbytnost použití fluorescenčního barviva a velikost instrumentária omezuje její užití pouze pro experimentální práce.

Kapilární mikroskopie, respektive videomikroskopie nehtového lůžka byla řadu let jedinou dostupnou metodou pro posouzení mikrocirkulace na mikroskopické úrovni u člověka *in vivo*. Použití této techniky je limitováno především na povrch kůže, nehtové lůžko či sliznici rtu [5]. Mikrocirkulace nehtového lůžka je velmi citlivá na změny vnější teploty [6]. Bylo též pozorováno snížení průtoku mikrocirkulací u normotenzních febrilních pacientů

[7], proto zejména u kriticky nemocných nemusí být videomikroskopie nehtového lůžka spolehlivým indikátorem stavu mikrocirkulace.

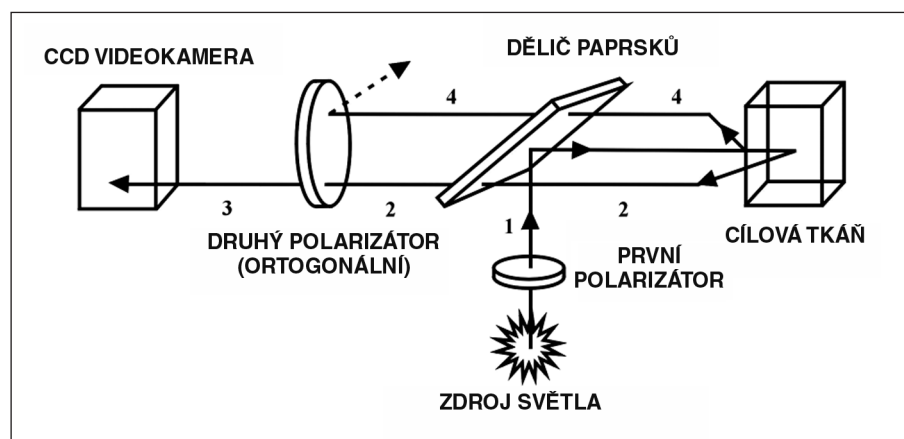
Laserová dopplerovská technologie pro měření průtoku v mikrocirkulaci je založena na frekvenčním posunu laseru po interakci s erytrocyty. Zkušenosti s jejím využitím jsou u septických pacientů, u nichž byl měřen průtok mikrocirkulací v kůži, ve svalu, v gastrické a jejunální sliznici [8–10]. Metoda je částečně limitována měřením průměrných rychlostí v definovaném tkáňovém objemu, což nemusí vždy reflektovat heterogenitu krevního průtoku mikrocirkulací jako hlavní charakteristiky zjištěné v experimentálních studiích.

Orthogonal polarization spectral (OPS) imaging a dále vyvinutá metoda sidestream dark-field (SDF) imaging jsou relativně nové neinvazivní optické technologie pro vizualizaci a vyhodnocení stavu mikrocirkulace u člověka. Principy, validační studie, výhody, známá omezení a současné využití v klinické praxi jsou probírány dále.

