

Monitorování glykemie u kriticky nemocných pacientů: srovnání arteriálních a intersticiálních hladin glukózy měřených pomocí mikrodialýzy tukové tkáně

J. Křemen¹, J. Bláha², M. Matias², K. Anderlová¹, M. Ellmerer³, J. Plank³, T. Pieber³, Š. Svačina¹, M. Haluzík¹

¹ III. interní klinika 1. lékařské fakulty UK a VFN, Praha, přednosta prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc., MBA

² Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 1. lékařské fakulty UK a VFN, Praha, přednosta MUDr. Martin Stráteský, CSc.

³ Interní klinika Lékařské Univerzity, Graz, Rakousko, přednosta prof. MUDr. Ernst Pilger

Souhrn: Úvod: Nedávné studie prokázaly, že udržení normoglykemie pomocí intenzifikované inzulinové terapie u kriticky nemocných pacientů hospitalizovaných na jednotkách intenzivní péče (JIP) významně snižuje jejich mortalitu. Cílem naší studie bylo porovnat koncentrace glukózy v intersticiu – měřené pomocí mikrodialýzy tukové tkáně – a v arteriální krvi, a zhodnotit tak využitelnost tukové tkáně jako místa pro umístění biosenzorů pro měření glukózy. Soubor nemocných a metodika: Do studie bylo zařazeno 20 pacientů (16 mužů a 4 ženy), po kardiokirurgických výkonech hospitalizovaných na pooperační jednotce intenzivní péče. Průměrný věk pacientů byl 68 ± 10 let, průměrné BMI bylo $28,3 \pm 3,9$. Vstupním kritériem pro zařazení do studie byla glykemie vyšší než 6,7 mmol/l při přijetí na JIP. Vzorky pro měření intersticiálních koncentrací metabolitů byly sbírány pomocí mikrodialýzy v podkožní tukové tkáni v 60minutových intervalech po dobu 48 hodin. Perfuzním mikrodialyzačním roztokem byl 5% manitol, rychlost perfuze byla 1 μ l/min. Měření glykemie v arteriální krvi bylo rovněž prováděno po 60 minutách. Absolutní hodnoty intersticiálních koncentrací byly vypočítány pomocí iontové referenční metody. Výsledky: Průměrná hodnota arteriální glykemie byla $6,7 \pm 0,56$ mmol/l, absolutní koncentrace glukózy v intersticiu byla $3,55 \pm 0,58$ mmol/l. Průměrný korelační koeficient pro koncentrace arteriální a intersticiální glukózy byl $0,77 \pm 0,15$. Závěr: V naší studii jsme prokázali, že hodnoty koncentrace glukózy v intersticiu u pacientů po kardiokirurgické operaci dobře korelují s arteriálními koncentracemi. Jsou však nutné další studie, které budou hodnotit tuto korelaci u pacientů s výraznější hypoperfuzí tukové tkáně.

Klíčová slova: mikrodialýza – glykemie – intersticiální tekutina – kriticky nemocní

Monitoring of glucose concentration in critical patients, comparing arterial blood glucose concentrations and interstitial glucose concentration measured by microdialysis technique

Summary: Introduction: Recent studies have shown that normalization of blood glucose in critically ill patients by intensive insulin therapy significantly decreases their mortality and morbidity. The aim of our study was to compare interstitial glucose concentrations in subcutaneous adipose tissue (measured by microdialysis technique) and arterial blood glucose concentrations to test the suitability of subcutaneous adipose tissue for long-term placement of biosensors for glucose measurement in critically ill patients. Patients and methods: 20 patients (16 men and 4 women) after cardiac surgery hospitalized at postoperative intensive care unit were included into the study. Mean age was 68 ± 10 years, BMI was 28.3 ± 3.9 year. Only patients with glycemia higher than 6.7 mmol/l at a time of admission to the ICU were included. Samples for measurement of interstitial glucose concentrations were collected in 60 minutes intervals during 48 hours using microdialysis of the subcutaneous adipose tissue. Perfusion fluid was 5% mannitol, perfusion rate was 1 μ l/min. Arterial blood glucose concentration was measured in 60 minutes intervals, absolute concentrations of interstitial glucose were calculated using ionic reference technique. Results: Mean arterial glucose concentration during the study was 6.7 ± 0.56 mmol/l, absolute concentration of glucose in interstitial fluid was 3.55 ± 0.58 mmol/l. Mean correlation coefficient between arterial and interstitial concentrations was 0.77 ± 0.15 . Conclusion: Our study demonstrated good correlation between interstitial glucose concentrations in subcutaneous adipose tissue and arterial blood glucose concentrations in post-cardiac surgery patients. Further studies are needed to evaluate this relationship in patients with more severely disturbed perfusion of subcutaneous adipose tissue.

