

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Studijní program: Biomedicína
Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



**Změny hemokoagulace v souvislosti s použitím
mimotělního oběhu.**

Haemocoagulation changes
caused by cardiopulmonary bypass.

MUDr. Jana Šnircová
(roz. Drahovská)

Disertační práce

Praha 2013

Školitel: **prof. MUDr. Tomáš Vaněk, CSc.**

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou disertační práci zpracovala samostatně pod odborným vedením mého školitele prof. MUDr. Tomáše Vaňka, CSc. V práci jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 27. 5. 2013

MUDr. Jana Šnircová

Poděkování

Kolegům MUDr. Martinu Jarešovi, PhD. a MUDr. Jánů Špegárovi děkuji za pomoc, dobrou spolupráci a kolegiální přístup. Vedoucí perfuzionistů Mgr. Štěpánce Suchopárové děkuji za ochotu a pomoc při výzkumu. Také chci poděkovat celému týmu kardiologů, anesteziologů, perfuzionistů a sester Kardiologické kliniky 3.LF za spolupráci na studii. Statistické zhodnocení provedl RNDr. Marek Malý, CSc., z oddělení biostatistiky a informatiky SZÚ v Praze, kterému bych chtěla tímto také poděkovat.

Největší poděkování patří mému školiteli prof. MUDr. Tomáši Vaňkovi, CSc. za odborné vedení méj vědecké přípravy, mnoho cenných rad při studiu, vytvoření dobrých podmínek k práci, trpělivost, laskavost a čas věnovaný této dizertační práci.

Váženého čtenáře bych poprosil o vřídnost při čtení, a to z důvodu, že mým mateřským jazykem je slovenština.

Doktorandský výzkum byl podpořen Kardiologickým výzkumným záměrem Univerzity Karlovy v Praze č. MSM0021620817.

Identifikační záznam:

Šnicová, Jana. *Změny hemokoagulace v souvislosti s mimotělním oběhem*. [Haemocoagulation changes caused by cardiopulmonary bypass]. Praha 2013. 100 s. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Kardiochirurgická klinika FNKV a 3. LF UK. Školitel: prof. MUDr. Tomáš Vaněk, CSc.

Obsah

Použité zkratky	7
1 Úvod.....	8
1.1 Mimosřetňnř obřh (MO).....	8
1.1.1 Historie mimosřetňnřho obřhu.....	8
1.1.2 Zřkladnř uspořřdřnř MO	9
1.2 Hemokoagulace břhem MO	11
1.2.1 Fyziologie hemostřzy	11
1.2.1.1 Plazmatickř faktory.....	11
1.2.1.2 Regulřtory hemokoagulace	15
1.2.1.3 Fibrinolytickř systřm.....	15
1.2.1.4 Trombocyty.....	18
1.2.1.5 Endotel.....	18
1.2.2 „Fyziologie“ a patofyziologie hemostřzy břhem MO.....	19
1.2.2.1 Aktivace koagulace	21
1.2.2.2 Trombin.....	24
1.2.2.3 Endotelovř buňky	24
1.2.2.4 Trombocyty.....	25
1.3 Faktory ovlivňujřcř koagulaci přř použitř MO	28
1.3.1 Umřřlř povrch a biokompatibilita vnitřnřho povrchu okruhu pro MO	29
1.3.2 Koronřrnř sřnř a venty	30
1.3.3 Tkřřňovř perfuze břhem MO a postischemickř reperfuze ...	31
1.3.4 Teplota.....	32
1.3.5 Antikoagulace břhem MO.....	32
1.4 Fibrinolřza a hyperfibrinolřza	34
1.4.1 Etiopatogeneze.....	34
1.4.2 Klinickř obraz.....	35
1.4.3 Diagnostika	36
1.4.4 Terapie.....	37

1.4.4.1 Aprotinin	37
1.4.4.2 Syntetická analoga lyzinu	38
1.4.5 Fibrinolýza v kardiochirurgii	38
1.5 Tromboelastografie (TEG)	39
2 Hypotézy a cíle práce	44
2.1 Pilotní studie	44
2.2 Experimentální studie	44
3 Klinická studie	46
3.1 Pilotní studie	46
3.1.1 Výběr pacientů	46
3.1.2 Metodika	46
3.1.3 Výsledky	48
3.1.4 Diskuse	51
3.1.5 Závěr	53
3.2 Experimentální studie	53
3.2.1 Pacienti	53
3.2.2 Metodika	54
3.2.2.1 Skupina A – konvenční MO	54
3.2.2.2 Skupina B – bez použití MO	54
3.2.2.3 Skupina C – modifikovaný MO	55
3.2.3 Výsledky	56
3.2.4 Diskuse	65
4 Souhrn výsledků a závěry	67
5 Souhrn	70
6 Použitá literatura	74
Seznam publikací autora	91
Seznam obrázků	97
Seznam tabulek	98
Seznam příloh	99

Použité zkratky

APTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas
ATIII	antitrombin III
ACT	aktivovaný koagulační čas
CFT	čas tvorby koagula
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulace
FDP	fibrin-degradační produkty
IF	impakt factor
INR	international normalization ratio
LOT	čas nástupu lýzy koagula
MCF	maximální pevnost koagula
MO	mimotělní oběh
PAI	inhibitor aktivátoru plazminogenu
ROTEM	rotační tromboelastografie
TEG	tromboelastografie
TF	tkáňový faktor
TAFI	trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy
TFPI	inhibitor tkáňového faktoru
t-PA	tkáňový aktivátor plazminogenu
u-PA	urokinázový aktivátor plazminogenu

1 Úvod

Srdeční operace s použitím mimotělního oběhu (MO) představuje směs řady prokoagulačních a antikoagulačních stimulů, jejichž výsledek je u konkrétního pacienta někdy obtížně předvídatelný. Situaci dále komplikuje požadavek na silnou antikoagulaci, následovanou rychlým přechodem do normokoagulace (1).

Závažnou komplikací perioperačního a pooperačního období je krvácení. U pacientů podstupujících operaci s použitím MO se vyskytuje excesivní krvácení s nutností reoperace v rozmezí od 2 až do 12 % (2). Důvodem krvácení bývá až v polovině případů porucha koagulace (3). Studie potvrzují souvislost reoperací pro krvácení s vyšším výskytem renálního selhání, ARDS, sepse, s delší hospitalizací i morbiditou (2, 4).

Přes fakt, že od prvního použití MO v kardiochirurgii uběhlo více než půl století, jsme pořád konfrontováni se stejnými výzvami, jako jeho vynálezce. Již Gibbon si uvědomoval závažnost a možné fatální účinky kontaktu krve s cizími povrchy, v souvislosti s mimotělním oběhem (5).

1.1 *Mimotělní oběh (MO)*

V době srdeční zástavy při chirurgických výkonech na srdci nebo velkých cévách zajišťuje mimotělní oběh (MO) nejdůležitější tělesné funkce: zachování krevního oběhu a oxygenaci organismu.

1.1.1 Historie mimotělního oběhu

Mimotělní oběh (MO) je nezbytnou součástí kardiochirurgických operací přes padesát let (6, 7). Prvnímu úspěšnému klinickému

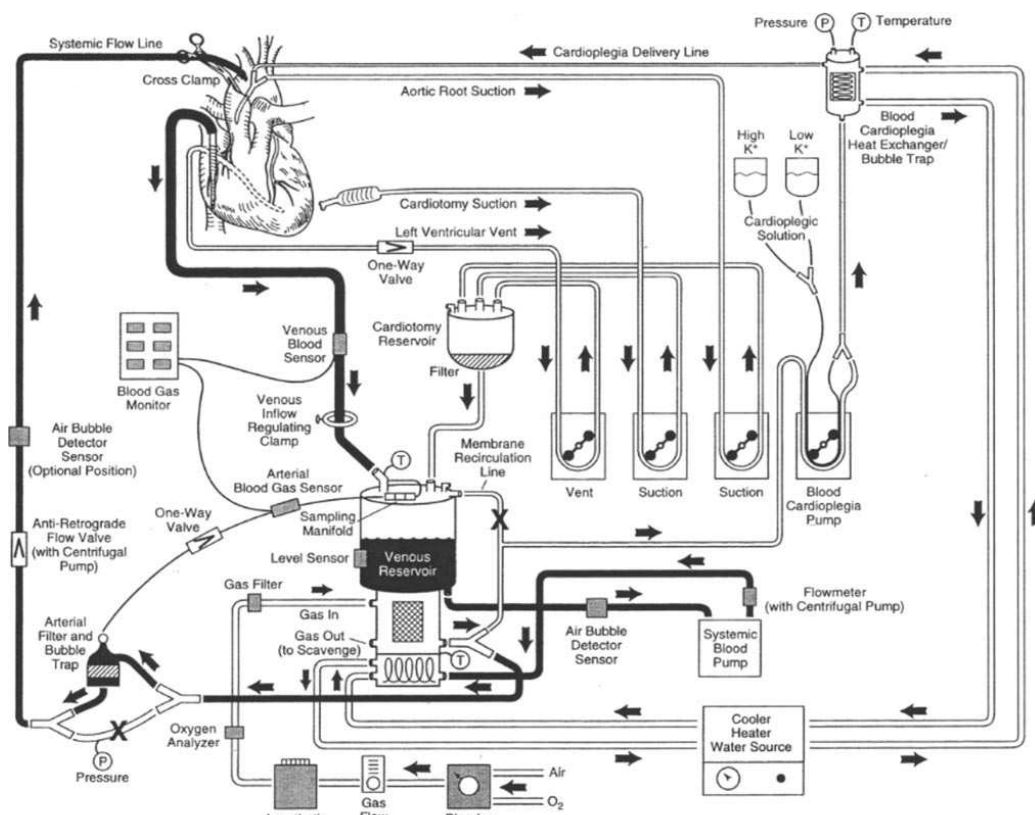
použití v roce 1953 (Gibbon; Boston, USA) předcházelo 20 let experimentální práce a následujících 30 let přispělo k tomu, aby se mortalita spojená s touto technologií o jeden řád snížila (8).

Původní MO byl Gibbonem sestrojen v roce 1930 pro podporu životních funkcí u zvířat během Trendelenburgovy operace a plicní embolotomie. Tehdy byl ale spojený s téměř 100% úmrtností. Jeho prvním klinickým úspěchem byl operační uzávěr defektu mezisíňové přepážky, kterou provedl u 18-leté ženy v roce 1953. Druhou úspěšnou operaci pomocí MO provedl Clarence Crafoord ve Švédsku v roce 1954 (9). Nejvýznamnější podíl na vývoji mimotělního oběhu měli v padesátých letech John Kirklin (Mayo Clinic) a C. Walton Lillehei (University of Minnesota). Kirklin provedl sérii kardiologických operací s použitím různě modifikovaného Gibbonova mimotělního oběhu se slibnými výsledky. V té době C. Walton Lillehei zavedl do praxe bublinový oxygenátor, který představoval obrovský pokrok ve zjednodušení a zpřístupnění mimotělního oběhu. První bublinový oxygenátor s integrovaným tepelným čerpadlem zavedl v roce 1955 DeWall s kolegy. Bublinové oxygenátory pak byly nahrazeny dnešními membránovými oxygenátory. Poprvé byly popsány Wilhelmem Kolfem v roce 1956 a do klinické praxe je zavedli Frank Gerbode a Arnold J. Lande v roce 1966 (9).

1.1.2 Základní uspořádání MO

Základní okruh pro mimotělní oběh tvoří arteriální a venózní kanyla a jejich hadicový systém, venózní rezervoár, pumpa (čerpadlo pro vedení MO) a oxygenátor s výměníkem tepla. Z horní a dolní duté žíly a/ nebo pravé síně je venózní krev drénována přes venózní kanyly do venózního rezervoáru. Odtud krev odtéká do mechanické pumpy, která ji pumpuje přes výměník tepla do oxygenátoru. Okysličená krev se vrací přes arteriální filtr do ascendentní aorty přes

arteriální kanylu. Vedle hlavních součástí obsahuje okruh další komponenty. Především je to říditelná venózní klapka, kterou se reguluje venózní návrat z pacienta. Dalším komponentem je arteriální svorka, jež musí být zapojena v případech, kdy není spuštěný MO, aby nedocházelo ke zpětnému proudění krve. Dále je zapotřebí několika sacích systémů k odsávání krve a vzduchu z otevřených srdečních dutin (kardiotomické sání), kořene aorty, z levostranných srdečních oddílů (dekomprese srdce, nebo-li vent) a z operačního pole. Tato krev je nasávána do tzv. kardiotomického rezervoáru s filtrem, a pak je přepouštěna do venózního rezervoáru. K okruhu se kromě dekompresních systémů (ventů) připojují další přídavná zařízení: hemokoncentrátory, systémy pro krevní kardioplegii a další. Krev stékající do operačního pole včetně kardioplegie může být také zpracována či rekuperována pomocí koncentrátoru nebo centrifugy (Cell Saver), než se vrátí do MO (8, 10). Celý systém je schématicky znázorněn na obrázku č. 1.



Obrázek č. 1. Schéma typického MO zobrazuje všechny základní komponenty popsané v textu (10)

1.2 Hemokoagulace během MO

1.2.1 Fyziologie hemostázy

Hemostáza je komplexní děj, který vede k zástavě krvácení a který se v závislosti na věku vyvíjí. Za fyziologických podmínek se zástavy krvácení a udržování tekutosti krve účastní cévní endotel, subendotelové struktury, hladké svalstvo cévní stěny, trombocyty, koagulační faktory (aktivátory a inhibitory) a krevní proud, který je aktivním účastníkem těchto dějů. Výsledkem jejich interakcí je lokální ucpání otvoru v cévě: poraněná céva se zúží, trombocyty zalepí během 2-4 min. otvor a nakonec se vytvoří činností koagulačního systému pevná fibrinová sraženina, která se pak stáhne a vznikne stabilní zátka. Pozdější rekanalizaci cévního lumina zajišťuje fibrinolýza (11). Pouze perfektně vyvážený stav mezi prokoagulačními, inhibičními a fibrinolytickými procesy zaručuje, že nedojde k nežádoucím krvácivým stavům či naopak k nekontrolovatelnému krevnímu srážení (12).

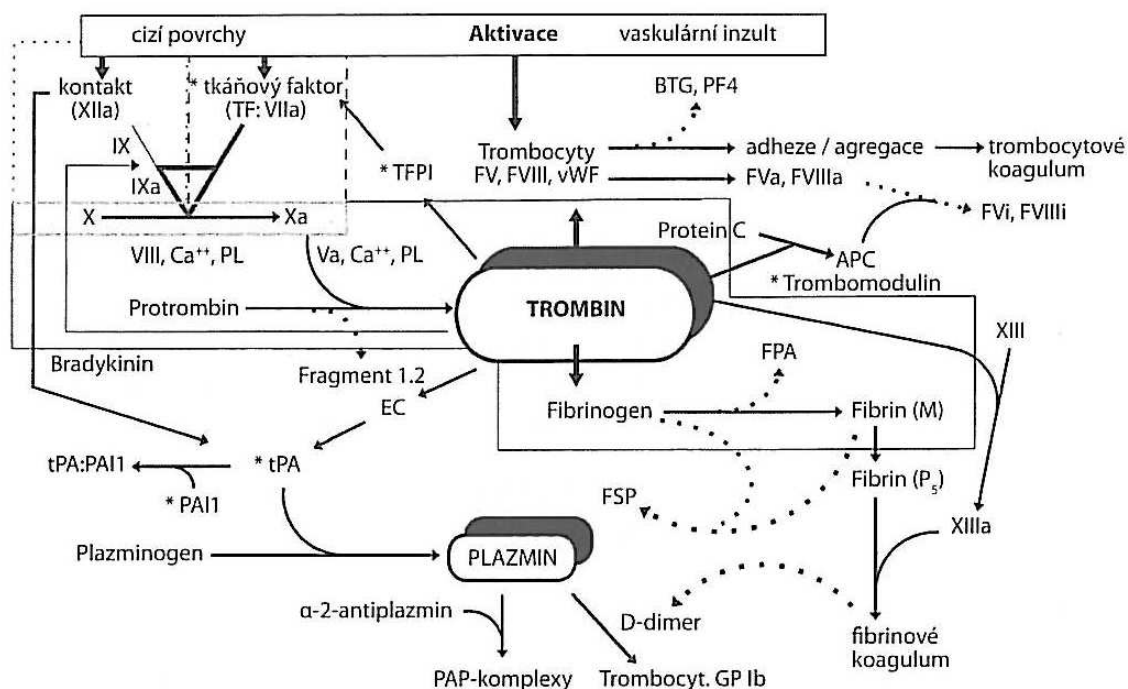
1.2.1.1 Plazmatické faktory

Koagulační kaskáda glykoproteinů v plazmě je v podstatě amplifikační systém pro přeměnu protrombinu na trombin – klíčový regulační enzym. Pro jednoduchost popisu jsou enzymatické reakce v plazmě rozděleny na zevní a vnitřní cestu, které spolu vzájemně souvisejí a slouží jako „spínač“ tzv. protrombinázového komplexu. Zevní cesta je pro aktivaci trombinu důležitější a rychlejší, přičemž vnitřní cesta ji doplňuje či zesiluje. K aktivaci zevní cesty je zapotřebí odhalení tkáňového faktoru (TF), který je přítomný v nadbytku na membránách buněk subendotelia (porušení cévy) a v granulích trombocytů (aktivace destiček). Endotelové buňky, ačkoliv normálně atrombogenní, se stávají významným zdrojem TF po inzultu typu ischemie-reperfuze či sepse (endotoxin, proinflamační cytokiny). TF

společně s faktorem VII a Ca^{2+} aktivuje faktor IX (vazba na vnitřní cestu) a FX (společný faktor obou cest).

Vnitřní (kontaktní) cesta zahrnuje vazbu faktoru XII na negativně nabitě povrchy, což vede postupně až k aktivaci faktoru X za účasti faktorů XI, IX, destičkového faktoru 3, kofaktoru VIII a Ca^{2+} . Současně vzniká kalikrein, který slouží k posílení aktivace kaskády (pozitivní zpětná vazba), ale také ke slabé aktivaci fibrinolýzy (negativní zpětná vazba) a komplementového systému.

Společná cesta začíná na faktoru X, který katalyzuje přeměnu protrombinu na trombin, a ten fibrinogen na fibrinové monomery, jež vytvoří síť za pomoci faktoru XIII a Ca^{2+} . Trombin, vedle katalýzy fibrinogenu, reguluje řadu dalších reakcí jako aktivaci faktorů V a VIII (pozitivní zpětná vazba), faktoru XIII, silně stimuluje trombocytovou adhezi i agregaci, uvolňuje t-PA z endotelu (resorpce koagula) a aktivuje protein C, jenž inhibuje faktory V a VIII (negativní zpětná vazba). Všechny tyto děje probíhají nejefektivněji na povrchu trombocytů nebo aktivovaného endotelu, sloužícího ke kritickému přiblížení proteázo-kofaktorových komplexů, což zrychluje reakce asi 3000x (1) (obrázek č. 2).



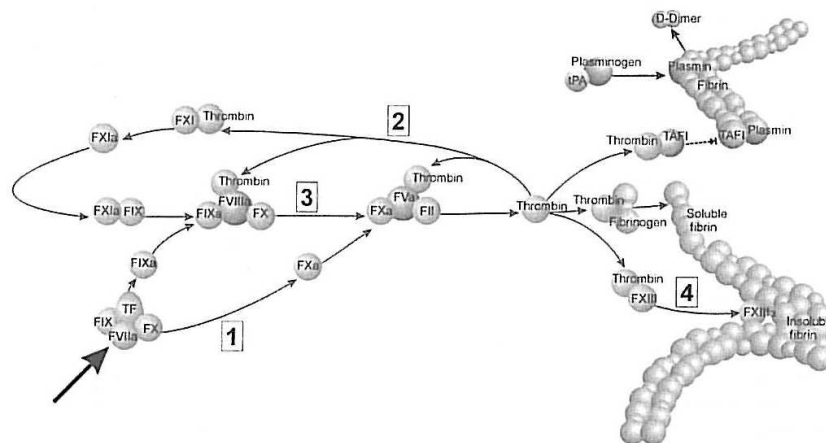
Vaskulární inzult (mechanický, ischemický), infekce (cytokiny), cizí povrch (MO, endotoxin, vzduch) vede k současné aktivaci vnitřní (kontaktní, FXII) cesty, zevní cesty (TF), endotelových buněk (adhezivní molekuly), trombocytů, ale také fibrinolytického systému. Společná plazmatická cesta začíná vznikem protrombinázového komplexu (Xa + Va + Ca + fosfolipid), jenž katalyzuje vznik trombinu – klíčového regulačního enzymu. Trombin přeměňuje fibrinogen na fibrin, aktivuje destičky, kofaktory V VIII, ale také zahajuje útlum hemostázy aktivací proteinu C a uvolněním t-PA a TFPI. Tečkované linky znázorňují tvorbu vedlejších produktů, aktivované faktory jsou označeny malým „a“, inaktivované faktory jsou označeny malým „i“, PT1.2 = protrombinový fragment 1.2, Ca²⁺ značí kalciové kationy, TFPI = inhibitor tkáňového faktoru, FPA = fibrinopeptid A, PL = fosfolipid, PAP = plazmám-antiplazminové komplexy, EC = endotelové buňky, t-PA:PAI1 = t-PA-PAI1-komplex, fibrin M = fibrinové monomery, fibrin P = fibrinové polymery, PAI1 = inhibitor plazminového aktivátoru, t-PA = tkáňový aktivátor plazminogenu, FDP = fibrinogen-fibrin degradační produkty, D-dimer = polymerizované fibrinové degradační produkty, * označuje přítomnost endotelových buněk.