### Principy OPS a SDF imaging

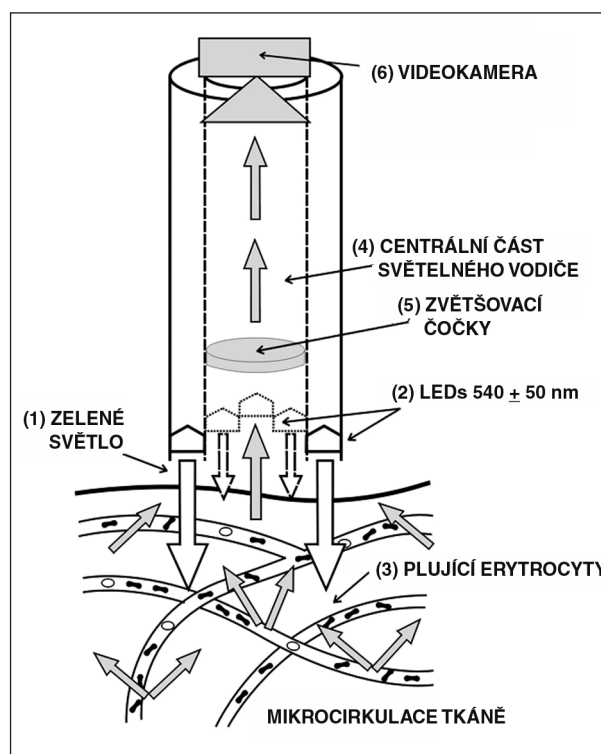
Technologie OPS imaging byla vyvinuta v Cyto-metrics, Inc. (Philadelphia, PA, USA) se záměrem sestavit videomikroskop umožňující vytvořit vysoce kontrastní obraz mikrocirkulace v odrazeném světle [11]. Konvenční reflektivní zobrazování (CRI) neumožňuje vznik vysoce kontrastního obrazu v důsledku mnohočetného rozptylu světla na povrchu. Tento jev je eliminován technikou OPS, kdy lineárně polarizované světlo prochází přes dělič paprsků a dopadá na povrch tkáně. Většina odraženého světla zůstává polarizována, a neprochází tak ortogonálně situovaným druhým polarizátorem – analyzátozem, tudíž se nepodílí na tvorbě obrazu. Světlo, které prochází do hloubky tkáně, kde dochází k vícečetnému rozptylu, je depolarizováno a může tedy projít druhým polarizátorem a vytvořit obraz na pozadí (obr. 1). K dosažení optimálního obrazu mikrocirkulace byla zvolena vlnová délka emitovaného světla 548 nm, při které je maximum absorpce rovnoměrně rozděleno mezi oxy- a deoxyhemoglobin. Dva fyzikální jevy se tak podílejí na vzniku obrazu v odrazeném světle: absorpce nezbytná pro dostatečný kontrast a rozptyl nezbytný k formování obrazu na pozadí (iluminaci) [12]. Tak dochází přímo k vizualizaci krevních cév mikrocirkulace metodou OPS imaging.

Lehce odlišný je princip další citlivější optické metody – Sidestream dark-field (SDF) imaging. Diody



Obr. 1. Orthogonal polarization spectral (OPS) imaging – optické schéma

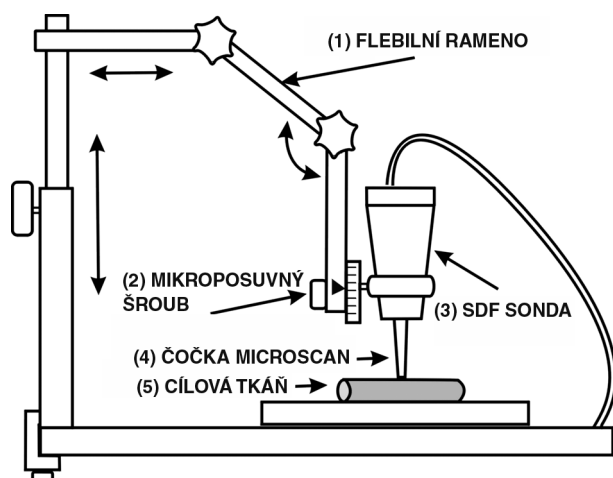
(1) Výchozí polarizované světlo je vysíláno k cílové tkáni prostřednictvím děliče paprsků (2). Depolarizované rozptýlené světlo prochází ortogonálním polarizátorem (analyzátozem) (3) a dopadá na CCD videokameru. (4) Odražené polarizované světlo je eliminováno ortogonálním polarizátorem.



Obr. 2. Sidestream dark-field imaging (SDF) – optické schéma

(1) Zelené světlo je emitováno směrem k cílové tkáni (2) periferními  $540 \pm 50$  nm světlo emitujícími diodami (LEDs – light-emitting diodes) uspořádanými do kruhu na konci světelného vodiče. Mikro-cirkulace je přímo osvětlena a prosvícena ze strany zeleným světlem absorbovaným molekulami hemoglobinu v erytrocytech, jež pozorujeme jako (3) tmavé pohybující se buňky. Zobrazovací centrální část světlovodného kanálu (4) je opticky izolována od LEDs. Zvětšovací čočka (5) promítá obraz na kameru (6).