Keywords: microdialysis – glycemia – interstitial fluid – critical illness

Úvod

U kriticky nemocných pacientů hospitalizovaných na jednotkách inten-

zivní péče se velmi často vyskytuje hyperglykemie [1–3]. Za její vznik jsou zodpovědný částečně odlišné

mechanizmy než u diabetes mellitus 1. a 2. typu a vyskytuje se jak u diabetiků, tak u pacientů bez předchozí

Tab. 1. Charakteristika pacientů (hodnota $\pm$ směrodatná odchylka).

Počet pacientů (muži/ženy)	20 (16/4)
Diabetici	10
Věk	68 $\pm$ 10
BMI	28,3 $\pm$ 3,9

anamnézy diabetu [4]. Jednou z hlavních příčin hyperglykemie u kriticky nemocných je uvolnění kontraregulačních stresových hormonů (katecholaminy, kortizol, glukagon, růstový hormon) a následná snížená citlivost k účinkům inzulínu, která je způsobena poruchou postreceptorových intracelulárních signalizačních mechanismů inzulínového receptoru [5,6]. Hyperglykemie má i u kriticky nemocných pacientů řadu nežádoucích účinků, působí toxicky a zvyšuje oxidační stres [7].

Nedávná rozsáhlá randomizovaná studie Greet Van den Berghe, která proběhla v belgickém Leuvenu, s 1 548 kriticky nemocnými ventilovanými pacienty prokázala, že intenzifikovaná inzulínová terapie (cílové hodnoty glykemie byly 4,4–6,1 mmol/l) významně snižuje mortalitu u kriticky nemocných pacientů až o 42 % oproti standardní terapii (léčba inzulínem byla nasazena při glykemii vyšší než 12 mmol/l a cílové rozmezí bylo 10–11,1 mmol/l) [1]. Rovněž bylo prokázáno významné snížení morbiditu a zkrácení délky hospitalizace na jednotce intenzivní péče. Bylo prokázáno snížení výskytu nozokomiálních infekcí, akutního renálního selhání, jaterního selhání, polyneuropatie kriticky nemocných, zpomalení rozvoje svalové slabosti, normalizace lipidového spektra, snížení parametrů zánětu, preventivní vliv na rozvoj endoteliální dysfunkce a hyperkoagulačních stavů a antiapoptotický efekt. Přesné mechanismy účinku intenzifikované inzulínové terapie, které vedou k takto významnému zlepšení prognózy pacientů, však nejsou zatím

zcela objasněny a jsou předmětem dalších analýz a studií.

Na základě této průlomové studie však začala řada jednotek intenzivní péče využívat různé protokoly intenzifikované inzulínové terapie k udržení normoglykemie u kriticky nemocných pacientů. Těsná kontrola glykemie je však velmi náročná – vyžaduje časté krevní odběry (často i v hodinových intervalech), nese značné nároky na techniku a spotřební materiál, je nutné brát ohled i na výkyvy glykemie způsobené nutricí, případně ovlivněné medikací a jednotlivými stresovými inzulty.

Současné výzkumy se orientují na vývoj systémů, které by byly schopny efektivně udržovat normoglykemii a vedly by ke snížení nároků na ošetřující personál. Jsou zaměřeny jednak na výzkum tkáně vhodné pro hodnocení glykemie [8], jednak na vývoj biosenzorů schopných měřit kontinuálně glykemii in vivo a v neposlední řadě na vývoj sofistikovaných algoritmů pro hodnocení glykemie a dávkování inzulínu [9]. Právě vývoj uzavřeného automatizovaného systému, který by byl schopen bez přímého zásahu lékaře samostatně měřit glykemii, vyhodnocovat její hodnoty a adekvátním dávkováním inzulínu udržovat normoglykemii, je cílem multicentrického evropského projektu CLINICIP (Closed Loop Insulin Infusion for Critically Ill Patients). Do tohoto projektu je zařazeno 14 center z 8 evropských zemí včetně našeho pracoviště.