Obrázek č. 2. Mechanismus aktivace hemostázy a fibrinolýzy během srdeční operace

Upraveno dle Despotis GJ, Gravlee G, Filos K, Levy J. Anticoagulation monitoring dutiny cardiac surgery. A review. *Anaesthesiology* 1999, 91:1122.

Ačkoliv klasické rozdělení aktivace plazmatické koagulace na zevní, vnitřní a společnou cestu má stále svou hodnotu, z hlediska dynamiky procesu je systém lépe popsán čtyřmi fázemi: iniciací, amplifikací, propagací a stabilizací. Klíčem dynamického modelu je měnící se množství trombinu. V iniciační fázi vzniká malé množství trombinu (FIIa), počínající odhalením tkáňového faktoru (TF) na porušeném

endotelu. Amplifikace slouží ke vzniku takového množství trombinu, které je již schopno generovat fibrinové monomery. Podílí se na tom několik zpětnovazebních okruhů jako zesílení generace FVII, zapojení neenzymatických faktorů FV, FVIII a aktivace FXI. Propagace neboli udržení kontinuální tvorby trombinu je zajištěna tzv. vnitřním tenázovým komplexem (FIXa + FVIIIa). První fibrinové monomery vedou zpětně k maximální produkci trombinu, což je poslední stabilizační fáze. Teprve toto kritické množství trombinu je totiž schopné aktivovat FXIII, který umožní přeměnu solubilních fibrinových monomerů do pevné fibrinové sítě. Zároveň se aktivuje tzv. trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy (TAFI), který chrání sraženinu před fibrinolýzou (obrázek č. 3) (1).



Obrázek č. 3. Dynamický model plazmatické koagulace a fibrinolýzy

Upraveno dle Boubeli T, Spahi DR. Updates in perioperative coagulation: physiology and management of thromboembolism and haemorrhage. British Journal of Anaesthesia 2004, 93(2):275.

In vivo koagulační proces startuje iniciační fází hlavně vazbou FVIIa na TF (černá šipka), který pak aktivuje FX (1) a FIX (2). K dalšímu zvýšení tvorby trombinu (amplifikační fáze) slouží pozitivní zpětná vazba, kdy trombin aktivuje FV, FVIII a FXI. Propagační fází neboli udržování tvorby trombinu zajišťuje hlavně trvalá tvorba FXa přes vnitřní tenázový komplex (FIXa plus FVIIIa). Stabilizační fáze

znamená maximální tvorbu trombinu, která jediná může aktivovat FXIII k přeměně fibrinových solubilních monomerů do fibrinové sítě (1).

1.2.1.2 Regulátory hemokoagulace

Koagulační kaskáda plazmatických faktorů, patřících do skupiny serinových proteáz, je regulována proteázovými inhibitory zvanými serpiny. Ty mají za úkol zabránit neúčelné progresi tvorby koagula mimo oblast poškození. Serpiny zahrnují antitrombin III (ATIII), heparinový kofaktor II, protein C a S, alfa₁-antitrypsin, alfa₂-makroglobulin aj. ATIII se považuje za nejdůležitější inhibitor krevní koagulace, který se významně podílí na atrombogenitě endotelu vazbou na heparan a dále inhibuje trombin a faktory XI, IX, XII, X.

Heparinový kofaktor II inhibuje také trombin. Velké dávky heparinu jej aktivují, což vysvětluje antikoagulační efekt dávek heparinu při deficitu ATIII. Protein C inhibuje faktory V a VIII a patří mezi vitamin K-dependentní faktory.

Inhibitor tkáňového faktoru (TFPI), který není serpin, brzdí zevní cestu aktivace FX. Heparin uvolňuje TFPI z endotelu (1).

1.2.1.3 Fibrinolytický systém

Fibrinolytický systém představuje další skupinu regulačních enzymů, které udržují průchodnost cév rozpuštěním stabilního fibrinového koagula degradací fibrinu. (1).

Základní složkou fibrinolytického systému je plazminogen, který je prekurzorem aktivního enzymu – serinové proteázy plazminu. Nejdůležitějšími aktivátory plazminogenu jsou tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA) a urokináza (u-PA). Oba aktivátory jsou secernovány endotelem (12) Urokinázový aktivátor plazminogenu (u-PA) se slabě váže na fibrin, primárně působí extravaskulárně

v extracelulární matrix a v MO sehrává jen malou roli (13). Fibrinolytický systém tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA), který je produkován endotelovými buňkami po aktivaci trombinem, umožňuje lokální lýzu intravaskulárního trombu bez poškození cévní stěny (14).

Plazminogen je po navázání na stabilní fibrinové koagulum aktivován svými aktivátory na plazmin. Plazmin působí za fyziologických podmínek proteolyticky pouze v místě fibrinového koagula, a to pouze na jeho povrchu. Tím vede k jeho rozpuštění a obnovení krevního toku. Za fyziologických podmínek je plazmin generován pouze na povrchu koagula. Fibrinolýza se svými postupnými a navazujícími procesy velmi podobá koagulačnímu systému a k její aktivaci dochází souběžně s aktivací hemokoagulačních procesů. Plazminogen se váže na fibrin přes vazebná místa lysinu. V místech navázaného plazminogenu jsou vazebná místa i pro jeho aktivátory. Aktivace t-PA je významně urychlena fibrinem, který slouží jako kofaktor při aktivaci plazminogenu.

Zvýšení fibrinolytických aktivit i mimo místo poraněné cévy může vést ke krvácení, snížení fibrinolytických schopností krve může naopak vyvolat trombotické stavy. Aktivaci plazminogenu potencují i faktory tzv. kontaktního systému – FXIIa, prekallikrein a jeho neenzymatický kofaktor – vysokomolekulární kininogen (HMWH). (12)

Přirozenými inhibitory fibrinolytického systému jsou inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1,2,3), α 2-antiplazmin a TAFI (trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy). Inhibitory PAI-1,2,3 a α 2-antiplazmin patří mezi inhibitory serinových proteáz, tzv. serpiny. Jejich úkolem je zajištění lokalizace fibrinolýzy na místo fibrinového koagula a zamezení šíření fibrinolytických procesů do okolí. PAI-1 patří spolu s fibrinogenem, CRP a dalšími proteiny mezi proteiny akutní fáze. Jeho vzestup svědčí o poškození endotelu.

TAFI je metalokarboxypeptidáza, která hraje klíčovou roli mezi prokoagulačními, inhibičními a fibrinolytickými systémy. Aktivace TAFI je ovlivněna komplexem trombin-trombomodulin, ale i vysokými koncentracemi plazminu a trombinu (15). K aktivaci trombinem aktivovaného inhibitoru fibrinolýzy (TAFI) vedou nízké koncentrace trombomodulinu, při vyšších koncentracích trombomodulinu se aktivace TAFI snižuje. TAFI snižuje hydrolytickým štěpením v koncových oblastech řetězce fibrinu počet vazebných míst pro plazminogen a t-PA a tím přímo inhibuje plazmin a prodlužuje lyzi trombu (16).

Při štěpení fibrinogenu a rozpustného fibrinu vznikají vysokomolekulární (X a Y) a nízkomolekulární (D a E) fragmenty. Fragmenty X a Y tvoří s monomery fibrinu rozpustné komplexy. Brání tím polymeraci fibrinu a vzniku nerozpustné fibrinové sítě. Jsou schopny blokovat i agregaci trombocytů vazbou na destičkové glykoproteinové receptory GP IIb/IIIa. Fragmenty D a E jsou přímo odbourávány v monocyto-makrofágovém systému. Při degradaci nerozpustného fibrinu plazminem probíhá štěpení obdobné. Uvolňují se fragmenty X a Y, ale ty se díky přítomným kovalentním vazbám v nerozpustném fibrinovém koagulu od sebe neoddělují. Konečné fragmenty štěpení fibrinu o MW 182 kDa se nazývají D-dimery. Průkaz D-dimerů je přímým důkazem štěpení nerozpustného fibrinu a známkou trombofilního stavu. Hyperfibrinolýza je spojena s nadprodukcí plazminu a těžkými krvácivými stavy (polytraumata, sepse, DIC). Paradoxně však může být i predispozicí ke vzniku trombotické komplikace. Hyperfibrinolytický stav lze velmi těžce běžnými laboratorními testy prokázat. Jediným spolehlivým laboratorním testem k průkazu hyperfibrinolýzy je trombelastografie – TEG (12).

1.2.1.4 Trombocyty

Neaktivované trombocyty, které jsou normálně přítomny v krvi v množství od 150 000 do 400 000/ μl ($1,5-4 \times 10^{11}/\text{l}$), mají receptory pro kolagen, fibronektin, von Willebrandův faktor, vitronektin, laminin, trombin, ADP, tromboxan A_2 , PECAM (CD31) a některé jiné molekuly. Aktivaci trombocytů (tzv. viskózní metamorfózu) vyvolá jejich vazba na kolagen, fibronektin, vitronektin, laminin a von Willebrandův faktor, působení trombinu (koagulačního faktoru IIa) za účasti Ca^{2+} , adrenalinu a ADP. Ve svých granulech obsahují řadu účinných látek, které mohou po své aktivaci rychle uvolnit do okolí. Aktivace trombocytů proto vyvolá řadu místních reakcí včetně aktivace dalších trombocytů (pozitivní zpětná vazba). Aktivované trombocyty začnou syntetizovat další účinné látky (prostaglandiny, tromboxan A_3 aj.). Aktivované trombocyty také zvýšeně exprimují glykoproteiny IIb-IIIa, které představují receptor pro fibrinogen. Prostřednictvím tohoto receptoru, plazmatického fibrinogenu a destičkového fibrinogenu uvolňovaného po jejich aktivaci dochází k agregaci trombocytů (11).

1.2.1.5 Endotel

Endotelové buňky zajišťují nesmáčivý cévní povrch a udržují otevřené cévní lumen, podílejí se na regulaci vazomotoriky a na funkci trombocytů v hemostáze (12).

Cévní endotel má mnohonásobný mechanismus pro zabezpečení antikoagulačního povrchu (91). Charakteristickým znakem buněk endotelu je, že nemají na svém povrchu TF, jako normální součást buněčné stěny. Avšak po vystavení endotoxinu a TNF (tumor necrosis factor) ho mohou exprimovat ve své membráně. Většina ostatních buněk, hlavně buňky subendotelové a buňky intimy,

mají na svém povrchu TF, čímž vytvářejí podnět pro tvorbu trombu v místě poškození endotelu (17).

Schopnost endotelu vytvořit netrombogenní povrch je aktivní děj, vytvořený neustálou interakcí s buněčnými a humorálními faktory krve. Antitrombotické mechanismy nejsou bezezbytku prozkoumány, ale podílí se na nich: negativní elektrický náboj na zevní straně buněčné membrány (heparansulfát); kontinuální sekrece vazodilatačních látek jako NO, prostaglandin I₂ a adenosin udržující vasodilataci a zamezující adhezi a agregaci trombocytů; exprese heparinu podobných glykosaminoglykanů pro zesílení účinku antitrombinu III a tím prevenci tvorby fibrinu. Endotelové buňky jsou také zdrojem tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA), katalyzujícího přeměnu plazminogenu na plazmin, který podněcuje lýzu lokálních fibrinových trombů (17).

Kromě dynamické prevence koagulace endotel aktivně podporuje koagulaci jako odpověď na poškození, a to lokálně i celkově. Aktivace endotelových buněk zánětlivými cytokiny vede k transkripci genu pro trombomodulin s následným objevením se trombomodulinu na povrchu endotelových buněk za 2 hodiny (18, 19, 20). Trombomodulin je tak posledním přirozeným antitrombotickým mechanismem endotelu. Jde o membránově vázaný protein exprimovaný na povrchu endotelových buněk. Trombomodulin tvoří s trombinem komplex, který aktivuje protein C. V přítomnosti kofaktoru proteinu C vytváří trombomodulin-trombin-aktivovaný-protein-C komplex inhibující koagulaci inaktivací faktorů V a VIII (11, 21, 22).

1.2.2 „Fyziologie“ a patofyziologie hemostázy během MO

Mimotělní oběh s sebou přináší specifické podmínky, které mají za následek celou řadu změn v normální funkci orgánů.

Kay ve své práci zavádí pojem fyziologie mimotělního oběhu. Fyziologií MO se rozumí fungování organismu v podmínkách, kdy je žilní krev odváděna mimo žilní systém do oxygenátoru, okysličována a čerpána zpět do tepenného systému nemocného. „Fyziologické funkce“ organismu během MO jsou pak za těchto podmínek zcela odlišné od fyziologických funkcí za normálních podmínek (23). Někdy je ovšem velmi těžké nebo přímo nemožné určit hranici mezi tím, co je ještě tzv. fyziologická odpověď organismu na zátěž mimotělním oběhem a co je již poškození organismu, které v důsledku použití vzniklo (24).

Stručný přehled hemostatických abnormalit vyskytujících se v průběhu MO zobrazuje tabulka č. 1 (1).

Tabulka č. 1. Hemostatické abnormality během srdeční operace v MO

Plazmatické faktory

Pokles a denaturace koagulačních faktorů

Pokles fyziologických inhibitorů (ATIII, protein C a S)

Pokles inhibitorů fibrinolýzy (PAI, alfa-2-antiplazmin)

Primární fibrinolýza

Diseminovaná intravaskulární koagulace

Trombocytární faktory

Trombocytopenie

Trombocytopatie (aktivace/desenitizace)

Snížená reaktivita destiček (degranulace)

Pokles povrchových receptorů pro vWF a fibrinogen (Ib, IIb/IIIa)

Hypotermie (aktivace při mírné a inhibice při střední hypotermii)

Heparinem vyvolaná dysfunkce (aktivace/inhibice)

Protaminem vyvolaná inhibice

1.2.2.1 Aktivace koagulace

Po prvním styku heparinizované krve se syntetickým povrchem MO dojde k rychlé absorpci plazmatických bílkovin na nebiologický povrch. Proudící krev je tak od cizorodého materiálu oddělena jemnou vrstvou fibrinogenu, albuminu a gamaglobulinu. Rozvoj kontaktní aktivace krve připadá bílkovinám vnitřní cesty krevního srážení, především aktivovanému koagulačnímu faktoru XII. Složitou reakcí se mění na faktor XIIa, který má povahu proteolytického enzymu a je schopen stimulovat mnoho zánětlivých systémů (25, 26, 27). Faktor XIIa přímo startuje vnitřní cestu srážecí reakce krve aktivací faktorů XI a následně VII. Dále se podílí na aktivaci reakce, na jejímž konci je uvolnění kalikreinu, aktivujícího zánětlivou reakci hned několika způsoby (25, 27, 28). Je schopen aktivovat neutrofilu, které následně uvolňují volné kyslíkové radikály a proteolytické enzymy (elastázu a cathepsin) (28). Dále vstupuje do reakce, jejímž výsledkem je produkce nonapeptidu bradykininu (27). Kalikrein spolu s bradykininem rovněž stimuluje fibrinolytický systém: kalikrein aktivuje prourokinázu a bradykinin vede k uvolnění tkáňového typu aktivátoru plazminogenu (t-PA). Přeměnou plazminogenu na plazmin může aktivovat i FXIIa a plazmin poté může štěpit složku C3 komplementu (25, 27).

Rozhodující význam v tvorbě faktoru XII má působení faktoru VII a tkáňového faktoru (TF, tromboplastin, faktor III) – proteinu zodpovědného za aktivaci zevní cesty koagulační kaskády s převažující tvorbou krevní sraženiny v místě poranění (29). Rozhodujícím okamžikem pro spuštění této zevní cesty krevního srážení je porušení kontinuity cévní stěny, například mechanicky chirurgickou incizí (26, 28). Cirkulující mediátory zánětu (tumor necrosis factor alfa, interleukin-1 aj.), o kterých je známo, že jsou v krvi během MO přítomny, následně indukují uvolňování TF z endotelových buněk, z povrchu leukocytů a monocytů (31).

Tkáňový faktor existuje ve dvou formách: vázaný na buňky (celulární TF) a cirkulující volný plasmatický TF vyskytující se v operační ráně (30). Obě formy aktivují FVII, ten tvoří VIIa/TF komplex, který aktivuje FIX a FX vedoucí k tvorbě trombinu. Celulární TF je tvořený epikardem, myokardem, adventicií, svalovými a tukovými buňkami a buňkami v kostech, ale ne perikardem (24). Plasmatický TF potřebuje monocyty nebo trombocyty na vytvoření fosfolipidového povrchu pro aktivaci FVII. V perikardiální ráně je koncentrace obou forem TF zvýšená (30, 32).

V místě poškození je trombin tvořen cestou zevní koagulační kaskády již během několika minut formací FVIIa/TF komplexu, který přímo aktivuje trombocyty a faktory IX a X. Malé koncentrace trombinu aktivují také faktor V a VIII. Aktivované trombocyty uvolňují částečně aktivovaný faktor V/Va, který se rychle váže s faktorem Xa za tvorby prothrombinázy (33, 34). Toto je iniciální fáze tvorby trombinu a produkuje malé množství trombinu. Kromě toho inhibitor zevní cesty koagulace (TFPI - tissue factor pathway inhibitor), produkovaný aktivovanými endotelovými buňkami, významně inhibuje komplex FVIIa/TF komplex i faktor Xa (35, 36). Tyto mechanismy potlačují produkci trombinu, ale aktivace trombocytů a faktoru XI, který aktivuje FIX a VII během iniciální fáze, spouští vnitřní koagulační kaskádu a „propagační fázi“ excesivní produkce trombinu (37). Jakmile je iniciována tvorba trombinu, začne převažovat vnitřní koagulační kaskáda, která produkuje trombin 50-ti násobně rychleji než vnější koagulační kaskáda. Tato vnitřní kaskáda je zprostředkována trombocyty, které akcelerují každý krok koagulační kaskády o 10^5 až 10^8 (37). Kromě toho mají trombocyty ochranu před inhibitory jako antitrombin a TFPI. Secernují adhezivní proteiny, fibrinogen a faktor V/Va na podporu produkce fibrinu, napomáhají lokalizaci v místě poškození (34). Masivní tvorba trombinu aktivuje trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy (TAFI -

thrombin-activable fibrinolysis inhibitor), jenž zpomaluje fibrinolýzu v trombu (38).

Difúzní exprese TF během MO vede k poklesu cirkulujících koagulačních faktorů, který se vyskytuje po spuštění nekontrolované koagulace (39). Tato exprese způsobuje, že se obstruující fibrinové depozity akumulují v mikrocirkulaci a dochází ke konzumpci trombocytů jejich vychytáváním ve fibrinových sítích (39, 40, 41). Pooperačně, když klesá hladina cirkulujícího t-PA a obnoví se hladina koagulačních faktorů, kyvadlo se nakloní ze strany konzumpce a fibrinolýzy na stranu koagulace (42). Dochází paralelně k rozvoji hyperkoagulačního stavu i k aktivaci fibrinolýzy (23). Hyperkoagulační stav lze v systémové cirkulaci prokázat přítomností produktů závěrečných reakcí koagulační kaskády (fibrinopeptidů A a B, komplexů trombin-antitrombin, protrombinových fragmentů 1+2). Zvýšená fibrinolýza se manifestuje vzestupem aktivity t-PA a poklesem jeho inhibitoru. Prokázat lze rovněž zvýšenou tvorbu D-dimerů (23).

Aktivace koagulace a zánět jsou úzce spojeny sítí humorálních a celulárních komponent obsahující proteázy srážecí a fibrinolytické kaskády (hlavně trombomodulin) (43, 44, 45). Zánětem indukovaná tvorba trombinu se může vyskytnout díky trombomodulinu, protože je exprimován na povrchu cytokiny aktivovaných mononukleárních buněk, které mají klíčovou roli v obraně organismu. Dochází k aktivaci koagulace jako centrálního elementu lokální i systémové odpovědi na zánět (45). Experimentální důkazy ukazují na to, že zánětlivé mediátory cirkulující v krvi kardiochirurgických pacientů, jako tumor necrosis factor, IL-1 a fragment komplementu 5a, indukují expresi TF na endotelových buňkách in vitro, mohou vysvětlit, proč se vyskytuje tak rozsáhlá aktivace vnější cesty koagulační kaskády u pacientů na mimotělním oběhu (18, 19).

1.2.2.2 Trombin

Výsledkem aktivace vnitřní i zevní cesty koagulace a zánětu je produkce trombinu (30). Během operace v MO Brister a Royston ve svých studiích prokázali jeho zvýšenou produkci, navzdory skutečnosti, že je nemocný heparinizován (24, 24, 39).

Základní působení trombinu během MO je štěpení fibrinogenu na fibrin, aktivace faktoru XIII pro vazbu na fibrin, aktivace trombocytů přes specifické trombinové receptory glykoprotein Ib (GPIb) a PAR-1 (proteinase activated receptor-1) a PAR-4. Stimulací endotelových buněk zas dochází k uvolňování t-PA a von Willebrandova faktoru (26, 47, 48). Dochází k expresi P-selectinu způsobujícího adhezi neutrofilů a následnému (neutrofilů zprostředkovanému) poškození endotelu (45, 51). Aktivace trombinových receptorů na povrchu leukocytů vede k zvýšenému uvolňování chemotaktických a zánětlivých cytokinů (44, 51) .

Trombin je primárně určen pro lokální působení, ale kontinuální expozice celé krve chirurgické ráně, cizorodým materiálům a vzduchu způsobují, že se lokální proces mění na systémový (33).