(LED) emitující zelené světlo ( $540 \pm 50$  nm) jsou uspořádány do kruhu na konci optické sondy. Toto světlo přímo osvětluje tkáňovou mikrocirkulaci. Zdroj světla je opticky izolován od jádra optické sondy, kde



**Obr. 3.** Schéma stabilizačního a fixačního ramene pro SDF sondu (1) Flexibilní rameno umožňující horizontální, vertikální a rotační pohyby zakončené speciálním adaptérem s (2) mikroposuvným šroubem zajišťujícím pohyb SDF sondy (3) a MicroScan čočky (4) v rozmezí 1 mm k cílové tkáni (5).

prochází světlo emitované zpět tkání (obr. 2). Technologie SDF proto poskytuje zobrazení mikrocirkulace s větším rozlišením a kontrastem [13]. Tak je možno zřetelně pozorovat pohybující se erytrocyty a obraz analytickým softwarem vyhodnotit. SDF sonda je kryta plastovou vyměnitelnou sterilní čočkou, sondou je možno vyšetřovat přímo držením v ruce nebo lépe prostřednictvím nastavitelného fixátoru s flexibilním ramenem (obr. 3).

#### Validační studie

První klinické studie mikrocirkulace metodami OPS a SDF imaging ukázaly značný potenciál a široké spektrum možného využití obou technik za fyziologických i patologických stavů s dopadem na diagnostiku, léčbu či hodnocení prognózy nemocného. Bylo proto vyvinuto velké úsilí ověřit validitu OPS imaging pro různé klinické účely. Principem většiny validačních studií je porovnat výsledky měření intravitální mikroskopii (IVM) a metodou OPS v experimentu na zvířeti, kde IVM je považována za zlatý standard pro vyhodnocení základních mikrocirkulačních parametrů [12, 14–21]. Validačních studií z klinické praxe je z výše uvedených důvodů mnohem méně [22].

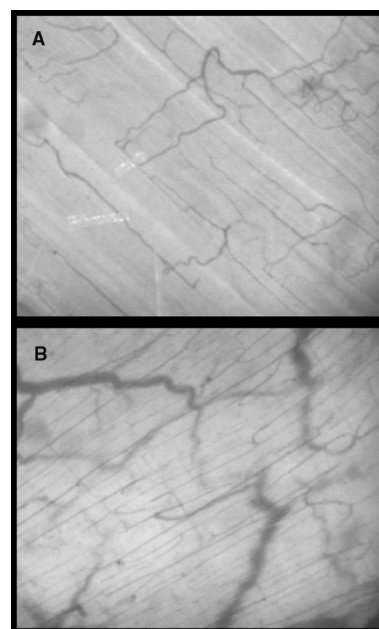
Základní validační experimentální studie byla provedena na vysoce standardizovaném modelu dorzální kožní řasy křečka [23]. Validace OPS techniky (CYTOSCAN™ A/R) proti standardní fluorescenční videomikroskopii byla provedena prostřednictvím čtyř základních mikrocirkulačních parametrů:

1. FCD (Functional Capillary Density) definovaná jako celková délka perfundovaných kapilár na jednotku plochy ( $\text{cm}/\text{cm}^2$ ),
2. průměr arteriál,
3. průměr venul,
4. rychlost toku erytrocytů ve venulách.

Hodnota FCD je parametrem tkáňové perfuze a nepřímým indikátorem dodávky kyslíku [24] a je