Cílem zde prezentované studie bylo porovnat hladiny glukózy v intersticiu měřené pomocí mikrodialýzy tukové tkáně a v arteriální krvi, a zhodnotit tak možnosti využití tukové tkáně jako místa pro umístění biosenzorů pro měření glukózy.

Mikrodialýza je minimálně invazivní technika umožňující kontinuální monitorování změn ve složení extracelulární tekutiny in vivo [10]. Mikrodialyzační jednotkou je biluminální katétr, který je stálou rychlostí

perfundován mikrodialyzačním roztokem. Tento roztok je od intersticiálního prostoru oddělen semipermeabilní membránou, přes kterou látky prostupují ve směru koncentračního gradientu. Získaný dialyzát tak do značné míry odráží složení tkáňové extracelulární tekutiny. Pro získání absolutních koncentrací je však nutné provést přepočet pomocí výtěžnosti (recovery), kterou lze hodnotit různými metodami [11,12]. V současné době nalézá mikrodialýza i uplatnění v klinickém výzkumu a praxi. Slouží především ke stanovení koncentrací nízkomolekulárních metabolitů (glukóza, laktát, pyruvát, urea, aminokyseliny apod) v intersticiu a hodnocení stupně tkáňové perfuze (pomocí stanovení poměru laktát/pyruvát) [13–15].

Soubor nemocných a metodika

Do studie bylo zařazeno 20 pacientů (10 diabetiků a 10 nediabetiků) po rozsáhlých kardiochirurgických výkonech (aortokoronární bypassy, chlopenní náhrady a plastiky) hospitalizovaných na pooperační jednotce intenzivní péče (JIP) Kliniky kardiovaskulární chirurgie 1. LF UK a VFN v Praze. Mezi pacienty bylo 16 mužů a 4 ženy. Průměrný věk pacientů byl 68 $\pm$ 10 let, BMI bylo 28,3 $\pm$ 3,9 (tab. 1). Studie byla schválena etickou komisí 1. LF UK. Každý pacient zařazený do studie podepsal informovaný souhlas a byla od něho odebrána demografická data, anamnéza a provedeno fyzikální a laboratorní předoperační vyšetření. Vstupním kritériem pro zařazení do klinické části studie byla glykemie vyšší než 6,7 mmol/l při přijetí na JIP. V naší studii splnili toto kritérium všichni pacienti.

Bezprostředně po příjezdu z operačního sálu na jednotku intenzivní péče byl pacientům zaveden mikrodialyzační katétr (typ CMA 60 – délka 30 mm, propustnost 20 kDa, výrobce CMA, Švédsko) do podkožní tukové tkáně, přibližně 10 cm laterálně od pupku. Katétr byl připojen

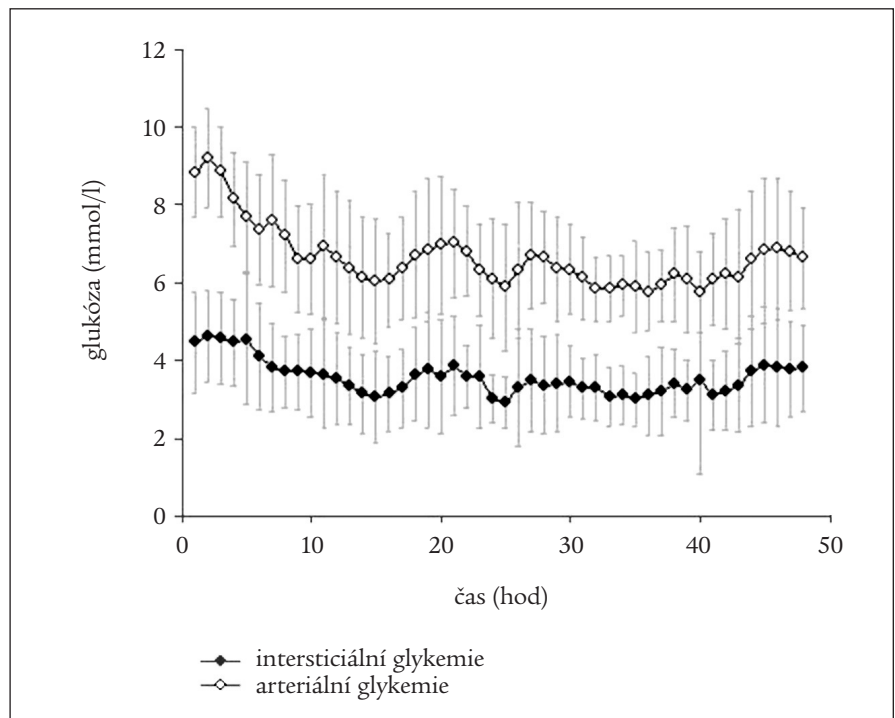
k CMA 107 mikrodialyzační pumpě a perfundován roztokem 5% manitolu rychlostí 1 $\mu\text{l}/\text{min}$. Vzorky byly odbírány do speciálních mikrozkrumavek. Vlastní sběr vzorků pro analýzu byl zahájen nejdříve za 30 minut po zavedení katétru, aby byl eliminován vliv lokální tkáňové reakce na mikrotrauma způsobené zavedením katétru. Vzorky byly sbírány po 60 minutách po dobu 48 hodin. Každou hodinu byly v plné arteriální krvi měřeny koncentrace glykemie, bylo provedeno vyšetření základního mineralogramu, krevních plynů a červeného krevního obrazu (analýzátor ABL 700, Radiometer, Dánsko), zaznamenávány byly vitální funkce, bilance tekutin, tělesná teplota, saturace hemoglobinu, medikace, výživa, eventuálně další podstatné klinické údaje.