1.2.2.3 Endotelové buňky

Endotelové buňky jsou extrémně citlivé na inzulty, které se vyskytují během MO. Jedním z nich je hypoxie, vyskytující se hlavně při zástavě srdce, která umožňuje chirurgický výkon v bezkrevném a nehybném operačním poli. Endotel je také vystaven zánětlivým stimulům (cytokiny a endotoxin) a mechanickému poškození v důsledku chirurgické manipulace. Všechny inzulty vedou k rychlé změně fenotypu endotelových buněk, tedy k jejich aktivaci. Ihned po spuštění mimotělního oběhu dochází k masivnímu nárůstu hladiny cirkulujícího tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA) (42). Tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA), který je skladován a uvolňován

endotelovými buňkami, katalyzuje přeměnu plazminogenu na plazmin, což následně vede k lýze trombu. Uvolnění t-PA ve spojení s hemodilucí, dysfunkcí trombocytů a heparinizací vede u některých pacientů k potížím se srážením (41).

Výsledkem aktivace endotelových buněk je porucha bariérové funkce endotelu, výrazná vazokonstrikce, abnormální koagulace, adheze leukocytů a proliferace hladkých svalových buněk (22, 27, 50). Primárním úkolem těchto změn je ochrana organismu před průnikem bakteriální infekce a následná reparace poškozené tkáně. V případě mimotělního oběhu, kdy jsou podněty enormně silné, způsobuje stejná reakce poškození tkání, zhoršení orgánových funkcí a abnormální fibrinoproliferativní odpověď.

Samotná kardiochirurgická operace způsobuje těžké změny ve stavu endotelu. Změny mají vliv na sklon ke krvácení, a nebo k trombóze po kardiochirurgických operacích. Formy dysfunkce endoteliálních buněk můžeme rozdělit na akutní a chronické. Proliferace hladkých buněk, hyperplazie intimy a arterioskleróza jsou důležité příklady chronických abnormalit endotelových buněk ovlivňujících dlouhodobý úspěch aortokoronárních bypassů. Akutní reakce endotelových buněk na mimotělní oběh má za následek systémovou zánětlivou reakci, abnormality v koagulaci a vazomotorické změny. Tyto reakce můžou zásadně ovlivnit výsledek operace (17).

1.2.2.4 Trombocyty

Použití MO je vždy spojeno s přechodným snížením počtu trombocytů i s poruchou jejich funkce. V pooperačním průběhu může vyústit až v poruchu hemostázy (25).

K největšímu poklesu počtu trombocytů dochází v prvních minutách po spuštění MO (26, 51). Údaje o jejich poklesu se ovšem značně liší. Úbytek trombocytů se udává v rozmezí od 25 do 60 %

předoperační hodnoty během prvních 10 minut MO (26, 51). V souvislosti s tímto poklesem bylo zjištěno, že je přibližně z 80 – 90 % způsoben hemodilucí (51). Bezprostředně po ukončení operace v MO bývá počet trombocytů nižší v průměru o cca 20 % oproti předoperační hodnotě (51) a již za 6 hodin po operaci stoupne počet trombocytů na 120 % předoperačního množství. V následujících dnech dochází opět k poklesu na 80 % hodnoty předoperační a teprve během několika dní se počet trombocytů upravuje na předoperační hodnoty (26, 28, 51,52, 53).

Velmi negativně ovlivňuje absolutní množství trombocytů použití koronárního sání (26, 53). Během něj jsou trombocyty vystaveny jednak negativnímu tlaku v systému sání, které trombocyty mechanicky destruuje, jednak přichází do kontaktu s bublinami vzduchu a dalšími částicemi tkání, tuku, fibrinu a kalcia, které způsobují další aktivaci (53).

Daleko závažnější než pokles počtu trombocytů je porucha jejich funkce (1, 26). Bylo zjištěno, že již samotné podání vysoké dávky heparinu nezbytné před napojením nemocného na MO způsobuje závažné změny v různých srážecích mechanismech krve (51, 54). Dochází k signifikantnímu prodloužení krvácivosti, zvýšení plazmatických hladin plazminu a D-dimerů a snížení hladiny tromboxanu B₂. Naopak koncentrace fibrinogenu, t-PA, antitrombinu III a Von Wildebrandova faktoru ovlivněny nejsou. Již samotná heparinizace tedy jednak narušuje funkci trombocytů, jednak startuje fibrinolýzu. Podání heparinu, jenž je prakticky jediným antikoagulačním přípravkem, se ve spojení s MO nevyhneme, a ani jeho podání nedokáže omezit aktivaci buněčných součástí krve včetně trombocytů po styku s umělým povrchem systému pro MO (24, 51).

Dalším faktorem ovlivňujícím celkový počet a funkci trombocytů je jejich adheze na stěny systému MO. Po prvním kontaktu heparinizované krve s umělými povrchy MO dochází k adsorpci různých druhů plazmatických bílkovin včetně fibrinogenu na umělé

povrchy. Intenzita tohoto procesu je ovlivněna druhem povrchu a jeho velikostí. Hydrofobní povrchy adsorbují fibrinogen intenzivněji než hydrofilní (53). K povrchu, na který je navázán fibrinogen, začínají adherovat trombocyty. K jejich aktivaci dojde během jedné minuty po spuštění MO. Přesná příčina není známa. Podílí se na ní nejspíše více faktorů – přímý kontakt s cizím povrchem, anomální mechanické tření v rotorech válečkových čerpadel a řada chemických podnětů (26). Součástí aktivace trombocytů je změna jejich tvaru, degranulace, fragmentace a uvolňování různých látek, které usnadňují jejich agregaci (28, 53, 56). Shluky trombocytů s fibrinogenem (mikroagregáty) mohou ve formě mikroembolizací uzavírat drobné arterioly a kapiláry a mohou být vychytávány filtry v systému MO. Adheze trombocytů na umělém povrchu systému MO je další příčinou jejich úbytku v cirkulující krvi. Některé trombocyty se mohou z vazby na umělé povrchy uvolnit a s narušenou stěnou a funkcí opět cirkulují v krvi (53).

Jednotlivé komponenty systému MO se podílejí na poškozování trombocytů různě. Podle některých autorů mají menší význam na rozdíl od destrukce erytrocytů, rheologické vlastnosti jako vysoká viskozita krve a zvýšené mechanické tření v rotorech čerpadel, turbulence krevního proudu, stagnace krve apod. (53). Bylo prokázáno, že u MO, přesahujícího 120 minut a vedeného pomocí válečkové pumpy, je výraznější poškození trombocytů ve srovnání s pumpou centrifugální (56). Velký význam, v souvislosti s trombocyty, má celkový vnitřní povrch systému MO. Nejvýznamnější součástí tohoto systému je oxygenátor představující 50 – 80 % veškeré plochy (51, 56). Dále následují kardiotoomický případně venózní rezervoár a arteriální filtr (56).

Funkci trombocytů narušuje do určité míry i hypotermie (51, 53). Udává se, že jejich schopnost agregace je snížena při teplotě pod 33°C (51). Při teplotách pod 25°C dochází k jejich sekvestraci

převážně v játrech. Proces je ovšem reverzibilní a s ohřátím nemocného se jejich funkce normalizuje (51).

Výsledkem působení systému MO na trombocyty je relativní i absolutní snížení jejich počtu a poměrně závažné porušení jejich funkce (51, 53, 26).

1.3 Faktory ovlivňující koagulaci při použití MO

Během kardiochirurgických operací s MO dojde k účasti spousty faktorů které ovlivňují koagulaci a spuštění obranných reakcí organismu. (28). Patří sem:

- kožní řez,
 - sternotomie,
 - chirurgická manipulace s nitrohručními orgány a tkáněmi,
 - umělé povrchy systému pro MO,
 - hemodiluce náplní MO a odsáváním kardioplegie,
 - negativní efekt heparinu a protaminu,
 - období tkáňové ischemie a následná reperfuze,
 - relativní hypotenze,
 - nepulzní krevní tok,
 - poškozování krevních elementů vlivem rotorů čerpadla,
 - relativní anemie,
 - hypotermie,
 - negativní efekt podávaných krevních derivátů,
 - použití koronárního sání
- a mnoho dalších faktorů (24).

1.3.1 Umělý povrch a biokompatibilita vnitřního povrchu okruhu pro MO

System MO postrádá nesmáčivou endotelovou výstelku, která v biologickém systému odděluje krev od stěny cévního řečiště. V okamžiku kontaktu krve s tímto syntetickým povrchem jsou aktivovány systémy hemokoagulační, fibrinolytický, komplementový a kalikrein-kininový. Po prvním kontaktu krve s cizím povrchem dochází k adsorpci plazmatických bílkovin k cizímu povrchu a k jejich denaturaci. Denaturované bílkoviny mají tendenci adherovat k buněčné membráně erytrocytů a zvyšují tak jejich tendenci ke shlukování a k tvorbě mikroagregátů společně s aktivovanými leukocyty a trombocyty (57). Shluky buněk narušují ve formě mikroembolů mikrocirkulaci v různých orgánech (24, 25, 27, 28). Z tohoto důvodu existuje trvalá snaha tyto dopady MO na organismus co nejvíce eliminovat (51). Jednou z možností je ošetření systému MO hemokompatibilním povrchem.

V současnosti jsou zavedeny do praxe dvě modifikace povrchů. První je heparinem potažený vnitřní okruh a druhé jsou tzv. aditivní modifikované povrchy. Modifikované povrchy pomocí aditiv jsou zavedeny do praxe poměrně krátkou dobu a jejich přínos je zatím méně zhodnocen. Princip spočívá v přidání chemikálií – kopolymerů do biomateriálů, z nichž se vyrábějí hadice, spojky a membrány oxygenátorů (8).

Heparinem potažené okruhy se od sebe liší způsobem vazby heparinu na stěnu umělého materiálu (24, 67). Heparinem potažený systém pro MO má významný vliv na změny hemokoagulace během MO. Inhibuje produkci trombinu (58), redukuje aktivaci komplementu (58, 59, 60, 61, 62) a aktivaci granulocytů (64, 60). Byly také zaznamenány nižší hladiny cytokinů (65) a kalikreinu jako markeru aktivace vnitřní kaskády (66). Benefit heparinem potaženého povrchu MO byl prokázán hlavně u vysoce rizikových pacientů, kde významně

snížil výskyt respiračního a renálního selhání (67). Redukce trombogenní aktivity následkem potažení heparinem vedla na začátku k úvahám, že by bylo možné snížit nebo dokonce vypustit systémovou heparinizaci (68, 69). To je nereálné z důvodu, že koagulace je spouštěna také chirurgickým inzultem a kardiotoomickým sáním (70).

1.3.2 Koronární sání a venty

Během MO je potřebné odsávat krev nejen z dutých žil, ale i z ostatních srdečních dutin (srdeční dekomprese – ventování) a z operačního pole (koronární sání) do kardiotoomického rezervoáru. V případě masivního krvácení je koronární sání život zachraňujícím úkonem. Důvodem jeho používání není jenom vizualizace operačního pole, ale hlavně navrácení vlastní krve pacientovi, a tím udržování adekvátní koncentrace hemoglobinu a hemodynamické stability. V kardiotoomickém rezervoáru se modulací povrchového napětí odstraní z krve vzduchové bubliny (9). Filtr (20-40 μ m) odstraní detritus z koronárního sání a krev je následně vrácena do venózního rezervoáru systému MO. V dnešní době má již většina rezervoárů kardiotoomický rezervoár přímo integrovaný do venózního rezervoáru. Navzdory filtraci se koronárním sáním do systému MO dostává velké množství pevných i plynových mikroembolů, částec tuku, shluku buněk a dochází k největší destrukci a ztrátě trombocytů (71, 76, 74).

V souvislosti s použitím koronárního sání se do systému MO dostávají i další působky, které ovlivňují koagulaci. Chung a Nieuwland prokázali, že v perikardiální ráně se nachází F IXa a Xa, které se účastní jak vnější, tak vnitřní koagulační kaskády (32, 74). V perikardiální ráně je také zvýšená koncentrace obou forem TF (30, 32).

Aldea ve své práci v souvislosti s retransfuzí pozoroval zvýšenou hladinu komplexu trombin-antitrombin III, aktivátoru plazminogenu, fibrin degradačních produktů a volného hemoglobinu v plazmě (1). Krev aspirovaná z operačního pole obsahovala vysoké koncentrace komplexu trombin-antitrombin III, protrombinové fragmenty F1+2, fibrin degradační produkty, inflamatorní cytosiny, které jsou sice filtrovány, ale následně jsou vraceny do venózního rezervoáru (28, 80, 81).

Proto se zdá být nejrozumnějším řešením pro prevenci negativních účinků sání, kardiotoomické sání nepoužít vůbec, resp. nevracet tuto krev do systému mimotělního oběhu. Případně zvážit přínos retransfuze pro konkrétního pacienta.

1.3.3 Tkáňová perfuze během MO a postischemická reperfuze

Udržování normálních hodnot průtoku krve, krevního tlaku a oxygenace krve při vedení MO je relativně snadné. Přesto s délkou MO dochází k postupnému zhoršení tkáňové perfuze a známám hypoxie tkání, bez ohledu na volbu teploty, či zvyšování parametrů makrocirkulace. Příčina je v poruše mikrocirkulace, která zahrnuje prekapilární arterioly, kapiláry a postkapilární venuly. Porucha mikrocirkulace během srdeční operace v MO není uspokojivě stále objasněna, nicméně víme, že se na ní podílejí minimálně tyto faktory: konstriktce prekapilárních arteriol se vznikem arterio-venózních zkratů jako důsledek převahy vazokonstrikčních faktorů (katecholaminy, vazopresin, angiotenzin, endotelin 1) nad vazodilatačními (oxid dusný, prostaglandiny), zvýšená tuhost erytrocytů, dále mikroembolizace (tukové kapky, vzduch, materiál z plnicích roztoků a z operačního pole), ale také mikroagregáty leukocyto-trombocytární. Systémová inflamace se spolupodílí na ztrátě integrity endotelu, edému a poruše lymfatické drenáže. Využití dodávky kyslíku

postupně klesá a mluvíme o tzv. cytopatické hypoxii, kdy je snížena utilizace O_2 (1).

V orgánech, které jsou v určité fázi operace ischemické, a následně dochází k jejich reperfuzi krví (napr. srdce a plíce), dochází k aktivaci endotelových buněk s rozsáhlou tvorbou adhezivních molekul (napr. E-selectin, ELAM-1, ICAM-1). Úvodním krokem k poškození reperfundované tkáně je adheze neutrofilů k endotelovému povrchu (27). Změny v endotelu po jeho poškození byly popsány výše.

1.3.4 Teplota

Použití MO a hypotermie je vždy spojeno s přechodným snížením počtu trombocytů a poruchou jejich funkce, s aktivací fibrinolytických mechanismů a s poruchou dalších koagulačních mechanismů (78). V současnosti nacházíme převahu studií potvrzujících pozitivní vliv MO oběhu vedeného v normotermii na snížení pooperačních krevních ztrát i na frekvenci revizí pro krvácení (78, 79, 80, 81). Bylo zjištěno, že během normotermie (teplota nad $34^{\circ}C$) zachovávají trombocyty svojí funkci a nedochází k poruchám ve fungování srážecí kaskády jako při hypotermii (79). Při normální teplotě dochází k daleko intenzivnější reakci heparin – protamin (46, 81).

1.3.5 Antikoagulace během MO

Dostatečná úroveň antikoagulace je nezbytným předpokladem k tomu, aby nedošlo k tvorbě trombu a k sekundární fibrinolýze v systému MO poté, co se krev dostane do kontaktu s jeho umělým povrchem. K tomu se používá heparin – směs polysacharidů s molekulovou vahou 3000 – 30 000 Daltonů (74). Protisrážlivě působí tím, že ve spojení s antitrombinem III (ATIII) inhibuje účinek

trombinu a zabraňuje aktivaci faktoru IX. Ovlivňuje funkci trombocytů, množství plazmatických proteinů, aktivuje faktor XII (32), komplement (87) a u některých pacientů indukuje tvorbu IgG antitrombocytárních protilátek (83).

Heparin inhibuje aktivaci faktoru X a trombinu tím, že potencuje účinek antitrombinu III. Ten blokuje přeměnu fibrinogenu na fibrin a protrombinu na trombin (84); zasahuje tak až v poslední části srážecí kaskády. Během MO tak první část kaskády inhibována není, což vede k aktivaci komplementu, leukocytů, endotelových buněk a k produkci různých mediátorů zánětu tak, jak bylo popsáno výše (53). Heparin dále suprimuje TF-dependentní cestu koagulace během MO uvolňováním TFPI z endotelových buněk (35).

Obvyklé dávkování heparinu se pohybuje mezi 2 – 3 mg/kg (200-300 IU/kg) a jeho účinek je monitorován pomocí aktivovaného času srážení ACT (activated clotting time). Z oběhu je heparin primárně odstraňován retikuloendotelovým systémem, z něhož ovšem může být zpětně vyplavován. Metabolizuje se v játrech a vylučuje se ledvinami. U nemocných s poruchami funkcí těchto orgánů je proto jeho účinek prodloužen (26, 74). Také senzitivita k heparinu je mezi nemocnými různá. Kromě jiného je jeho účinek závislý i na koncentraci antitrombinu III v plazmě. Ta může být snížena i v důsledku předoperačního podávání heparinu (62) Účinek heparinu ovlivní i hemodiluce a hypotermie (88).

V minulosti byla snaha snížit pooperační krvácení podáváním nižších dávek heparinu za současného použití heparinem potahovaných okruhů, což však nevedlo k žádnému prokazatelnému snížení krvácení (89, 90). Naproti tomu bylo prokázáno, že dávkování heparinu řízené dle koncentrace heparinu v krvi lépe tlumí nadměrnou tvorbu trombinu a je spojeno s nižšími pooperačními ztrátami (91).

Po ukončení operace na srdci se k neutralizaci heparinu používá protamin. Ten může mít však na hemostázu také negativní účinky

jako jsou aktivace komplementu (85) a hlavně indukovaná dysfunkce destiček (92, 93)

1.4 Fibrinolýza a hyperfibrinolýza

V případě porušení rovnováhy mezi aktivátory a inhibitory fibrinolýzy dochází v plazmě ke zvýšení fibrinolytické aktivity – hyperfibrinolýze. Vlivem porušené rovnováhy mezi aktivátory a inhibitory fibrinolytického systému, dochází k nadměrné degradaci fibrinogenu a fibrinu. Nadměrná tvorba plasminu způsobuje nejen degradaci fibrinu a fibrinogenu a tím produkci fibrin degradačních produktů (FDP), ale i konzumpci koagulačních faktorů V, VIII, XIII. Hyperfibrinolýzou vznikající FDP inhibují polymerizaci fibrinu a agregaci trombocytů (94).

1.4.1 Etiopatogeneze

Etiopatogeneze hyperfibrinolýzy může být vrozená i získaná. Vrozená hyperfibrinolýza je velmi vzácná: způsobuje ji deficit α 2-antiplasminu (95) a aktivátoru plazminogenu I (PAI-1) (96). Postižení pacienti mají příznaky krvácivosti podobně jako je tomu u hemofilie.

Získaná hyperfibrinolýza je sekundární hemoragická diatéza, která je vždy sdružená s jiným základním onemocněním. Příčiny získané hyperfibrinolýzy rozdělené na endogenní a exogenní zobrazuje tabulka č. 2.

Tabulka č. 2. Příčiny získané hyperfibrinolýzy

Endogenní	Exogenní
<ul style="list-style-type: none">• Jaterní onemocnění• Operace: uteru, prostaty, plic a jater• Tumory: ovariální karcinom, karcinom prostaty, kolorektální karcinomy, karcinom pankreasu a leukémie• Amyloidóza• DIC	<ul style="list-style-type: none">• Fyzická námaha• Emoční stres• Venózní okluze• Medikamenty<ul style="list-style-type: none">▪ trombolytika (např. urokináza)▪ katecholaminy▪ deriváty vazopresinu▪ niacin▪ anabolické steroidy

Hyperfibrinolýzu nejčastěji nalézáme u pacientů s jaterním selháním a během anhepatálního stadia transplantace jater (97, 98), u pacientů s poškozením mozku a podstupující intrakraniální chirurgii (99, 100), v souvislosti s poporodní hemoragií (101), během mimotělního oběhu (40, 42), při poruchách mikrocirkulace i šokových stavů (102), u pacientů s těžkou tramou (103, 104).

Incidence výskytu fibrinolýzy stále není známa, její výskyt se pouze odhaduje. U pacientů s onemocněním jater v rozsahu 30 % - 46 %, u pacientů s velkým traumatem 15 % - 20 %. Jedním z důvodů neznalosti incidence hyperfibrinolýzy je její poddiagnostikování z důvodu chybějících vhodných rutinních laboratorních testů (105).

1.4.2 Klinický obraz

Ke spontánnímu krvácení dochází pouze u excesivní fibrinolýzy, například při terapeutické fibrinolýze. Příčinou krvácení bývá trombocytopenie, anebo konzumpce koagulačních faktorů, např. u nemocí jater, velkých traumat, operačních zákroků. Hyperfibrinolytické krvácení zahrnuje petechie (inhibice agregace

trombocytů) na kůži a sliznicích až krvácení menšího i většího rozsahu z důvodu inhibované polymerizace fibrinu a nedostatku fibrinogenu.

Operace na endometriu, ledvinové pánvičce a prostatě spouští fibrinolytickou aktivitu z důvodu, že jde o tkáně bohaté na fibrinolytický potenciál. I když se primárně jedná o lokální hyperfibrinolýzu, která může vést k lokálnímu krvácení, může se fibrinolytická aktivita rozšířit i na systémovou cirkulaci (94).