hlavním parametrem používaným v klinické praxi. Při srovnání hodnot získaných při IVM a OPS imaging Bland-Altman analýzou nebyl statisticky významný rozdíl u žádného z měřených parametrů. Obdobné validační studie byly úspěšně provedeny na modelu ischemicko-reperfúzního poškození svalu [24]. Další validační studie byly uskutečněny u myši na modelu *m. cremaster*, kožní řasy a na modelu tlustého střeva bez nálezu statisticky významného rozdílu mezi měřenými parametry [17]. Validace metody OPS proběhla také v oblasti solidních orgánů, především na modelu ischemicko-reperfúzního poškození jater potkana a na pankreatu [18, 19]. Validita metodiky OPS byla také prověřena při hemodiluci v širokém rozmezí hodnot hematokritu, přičemž nebyl shledán rozdíl mezi technikami IVM a OPS. V poslední době byla provedena i studie u septického prasete na sublinguální sliznici, která je nejčastějším místem použití OPS v klinice [25]. OPS imaging spolehlivě prokázalo změny FCD a krevního průtoku v průběhu modelu septického šoku u prasete, podobná studie hodnotila mikrocirkulaci klků u prasete prostřednictvím ileostomie [20]. Ilustrativní zobrazení mikrocirkulace svalové tkáně potkana, serózního povrchu ilea potkana a mikrocirkulace klků sliznice ilea u prasete jsou na obrázcích 4A, 4B a 5.

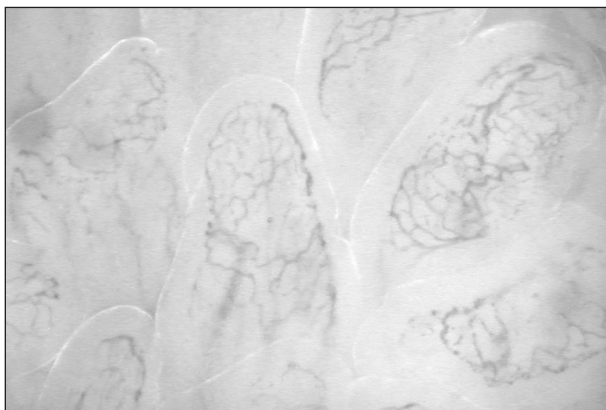
Humánní validační studie jsou omezeny na dostupné slizniční povrchy, popř. na povrchy některých orgánů v perioperačním období, IVM nemůže být využita z důvodu toxicity fluorescenčních látek. U člověka byla srovnána konvenční kapilární mikroskopie nehtového lůžka a OPS imaging u zdravých dobrovolníků v klidu a po venostáze [22].



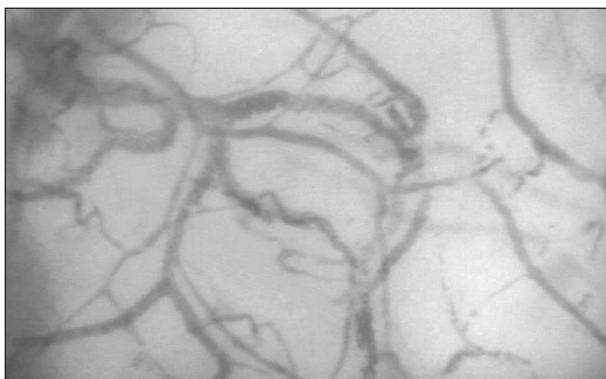
**Obr. 4 A, B** SDF zobrazení mikrocirkulace čtyřhlavého svalu stehenního a serózního povrchu ilea u potkana

A) Sidestream dark-field (SDF) zobrazení mikrocirkulace na povrchu čtyřhlavého svalu stehenního u potkana. Zvětšení: objektiv 5krát, výsledně 325krát.

B) Sidestream dark-field (SDF) zobrazení serózního povrchu ilea u potkana. Zvětšení: objektiv 5krát, výsledně 325krát.



**Obr. 5.** SDF zobrazení mikrocirkulace sliznice ilea u prasete  
Sidestream dark-field (SDF) zobrazení mikrocirkulace sliznice ilea u prasete. Zvětšení: objektiv 5krát, výsledně 325krát.



**Obr. 6.** SDF zobrazení sublinguální mikrocirkulace zdravého člověka  
Sidestream dark-field (SDF) zobrazení sublinguální mikrocirkulace zdravého člověka. Zvětšení: objektiv 5krát, výsledně 325krát.

Rychlosti průtoku erytrocytů a kapilární průměry se významně nelišily. V klinické praxi je nejčastějším místem pro zobrazení mikrocirkulace sublinguální sliznice. Typický obraz sublinguální sliznice zdravého člověka je na obrázku 6.