Vzorky dialyzátu byly uchovávány při teplotě -80°C a analyzovány v laboratořích Joanneum Research GmbH, Graz, Rakousko na analyzátořech Cobas Mira (Roche Diagnostics, Švýcarsko) – glukóza, laktát, CMA 600 (CMA, Švédsko) – pyruvát a plamenovém fotometru (Instrumentation Laboratory, Rakousko) – sodík a draslík.

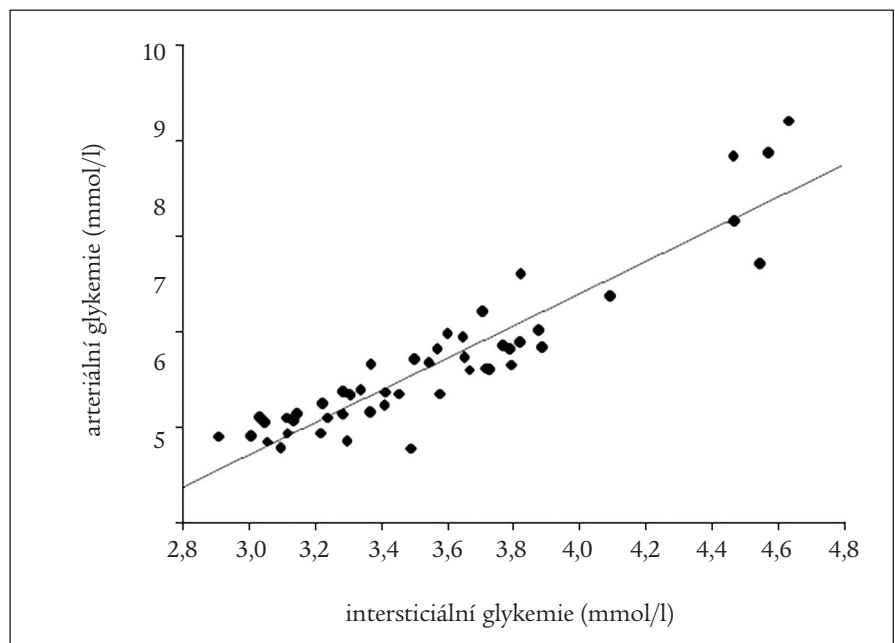
Vzhledem k tomu, že hodnoty koncentrace glukózy naměřené v dialyzátu jsou pouze relativní a neodrážejí absolutní koncentrace bylo nutné tyto koncentrace glukózy v intersticiu vypočítat. K tomuto kroku jsme využili iontovou referenční metodu zavedenou výzkumným týmem Lékařské univerzity v Grazu. Tato metoda vychází z předpokladu, že koncentrace natria v intersticiální tekutině odpovídá plazmatické hladině a poměr koncentrací natria v dialyzátu a intersticiu odpovídá poměru koncentrací glukózy. Výpočet se provádí podle vzorce:

$$(G_{\text{intersticiu}} = \frac{Na_{\text{dialyzát}}}{Na_{\text{plasma}}} \times G_{\text{dialyzát}})$$