1.4.3 Diagnostika

Základem diagnostiky je znalost základního onemocnění, které může způsobovat hyperfibrinolýzu a vyšetření základních koagulačních parametrů. Běžné koagulační testy (Quickův test, APTT, TT – trombinový čas) nejsou na hyperfibrinolýzu citlivé, jsou často ovlivněné různými faktory. Časy testů mohou být prodloužené i nezměněné. Jako rychlé markery zvýšené fibrinolytické aktivity se uvádí snížená koncentrace fibrinogenu, zvýšené hladiny FDP a D-dimerů. Jejich hodnoty jsou jenom orientační a nedají se použít při léčbě pooperačního krvácení, protože k jejímu vzestupu dochází u všech pacientů po operačním zákroku (106). V těchto situacích by bylo užitečné znát hladiny aktivátorů plazminogenu, vyšetření je časově náročné, podobně jako vyšetření doby rozpuštění fibrinového koagula (euglobulin lysis time - ELT).

Nejvhodnější vyšetření s vysokou citlivostí na výskyt hyperfibrinolýzy v perioperačním a v pooperačním období je tromboelastografie (TEG). Vyšetření je relativně jednoduché a levné. Tromboelastografický přístroj je malý a skladný, a proto může být vyšetření prováděno i vyhodnoceno přímo na operačním sále bez asistence dalšího spolupracovníka. Navíc poskytuje komplexní obraz všech koagulačních parametrů (106).

1.4.4 Terapie

Lékem volby jsou antifibrinolytika, které můžou při správném managementu redukovat potřebu transfuzí (107). Patří sem aprotinin, kyselina tranexamová (4-aminometylcyklohexan-1-karboxilová kyselina) a kyselina epsilon-aminokapronová. Při těžké hyperfibrinolýze, s poklesem koncentrace fibrinogenu pod 20 mg/dl a s odpovídajícími projevy krvácivosti, je nutné k antifibrinolytikům podávat fibrinogen (94).

1.4.4.1 Aprotinin

Aprotinin je přirozeně se vyskytující polypeptid. Poprvé byl izolován z bovinních plic a slinivky již v roce 1930 (108). Je nespecifickým inhibitorem prakticky všech serinových proteáz a jedná se o látku s nejmohutnějšími antifibrinolytickými účinky (především přímou inhibicí plazminu – finálního enzymu fibrinolytické cesty). Jeho působení na hemokoagulaci je však mnohem komplexnější. Vedle přímého ovlivnění trombinu inhibuje i kallikrein, a tím i amplifikační děje v iniciálním komplexu kontaktní fáze vnitřního systému koagulační kaskády a má tedy i určitý antikoagulační potenciál. Důležitý je i jeho vliv na krevní destičky (zejména blokováním nejdůležitějšího trombocytárního receptoru pro trombin - protézami aktivovaného receptoru PAR1). Je třeba zmínit i protizánětlivé účinky aprotininu (spojené s potlačením produkce volných radikálů aktivovanými neutrofilly, inhibicí aktivace nukleárního faktoru kappa-B a exprese L-selektinu a dalších adhezivních molekul, zmírněním apoptózy aktivovaných polymorfonukleárních buněk), které mohou být významné při modulaci systémové zánětlivé odpovědi. V roce 2007 byl aprotinin stažen z trhu. Důvodem bylo podezření, že zvyšuje riziko renálního selhání a pooperační mortalitu (109).

1.4.4.2 Syntetická analoga lyzinu

Do této skupiny antifibrinolytik patří tranexamová kyselina (4-aminomethylcyklohexan-1-karboxilová kyselina) a kyselina epsilon-aminokapronová. Mechanismus antifibrinolytického působení spočívá v tom, že obsazují vazebná místa pro lysin na molekulách plazminogenu a plazminu. Nemají pravděpodobně další vliv na hemokoagulaci a jsou tedy z tohoto pohledu „čistými antifibrinolytiky“. Jejich efektivita na redukci krevních ztrát a omezení transfúzních přípravků byla prokázána jak u kardiochirurgických operací s použitím mimotělního oběhu (109), tak u výkonů na bijícím srdci (110).

1.4.5 Fibrinolýza v kardiochirurgii

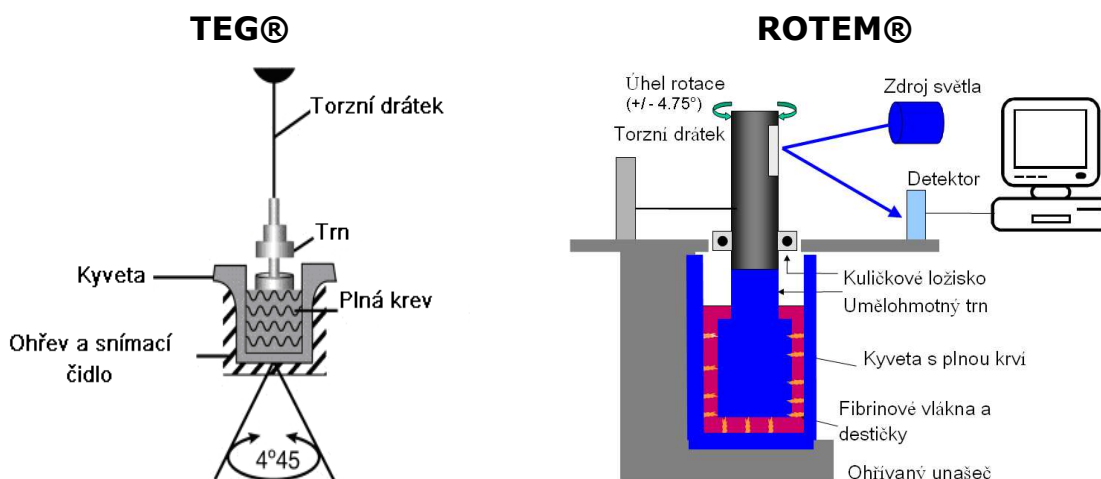
V roce 1984 Stibbe et al. popsali fibrinolýzu u pacientů po kardiochirurgickém výkonu s použitím MO (111). Fibrinolýza se během kardiochirurgických operací vyskytuje jak v perikardiální ráně, tak v cirkulaci (112, 77). Teoreticky dochází k aktivaci fibrinolytických pochodů v kardiochirurgii dvěma způsoby: za prvé od počátku operace dochází k uvolnění t-PA při kožním řezu, sternotomii a během chirurgických manipulací s nitrohrudními orgány a tkáněmi (113, 114), za druhé je to mimotělní oběh, během kterého (i přes užitou systémovou heparinizaci) nastává masivní aktivace prokoagulačních procesů spjatých s kontaktem krve s cizími negativně nabitými neendoteliálními povrchy MO a následnou aktivací fibrinolytických dějů. Reinfuze mediastinální krve (obsahující velká množství cytokinů, TF a t-PA) dále zesiluje tyto patologické procesy (115). Aktivace fibrinolýzy následně vede ke zvýšenému pooperačnímu krvácení, zvyšuje mortalitu a způsobuje potřebu vyšší vazopresorické a objemovo-koloidní podpory (110).

1.5 Tromboelastografie (TEG)

Tromboelastografie monitoruje hemostázu jako dynamický proces a je rychle dostupná u lůžka pacienta. Tato metoda je užívána od roku 1974, kdy ji použil německý hematolog H. Hartert. Do širší klinické praxe se dostávala v letech 80-tých letech minulého století spolu se zaváděním počítačových technologií. Zpočátku se tromboelastograf používal ke sledování koagulačních abnormalit při transplantaci jater a postupně si získal příznivce v kardiovaskulární chirurgii, traumatologii, porodnictví a dalších oborech (116).

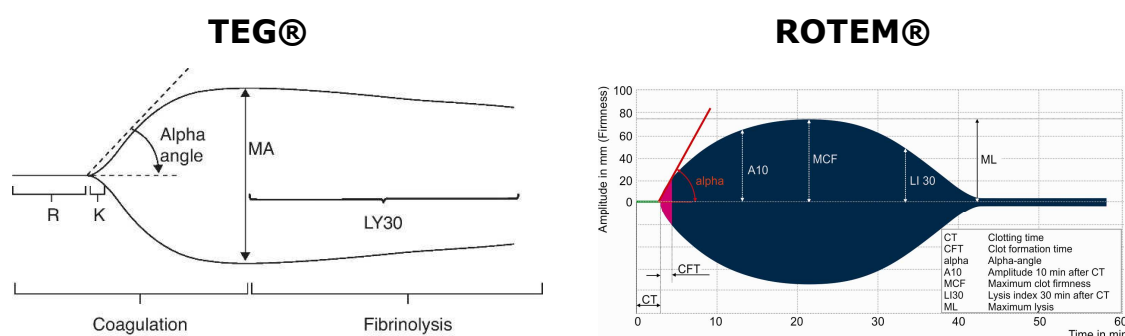
TEG měří elastické vlastnosti koagula neboli schopnost sraženiny provádět mechanickou práci (hemostázu). Zachycuje dynamiku tvorby koagula od iniciace přes akceleraci k retrakci, eventuálně lýze. Z hlediska klinického využití spočívá unikátnost techniky v dynamickém charakteru vyšetření a možnosti odpovědi na klíčové otázky: zda se koagulum vytvoří, jak rychle se vytvoří, jak je pevné, zda vydrží pevné nebo se předčasně rozpadá. Je velmi citlivým ukazatelem fibrinolýzy (116).

V klinické praxi se v dnešní době používají dva systémy: Thromboelastograph/ TEG[®] (Haemonetics, Braintree, MA, USA) a ROTEM[®] (Pentapharm GmbH, Mnichov, Německo). Principy obou systémů znázorňuje obázek č. 4.



Obrázek č. 4. Princip tromboelastografie TEG® a ROTEM®

Hlavními komponenty tromboelastografu jsou kyveta s krví ohřívána na 37°C a trn. U TEG® se vyhřívání unášec s kyvetou otáčí kývavým pohybem sem a tam, v oblouku o 4° 45 min v 10s intervalech. U ROTEM® dochází k trvalé oscilaci trnu v úhlu 4.75°. Srážením krve dochází k tvorbě fibrinových vláken mezi kyvetou a trnem. V případě TEG® se srážením začne rotace kyvety přenášet na trn, přístroj ROTEM® měří změnu rotačního odporu trnu. Změny jsou pak zaznamenávány a vizualizovány ve formě tromboelastografické křivky s typickým tvarem (obrázek č. 5) (117 - 120).



Obrázek č. 5. Tromboelastografické křivky TEG® (123) a ROTEM® (124)

Záznam má podobu dvou ramen, která se tvoří rychlostí 2 mm/min a dávají charakteristické obrazy, jež se přiřazují různým poruchám koagulace. Navíc slouží k výpočtu některých numerických parametrů.

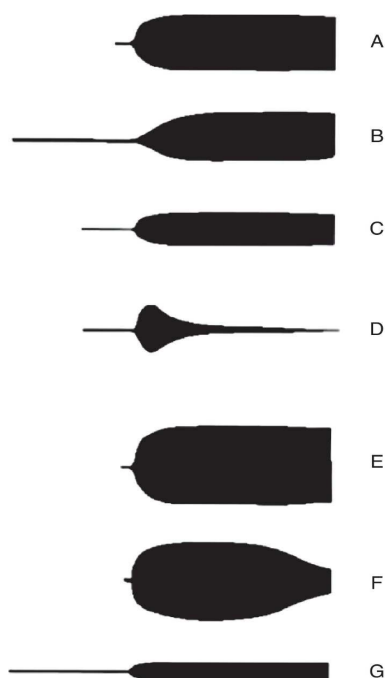
Nomenklatura parametrů měřených přístroji TEG® a ROTEM® je uvedena v tabulce č. 3.

Tabulka č. 3. Nomenklatura parametrů TEG® and ROTEM® (118)

Parametr	TEG®	ROTEM®
Doba měření	-	Reaction Time [RT]
Doba od začátku měření do okamžiku tvorby zjizitelného koagula (amplituda 2mm) – Reakční čas	R	Clotting Time [CT]
Doba do dosažení určité pevnosti koagula (z 2mm na 20mm) – Čas tvorby koagula	K	Clot Formation Time [CFT]
Úhel α [°] – rychlost tvorby koagula	α	α
Maximální úhel	-	CRF
Maximální pevnost koagula	Maximal Amplitude [MA]	Maximal Clot Firmness [MCF]
Čas do max. pevnosti koagula	-	MCF-t
Amplituda v určitém čase time	A30, A60	A5, A10...
Elasticita koagula	G	MCE
Maximální lyze	-	CLF
Lyze koagula v určitém čase [minuty]	CL30, CL60	LY30, LY45, LY60
Čas lyze	2mm od MA	CLT [10% rozdíl MCF]

Prvním specifickým TEG-parametrem je reakční čas (R) anebo coagulation time (CT) – doba začátku tvorby koagula, což je parametr integrity vnitřní a společné cesty koagulace s kontaktním aktivátorem kaolinem. Čas se měří od zahájení měření po rozestup ramen na 2 mm. Druhým je parametr K anebo clot formation time (CFT), který se počítá od konce R (CT) do šířky ramen 20 mm. Určují rychlost zpevnění koagula. Třetí parametr – úhel alfa – měří také rychlost tvorby koagula. Je to úhel mezi horizontální středovou osou záznamu a tangentou ve 20 mm amplitudě. Parametr MA neboli MCF ukazuje na maximální dosaženou pevnost koagula a je závislý na funkci destiček a interakci s fibrinem. Po dosažení maximální amplitudy záznamu (MA/MCF) dochází k redukci pevnosti, přičemž pokles o více než 7,5 % za 30 min (LY 30) se již považuje za hyperfibrinolýzu. Prodloužení parametru R (CT) ukazuje na deficit aktivity koagulačních faktorů což může být při jaterním onemocnění,

hemodiluci nebo po warfarinu či heparinu. Úzký úhel alfa a MA jsou známkou výrazného poklesu a/nebo dysfunkce destiček, ale také hypofibrinogenemie. LY 30 se zvyšuje nad 7,5 % u hyperfibrinolytických stavů (obrázek č. 6).



Obrázek č. 6. Tromboelastografické křivky

*A: Normální, B: prodloužený (deficit koagulačních faktorů, antikoagulancia)
C: snížená maximální pevnost koagula (trombocytopenie a inhibice funkce trombocytů) D: fibrinolýza, E: hyperkoagulační stav, F: diseminovaná intravaskulární koagulopatie (DIC), G: konzumpce v poslední stadium DIC (119).*

TEG je také užitečný pro diagnózu hyperkoagulačního stavu, pro který svědčí krátký interval R/CT, rychlý růst koagula (úhel alfa nad 55°) a široký záznam nad 60 mm MA. Ke zvýšení specificity testu se používají různé modifikace základního TEG, jež vyžadují současné spuštění dvou nebo více křivek. K detekci reziduálního heparinu se provádí test s heparinázou, který umožňuje také sledovat stav hemokoagulace během MO. Ke stanovení příspěvku fibrinogenu na fyzikálních vlastnostech koagula se používá blokátor receptoru GP IIb/III (hadí jed), jenž eliminuje podíl destiček na pevnosti koagula, resp. zruší vazbu mezi destičkami a fibrinem. Pevnost koagula je pak závislá jen na množství funkčního fibrinu. Odlučitelnost poruchy tvorby koagula na úrovni koagulačních faktorů, množství nebo kvality destiček a intenzity fibrinolýzy umožňuje při krvácivých stavech indikovaně podávat takový transfuzní přípravek nebo krevní derivát,

který cíleně ovlivní právě narušenou složku (plazma a koagulační faktory, trombocyty, antifibrinolytika, protamin). Jsou dostupné i specifické testy inhibice destiček po léčích typu GPIIa/III-inhibitorů (napr. abciximab), ADP-blokátorů (klopidogrel) a ASA (1) .

Faktorem, který nelze opomenout, je i čas nutný k vyšetření. Zatímco u „velkého hemokoagulačního vyšetření“ (INR, APTT, hladina fibrinogenu, D-dimery a hladina antitrombinu) lze očekávat výsledky za více než 1 hodinu, tromboelastogram nabízí první výsledky v řádu minut a definitivní zhodnocení při aktivaci kaolinem již za 30 minut. Zařazení TEG do algoritmu léčby pooperačního krvácení vedlo k signifikantnímu snížení spotřeby krevních derivátů a operačních revizí (1). Donald a Dubbing v roce 2005 na základě metaanalýzy 170 klinických prací za 25 let dospěli k názoru, že TEG může usměrňovat transfuzní léčbu u krvácivých komplikací a snižovat spotřebu krevních derivátů (1).

2 Hypotézy a cíle práce

Častou komplikací operací aortokoronárních bypassů s použitím MO je krvácení způsobené hemokoagulační poruchou. Jednou z jejich příčin je právě fibrinolýza. V dostupné literatuře je ovšem jen málo informací o incidenci a příčinách fibrinolýzy u kardiokirurgických pacientů podstupujících operaci aortokoronárního bypassu. Zajímalo nás, do jaké míry ovlivňuje její výskyt MO, jestli je fibrinolýza způsobena převážně systémem MO, anebo zde sehrávají velkou roli jiné inzulty spojené s operací aortokoronárního bypassu jako kožní řez, sternotomie, manipulace s nitrohruďnými orgány a jiné.

Práce byla provedena ve 2 krocích jako pilotní a samotná klinická studie.

2.1 Pilotní studie

Cílem pilotní studie bylo zjistit výskyt fibrinolýzy u pacientů podstupujících operaci aortokoronárních bypassů bez použití MO a operace s použitím konvenčního MO porovnáním výsledků rotační tromboelastografie a hladiny D-dimerů.

Hypotézou bylo, že pacienti podstupující operaci s MO budou mít vyšší výskyt fibrinolýzy.

2.2 Experimentální studie

V pilotní studii byl na malém vzorku pacientů potvrzen vyšší výskyt fibrinolýzy u pacientů s použitím MO. V další studii jsme chtěli prokázat stejný výsledek na větším souboru pacientů a současně také zjistit vliv na pooperační krvácení a potřebu transfuze. Literatura popisuje další faktory, které ovlivňují fibrinolýzu během MO, jako je centrifugální pumpa, koronární sání, povrch MO, menší náplň MO,

uzavřený okruh apod. V našich podmínkách jsme byli schopni zajistit alespoň tzv. „méně invazivní MO“ Zahrnuje biokompatibilní, rheoparinem potažený povrch a oddělené kardiotoomické sání do separátního rezervoáru, bez návratu do systému MO. U něj jsme předpokládali nižší výskyt fibrinolýzy, nižší krevní ztráty i objem podaných transfuzí ve srovnání s klasickým MO.

Proto jsme se rozhodli porovnat tyto tři skupiny pacientů podstupující operaci aortokoronárního bypassu:

A - s použitím konvenčního MO

B - bez MO

C - s použitím tzv. „méně invazivního“ MO (rheoparinem potažený povrch, oddělené kardiotoomické sání do separátního rezervoáru)

Hypotéza byla, že ve skupinách B a C bude nižší výskyt fibrinolýzy, menší krevní ztráty a nižší potřeba krevních transfuzí v porovnání se skupinou A.

3 Klinická studie

3.1 Pilotní studie

Pro ověření hypotézy a zjištění incidence fibrinolýzy jsme se rozhodli pro pilotní prospektivní randomizovanou studii.

3.1.1 Výběr pacientů

Po obdržení povolení od etické komise, bylo v průběhu ledna a února 2005 zahrnuto do studie 20 pacientů podstupujících operaci aortokoronárních bypassů pro ischemickou chorobu srdeční (10 s použitím MO, 10 bez použití MO). Randomizace proběhla obálkovou metodou. Vylučovací kritéria byla následovná: akutní operace, předchozí operace srdce, kombinované výkony (operace chlopní nebo aorty), infarkt myokardu méně než 7 dní před operací, hematologické a hepatální onemocnění, renální insuficience (s kreatininem vyšším než 150 $\mu\text{mol/l}$) a předoperační anémie (hemoglobin méně než 11 g/l, hematokrit méně než 32). Absolutní kontraindikací zařazení do studie byla předoperační antiagregační a antikoagulační terapie (kys. acetylsalicylová vysazena méně než 5 dní, clopidogrel, méně než 14 dní, nízkomolekulární heparin méně než 24 hodin). Během operace nebyly u pacientů použity žádné inhibitory fibrinolýzy.

3.1.2 Metodika

Operace proběhly v ultra fast track anestezii s použitím remifentanilu, propofolu, dále midazolam, atracurium a inhalační anestetikum isofluran. Pacienti, podstupující operaci bez použití MO, dostali 100 IU/ kg heparinu, pro vertikalizaci bijícího srdce byl použit Axis Xpose Device a pro stabilizaci Vacuum Assist (Guidant, Cupertino, CA). Po ukončení anastomos byla heparinizace zrušena

poloviční dávkou protaminu. U operací s použitím MO v normotermii byl použitý stejný typ necoatovaného (nepotaženého biokompatibilní vrstvou) kapilárního oxygenátoru D 703 Compactflo (Dideco, Mirandola, Italy) s krystaloidní náplní o objemu 750 ml. Heparin byl podáván v dávce 300 IU/ kg k dosažení ACT > 480 vteřin. Po dokončení všech anastomos byla podána plná dávka protaminu.

Krev pro tromboelastografické vyšetření byla nabrána z arteriálního katetru do zkumavky obsahující citrát sodný (Greiner Bio-One, Kremsmuenster, Austria) a byla okamžitě zpracována přístrojem ROTEG® Whole Blood Haemostasis System, model 05 (Pentapharm, Munich, Germany) s heparinázou HEPTEG (Nobis, Endingen, Germany) pro odstranění heparinu a EXTEG (Nobis, Endingen, Germany) obsahující tromboplastin pro aktivaci zevní cesty aktivační koagulace.