#### Technické zázemí a technická omezení

Prvním přístrojem použitým v experimentu i v klinice byl CYTOSCAN E II, významná technická vylepšení přinesl doposud využívaný CYTOSCAN™ A/R s výkonnějším zdrojem světla a kruhovým osvětlením tkáně. Posledním v řadě je MicroScan™ Video Microscope s technologií SDF imaging inkorporovanou do lehké praktické sondy. Základem úspěšného použití technologií OPS a SDF je vytvořit kvalitní obraz a provést kvalitní kvantitativní měření. Přes řadu technických pokroků ve vývoji těchto neinvazivních optických metod, je nutno vzít několik omezení v úvahu [26]:

- Nežádoucí tlak OPS/SDF sondy při kontaktu s tkání.
- Laterální pohyb tkáně, který znesnadňuje fixaci obrazu.
- On-line analýza mikrocirkulace pro velkou soft-

wareovou náročnost, většina analýz musí být prováděna off-line.

V současnosti jsou k dispozici dva výpočetní analyzační systémy, a to AVA V1.0 software (AMC, University of Amsterdam, The Netherlands) a CapImage® (Zeintl, Heidelberg, Germany) [27].

#### Současné možnosti využití v klinické praxi

Jak již bylo uvedeno výše, užití neinvazivních optických metod v klinice je omezeno nejčastěji na oblast podjazykové či gingivální sliznice, v peroperačním období pak lze za aseptických podmínek zobrazit prakticky každý pro sondu dostupný orgánový povrch (játra, trávicí trakt, pankreas, povrch mozku atd.). Zatím největší zkušenosti s OPS technologií jsou u kriticky nemocných se závažnou sepsí [28, 29] včetně efektu některých léčiv [30, 31]. V peroperačním období bylo zobrazení mikrocirkulace metodou OPS využito k pozorování mikrocirkulačních změn v průběhu resekce A-V malformace mozku [32]; vliv peroperační hypervolemické hemodiluce a hrudní epidurální analgezie na mikrocirkulaci byl studován metodou OPS zobrazení prostřednictvím mikrocirkulace sliznice vaginální stěny [33]. Další recentní práce hodnotí peroperační mikrocirkulaci povrchu jater zdravých dárců podstupujících partiální resekci jater pro transplantaci i korelaci iniciálních parametrů mikrocirkulace s časovou funkcí graftu u pacientů po transplantaci jater [34, 35].

#### Závěr

I přes některé přetrvávající limitující faktory jde vývoj a využití neinvazivních optických technologií k výzkumu mikrocirkulace v experimentu i v klinické praxi progresivně kupředu. Značné úsilí se věnuje jak validaci těchto metod pro užití v klinické praxi, tak interpretaci a kvantitativní analýze získaných dat. Je třeba vyvinout vysoce standardizované postupy a protokoly měření tak, aby získaná data z různých pracovišť byla porovnatelná a dobře interpretovatelná. Vysoce standardizované praktické postupy měření zatím chybí, ale pracuje na nich intenzivně řada pracovišť, protože možnost přímé vizualizace a vyhodnocení mikrocirkulace u nemocného přináší možnost ovlivnit řadu onemocnění, na jejichž rozvoj má zásadní vliv dysbalance na úrovni mikrocirkulace [4, 36].

#### Literatura

1. **Fagrell, B., Intaglieta, M.** Microcirculation: its significance in clinical and molecular medicine. *J. Intern. Med.*, 1997, 241, p. 349–362.
2. **Lehr, H. A., Bittinger F., Kirkpatrick, C. J.** Microcirculatory dysfunction in sepsis: A pathogenetic basis for therapy? *J. Pathol.*, 2000, 190, p. 373–386.
3. **Spronk, P. E., Zandstra, D. F., Ince, C.** Bench-to-bedside review: sepsis is a disease of microcirculation. *Crit. Care*, 2004, 8, p. 462–468.