Statistické zhodnocení – korelace hladin glukózy v arteriální krvi a in-



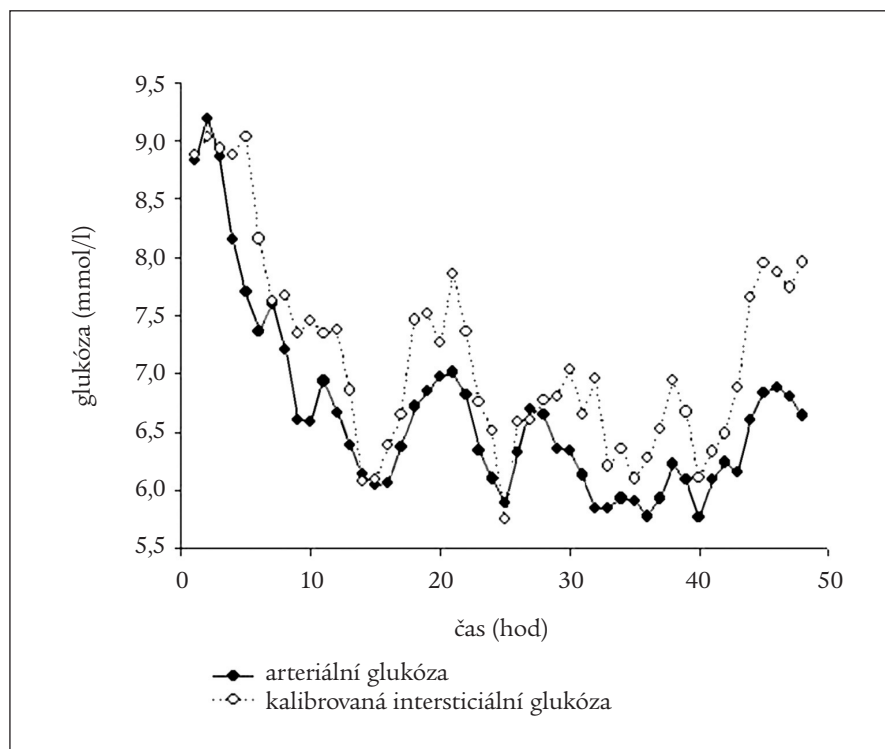
Graf 1. Průběh arteriálních a absolutních intersticiálních hladin glukózy v čase.



Graf 2. Závislost arteriálních a absolutních intersticiálních hladin glukózy.

Tab. 2. Výsledky (hodnota v jednotkách $\pm$ směrodatná odchylka).

Průměrná arteriální glykemie (mmol/l)	$6,7 \pm 0,56$
Průměrná glykemie v dialyzátu (mmol/l)	$1,32 \pm 0,99$
Průměrná glykemie v intersticiu (mmol/l)	$3,55 \pm 0,58$
Recovery (%)	$34,9 \pm 22,2$
Korelační koeficient arteriální/intersticiální glykemie	$0,77 \pm 0,15$



Graf 3. Srovnání arteriálních a intersticiálních hladin glukózy po přepočtu pomocí metody jednobodové kalibrace.

tersticiu – bylo provedeno Spearmanovým testem v programu SigmaStat v. 8.0 (Jandel Scientific, USA). Výsledky jsou uváděny jako průměry $\pm$ směrodatná odchylka. Byly korelovány absolutní koncentrace glukózy v intersticiu a průměrná hodnota arteriální glykemie ze 2 měření, která byla provedena na začátku a na konci sběru jednotlivých vzorků.

Výsledky

Průměrná hodnota arteriální glykemie během celého sledovaného období byla $6,7 \pm 0,56$ mmol/l, průměrná koncentrace glukózy v dialyzátu byla $1,32 \pm 0,99$ mmol/l (tab. 2). Průměrná návratnost (recovery) činila $34,9 \pm 22,2$ %. Po přepočtu na absolutní hodnotu pomocí iontové referenční metody činila koncentrace glukózy v intersticiu $3,55 \pm 0,58$ mmol/l. Průměrný korelační koeficient pro koncentrace arteriální a intersticiální glukózy byl $0,77 \pm 0,15$, medián byl 0,78. Nejnižší korelační koeficient byl 0,28, nevyšší pak 0,94. Srovnání arteriálních a intersticiálních

koncentrací glukózy znázorňují grafy 1 a 2.