Vzorky byly odebrány v následujících časech: předoperačně (t_0), 15 minut po sternotomii (t_1), v čase dokončení periferní anastomozy bypassu (t_2) a na konci operace (t_3). Vzorky krve pro vyšetření hematologických parametrů (hemoglobin, hematokrit, trombocyty, protrombinový čas APTT a fibrinogen) byly odebrány standardním způsobem. Vzorky krve pro vyšetření hladiny D-dimerů byly odebrány před operací, na konci chirurgického zákroku a po 24 hodinách. Ke stanovení D-dimerů byla použita diagnostická souprava Liatest D-Di Stachrom a koagulační analyzátor Stago Compact (Diagnostica Stago, Parsippany, NJ). Test je založen na změně zákalu suspenze latexových mikročástic s kovalentně navázanými dvěma různými monoklonálními protilátkami, specifickými pro D-Dimer.

Pro statistickou analýzu byl použit statistický software SPSS, verze 12.0.1 (SPSS Inc., Chicago, IL). Hodnoty spojitých veličin byly charakterizované jako aritmetický a geometrický průměr a jejich variabilita byla charakterizovaná 95% intervalem spolehlivosti. Pro statistické zpracování dat byla v případě potřeby použita logaritmická transformace. Pro porovnání skupin byl použit dvouvýběrový t-test a

k porovnání rozdílů mezi skupinami v různých časech náběrů párový t-test. U obou testů byla aplikována Bonferroniho korekce mnohočetného porovnání. Ke komplexnějšímu šetření bylo použito mnohonásobné testování analýzy rozptylu. Stupeň závislosti mezi LOT a hladinou D-dimerů byl vypočítán pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Pro všechny statistické testy byla stanovena hladina významnosti 0,05.

3.1.3 Výsledky

Obě skupiny s použitím i bez použití MO vykazovali srovnatelné demografické, předoperační hematologické a základní perioperační údaje a hodnoty, kromě délky operace a počtu periferních anastomóz.

Tabulka č. 4. Základní demografický údaje, předoperační hematologické parametry, a perioperační charakteristiky

	Průměr	Skupina A bez MO (n=10)	Skupina B s MO (n=10)	P
Věk (roky)	Aritm.	65,5 (58,7; 72,3)	62,6 (56,4; 68,8)	0,486
Pohlaví (muži/ženy) (počet/procento)		6 (60 %) / 4	8 (80 %) / 2	0,314
Hmotnost (kg)	Aritm.	78,7 (73,2; 84,1)	86,9 (77,5; 96,2)	0,108
Additivní EuroSCORE	Aritm.	4,40 (2,67; 6,13)	3,90 (1,95; 5,88)	0,672
Logistické EuroSCORE	Geom.	3,39 (1,98; 5,80)	62,6 (56,4; 68,8)	0,486
Hematokrit	Geom.	44,86 (41,68; 48,28)	44,93 (42,00; 48,07)	0,971
Hemoglobin (g dl ⁻¹)	Geom.	15,21 (14,11; 16,41)	15,25 (13,99; 16,62)	0,964
Trombocyty (10 ⁹ l ⁻¹)	Geom.	225,4 (190,7; 266,4)	259,5 (226,4; 297,3)	0,158
Fibrinogen (g l ⁻¹)	Geom.	4,29 (3,79; 4,86)	3,85 (3,60; 4,10)	0,098
aPTT (sek.)	Geom.	40,21 (30,82; 52,46)	34,95 (32,49; 37,60)	0,276
INR	Geom.	1,044 (0,981; 1,112)	1,051 (0,992; 1,113)	0,873
Délka operace(min.)	Geom.	149,9 (131,9; 170,3)	176,1 (163,0; 190,2)	0,028
Počet bypassů	Aritm.	2,00 (1,66; 2,34)	2,60 (2,23; 2,97)	0,014
Délka MO (min.)	Geom.	-	47,8 (40,3; 56,7)	-
Délka Ao svorky (min.)	Geom.	-	26,8 (22,5; 32,1)	-

Operace s použitím MO byly signifikantně delší ($P = 0,028$) a počet anastomóz vyšší ($P = 0,014$) proti operacím bez použití MO.

Tento nále z není překvapující vzhledem k předchozím zkušenostem s operacemi aortokoronárních bypassů s i bez použití MO (137).

Tabulka č. 5. Porovnání tromboelastografických parametrů v jednotlivých časech

Čas odběru		Skupina A bez MO	Skupina B S MO	P
t_0				
CT [sec]	Geom.	65,5 (52,4; 81,8)	76,0 (61,9; 93,4)	0,279
CFT [sec]	Geom.	69,9 (54,6; 89,4)	67,8 (55,6; 82,6)	0,830
MCF [mm]	Aritm.	65,7 (60,4; 71,0)	66,3 (63,8; 68,8)	0,820
Úhel α [°]	Aritm.	75,7 (71,8; 79,6)	75,9 (73,5; 78,3)	0,964
LOT (30 min.)	Aritm.	98,0 (98,0; 98,0)	97,8 (97,3; 98,3)	0,343
LOT (60 min.)	Aritm.	94,3 (92,6; 96,0)	93,9 (91,9; 95,9)	0,732
LOT (150 min.)	Aritm.	85,7 (82,8; 88,5)	85,3 (82,8; 87,9)	0,848
t_1				
CT [sec]	Geom.	82,6 (62,3; 109,6)	71,6 (57,8; 88,8)	0,376
CFT [sec]	Geom.	72,3 (59,3; 88,1)	67,5 (56,8; 80,3)	0,567
MCF [mm]	Aritm.	66,9 (64,6; 69,2)	65,2 (61,5; 68,9)	0,392
Úhel α [°]	Aritm.	75,0 (72,3; 77,7)	76,4 (73,7; 79,1)	0,420
LOT (30 min.)	Aritm.	97,8 (97,3; 98,3)	97,4 (96,0; 98,8)	0,540
LOT (60 min.)	Aritm.	94,0 (91,6; 96,4)	93,9 (91,2; 96,7)	1,000
LOT (150 min.)	Aritm.	85,9 (82,7; 89,1)	86,4 (82,7; 90,1)	0,815
t_2				
CT [sec]	Geom.	129,3 (86,1; 194,2)	145,8 (95,9; 221,6)	0,647
CFT [sec]	Geom.	114,1 (65,8; 190,2)	110,6 (91,3; 134,1)	0,901
MCF [mm]	Aritm.	62,5 (57,8; 67,2)	57,7 (54,2; 61,2)	0,082
Úhel α [°]	Aritm.	65,8 (54,6; 77,0)	68,2 (63,9; 72,4)	0,833
LOT (30 min.)	Aritm.	98,0 (98,0; 98,0)	97,2 (95,4; 99,0)	0,343
LOT (60 min.)	Aritm.	96,3 (95,3; 97,3)	79,6 (53,0; 106,2)	0,190
LOT (150 min.)	Aritm.	88,0 (86,3; 89,7)	68,2 (42,0; 94,4)	0,122
t_3				
CT [sec]	Geom.	89,3 (65,6; 121,6)	84,0 (67,4; 104,8)	0,720
CFT [sec]	Geom.	83,2 (72,8; 95,1)	80,9 (69,4; 94,4)	0,760
MCF [mm]	Aritm.	65,4 (62,4; 68,4)	63,9 (60,5; 67,3)	0,465
Úhel α [°]	Aritm.	73,2 (71,2; 75,2)	73,9 (71,5; 76,3)	0,604
LOT (30 min.)	Aritm.	98,0 (98,0; 98,0)	98,0 (98,0; 98,0)	1,000
LOT (60 min.)	Aritm.	94,4 (92,5; 96,3)	95,6 (94,6; 96,6)	0,221
LOT (150 min.)	Aritm.	85,8 (83,3; 88,4)	85,8 (80,3; 91,2)	0,993

Uvedené hodnoty jsou aritmetické (aritm.) a geometrické (geom.) průměry s intervalem spolehlivosti 95 %.

Tabulka č. 5 zobrazuje porovnání tromboelastografických parametrů v monitorovaných časech pro skupinu A s použitím MO a skupinu B bez použití MO.

Předoperačně (t_0), 15 minut po sternotomii (t_1) a na konci operace (t_3) nebyly mezi skupinami nalezeny statisticky významné rozdíly. V čase dokončení periferní anastomozы bypassu (t_2) byl nalezen hraniční rozdíl v parametru MCF ($P = 0,082$) s nižší hodnotou ve skupině B, bez použití MO. V parametrech LOT 60 a 150 minut nebyly prokázány signifikantní rozdíly mezi skupinami ($P = 0,190$ and $P = 0,122$), ve skupině B však byla pozorována výraznější fibrinolýza (co se týče průměru). Ta byla způsobena extrémní fibrinolýzou u 2 pacientů v 60 minutě (LOT v 60 minutě: 0 % a 19 %) a fibrinolýzou u dalších 2 pacientů ve 150 minutě (LOT 150: 74 % a 73 %). Tyto hodnoty se výrazně odlišovaly od ostatních ze skupiny s použitím MO, kde byla průměrná hodnota LOT ve 150 min (89,1 %) velmi blízká průměru skupiny bez použití MO (88,0 %).

Když se podíváme na změny dalších tromboelastografických parametrů v čase, CT, CFT, MCF a úhel α vykazují v čase t_2 signifikantní rozdíly ve srovnání s ostatními časy náběru. Při porovnání t_2 proti předoperační hodnotě v t_0 ve skupině A (bez MO) došlo k statisticky významnému prodloužení CT ($P = 0,002$) a nesignifikantnímu prodloužení CFT ($P = 0,122$). U skupiny B (s MO) došlo k statisticky významnému prodloužení u CT i CFT ($P = 0,036$, $P = 0,006$).

Pro tromboelastografické parametry MCF a α úhel byl nalezen znatelný pokles jejich průměrné hodnoty ve skupině B (s MO) v čase t_2 . Porovnáním v časech t_2 a t_0 byly nalezeny statisticky signifikantní rozdíly u obou parametrů ve skupině B (s MO) ($P = 0,001$ a $P = 0,008$), zatímco ve skupině A (bez MO) rozdíly statisticky signifikantní nebyly ($P = 0,221$ a $P = 0,132$).

Použitím mnohonásobného testování analýzy rozptylu pro všechna tromboelastografická měření ve všech časech se potvrdila odlišnost

času t_2 od ostatních časů ($P < 0,001$). Kromě toho byl pozorován rozdíl v časovém průběhu mezi skupinami ($P = 0,089$).

Komplexní analýza tromboelastografických výsledků ve vztahu k věku a pohlaví neodhalila žádné rozdíly ($P = 0,573$ a $P = 0,261$).

Tabulka č. 6. Změny hladin D-dimerů v čase ($ng\ ml^{-1}$)

Čas odběru		Skupina A	Skupina B	P
Před operací	Geom.	244,2 (183,3; 325,4)	294,8 (184,2; 471,9)	0,451
Konec operace	Geom.	297,0 (189,6; 465,1)	1326,0 (943,5; 1863,6)	< 0,001
1. pooperační den	Geom.	1070,0 (723,5; 1582,6)	1093,3 (732,0; 1632,9)	0,932

Změny hladin D-dimerů v čase ukazuje tabulka č. 6. Signifikantní nárůst hladiny D-dimerů byl nalezen v obou skupinách ($P < 0,001$). Ve skupině B (s MO) byla nejvyšší hodnota D-dimerů dosažena již na konci operace, zatímco u skupiny A (bez MO) byly maximální hodnoty pozorovány 1. pooperační den. Rozdíl mezi skupinami v hladinách D-dimerů na konci operace dosáhl statistické významnosti ($P < 0,001$).

Spearmanův korelační koeficient mezi hladinou D-dimerů na konci operace a LOT (t_3) v 60 a 150 minutě byl ve skupině A -0,047 a -0,086, a -0,123 a -0,323 ve skupině B. Všechny korelace byly nízké a nesignifikantní.

3.1.4 Diskuse

Na základě tromboelastografických vyšetření můžeme říct, že určitý stupeň fibrinolýzy se vyskytuje v čase t_2 (v čase dokončení periferní anastomozy bypassu) u obou skupin s i bez použití MO a že fibrinolýza byla v tomto čase výrazně vyjádřená ve skupině s MO. Teoreticky dochází k aktivaci fibrinolýzy u obou typů operací kožním řezem a sternotomií a dále pokračuje chirurgickou manipulací s vnitřními orgány. U operací s MO bylo popsáno, že dochází k další masivní aktivaci koagulace následkem kontaktu s cizím, negativně

nabýtým, neendoteliálním povrchem s následnou aktivací fibrinolýzy (24, 121). Velmi důležitým mechanismem aktivace koagulace a fibrinolýzy se zdá být perioperační retransfúze perikardiální krve odsávaná z operačního pole do systému MO, protože tato krev obsahuje velké množství tkáňového faktoru a tkáňového aktivátoru plazminogenu (131). Z toho důvodu se dnes doporučuje použití biokompatibilních povrchů s nízkou trombogenicitou (materiály potažené např. heparinem, fosforylcholinem atd) a použití uzavřeného MO s odděleným sáním z chirurgického pole (122 - 125).

V čase t_2 byla v skupině s použitím MO pozorována hyperfibrinolýza u 2 pacientů (20 %) a částečná fibrinolýza ve 150 minutě tromboelastogramu u dalších 2 pacientů. Předoperační charakteristiky a perioperační průběh těchto 4 pacientů byl podobný jako u ostatních pacientů ze stejné skupiny. Délka trvání MO u těchto pacientů byla 55, 37, 31 a 57 minut, zatímco rozsah délky MO u ostatních pacientů byl 41 - 67 minut. Na rozdíl od jiné tromboelastografické studie, která poukazuje na horší klinický průběh (např. větší potřeba koloidů a vazopresorů, zvýšená mortalita), u našich probandů s fibrinolýzou se v pooperačním období nevyskytly žádné komplikace (včetně zvýšené krvácivosti) (138). Incidence fibrinolýzy ve výše zmíněné studii (s použitím MO) (14 %) se blížila k našim výsledkům 20 %.

Teoreticky mohou být některé tromboelastografické parametry v čase během MO změněné vlivem hemodiluce primingem a kardioplegií ve skupině s MO. V naší praxi s použitím nízkého objemu primingu dochází pouze k mírné hemodiluci, kterou podporují i výsledky hematologických parametrů během MO (medián [25.-75. percentil]): hemoglobin 11,9 [10,5-12,1] g dl⁻¹, a hematokrit 36,5 [32,5-37,3].

Nález signifikantně zvýšené hladiny D-dimerů na konci operace ve skupině s MO a srovnání hladin D-dimerů v obou skupinách do 24

hodin po operaci je v souladu s nálezy studií jiných autorů (126, 127).

3.1.5 Závěr

Ačkoliv byla pomocí tromboelastografie nalezena ve skupině s MO hyperfibrinolýza ve 20 % individuálních případů a fibrinolýza ve 20 % případů, rozdíly mezi skupinami byly statisticky nevýznamné. To je evidentně způsobeno malým počtem pacientů v pilotní studii a dá se předpokládat, že při větším počtu pacientů by bylo statistické významnosti dosaženo. Je zde zřejmá potřeba dalších randomizovaných studií s větším počtem nemocných. Výsledky naší pilotní studie byly posléze publikovány v *International Heart Journal* (137).

3.2 Experimentální studie

3.2.1 Pacienti

Do studie bylo zařazeno 65 pacientů s ischemickou nemocí srdeční podstupující operaci aortokoronárních bypassů v období od prosince 2005 do listopadu 2006. Tato studie byla schválena Etickou komisí FNKV (EK/48/2005, září 2005) a všichni pacienti zařazení do studie podepsali informovaný souhlas. Ze studie byli vyloučeni pacienti s následovnými parametry: akutní operace, předchozí operace srdce, kombinované výkony (operace chlopní, nebo aorty), infarkt myokardu méně než 7 dní před operací, hematologické a hepatální onemocnění, renální insuficience (s kreatininem vyšším než 150 $\mu\text{mol/l}$) a předoperační anémie (hemoglobin méně než 11 g/l, hematokrit méně než 32). Absolutní kontraindikací zařazení do studie byla předoperační antiagregační a antikoagulační terapie (kys.

acetylsalicylová vysazena méně než 5 dní, clopidogrel, méně než 14 dní, nízkomolekulární heparin méně než 24 hodin). Během operace nebyli u pacientů použity žádné inhibitory fibrinolýzy.

3.2.2 Metodika

Po zařazení do studie byli pacienti obálkovou metodou s náhodnými čísly randomizováni do 3 skupin: A (konvenční CABG), B (CABG bez použití MO), C (CABG s modifikovaným MO).

3.2.2.1 Skupina A – konvenční MO

Standardní uspořádání mimotělního oběhu, povrch nepotažený rheoparinem (Dideco D903 Avant, Mirandola, Itálie), krystaloidní priming 750ml, heparin v iniciální dávce 300 IU/kg pro dosažení ACT > 480s. Byla použita perfuze v normotermii (2,5 l/m², rotační pumpa) s antegrádní intermitentní kardioplegií a reinfuzí kardiotoomického sání nazpátek do systému. Po dokončení všech anastomoz byla pro zrušení efektu heparinu podána plná dávka protaminu.

3.2.2.2 Skupina B – bez použití MO

Pacienti byli operováni ze střední sternotomie. Na vertikalizaci bijícího srdce byl použit stabilizátor Axios Xpose Device a na stabilizaci a vizualizaci anastomoz byl použit Akrobat SUV Vacuum Stabilizer a Axios Blower/Mister (Guidant, Santa Clara, CA). Nebyl použit cell-saver a odsátá krev z operačního pole nebyla retransfundována žádnému pacientovi. Dávka heparinu byla 100 IU/kg a vedla k hodnotě ACT přes 250 s. Po dokončení všech anastomóz byl účinek heparinu zrušen poloviční dávkou protaminu v závislosti od hodnoty ACT.

3.2.2.3 Skupina C – modifikovaný MO

Byl použit rheoparinem potažený systém pro mimotělní oběh (oxygenátor Medos Hilite 7000, Stolberg, Německo + „hardshell“ venózní rezervoár, hadicový set a kanyly). Krev z perikardu byla odsáta do odděleného rezervoáru a nebyla vrácena nazpátek do mimotělního oběhu. Podání heparinu, perfuze a management kardioplegie byl stejný, jak bylo popsáno ve skupině A.

V průběhu operace byly pacientům podávány krystaloidní roztoky a 5% roztok albuminu. V případě potřeby dostali pacienti syntetické koloidní roztoky. Hraniční hodnoty pro perioperační transfuzi erytrocytů, anebo reinfuzi krve odsáté z perikardu ve skupině C, byl pokles hemoglobinu pod 85 g/l a/nebo hematokrit pod 26. Stejně hodnoty byly stanoveny pro podávání krevní transfuze následujících 24 hodin po operaci. Krevní plazma byla podávána v pooperačním období pro korekci možného nedostatku srážecích faktorů v případě, že krvácení z hrudního drenu bylo více než 150 ml/h, anebo více než 100 ml/h během dvou po sobě následujících hodin. Perioperačně nebyl použit v žádné skupině cell-saver.

Krev pro ROTEM vyšetření byla aspirována z arteriálního katetru. Po odsátí 3 násobného objemu mrtvého prostoru jako prevence masivní kontaminace heparinem, byla krev nabrána do zkumavky obsahující citrát sodný (Greiner Bio-One, Kremsmüenter, Rakousko). Ihned po odebrání, byla krev zpracována pomocí přístroje ROTEG® model 05 (Pentapharm Mnichov, Německo) za použití heparinázy HEPTEG (Nobis, Endingen, Německo) pro odstranění heparinu a EXTEG (Nobis, Endingen, Německo) obsahující tromboplastin pro aktivaci vnější cesty koagulační kaskády. Vzorky byly odebrány v následujících časech: předoperačně (t_1), 15 minut po sternotomii (t_2), v čase dokončení periferní anastomozy bypassu (t_3),

na konci operace (t_4) a 24 hodin po ukončení operace (t_5). Vzorky krve pro vyšetření hematologických parametrů (hemoglobin, hematokrit, trombocyty, protrombinový čas APTT a fibrinogen) byly odebrány standardním způsobem. Vzorky krve pro vyšetření hladiny D-dimerů byly odebrány před operací, na konci chirurgického zákroku a po 24 hodinách. Ke stanovení D-dimerů byla použita diagnostická souprava Liatest D-Di Stachrom a koagulační analyzátor Stago Compact (Diagnostica Stago, Parsippany, NJ).

Pro statistickou analýzu byl použit statistický software (Stata, release 9, Stata Corp LP, College Station, TX). Hodnoty spojitých veličin byly charakterizované jako aritmetický a geometrický průměr, jejich variabilita byla charakterizovaná 95% intervalem spolehlivosti. Pro statistické zpracování dat byla v případě potřeby použita logaritmická transformace. Pro statistické testování skupin byly aplikovány různé metody analýzy rozptylu, Šidákův test a v případě porovnávání dvou skupin t-test. K porovnání rozdílů mezi skupinami v různých časech náběrů bylo použito mnohonásobné testování analýzy rozptylu. Stupeň závislosti mezi dvěma spojitými veličinami byl vypočítán pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Pro diskrétní veličiny byly rozdíly v skupinách analyzovány pomocí Fischerova exaktního testu a Pearsonova χ^2 testu v kontingenční tabulce. Pro všechny statistické testy byla stanovena hladina významnosti 0,05.