4. **Ince, C.** The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit. Care*, 2005, 9, Suppl 4, p. 13–9. Epub.
5. **Bollinger, A., Fagrell, B. (Ed)** *Clinical Capillaroscopy: A guide to Its Use in Clinical Research and Practice*. Toronto : Hogrefe & Huber Publishers, 1990.
6. **De Baker, D., Dubois, M. J.** Assessment of the microcirculatory flow in patients in the intensive care unit. *Curr. Opin. Crit. Care*, 2001, 7, p. 200–203.
7. **Weinberg, J. R., Boyle, P., Thomas, K., Murphy, K., Tooke, J. E., GUZ, A.** Capillary blood cell velocity is reduced in fever without hypotension. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.*, 1991, 10, p. 13–19.
8. **Young, J. D., Cameron, E. M.** Dynamics of skin blood flow in human sepsis. *Intensive Care Med.*, 1995, 21, p. 668–674.
9. **Neviere, R., Mathieu, D., Chagnon, J. L., Lebleu, N., Milien, J. P., Wattel, F.** Skeletal muscle microvascular blood flow and oxygen transport in patients with severe sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 153, p. 191–195.
10. **Duranteau, J., Sitbon, P., Teboul, J. L., Vicaut, E., Anguel, N., Richard, Ch., Samii, K.** Effects of epinephrine, norepinephrine, or the combination of norepinephrine and dobutamine on gastric mucosa in septic shock. *Crit. Care Med.*, 1999, 27, p. 893–900.
11. **Winkelman, J. W.** Apparatus and method for in vivo analysis of red and white blood cell indices (4998553). USA, patent. 3-12-1991
12. **Groner, W., Winkelman, J. W., Harris, A. G., Ince, C., Bouma, G. J., Messmer, K., Nadeau, R. G.** Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation. *Nat. Med.*, 1999, 5, p. 1209–1212.
13. **Ince, C.** Sidestream dark-field (SDF) imaging: an improved technique to observe sublingual microcirculation. *Crit. Care*, 2005, 8 (suppl), p. 72.
14. **Harris, A. G., Sinitsina, I., Messmer, K.** The Cytoscan Model E-II, a new reflectance microscope for intravital microscopy: comparison with the standard fluorescence method. *J. Vasc. Res.*, 2000, 3, p. 469–476.
15. **Harris, A. G., Sinitsina, I., Messmer, K.** Validation of OPS imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2002, 282, p. 1502–1509.
16. **Laemmel, E., Tadayoni, R., Sinitsina, I., Boczkowski, J., Vicaut, E.** Using Orthogonal polarization spectral imaging for the experimental study of microcirculation: Comparisons with intravital microscopy. In Messmer K. *Orthogonal Polarization Spectral Imaging*. Karger : Basel 2000, vol 24, p. 50–60.
17. **Biberthaler, P., Langer, S., Luchting, B., Khandoga, A., Messmer, K.** In vivo assessment of colon microcirculation: comparison of the new OPS imaging technique with intravital microscopy. *Eur. J. Med. Res.*, 2001, 6, p. 525–534.
18. **Langer, S., Harris, A. G., Biberthaler, P., von Dobschuetz, E., Messmer, K.** Orthogonal polarization spectral imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation: a validation study. *Transplantation*, 2001, 71, p. 1249–1256.
19. **Von Dobschuetz, E., Biberthaler, P., Mussack, T., Langer, S., Messmer, K., Hoffmann, T.** Noninvasive in vivo assessment of the pancreatic microcirculation: orthogonal polarization spectral imaging. *Pancreas*, 2003, 26, p. 139–143.
20. **Tugtekin, I. F., Radermacher, P., Theisen, M., Matejovic, M., Stehr, A., Ploner, F., Matura, K., Ince, C., Georgieff, M., Trager, K.** Increased ileal-mucosal-arterial PCO<sub>2</sub> gap is associated with impaired villus microcirculation in endotoxic pigs. *Intensive Care Med.*, 2001, 27, p. 757–766.
21. **Pahernik, S., Harris, A. G., Schmitt-Sody, M., Krasnici, S., Goetz, A. E., Dellian, M., Messmer, K.** Orthogonal polarisation spectral imaging as a new tool for the assessment of antitumour treatment in vivo: a validation study. *Br. J. Cancer*, 2002, 86, p. 788–795.