Diskuse

Tuková tkáň je z hlediska potenciálního umístění biosenzorů jednou z nejvýhodnějších lokalizací pro snadnou dostupnost a možnost dobré manipulace se zavedeným senzorem. Většina v současné době testovaných senzorů pro měření glykemie využívá měření hladin glykemie v intersticiální tekutině tukové tkáně [17]. Zatímco u zdravých jedinců i diabetiků byla prakticky ve všech studiích nalezena velmi dobrá korelace mezi glykemií v intersticiu tukové tkáně a glykemií systémovou, tento vztah byl dosud velmi málo studován u pacientů v těžkém stavu. U těchto nemocných může být tento poměr výrazně změněn v důsledku hypoperfuze tukové tkáně či jiných příčin.

Naše studie ukázala, že u většiny pacientů po kardiochirurgických operacích byla přítomna relativně těsná korelace mezi arteriálními a inter-

sticiálními koncentracemi glukózy (graf 1 a 2). U 19 pacientů byl korelační koeficient vyšší než 0,66. U 1 pacienta byla však korelační koeficient velmi nízký.

V dalších krocích analýzy dat jsme se snažili objasnit příčiny odchylek v korelaci arteriálních a intersticiálních koncentrací. Zaměřili jsme se především na možný vliv lokální tkáňové ischemie v tukové tkáni, která by mohla vést ke zhoršení této korelace. Jako parametr tkáňové ischemie jsme využili stanovení poměru laktát/pyruvát v intersticiu [18]. Pacienty jsme poté rozdělili do 2 skupin podle mediánu tohoto poměru. Zvýšený poměr laktát/pyruvát, signalizující tkáňovou ischemii, neměl negativní vliv na korelaci intersticiálních hladin glukózy, naopak průměrný korelační koeficient byl v této skupině mírně vyšší než u pacientů s relativně nižším poměrem laktát/pyruvát ($0,80 \pm 0,09$ vs $0,74 \pm 0,20$, $p > 0,05$). Ani zvýšené hladiny krevního laktátu tuto korelaci výrazně neovlivnily.

Zajímavým jevem byla variabilita výtěžnosti (recovery) u jednotlivých pacientů, která se pohybovala od 8 do 78 %. Ani tato variabilita však neměla signifikantní vliv na korelaci hladin glukózy (korelační koeficient u skupiny s nižší recovery byl $0,67 \pm 0,12$ vs $0,7 \pm 0,16$ u skupiny s dobrou výtěžností, $p > 0,05$). Samotná výtěžnost nebyla ovlivněna předpokládanou tkáňovou ischemií. U pacienta s velmi nízkým korelačním koeficientem jsme nezaznamenali výraznější odchylku ve sledovaných laboratorních i klinických parametrech. Příčina této variability není zcela objasněna, a je jistě multifaktoriální. V současné době se v tomto ohledu zaměřujeme na sledování vlivu medicíny a vedení infuzní terapie na tkáňovou perfuzi a koncentrační gradient na mikrodialyzační membráně.

Mezi jednotlivými pohlavími jsme nezaznamenali významný rozdíl v in-

tersticiálních koncentracích ($3,56 \pm 0,65$ mmol/l u mužů vs $3,54 \pm 0,25$ mmol/l u žen) ani v korelaci intersticiálních a arteriálních koncentrací ($0,78 \pm 0,16$ vs $0,72 \pm 0,11$ mmol/l). Je však nutno podotknout, že poměr obou pohlaví je nevyrovnaný (převa- ha mužů), neboť tento faktor nebyl brán v úvahu při zařazování subjektů do studie.

Důležitou otázkou, na kterou naše studie nedala jednoznačnou odpověď, zůstává vliv závažných poruch perfuze na hladiny intersticiální glukózy v tukové tkáni. Pacienti v našem souboru byli v relativně stabilizovaném stavu, s běžným pooperačním průběhem bez výraznějších komplikací. U 3 pacientů bylo nutné přistoupit k operační revizi, u těchto pacientů jsme však nezaznamenali horší korelaci arteriálních a intersticiálních koncentrací glukózy. Z hlediska použití tukové tkáně k umístění biosenzorů u kriticky nemocných zůstává problémem i kalibrace intersticiálních koncentrací na koncentrace v arteriální krvi. V naší studii jsme využili 1 bodovou kalibraci (graf 3), při níž byl stanoven poměr arteriální a intersticiální koncentrace glukózy na začátku sledování. U některých pacientů byl průběh křivky koncentrací intersticiální glukózy v čase po přepočtu prakticky shodný s křivkou pro arteriální glykemii, u některých pacientů tomu tak nebylo. Příčinou je nejčastěji špatná korelace intersticiální a arteriální koncentrace glukózy v bodě kalibrace, neboť po opakované kalibraci v jiném bodě časové osy již byly ve většině případů průběhy křivek uspokojivé. Z tohoto důvodu bude nutné vypracovat a zhodnotit alternativní metody kalibrace.