3.2.3 Výsledky

Základní demografické a perioperační údaje všech skupin jsou zobrazeny v tabulce č.7. Mezi skupinami nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly. Nedošlo k žádnému perioperačnímu úmrtí, medián délky hospitalizace byl 6 dní (minimum - maximum, 4 -13 dní) a všichni pacienti byli propuštěni do domácího ošetření, anebo do jiného zdravotnického zařízení k pooperační rehabilitaci. U

jednoho pacienta, původně randomizovaného do skupiny B, došlo před zahájením revaskularizace ke konverzi do skupiny A, z důvodu malých intramuskulárních koronárních artérií. U jednoho pacienta ze skupiny C došlo během mimotělního oběhu k reinfuzi odsáté krve (900ml) nazpátek do systému MO, údaje o této 63-leté pacientce (Aditivní EuroSCORE 2, Logistické EuroSCORE 1,59, počet bypassů 4) byly zahrnuty do základních demografických údajů, ale její výsledky nebyly zahrnuty do výsledků studie. Čtyři pacienti (1 původně ze skupiny A, 1 ze skupiny B, 2 ze skupiny C) podstoupili reoperaci s nálezem jasného chirurgického zdroje krvácení, a proto ani jejich pooperační výsledky nebyly zahrnuty do studie.

Tabulka č. 7. Základní demografické údaje a perioperační charakteristiky

	Průměr	Skupina A (n=23)	Skupina B (n=22)	Skupina C (n=20)	P
Věk (roky)	Aritm.	66,7 (62,5;70,8)	66,1 (61,9;70,3)	65,2 (61,5;68,8)	0,860
Pohlaví (muži/ženy) (počet, procento)		18 (78 %) / 5	17 (77 %) / 5	12 (60 %) / 8	0,334
Hmotnost (kg)	Aritm.	85,2 (79,1;91,3)	83,5 (77,3;89,7)	80,8 (73,6;88,0)	0,610
Additivní EuroSCORE	Aritm.	3,17 (1,97;4,38)	3,82 (2,81;4,83)	3,55 (2,47;4,63)	0,683
Logistické EuroSCORE	Geom.	2,21 (1,52;3,20)	2,76 (2,02;3,78)	2,51 (1,78;3,54)	0,624
Délka operace(min.)	Geom.	166,1 (151,5;182,1)	153,3 (137,9;170,3)	166,2 (146,8;188,2)	0,433
Počet bypassů	Aritm.	2,43 (2,12;2,75)	2,09 (1,73;2,45)	2,63 (2,34;2,92)	0,059
Krevní ztráty (ml)	Geom.	326,0 (269,1;394,9)	346,2 (258,6;463,6)	441,9 (354,3;551,1)	0,066
Délka MO (min.)	Geom.	41,86 (37,40;46,84)	-	42,22 (37,58;47,42)	0,943
Délka Ao svorky (min.)	Geom.	24,10 (21,66;26,80)	-	24,54 (21,40;28,15)	0,728

Hodnoty jsou aritmetické a geometrické průměry s 95% intervalem spolehlivosti, pokud není uvedeno jinak. Ao= aortální MO= mimotělní oběh

Rozdíly mezi skupinami v průměrném počtu bypassů (tabulka č. 7) se blížily ke statisticky významné hodnotě (P = 0,059) z důvodu nízkého počtu bypassů na jednoho pacienta ve skupině B. Průměrné perioperační ztráty krve byly vyšší ve skupině C. V této skupině byl objem odsáté krve (medián 150 ml, min-max 100-650 ml) zahrnut do zjišťovaných krevních ztrát.

Tabulka č. 8. Základní hematologické parametry v pre-, peri- a pooperačním období (24h po operaci)

		Skupina A (n=23) ^a	Skupina B (n=22) ^a	Skupina C (n=19) ^a	P
Před operací					
Hematokrit	Geom.	42,37 (40,57;44,26)	42,73 (40,54;45,04)	40,52 (34,00;48,29)	0,741
Hemoglobin (g dl ⁻¹)	Geom.	14,25 (13,61;14,91)	14,70 (14,11;15,32)	14,85 (14,34;15,38)	0,311
Trombocyty (10 ⁹ l ⁻¹)	Geom.	230,7 (209,2;254,4)	235,9 (217,6;255,6)	260,0 (233,4;289,7)	0,169
INR	Geom.	1,05 (1,03;1,07)	1,05 (1,03;1,08)	1,03 (1,00;1,05)	0,162
aPTT (sek.)	Geom.	35,36 (33,20;37,65)	33,67 (32,01;35,42)	35,07 (32,70;37,62)	0,446
Fibrinogen (g l ⁻¹)	Geom.	4,25 (3,85;4,68)	4,47 (4,07;4,92)	4,51 (4,06;5,02)	0,615
AT III (%)	Aritm.	97,2 (91,7;102,7)	101,3 (95,2;107,4)	95,5 (90,0;101,1)	0,335
Po operaci					
Hematokrit	Geom.	36,85 (34,61;39,24)	37,48 (35,63;39,44)	37,04 (34,85;39,38)	0,905
Hemoglobin (g dl ⁻¹)	Geom.	12,11 (11,37;12,90)	12,49 (11,93;13,08)	12,13 (11,41;12,88)	0,659
Trombocyty (10 ⁹ l ⁻¹)	Geom.	160,0 (141,0;181,4)	175,8 (159,3;194,0)	165,1 (144,3;189,0)	0,488
INR	Geom.	1,35 (1,31;1,39)	1,28 (1,23;1,33)	1,40 (1,36;1,45)	0,001
aPTT (sek.)	Geom.	33,81 (32,25;35,44)	41,37 (35,11;48,76)	42,08 (33,68;52,58)	0,066
Fibrinogen (g l ⁻¹)	Geom.	3,26 (2,87;3,70)	3,33 (3,00;3,69)	3,25 (2,88;3,66)	0,947
AT III (%)	Aritm.	77,3 (73,5;81,1)	74,0 (68,5;79,6)	69,7 (65,0;74,5)	0,076
ACT	Geom.	130,0 (124,4;136,0)	140,8 (131,8;150,5)	133,0 (126,5;139,8)	0,085
24 hodin po operaci					
Hematokrit	Geom.	30,33 (28,90;31,84)	31,94 (30,21;33,76)	29,37 (28,06;30,74)	0,063
Hemoglobin (g dl ⁻¹)	Geom.	10,24 (9,73;10,77)	10,96 (10,35;11,61)	9,91 (9,51;10,33)	0,020
Trombocyty (10 ⁹ l ⁻¹)	Geom.	169,4 (154,0;186,5)	186,1 (168,8;205,2)	160,0 (121,5;210,6)	0,378
INR	Geom.	1,24 (1,20;1,27)	1,26 (1,21;1,32)	1,26 (1,20;1,32)	0,715
aPTT (sec.)	Geom.	36,61 (34,87;38,44)	41,77 (36,26;48,13)	41,97 (33,87;52,01)	0,242
Fibrinogen (g l ⁻¹)	Geom.	4,70 (4,26;5,18)	4,40 (4,07;4,75)	4,26 (3,89;4,66)	0,257
AT III (%)	Aritm.	78,3 (74,3;82,4)	73,6 (68,8;78,4)	71,2 (65,9;76,5)	0,076

Hodnoty jsou aritmetické a geometrické průměry s 95% intervalem spolehlivosti. aPTT = aktivovaný parciální tromboplastinový čas; AT III = antitrombin; INR = mezinárodní normalizovaný poměr protrombinového času.

^a V čase náběru 24 hodin po operaci byli ze souboru dat vyřazeni 4 pacienti (1 ze skupiny A, 1 ze skupiny B a 2 ze skupiny C).

Hemodiluce během MO byla ve skupinách s použitím pumpy byla jen mírná (mediány [25 - 75 percentil] – skupina A: hemoglobin 11,6 [10,3; 12,0] g dl⁻¹, hematokrit 35,6 [31,0; 36,9], skupina C: hemoglobin 10,5 [10,0; 12,0] g dl⁻¹, hematokrit 32,1 [30,9; 36,9]). V délce mimotělního oběhu ani v délce aortální svorky nebyl mezi skupinami A a C žádný rozdíl.

Průměry a 95% intervaly spolehlivosti základních preoperačních a pooperačních hematologických parametrů jsou zobrazeny v tabulce č. 8. Předoperačně měly všechny skupiny srovnatelné charakteristiky. V pooperačním období byl statisticky signifikantní rozdíl mezi skupinami nalezen v hodnotách INR. U pacientů ve skupině B byla ve srovnání s ostatními skupinami hodnota INR nižší. V žádné skupině nebyla maximální hodnota INR vyšší než 1,58. Výrazný, ale ne statisticky významný rozdíl mezi skupinami byl pozorován u hodnoty aktivovaného parciálního trombotického času (aPTT), ve skupině B a C se vyskytlo několik pacientů s nápadně vyšší hodnotou, a to způsobilo vyšší geometrické průměry v těchto skupinách.

Průměrné pooperační ztráty za 24 hodin byly ve skupině A 686,7 ml, ve skupině B 555,3 ml a 775,6 ml ve skupině C. Nejvyšší pooperační ztráty byly tedy ve skupině C, nejmenší ve skupině A. Rozdíl mezi skupinami nedosahoval statistické významnosti ($P = 0,157$). Hodnoty hematokritu a hemoglobinu měli 24 hodin po operaci nejnižší průměrné hodnoty ve skupině C (29,37) a nejvyšší průměrné hodnoty ve skupině B (31,94).

V průběhu operace byla podána transfuze erytrocytů pouze jednomu pacientovi z každé skupiny. Počet pacientů kteří dostali transfuzi erytrocytů v pooperačním období bylo ve skupině A 9 pacientů (40,9 %), ve skupině B 5 pacientů (23,8 %) a ve skupině C 9 pacientů (52,9 %). Přestože byla pooperační potřeba transfuze výrazně nižší ve skupině B, tento rozdíl nedosáhl statistické významnosti ($P = 0,176$). Počet pacientů, kterým byla podána

čerstvá plazma, byl 14 (63,6 %) ve skupině A, 9 (42,9 %) ve skupině B a 9 (52,9 %) ve skupině C.

Tabulka č. 9. Porovnání tromboelastografických parametrů v jednotlivých časech

Čas odběru		Skupina A (n=23) ^a	Skupina B (n=22) ^a	Skupina C (n=19) ^a	P
t₁					
CT [sec]	Geom.	59,5 (54,6;64,8)	52,0 (43,4;62,3)	62,6 (58,3;67,2)	0,094
CFT [sec]	Geom.	66,4 (60,2;73,2)	73,6 (63,0;85,9)	71,8 (61,4;83,9)	0,498
MCF [mm]	Aritm.	69,7 (65,5;73,8)	70,4 (64,6;76,2)	68,5 (62,7;74,2)	0,867
Úhel α [°]	Aritm.	77,1 (75,9;78,3)	75,4 (73,7;77,1)	75,2 (73,1;77,2)	0,155
LOT (30 min.)	Aritm.	97,9 (97,6;98,1)	98,0 (98,0;98,0)	97,9 (97,8;98,1)	0,542
LOT (60 min.)	Aritm.	93,7 (92,5;94,8)	92,9 (92,0;93,7)	93,9 (92,8;95,0)	0,305
LOT (150 min.)	Aritm.	84,5 (82,3;86,6)	82,8 (81,1;84,5)	83,8 (82,5;85,1)	0,401
t₂					
CT [sec]	Geom.	87,2 (64,1;118,7)	76,2 (59,6;97,4)	80,9 (64,5;101,5)	0,746
CFT [sec]	Geom.	78,8 (64,1;97,0)	71,9 (63,0;82,1)	73,6 (65,0;83,3)	0,684
MCF [mm]	Aritm.	63,9 (61,0;66,7)	64,5 (61,9;67,0)	65,3 (63,2;67,3)	0,730
Úhel α [°]	Aritm.	73,5 (69,9;77,1)	75,1 (73,3;76,9)	74,8 (73,0;76,6)	0,609
LOT (30 min.)	Aritm.	97,6 (97,0;98,1)	97,8 (97,6;98,0)	97,9 (97,7;98,0)	0,387
LOT (60 min.)	Aritm.	94,3 (93,2;95,4)	93,3 (92,1;94,4)	94,1 (92,6;95,5)	0,431
LOT (150 min.)	Aritm.	86,4 (83,8;89,0)	83,0 (80,7;85,3)	84,7 (82,6;86,9)	0,113
t₃					
CT [sec]	Geom.	110,5 (90,4;135,1)	127,7 (100,7;161,9)	136,7 (103,7;180,1)	0,404
CFT [sec]	Geom.	90,0 (80,4;100,8)	82,8 (72,1;95,0)	104,2 (85,5;127,0)	0,087
MCF [mm]	Aritm.	58,6 (56,1;61,0)	62,8 (59,1;66,6)	60,3 (55,3;65,2)	0,225
Úhel α [°]	Aritm.	72,1 (70,1;74,1)	72,8 (70,5;75,1)	68,6 (64,3;72,9)	0,088
LOT (30 min.)	Aritm.	96,9 (95,1;98,7)	97,8 (97,4;98,2)	98,0 (98,0;98,0)	0,340
LOT (60 min.)	Aritm.	76,3 (62,0;90,6)	93,6 (92,4;94,9)	96,3 (95,2;97,3)	0,003
LOT (150 min.)	Aritm.	42,4 (24,9;59,9)	82,3 (80,2;84,4)	85,1 (82,8;87,4)	<0,001
t₄					
CT [sec]	Geom.	68,7 (54,1;87,1)	73,9 (64,2;85,2)	72,3 (56,9;91,8)	0,861
CFT [sec]	Geom.	78,1 (70,1;86,9)	67,3 (59,9;75,7)	76,7 (68,0;86,5)	0,118
MCF [mm]	Aritm.	64,7 (62,4;66,9)	65,5 (63,4;67,6)	65,9 (63,7;68,1)	0,695
Úhel α [°]	Aritm.	74,7 (73,2;76,1)	76,5 (75,0;77,9)	74,6 (72,6;76,6)	0,162
LOT (30 min.)	Aritm.	98,0 (97,9;98,0)	97,9 (97,8;98,0)	97,9 (97,8;98,1)	0,796
LOT (60 min.)	Aritm.	95,6 (94,6;96,6)	93,5 (92,1;94,9)	95,1 (93,8;96,4)	0,038
LOT (150 min.)	Aritm.	82,1 (74,3;89,9)	83,7 (81,8;85,7)	86,2 (84,1;88,2)	0,519

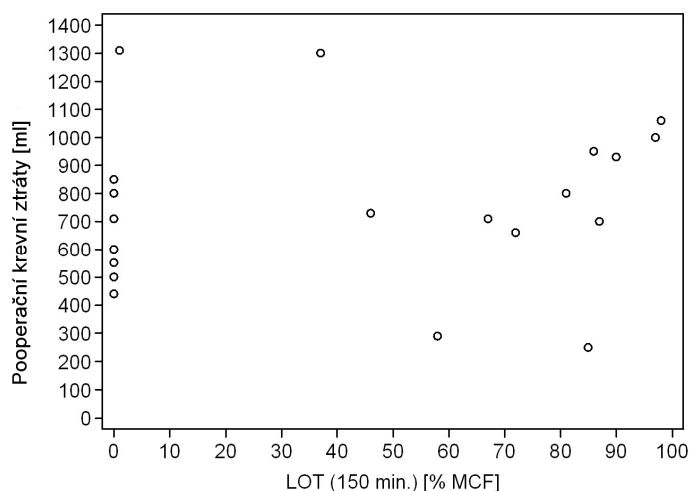
t_5					
CT [sec]	Geom.	62,5 (48,8;79,9)	64,3 (54,4;75,9)	58,2 (50,3;67,3)	0,759
CFT [sec]	Geom.	66,8 (59,2;75,4)	69,9 (63,1;77,3)	70,3 (59,3;83,3)	0,815
MCF [mm]	Aritm.	70,9 (66,6;75,1)	73,6 (69,1;78,1)	66,9 (63,7;70,2)	0,078
Úhel α [°]	Aritm.	76,7 (75,2;78,3)	76,3 (75,1;77,5)	76,2 (74,4;78,1)	0,876
LOT (30 min.)	Aritm.	97,9 (97,7;98,1)	98,0 (98,0;98,0)	97,9 (97,8;98,1)	0,569
LOT (60 min.)	Aritm.	93,8 (92,5;95,0)	93,0 (91,8;94,1)	93,4 (92,4;94,3)	0,571
LOT (150 min.)	Aritm.	84,7 (82,4;86,9)	83,6 (81,5;85,7)	83,8 (82,0;85,5)	0,714

Uvedené hodnoty jsou aritmetické (aritm.) a geometrické (geom.) průměry s intervalem spolehlivosti 95 %.

^a V čase náběru t_5 - 24 hodin po operaci byli ze souboru dat vyřazeni 4 pacienti (1 ze skupiny A, 1 ze skupiny B a 2 ze skupiny C).

Srovnání tromboelastografických hodnot monitorovaných ve sledovaných časech znázorňuje tabulka č. 9. Všechny vyšetřované parametry byly ve všech skupinách podobné v časech t_1 , t_2 , t_4 a t_5 . Pouze v čase t_3 (v čase dokončení periferní anastomozy bypassu) byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi skupinami v nejdůležitějším parametru detekující fibrinolýzu – čas nástupu lyze koagula LOT (60 min.) ($P = 0,003$) a v LOT (150 min.) ($P < 0,001$). Střední hodnoty těchto parametrů byly signifikantně nižší ve skupině A ve srovnání se skupinami B a C, kde tyto rozdíly nebyly statisticky významné LOT (60 min.) ($P = 0,968$), LOT (150 min.) ($P = 0,979$). Parametr LOT (150 min.) nižší než 50 % maximální pevnosti koagula (MCF) byl nalezen u 12 (52,2 %) pacientů ze skupiny A.

Ve skupině A jsme v čase t_3 testovali závislost mezi LOT (150 min.) a pooperačními krevními ztrátami (obrázek č. 7). Spearmanův korelační koeficient byl 0,39 ($P = 0,075$). U pacientů s jasným tromboelastografickým znakem hyperfibrinolýzy (LOT rovné 0) byl velký rozdíl v krevních ztrátách od 440 do 1310ml).

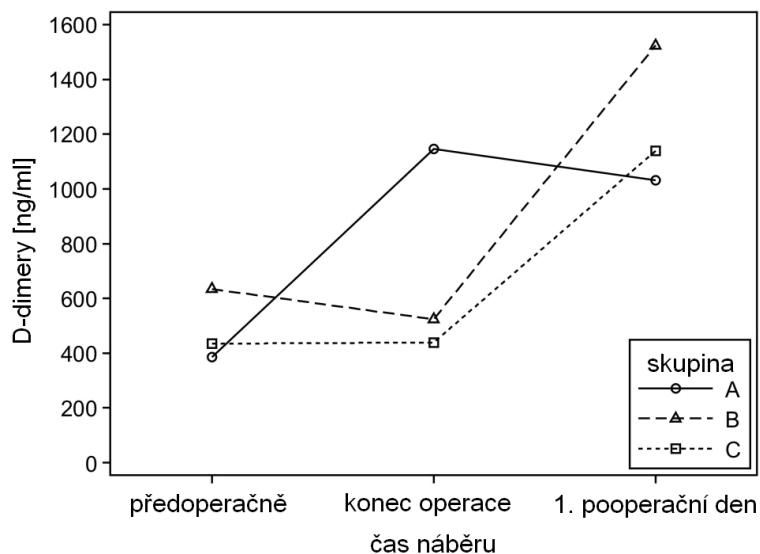


Obrázek č. 7. Závislost pooperačních krevních ztrát na MCF v čase LOT 150 min v čase t_3

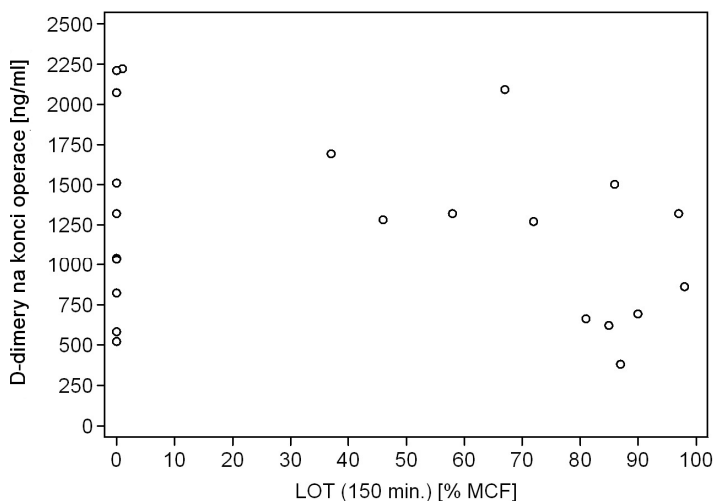
Změny hladiny D-dimerů v čase znázorňuje obrázek č. 8 a tabulka č. 10. Ve všech skupinách byl signifikantní nárůst hladiny D-dimerů. Ve skupině A byla nejvyšší hodnota dosažená na konci operace, zatímco ve skupině B a C byly maximální hodnoty naměřeny nejpozději 1. pooperační den. Následkem toho byl statisticky významný rozdíl mezi skupinami ($P < 0,001$) na konci operace. Střední hodnota hladiny D-dimerů na konci operace ve skupině A se výrazně lišila od hladin ve skupinách B a C ($P = 0,001$, $P < 0,001$), zatímco rozdíl mezi skupinami B a C nebyl statisticky významný ($P = 0,231$).