22. **Mathura, K. R., Vollebregt, K. C., Boer, K., De Graaff, J. C., Ubbink, D. T., Ince, C.** Comparison of OPS imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation. *J. Appl. Physiol.*, 2001, 91, p. 74–78.
23. **Harris, A. G., Sinitsina, I., Messmer, K.** Quantitative analysis of orthogonal polarization spectral images: Validation in the hamster dorsal skinfold chamber. In Messmer K. (ed) *Orthogonal Polarization Spectral Imaging*. Karger : Basel 2000, vol 24. p. 21–31.
24. **Harris, A. G., Leiderer, R., Peer, F., Messmer, K.** Skeletal muscle microvascular and tissue injury after varying durations of ischemia. *Am. J. Physiol.*, 1996, 271, p. 2388–2398.
25. **Goldfarb, R. D., Guglielmi, M., Ross, F., Purnachandra, J., Carcasses, A. A., Trzeciak, S., Zanotti, S., Dellinger, R., Parrillo, J. E., Hollenberg, S. M.** Orthogonal polarization spectral imaging demonstrates sepsis-related deterioration in microvascular perfusion. *FASEB J.*, 2005, 1, Abstract #691.14.
26. **Lindert, J., Werner, J., Redlin, M., Kuppe, H., Habazettl, H., Pries, A. R.** OPS imaging of human circulation: a short technical report. *J. Vasc. Res.*, 2002, 39, p. 368–372.
27. **Klyscz, T., Junger, M., Jung, F., Zeintl, H.** Cap image – a new kind of computer-assisted video image analysis system for dynamic capillary microscopy. *Biomed. Tech.*, 1997, 42, p. 168.
28. **De Backer, D., Creteur, J., Preiser, J. C., Dubois, M. J., Vincent, J. L.** Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2002, 166, p. 98–104.
29. **Sakr, Y., Dubois, M. J., De Backer, D., Creteur, J., Vincent, J. L.** Persistent microvascular alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit. Care Med.*, 2004, 32, p. 1825–1831.
30. **De Backer, D., Verdant, C., Chierego, M., Koch, M., Gullo, A., Vincent, J. L.** Effects of drotrecogin alfa activated on microcirculatory alterations in patients with severe sepsis. *Crit. Care Med.*, 2006, 34, p. 1918–1924.
31. **De Backer, D., Creteur, J., Dubois, M. J., Sakr, Y., Koch, M., Verdant, C., Vincent, J. L.** The effects of dobutamine on microcirculatory alterations in patients with septic shock are independent of its systemic effects. *Crit. Care Med.*, 2006, 34, p. 403–408.
32. **Pennings, F. A., Ince, C., Bouma, G. J.** Continuous real-time visualization of the human cerebral microcirculation during arteriovenous malformation surgery using orthogonal polarization spectral imaging. *Neurosurgery*, 2006, 59, p. 167–171.
33. **Ven Den Oever, H. L., Dzoljic, M., Ince, C., Hollmann, M. W., Mokken, F. C.** Orthogonal polarization spectral imaging of the microcirculation during acute hypervolemic hemodilution and epidural lidocaine injection. *Anesth. Analg.*, 2006, 103, p. 484–487.
34. **Puhl, G., Schaser, K. D., Vollmar, B., Meger, M. D., Settmacher, U.** Noninvasive in vivo analysis of the human hepatic microcirculation using orthogonal polarization spectral imaging. *Transplantation*, 2003, 75, p. 756–761.
35. **Puhl, G., Schaser, K. D., Pust, D., Kohler, K., Vollmar, B., Menger, M. D., Neuhaus, P., Settmacher, U.** Initial hepatic microcirculation correlates with early graft function in human orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl.*, 2005, 11, p. 555–563.
36. **Elbers, P. W., Ince, C.** Bench-to-bedside review: Mechanisms of critical illness – classifying microcirculatory flow abnormalities in distributive shock. *Crit. Care*, 2006, 10, p. 221. [Epub ahead of print]

Výzkumný projekt je podporován MZO 00179906.

Došlo 19. 6. 2007.

Přijato 30. 6. 2007.

Adresa pro korespondenci:  
MUDr. Zdeněk Turek  
KARIM FN Hradec Králové  
Sokolská 581  
500 05 Hradec Králové  
e-mail: turekzd@tiscali.cz