Závěr

V naší studii jsme prokázali dobrou korelaci mezi arteriálními a intersti-

ciálními koncentracemi glukózy u pacientů po kardiokirurgickém výkonu v relativně stabilizovaném klinickém stavu. Neexistují však zatím studie, které by korelovaly tyto koncentrace u pacientů v extrémně kritickém stavu. Z tohoto důvodu jsou nutné další studie, ve kterých budou hodnoceny intersticiální hladiny glukózy a dalších metabolitů u komplikovanějších pacientů vystavených větší tkáňové hypoperfuzi (septičtí pacienti, perioperační monitorování u pacientů na extrakorporálním oběhu apod). Nezbytné bude i vypracování spolehlivých technik kalibrace intersticiálních hladin glykemie na glykemii systémovou.

Studie byla podporována 6. rámcovým programem EU Clinicip a VZ MZ ČR 64165.

Literatura

1. Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F et al. Intensive insulin therapy in the critically ill patients. *N Engl J Med* 2001; 345: 1359–1367.
2. Pittas AG, Siegel RD, Lau J. Insulin therapy for critically ill hospitalized patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2004; 164: 2005–2011.
3. Furnary AP, Wu Y, Bookin SO. Effect of hyperglycemia and continuous intravenous insulin infusions on outcomes of cardiac surgical procedures: the Portland Diabetic Project. *Endocr Pract* 2004; 10: Suppl 2: 21–33.
4. Van den Berghe G. How does blood glucose control with insulin save lives in intensive care? *J Clin Invest* 2004; 114: 1187–1195.
5. McCowen KC, Malhotra A, Bistrian BR. Stress-induced hyperglycemia. *Crit Care Clin* 2001; 17: 107–124.
6. Grimble RF. Inflammatory status and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5: 551–559.
7. Aulak KS, Koeck T, Crabb JW et al. Dynamics of protein nitration in cells and mitochondria. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H30–H38.

8. Ellmerer M, Haluzik M, Blaha J et al. Clinical Evaluation of Alternative Site Glucose Measurements in Patients after Major Cardiac Surgery. *Diabetes Care* 2006; 29: 1275–1281.
9. Plank J, Blaha J, Cordingley J et al. Multicentric, randomized, controlled trial to evaluate blood glucose control by the model predictive control algorithm versus routine glucose management protocols in intensive care unit patients. *Diabetes Care* 2006; 29: 271–276.
10. Štich V. Mikrodialýza – nová metoda sledování metabolismu tukové tkáně. *DMEV* 1998; 1: 90–93.
11. Eliasson A. Microdialysis – principles of recovery, 1991 CMA, Sweden, www.microdialysis.se
12. Trajanoski Z, Brunner GA, Schaupp L et al. Open-flow microperfusion of subcutaneous adipose tissue for on-line continuous ex vivo measurement of glucose concentration. *Diabetes Care* 1997; 20: 1114–1121.
13. Arner P. Use of microdialysis to study metabolism in humans. *Microdialysis Academy* 1997; 3.
14. Röjdmarm J. Microdialysis in plastic surgery. *Microline* 1997; vol. 3. www.microdialysis.se.
15. Nordström C. Implementation of intracerebral microdialysis in neurointensive care. *Microline* 1997; 3. www.microdialysis.se.
16. Schaupp L, Ellmerer M, Brunner GA et al. Direct access to interstitial fluid in adipose tissue in humans by use of open-flow microperfusion. *Am J Physiol* 1999; 276: E401–E408.
17. Pfeiffer EF, Meyerhoff C, Bischof F et al. On line continuous monitoring of subcutaneous tissue glucose is feasible by combining portable glucosensor with microdialysis. *Horm Metab Res* 1993; 25: 121–124.
18. Ungerstedt U, Rostami E. Microdialysis in neurointensive care. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 2145–2152.

MUDr. Jaromír Křemen

www.vfn.cz

e-mail: jkrem@lf1.cuni.cz

Doručeno do redakce: 12. 4. 2006

Přijato po recenzi: 7. 6. 2006