Tabulka č. 10. Hladiny D-dimerů v jednotlivých časech ($ng\ ml^{-1}$)

Čas náběru	Skupina A (n=22)	Skupina B (n=21)	Skupina C (n=17)	<i>P</i>
Před operací	384,7 (247,4; 598,3)	634,2 (476,3; 844,6)	434,4 (314,4; 600,3)	0,107
Na konci operace	1146,7 (907,5; 1449,0)	523,7 (392,1; 699,5)	438,8 (285,1; 675,3)	<0,001
1. pooperační den	1032,5 (832,3; 1281,0)	1524,1 (1201,1; 1933,9)	1139,1 (866,2; 1498,1)	0,046



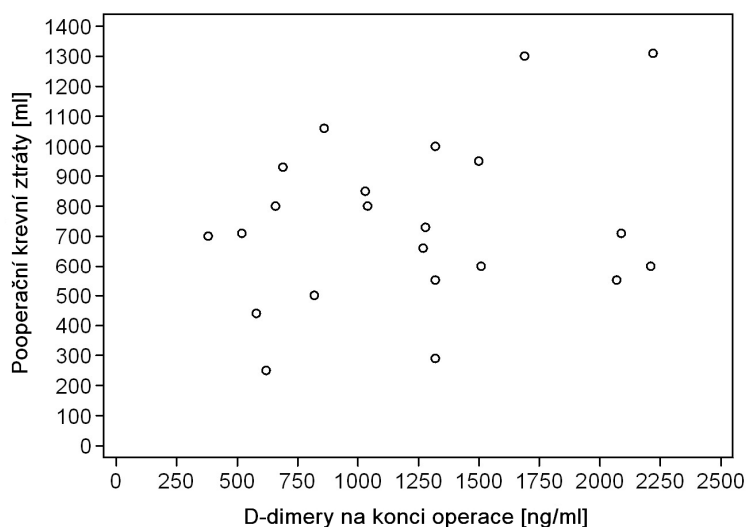
Obrázek č. 8. Hladiny D-dimerů (ng ml^{-1}) v jednotlivých časech dle skupin



Obrázek č. 9. Vztah mezi LOT (150 min.) v čase t_3 a hladinou D-dimerů (na konci operace) ve skupině A

Vzhledem k mechanismu fibrinolýzy očekávané v čase t_3 jsme očekávali vzestup hladiny D-dimerů na konci operace. Ve skupině A, vztah mezi LOT (150 min.) v čase t_3 a hladinou D-dimerů na konci operace znázorňuje obrázek č. 9. Mezi proměnnými je nesignifikantně negativní závislost s korelačním koeficientem $-0,16$ ($P = 0,463$). U pacientů s jasným tromboelastografickým znakem fibrinolýzy (LOT rovné 0) byl veliký rozsah hodnot v hladinách D-dimerů (min-max 520-2210 ng/ml). Podobně v čase t_4 byla korelace mezi LOT (150 min.) a hladinou D-dimerů nízká (0,02) a statisticky nevýznamná

($P = 0,933$). Vztah mezi hladinou D-dimerů na konci operace a krevními ztrátami ve skupině A znázorňuje obrázek č. 10. I když podle grafu by se mohlo zdát, že jde o závislost, Spearmanův korelační koeficient je nízký 0,21 ($P = 0,354$).



Obrázek č. 10. Pooperační krevní ztráty (za 24h) v závislosti od hladin D-dimerů na konci operace ve skupině A

Tabulka č. 11. Spearmanův korelační koeficient mezi vybranými hodnotami pro skupiny A, B, C

	Skupina A	Skupina B	Skupina C
LOT (150 min.) v čase t_3	0,39	-0,48	0,21
vs. krevní ztráty	($P = 0,075$)	($P = 0,027$)	($P = 0,433$)
LOT (150 min.) v čase t_3	-0,16	0,57	-0,23
vs. D-dimer	($P = 0,463$)	($P = 0,006$)	($P = 0,350$)
LOT (150 min.) v čase t_4	-0,10	-0,23	0,16
vs. krevní ztráty	($P = 0,652$)	($P = 0,325$)	($P = 0,547$)
LOT (150 min.) v čase t_4	0,02	0,45	0,17
vs. D-dimer	($P = 0,933$)	($P = 0,037$)	($P = 0,482$)
D-dimer	0,21	-0,29	0,14
vs. krevní ztráty	($P = 0,354$)	($P = 0,21$)	($P = 0,580$)

Hodnoty jsou Spearmanove korelační koeficienty a hodnoty P za předpokladu, že korelace je nulová. Časy náběrů: t_3 - v čase dokončení periferní anastomozы bypassu, t_4 - na konci operace, D-dimery - D-dimery na konci operace, krevní ztráty - krevní ztráty za 24 hodin, LOT - LOT ve 150 min.

Již zmíněné korelace pro skupinu A (s jasnými tromboelastografickými znaky fibrinolýzy) doplněné o výsledky skupiny B a C sumarizuje tabulka č. 11.

V této studii provádělo operace 5 hlavních a 5 asistujících chirurgů. Hlavní chirurgové prováděli revaskularizaci myokardu, asistenti otevření hrudní dutiny, odběr levostranné arteria mammae interna a uzavření sternotomie. V krevních ztrátách v pooperačním období nebyly nalezeny signifikantní rozdíly ani u hlavních chirurgů, ani u asistujících chirurgů ($P = 0,849$, $P = 0,276$).

3.2.4 Diskuse

Hlavním nálezem této randomizované studie je tromboelastografický nálezn přítomné fibrinolýzy a hyperfibrinolýzy ve skupině A s konvenčním MO v čase dokončení periferní anastomozы bypassu. V tomto kritickém čase na konci MO nebyly nalezeny žádné tromboelastografické známky fibrinolýzy ve skupinách bez MO a ani s modifikovaným „méně invazivním“ MO. V ostatních časech nebyla pomocí tromboelastografie nalezena fibrinolytická aktivita v žádné skupině. Proto, s podporou dostupné literatury, usuzujeme, že hlavním spouštěčem fibrinolytické aktivity je cizorodý (necoatovaný) povrch systému MO a přímá reinfuze tekutin z koronárního sání, které byly v kontaktu s perikardiálními a mediastinálními povrchy (132). Přímý vliv biokompatibilního povrchu MO a retransfuze odsáté krve by měl být sledován v dalších studiích s jiným designem (skupinu s modifikovaným MO rozdělit na 2 skupiny). I přes fakt, že dostupná literatura popisuje, že antifibrinolytika redukuje pooperační krevní ztráty po operacích s MO (133 – 137), z našich výsledků se zdá, že vliv sternotomie a chirurgická manipulace s orgány nehrají v aktivaci fibrinolýzy tak velkou roli, jako samotný MO. Závěry této studie se shodují s výsledky pilotní studie (137).

I když v této studii vykazovala téměř polovina skupiny pacientů A s konvenčním MO (52,2 %) známky fibrinolýzy během MO, tyto známky vymizely spontánně a nebyly detekovatelné na konci

operace, ani 24 hodin po operaci. Z toho důvodu nebyla u žádného z pacientů zahájena antifibrinolytická terapie.

Překvapivě jsme ve skupině A nenašli žádnou souvislost mezi tromboelastografickými znaky fibrinolýzy a pooperačními krevními ztrátami. Tento nález je v rozporu s výsledky jiné retrospektivní studie, zabývající se fibrinolýzou v kardiochirurgii, kde byl nález fibrinolýzy u pacientů spojen se špatným klinickým průběhem v pooperačním období (138). Podobně jako naše studie i studie jiných autorů potvrzují, že operace bez použití MO ve srovnání s použitím klasického MO snižují pooperační krevní ztráty a počet podaných krevních transfuzí (139).

Překvapivě ale nedošlo ke snížení pooperačních ztrát a počtu transfuzí ve skupině C. Jde o skupinu s modifikovaným MO s biokompatibilním povrchem a odděleným kardiotomickým sáním, které zabezpečilo, aby se krev po kontaktu s perikardem a mediastinem, které obsahují velké množství cytokinů, tkáňového faktoru a tkáňového aktivátoru plazminogenu, nedostávala do systému MO (132). Jedním z důvodů může být fakt, že nebyl použit tzv. „minimálně invazivní“ uzavřený systém MO, ale jenom tzv. „méně invazivní“ MO (140, 141).

Nález signifikantního zvýšení hladiny D-dimerů ve skupině s klasickým MO na konci operace a obdobný nárůst ve skupinách bez MO v první pooperační den popisují i další autoři (136, 142, 143). V naší studii jsou změny hladin D-dimerů ve skupině s modifikovaným MO a ve skupině bez MO podobné. Neumíme si však vysvětlit negativní nesignifikantní korelaci mezi LOT (150 min.) v čase t_3 a hladinou D-dimerů na konci operace ve skupině A. V současné době nejsou ani v literatuře dostupná data porovnávající tromboelastografické znaky fibrinolýzy s relevantními plazmatickými markery.

4 Souhrn výsledků a závěry

V pilotní randomizované prospektivní studii na 20 pacientech operovaných s a bez použití MO (10 s MO, 10 bez MO) byly nalezeny tromboelastografické znaky fibrinolýzy v obou skupinách, ovšem ve skupině s MO byly výraznější. Hyperfibrinolýza byla nalezena u 2 pacientů, u dalších 2 pacientů se vyskytly známky fibrinolýzy. Fibrinolýza byla detekovaná pouze v čase dokončení periferních anastomóz, ke konci operace vymizela spontánně. U pacientů s nálezem fibrinolýzy nedošlo ke zvýšení pooperačních krevních ztrát, ani ke zvýšení počtu podaných transfuzí. I když se fibrinolýza vyskytla pouze u pacientů s MO, rozdíly mezi skupinami nedosáhly statistické významnosti z důvodu malého počtu pacientů. Studie byla publikována v International Heart Journal (144).

Pilotní studie potvrdila hypotézu, že u pacientů, podstupujících operaci aortokoronárních bypassů s konvenčním MO, je výskyt fibrinolýzy vyšší.

Do experimentální klinické studie bylo zařazeno 65 pacientů, randomizovaných do 3 skupin: A – s konvenčním MO, B – bez MO, C – s modifikovaným MO. Základní demografické a předoperační charakteristiky skupin byly porovnatelné. Sledované byly následující parametry: výskyt fibrinolýzy, krevní ztráty a objem podaných krevních derivátů.

Tromboelastografické známky fibrinolýzy se vyskytly pouze ve skupině A, u pacientů operovaných s použitím konvenčního mimotělního oběhu. Incidence fibrinolýzy byla 52,2 %. Známky fibrinolýzy se vyskytly v čase mimotělního oběhu a vymizely spontánně na konci operace. Překvapivě nebyly spojeny ani se zvýšeným pooperačním krvácením, ani s vyšší potřebou transfuzí erytrocytů. Předběžné výsledky experimentální studie o výskytu

fibrinolýzy byly publikovány jako „work in progress report“ v časopisu *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* (145).

Pooperační krevní ztráty nebyly ve skupině pacientů operovaných s konvenčním MO signifikantně vyšší v porovnání s pacienty operovanými bez MO a s modifikovaným MO.

Změny hladin D-dimerů v čase měly v obou studiích podobný průběh. Ve skupině s MO došlo k signifikantnímu nárůstu hladin D-dimerů ke konci operace. Za 24 hodin došlo k vyrovnání jejich hladin nárůstem ve skupině bez MO i s modifikovaným MO. Ve skupině pacientů operovaných s modifikovaným MO byly hladiny obdobné jako ve skupině pacientů operovaných bez MO. Tromboelastografické znaky fibrinolýzy nalezené ve skupině s MO nekorelovaly s hladinou D-dimerů.

Ani v pilotní, ani v experimentální studii se ve skupině bez MO a s méně invazivním MO fibrinolýza nevyskytla. Je-li použit mimotělní oběh, dochází přes systémovou heparinizaci k aktivaci prokoagulačních mechanismů – stykem krve s neendoteliálními povrchy – s následnou další aktivací fibrinolýzy. Reinfuze krve z operačního pole, která obsahuje velká množství cytokinů, tkáňového faktoru a tkáňového aktivátoru plazminogenu, dále zesiluje tyto patologické děje. Podle našeho zjištění jsou naposledy vyjmenované mechanismy pro aktivaci fibrinolýzy pravděpodobně klíčové. Po použití mimotělní oběhu, jehož povrch je ošetřen biokompatibilní vrstvou a bez zpětné reinfuze mediastinální krve do mimotělního oběhu, k fibrinolýze, detekované pomocí tromboelastografie, nedochází (146). Byla tak potvrzena hypotéza, o nižším výskytu fibrinolýzy v těchto skupinách.

V obdobné problematice jsme pokračovali v další prospektivní, randomizované, dvojité slepé studii LOST (Local and Systemic application of Tranexamic acid in heart valve surgery). U pacientů,

kteří podstoupili kardiochirurgický výkon na srdečních chlopních, jsme sledovali vliv lokálního podání antifibrinolytik do perikardiální dutiny. V souboru 100 pacientů bylo systémové podání tranexamové kyseliny (1 g před kožním řezem, kontinuálně 400 mg/hod.) augmentováno lokální aplikací (u 49 pacientů - aplikován roztok 250 ml fyziologického roztoku + 2,5 g tranexamové kyseliny, u 51 pacientů 250 ml fyziologického roztoku - placebo). V žádné ze skupin se nevyskytla tromboelastograficky detekována hyperfibrinolýza a nebyl pozorován ani rozdíl ve sledovaných tromboelastografických parametrech mezi skupinami. Z absence nálezu fibrinolýzy a z výsledků vyšetření D-dimerů, jejichž pooperační hladiny byly stabilní a relativně nízké, usuzujeme, že dávka tranexamové kyseliny podávané intravenózně byla dostatečná k potlačení systémové hyperfibrinolýzy. Práce byla publikována v *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* (147), není však předmětem této dizertační práce.

Výskyt tromboelastografických znaků fibrinolýzy je detekovatelný u velké části pacientů podstupujících operaci aortokoronárních bypassů s použitím konvenčního mimotělního oběhu. U pacientů operovaných bez mimotělního oběhu anebo s modifikovaným mimotělním oběhem se v perioperačním období tromboelastograficky detekovatelná fibrinolýza nevyskytla.

Důležitou součástí prevence hyperfibrinolýzy během kardiochirurgických výkonů s použitím mimotělního oběhu je ošetření vnitřního povrchu MO biokompatibilními materiály a zabránění reinfuze krve, odsáté z operační rány, do mimotělního oběhu.

5 Souhrn

Častou komplikací kardiochirurgických operací s použitím mimotělního oběhu (MO) je excesivní aktivace hemokoagulace s výskytem fibrinolýzy. V pilotní a experimentální studii byl sledován výskyt tromboelastografických znaků fibrinolýzy a její vliv na pooperační krevní ztráty a objem podaných transfuzí u pacientů podstupujících operaci koronárních artérií.

V pilotní randomizované prospektivní studii byly porovnány výsledky 20 pacientů (10 s MO, 10 bez MO). Tromboelastografické známky hyperfibrinolýzy byly detekované u 2 pacientů a známky zvýšené fibrinolytické aktivity u dalších 2 pacientů podstupujících operaci s MO, zatímco ve skupině bez MO se nevyskytly žádné znaky fibrinolýzy.

V prospektivní experimentální studii bylo randomizováno 65 pacientů do 3 skupin: A - s konvenčním MO, B - bez MO, C - s modifikovaným MO (biokompatibilní rheoparinem potažený povrch MO, koronární sání do odděleného rezervoáru). V čase dokončení periferních anastomos bypassu byl mezi skupinami statisticky významný rozdíl v parametru LOT (lysis on set time) v 60 minutě ($P = 0,003$) a ve 150 minutě ($P < 0,001$), střední hodnoty těchto parametrů byly signifikantně nižší ve skupině s konvenčním MO než ve skupinách B a C, kde se statisticky nelišily. LOT nižší než 50 % byl nalezen v čase dokončení periferních anastomos u 12 pacientů (52,2 %) ve skupině A. V ostatních časech náběrů (předoperačně, 15 min po sternotomii, na konci operace a 24 hodin po operaci) byly tromboelastografické parametry ve všech skupinách podobné. Ve skupině A nebyla nalezena korelace mezi LOT, krevními ztrátami a hladinou D-dimerů.

Fibrinolýza se v obou studiích vyskytovala pouze u operací s klasickým mimotělním oběhem v čase dokončení periferních anastomos. Znamky fibrinolýzy vymizely spontánně na konci operace a nekorelovaly s krevními ztrátami ani s hladinou D-dimerů. U pacientů operovaných bez mimotělního oběhu a s modifikovaným mimotělním oběhem jsme nenalezli detekovatelné známky aktivace fibrinolýzy.

Abstract

The aim of preliminary and experimental prospective, randomized study was to search for thromboelastography signs of fibrinolysis, their impact on postoperative blood loss and need of transfusion in coronary surgery.

In preliminary study we had compared results in 20 patients scheduled for coronary surgery (10 patients OPCAB, 10 patients conventional CABG). Completely expressed thromboelastographic signs of hyper-fibrinolysis had been detected in 2 on-pump patients and partial signs of increased fibrinolytic activity had been noticed in other 2 patients originating from the same group, unlike OPCAB group, in which no signs of fibrinolysis had been observed. However, differences between the evaluated groups in that trial had not reached statistical significance due to a small number of study subjects.

In experimental study, 65 patients scheduled for coronary surgery were randomized into three groups: A – conventional coronary artery bypass grafting, B – off-pump surgery, C – coronary artery bypass grafting with modified, rheoparin coated cardiopulmonary bypass with the avoidance of re-infusion of cardiectomy blood into the circuit. On the completion of peripheral bypass anastomoses, highly significant inter-group differences were found in the thromboelastographic parameter lysis of set time at 60 min of assessment ($P=0,003$) and at 150 min of assessment ($P<0,001$), the mean values of these parameters were significantly lower in group A as compared with both groups B and C, which were statistically indistinguishable. Lysis on set time on the completion of peripheral bypass anastomoses -50% was detected in 12 patients (52,2 %) originating from group A. At the other sampling times (preoperatively, 15 min after sternotomy, at the end of the procedures, and 24 h later) thromboelastographic parameters were similar in all groups. In group A no significant

correlations between lysis on set time, postoperative blood loss and D-dimer levels were found.

Based on results of pilot and experimental study, thromboelastographic signs of fibrinolysis were clearly detectable during conventional cardiopulmonary bypass, but not at any time in off-pump group, nor in group operated on with the use of modified CPB. The signs of fibrinolysis resolved spontaneously at the end of surgery and were not associated with increased post-operative bleeding. No significant correlation with D-dimer levels was found.

6 Použitá literatura

1. WAGNER, R. *Kardioanestezie a perioperační péče v kardiochirurgii*, Grada Publishing 2009. Kapitola 6. Hemokoagulace a hemoterapie, 171 - 204
2. HALL, T. S. - BREVETTI, G. R. - SKOUTCHI, A. J. et al. Re-exploration for hemorrhage following open heart surgery differentiation in the causes of bleeding and the impact on patient outcomes. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2001, 7 (6), 352 - 357
3. MATARACI, I. - POLAT, A. - TOKER, M.E. et al. Postoperative revision surgery for bleeding in a tertiary heart center. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2010, 18 (3), 266-71
4. RANUCCI, M. - PAVESI M. - MAZZA E., et al. Risk factors for renal dysfunction after coronary surgery: the role of cardiopulmonary bypass technique. *Perfusion*, 1994, 9 (5), 319-26.
5. SHUMACKER H. B., Birth of an idea and the development of cardiopulmonary bypass. In: Gravlee G, David RF, Kurusz M, Utley JR eds. *Cardiopulmonary Bypass Principles and Practice*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, 22-34.
6. MILLER, B. J. The developement of heart-lung machines. *Surg Gynecol Obstet*, 1982, 154, 403 - 414.
7. DEBAKEY, M. E. Simple continous flow blood transfusion instrument. *N Orleans Med Surg J*, 1934, 87, 386.
8. WAGNER, R. *Kardioanestezie a perioperační péče v kardiochirurgii*, Grada Publishing 2009. Kapitola 5. Mímotělní oběh, 149 - 168
9. SVENMARKER, S. *Heparin coating and cardiotomy suction in cardopulmonary bypass*. Print &Media Umea University, 2003, 855

10. MURPHY, G.S. - HESSEL, E.A. - GROOM, R.C. Optimal perfusion during cardiopulmonary bypass: An evidence-based approach. *Anesth Analg* 2009, 1080, 1394-417
11. NEČAS, E. et al. *Patologická fyziologie orgánových systémů*, část I., Karlova Univerzita v Praze, 2005, Kapitola 1.9. Poruchy srážení krve, 92 - 116.
12. ŠLECHTOVÁ, J. Hemostáza - jak ji možná neznáme, *Klin. Biochem. Metab.* 2007, 15 (36), 2, 97-101
13. COLLEN, D. On the regulation and control of fibrinolysis. Edward Kowalski Memorial Lecture. *Thromb Haemost*, 1980, 2, 43, 77 - 89.
14. CAMILIO, S. M. - THORSEN, S. - ASTRUP, T. Fibrinogenolysis and fibrinolysis with tissue plasminogen activator, urokinase, streptokinase-activated human globulin and plasmin. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1971, 138, 277 - 280.
15. NESHEIM, M. Thrombin and fibrinolysis. *Chest*, 2003, 124 (Suppl 3), 33S - 9S.
16. JENNY, N. S. - LUNDBLAD, R. L. - MANN, K. G. et al. *Hemostasis and thrombosis; basic principles and clinical practice*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 193 - 213.
17. VERRIER, E. D. - MORGAN, E. N. Endothelial response to cardiopulmonary bypass surgery. *Ann Thorac Surg*, 1998, 66, 17-19.
18. BEVILACQUA, M. P. - POBER, J. S. - MAJEAU, G. R. et al. Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: characterisation and comparison with the actions of interleukin 1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83, 4533 - 4537.
19. BEVILACQUA, M. P. - SCHLEEF, R. R. - GIMBRONE, M. A. et al. Regulation of the fibrinolytic system of cultured human

- endothelium by interleukin 1. *J Clin Invest*, 1986, 78, 587 - 591.
20. SHORER, A.E. - KAPLAN, M.E. - RAO, G.H., et al. Interleukin 1 stimulates endothelial cell tissue factor production and expression by a prostaglandin-independent mechanism. *Thromb Haemost*, 1986, 56, 9782 - 9787
 21. BOYLE, E. M. jr. - VERRIER, E. D. - SPIESS, B. D. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the procoagulant response. *Ann Thorac Surg*, 1996, 62, 1549 - 1557.
 22. VERRIER, E. D. - BOYLE, E. M. jr. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: An overview. *Ann Thorac Surg*, 1997, 64, S2- S8.
 23. KAY, P. H. *Techniques in Extracorporeal Circulation*. Third edition. Oxford: Butterworth - Heinemann Ltd, 1992. Section 2, Physiology and pathophysiology of extracorporeal circulation, 8 - 32.
 24. LONSKÝ, V. *Mimotělní oběh v klinické praxi*. Gada Publishing 2004, Kapitola 3: Fyziologie a patofyziologie mimotělního oběhu, 69 - 116.
 25. HORNICK, P. - GEORGE, A. Blood contact activation: pathophysiological effects and therapeutic approaches. *Perfusion*, 1996, 11, 3-19.
 26. KIRKLIN, J. V. - BARRAT-BOYES, B. G. *Cardiac surgery*. Second edition., 1. London: Churchill Livingstone Inc.1993, Chapter 2, Hypothermia, circulatory arrest, and cardiopulmonary bypass, 61 - 127.
 27. KUNEŠ, P. - ŽÁČEK, P. - LONSKÝ, V., et al. Reperfuzní poškození v kardiologii IV.část. Mimotělní oběh a celková zánětlivá odpověď organismu. *Cor Vasa*, 1997, 39 (6), 207 - 208.
 28. ROYSTON, D. Systemic inflammatory responses to surgery with cardiopulmonary bypass, *Perfusion*, 1996, 11, 177 - 189.

29. SHASTRI, K. A. - LOGUE, G. L. - STERN, M. P., et al. Neutrophil lactoferrin release during open heart surgery is unrelated to complement activation. *Asaio J*, 1994, 40 (1), 56-61
30. PHILIPPOU, H. - ADAMI, A. - DAVIDSON, S. J. et al. Tissue factor is rapidly elevated in plasma collected from the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *Thromb Haemost*, 2000, 84, 124 - 128
31. DRAKE, T. A. - MORRISSEY, J. H. - EDGINGTON, T. S. Selective cellular expression of tissue factor in human tissues. *Am J Path*, 1989, 134, 1087 - 1096.
32. NIEUWLAND, R. - BERCKMANS, R.J. - ROTTEVEEL-EIJKMAN, R., et al. Cell-derived microparticles generated in patients during cardiopulmonary bypass are highly procoagulant. *Circulation*, 1997, 96, 3534 - 3541
33. EDMUNDS, L.H.jr. - COLMAN, R.W. Thrombin during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*, 2006, 82, 2315 - 2322.
34. GOULD, W. R. - SILVERIA, J. R. - TRACY, P. R. Unique in vivo modifications of coagulation factor V produce a physically and functionally distinct platelet-derived cofactor: characterization of purified platelet-derived factor V/Va. *J Biol Chem*, 2004, 279, 2383-93.
35. KOJIMA, T. - GANDO, S. - KEMMOTSU, O., et al. Another point of view on the mechanism of thrombin generation during cardiopulmonary bypass: Role of tissue factor pathway inhibitor. *J Cardiothorac Vasc Aesth*, 2001, 15 (1), 60 - 64.
36. BROZE, G. J. Jr. Tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost*, 1995, 74, 90 - 93.
37. WALSH, P. N. Platelet coagulation-protein interactions. *Semin Thromb Hemost*, 2004, 30, 461 - 471.
38. COLMAN, R. W. - MARDER, V. J. - CLOWES, A. W. et al. *Hemostasis and thrombosis; basic principles and clinical*

- practice*, 5th ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 381 - 394.
39. BRISTER, S. J. - OFOSU, F. A. - BUCHANAN, M. R. - Thrombin generation during cardiac surgery: is heparin the ideal anticoagulant? *Ann Thorac Surg*, 1994, 57, 259 - 262.
 40. SPIESS, B.D. The contribution of fibrinolysis to postbypass bleeding. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 1991, 5, 13 - 17.
 41. WOODMAN, R. C. - HARKER, L. A. Bleeding complications associated with cardiopulmonary bypass. *Blood*, 1990, 76, 1680 - 1697.
 42. CHANDLER, W. The effects of cardiopulmonary bypass on fibrin formation and lysis: is a normal fibrinolytic response essential? *J Cardiovasc Pharmacol*, 1996, 27, S63 - S68.
 43. BARSTAD, R. M. - STEPHENS, R. W. - HAMERS, M. J., et al. Protamine sulphate inhibits platelet membrane glycoprotein Ib-von Willebrand factor activity. *Thromb Haemost*, 2000, 83 (2), 334-7.
 44. HOFFMAN, M. - MONROE, D.M. III. A cell-based model of haemostasis. *Thromb Haemost*, 2001, 85, 958 - 965.
 45. LEVY, J. H. - TANAKA, K. A. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass; *Ann Thorac Surg*, 2003, 75 (2), 715-720.
 46. MARCUS, A. J. Thrombosis and inflammation as multicellular processes: significance of cell-cell interactions. *Semin Hematol*, 1994, 31, 261 - 269.
 47. KOUTTS, J. - WALSH, P. N. - PLOW, E. F. et al. Active release of human platelet factor VIII-related antigen by adenosine diphosphate, collagen and thrombin. *J Clin Invest*, 1978, 62, 1255 - 1263
 48. LEVIN, E. G. - SANTELL, L. Stimulation and desensitization of tissue-plasminogen activator release from human endothelial cells. *J Biol Chem*, 1998, 263, 9360 - 9365.

49. JOHNSON, K. - CHOI, Y. - DEGROOT, E., et al. Potential mechanism of proinflammatory vascular cytokine response to coagulation activation. *J Immunol*, 1998, 160, 5130 - 5135.
50. POBER, J. S. - CONTRAN, R. S. Cytokines and endothelial cell biology, *Physiol Rev*, 1990, 70, 427 - 451.
51. HYDE, J. A. J - CHINN, J. A. - GRAHAM, T. R. Platelets and cardiopulmonary bypass. *Perfusion*, 1998, 13, 389 - 407.
52. CASTHELY, P. A - BREGMAN, D. *Cardiopulmonary bypass: Physiology, Related Complications and Pharmacology*. Mount Kisco, NY: Futura Publishing Company, Inc: 1991 Chapter 8, Haematologic Disorders Following Cardiopulmonary Bypass, 191 - 225.
53. GRAVLEE, G. P. - DAVIS, R. F. - UTLEY, J. R. et al. *Cardiopulmonary bypass, Principles and practice*, 1st edition. Baltimore, Maryland, USA, Williams & Wilkins 1993, Section 16, Platelet function and cardiopulmonary bypass, 407-435.
54. KHURI, S. F. - VALERI, C. R. - LOSCALZO, J. Heparin causes platelet dysfunction and induces fibrinolysis before cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*, 1995, 60, 30 - 74.
55. HOLLOWAY, D. S. - SUMMARIA, L. - SANDESARA, J., et al. Decreased platelet number and function and increased fibrinolysis contribute to postoperative bleeding in cardiopulmonary bypass patients. *Thromb Haemost*, 1988, 59 (1), 62-7.
56. PARAULT, B. G. - CONRAD, S. A. The effect of extracorporeal circulation time and patient age on platelet retention during cardiopulmonary bypass: A comparison of roller and centrifugal pumps. *J Extra Corp Technol*, 1992, 23 (2) 34 - 38
57. CASTHELY, P. A - BREGMAN, D. *Cardiopulmonary bypass: Physiology, Related Complications and Pharmacology*. Mount Kisco, NY: Futura Publishing Company, Inc: 1991 Chapter 3, Physiologic Changes of Cardiopulmonary Bypass, 37 - 84

58. GU, Y. J. - VAN OEVEREN W. - VAN DER KAMP, K.W.H.J et al. Heparin coating of extracorporeal circuits reduces thrombin formation in patient undergoing cardiopulmonary bypass. *Perfusion*, 1991, 6, 221 - 225.
59. GU, Y. J. - VAN OEVEREN, W. - AKKERMAN, C., et al. Heparin-coated circuits reduce the inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*, 1993, 55 (4), 917-22.
60. MOEN, O. - HOGASEN, K. - FOSSE, E., et al. Attenuation of changes in leukocyte surface markers and complement activation with heparin-coated cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*, 1997, 63 (1), 105-11.
61. MOLLNES, T. E. - VIDEM, V. - GOTZE, O. et al. Formation of C5a during cardiopulmonary bypass: inhibition by precoating with heparin. *Ann Thorac Surg*, 1991, 52, 92 - 97.
62. PEKNA, M. - HAGMAN, I. - HALDEN, E., et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass: effects of immobilized heparin. *Ann Thorac Surg*, 1994, 58, 421 - 424.
63. VIDEM, V. - MOLLNES, T. E. - FOSSE, E. et al. Heparin-coated cardiopulmonary bypass equipment. I. Biocompatibility markers and development of complications in a high-risk population. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1999, 117 (4), 794-802.
64. FOSSE, E. - MOEN, O. - JOHNSON, E. et al. Reduced complement and granulocyte activation with heparin coated cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*, 1994, 58, 472 - 477.
65. WAN, S. - LECLERC, J. L. - ANTOINE, M., et al. Heparin-coated circuits reduce myocardial injury in heart or heart-lung transplantation: a prospective, randomized study. *Ann Thorac Surg*, 1999, 68 (4), 1230-5.
66. TE VELTHUIS, H. - BAUFRETON, C. - JANSEN, P. G., et al. Heparin coating of extracorporeal circuits inhibits contact

- activation during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1997, 114 (1), 117-22
67. RANUCCI, M. - MAZZUCCO, A. - PESSOTTO, R., et al. Heparin-coated circuits for high-risk patients: a multicenter, prospective, randomized trial. *Ann Thorac Surg*, 1999, 67 (4), 994-1000.
 68. LARM, O. - LARSSON, R. - OLSSON, P. A new non-thrombogenic surface prepared by selective covalent binding of heparin via a modified reducing terminal residue. *Biomater Med Devices Artif Organs*, 1983, 11(2-3), 161 - 173 .
 69. VON SEGESSER, L. K. - WEISS, B. M. - GARCIA, E. et al. Reduction and elimination of systemic heparinization during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1992, 103(4), 790 - 798.
 70. TABUCHI, N. - DE HAAN, J. - BOONSTRA, P. W. et al. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1993, 106 (5), 828 - 833.
 71. EDMUNDS, L. H. jr. - SAXENA, N. C. - HILLYER, P. et al. Relationship between platelet count and cardiotomy suction return. *Ann Thorac Surg*, 1978, 25, 306 - 310
 72. TAYLOR, K. M. *Cardiopulmonary bypass: principles and management*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986, Micro-emboli gaseous and particulate, 313 - 354.
 73. WRIGHT, G. - SANDERSON, J. M. Cellular aggregation and trauma in cardiotomy suction systems, *Thorax*, 1979, 34, 621 - 628.
 74. CHUNG, J. H. - GIKAKIS, N. - DRAKE, T. A. et al. Pericardial blood activates the extrinsic coagulation pathway during clinical cardiopulmonary bypass. *Circulation*, 1996, 93, 2014 - 2018.
 75. ALDEA, G. S. - SOLTOW, L. O. - CHANDLER, W. L., et al. Limitation of thrombin generation, platelet activation, and inflammation by elimination of cardiotomy suction in patients

- undergoing coronary artery bypass grafting treated with heparin-bonded circuits. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2002, 123 (4), 742-55.
76. SUZUKI, Y. - MALEKAN, R. - HANSEN, C.W. III, et al. Platelet anesthesia with nitric oxide with and without eptifibatide during cardiopulmonary bypass in baboons. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1999, 117, 87 - 93.
 77. TABUCHI, N. - HAAN. J. - BOONSTRA, P.W. et al. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1993, 106, 828 - 833.
 78. TABUCHI, N. - HAAN, J. - BOONSTRA, P. W. et al. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1993, 106, 828 - 833.
 79. BIRDI, I. - CHAUDHURI. A. - ANGELINI, G. D. Normothermic cardiopulmonary bypass, *CVE*, 2000, 5 (3), 222-9.
 80. TÖNZ, M. - MIHLAJEVIC, T. - von SEGESSER, L., et al. Normothermia versus hypothermia during cardiopulmonary bypass: A randomized controlled trial. *Ann Thorac Surg*, 1995, 59, 137 - 143
 81. VAUGHN, C. - OPIE, J. - FLORENDO, F. et al. Warm blood cardioplegia. *Ann Thorac Surg*, 1993, 55, 1227 - 1232.
 82. CASTHELY, P. A - BREGMAN, D. *Cardiopulmonary bypass: Physiology, Related Complications and Pharmacology*. Mount Kisco, NY: Futura Publishing Company, Inc: 1991 Chapter 5, Anticoagulation for Cardiopulmonary Bypass, 215 – 263.
 83. WARKENTIN, T. E. - GREINACHER, A. Heparin-induced thrombocytopenia and cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*, 2003, 76, 2121 - 2131.
 84. BRODIE, J. E. - JOHNSON, R. B. *The manual of Clinical Perfusion*, Second Edition, Glendale Medical Corporation, 1993, Chapter 3, Blood, 29 - 43.

85. RANUCCI, M. - ISGRO, G. - CAZZANIGA, A., et al. Predictors for heparin resistance in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Perfusion* 1999, 14, 437 - 442.
86. PIXLEY, R.A. - CASSELLO, A. - DE LA CADENA, R.A., et al. Effect of heparin on the activation of factor XII and the contact system in plasma. *Thromb Haemost*, 1991, 66, 540 - 547.
87. WACHTFOGEL, Y. T. - HARPEL, P. C. - EDMUNDS, L. H., et al. Formation of C1s-C1- inhibitor, kallikrein-C1-inhibitor and plasmin-alpha 2-plasmin inhibitor complexes during cardiopulmonary bypass. *Blood*, 1989, 73, 468 - 471.
88. LONSKÝ, V. *Mimotělní oběh v klinické praxi*. Gada Publishing 2004. Kapitola 4: Vedení mimotělního oběhu, 117 - 144.
89. KUMANO, H. - SUEHIRO, S. - HATTORI, K., et al. Coagulofibrinolysis during heparin-coated cardiopulmonary bypass with reduced heparinization. *Ann Thorac Surg*, 1999, 68 (4), 1252-6.
90. WEISS, B. M. - VON SEGESSER, L. K. - TURINA, M. I., et al. Perioperative course and recovery after heparin-coated cardiopulmonary bypass: low-dose versus high-dose heparin management. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 1996, 10 (4), 464-70.
91. DESPOTIS, G. J. - JOIST, J. H. - HOGUE, C. W. jr., et al. More effective suppression of hemostatic system activation in patients undergoing cardiac surgery by heparin dosing based on heparin blood concentrations rather than ACT. *Thromb Haemost*, 1996, 76 (6), 902-8.
92. AMMAR, T. - FISHER, C. F. The effects of heparinase 1 and protamine on platelet reactivity. *Anesthesiology*, 1997, 86 (6), 1382-6.
93. BARSTAD, R. M. - STEPHENS, R. W. - HAMERS, M. J., et al. Protamine sulphate inhibits platelet membrane glycoprotein Ib-

- von Willebrand factor activity. *Thromb Haemost*, 2000, 83 (2), 334-7.
94. GRETEN, H. - RINNIGER, F. - GRETEN, T. *Innere Medizin*, Georg Thieme Verlag KG 2010, 379 - 380
 95. CARPENTER, S. L. - MATHEW, P. Alpha-2-antiplasmin and its deficiency: fibrinolysis out of balance. *Haemophilia*, 2008, 14, 1250-4
 96. TAKAHASHI, Y. - TANAKA, T. - MINOWA, H. et al. Hereditary partial deficiency of plasminogen activator inhibitor 1 associated with a lifelong bleeding tendency. *Int J Hematol* 1996, 64, 61-8
 97. GORLINGER, K. Coagulation management during liver transplantation. *Hamostaseologie* 2006, 26, S64 -76
 98. FERRO, D. - CELESTINI, A. - VIOLI, F. Hyperfibrinolysis in liver disease. *Clin Liver Dis* 2009, 13, 21-31
 99. PALMER, J. D. - FRANCIS, D. A. - ROATH, O. S. et al. Hyperfibrinolysis during intracranial surgery: effect of high dose aprotinin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995, 58, 104 - 6
 100. GOH, K. Y. - TSOI, W. C. - FENG, C. S. et al. Haemostatic changes during surgery for primary brain tumours. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997, 63, 334 - 8
 101. PFANNER, G. - KILGERT, K. Haemorrhagic complications in obstetrics. *Hamostaseologie* 2006, 26, S56 - 63
 102. RUCKER, M. - SCHAFER, T. - SCHEUER, C. et al. Local heat shock priming promotes recanalization of thromboembolized microvasculature by upregulation of plasminogen activators. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, 26, 1632-9
 103. LEVRAT, A. - GROS, A. - RUGERI, L. et al. Evaluation of rotation thrombelastography for the diagnosis of hyperfibrinolysis in trauma patients. *Br J Anaesth.* 2008, 100, 792-7
 104. BROHI, K. - COHEN, M. J. - GANTER, M. T. et al. Acute coagulopathy of trauma: hypoperfusion induces systemic

- anticoagulation and hyperfibrinolysis. *J Trauma* 2008, 64, 1211-7, discussion 7
105. OLIVER, M. - THUSINGER, O. M. - WANNER, G. A. et al. Hyperfibrinolysis diagnosed by rotational thromboelastometry (ROTEM) Is associated with higher mortality in patients with severe trauma, *Anesth Analg* 2011, 113(5), 1003-12
106. HUNT, B. J. - SEGAL, H. *Hyperfibrinolysis*, *J Clin Pathol* 1996, 49, 958
107. DIPROSE, P. - HERBERTSON, M. J. - O'SHAUGHNESSY, D. et al. Reducing allogenic transfusions in cardiac surgery: a randomized double-blind placebo-controlled trial of antifibrinolytic therapies used in addition to intra-operative cell salvage. *Br J Anaesth* 2005, 94, 271-8
108. WESTABY, S. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med* 1987, 2, 89-95.
109. VANĚK, T. - ŠPEGÁR, J. - ŠNIRCOVÁ, J. Antifibrinolytika v kardiochirurgii - pohled z konce prvního desetiletí nového milénia. *Cor et Vasa*, 2010, 52 (Suppl. 1), 48-51
110. CVACHOVEC, K. - HORACEK, M. - VISLOCKY, I. A retrospective survey of fibrinolysis as an indicator of poor outcome after cardiopulmonary bypass and a possible early sign of systemic inflammation syndrome. *Eur J Anaesthesiol*, 2000, 17 (3), 173-6.
111. STIBBE, J. - KLUFT, C. - BROMMER, E. J. P. et al. Enhanced fibrinolytic activity during cardiopulmonary bypass in open-heart surgery in man is caused by extrinsic (tissue-type) plasminogen activator. *Eur J Clin Invest*, 1984, 14, 375-382.
112. GRAM, J. - JANETZKO, T. - JESPERSEN, J., et al. Enhanced effective fibrinolysis following the neutralization of heparin in open heart surgery increases the risk of post-surgical bleeding. *Thromb Haemost*, 1990, 63, 241 - 245.

113. BIGLIOLI, P. - CANNATA, A. - ALAMANNI, F., et al. Biological effects of off-pump vs. on-pump coronary artery surgery: focus on inflammation, hemostasis and oxidative stress. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2003, 24, (2), 260-9.
114. TABUCHI, N. - DE HAAN, J. - BOONSTRA, P. W., et al. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1993, 106 (5), 828-33.
115. VANĚK, T. - ŠNIRCOVÁ, J. Fibrinolýza v kardiologii a možnosti jejího ovlivnění. 2007, *Anest Int Med*, 18 (5), 282 - 285.
116. RUBEŠ, D. - MARUSIČOVÁ, P. - STŘITESKÝ, M. et al. Tromboelastografie, *Praktická gynekologie* 2003, 3, 22-23
117. CHITLUR, M. - SORENSEN, B. - RIVARD, G. E., et al. Standardization of thromboelastography: a report from the TEG-ROTEM working group. *Haemophilia* 2011, 17, 532 - 537
118. PERRY, D. J. - TODD T. Thromboelastography [TE] and Rotational Elastometry [ROTEM]. *Practical-haemostasis.com* [online]. Poslední změna 29.4.2012 [cit. 20.7.2012]. Dostupné z <http://www.practical-haemostasis.com/Miscellaneous/Miscellaneous%20Tests/teg.html>
119. KENNY GALVEZ, C. A. - CLAUDIA CORTES, L. B. Thromboelastography: New concepts in haemostasis physiology and correlation with trauma associated coagulopathy, *Rev Colomb Anesthesiol*. 2012, 40 (3), 224-230.
120. *Tem International GmbH, ROTEM® Analysis*. [online] Poslední změna 1/ 2013. [cit. 5.4.2013] Dostupné z http://www.rotem.de/site/index.php?option=com_content&view=article&id=2&Itemid=8&lang=en
121. MANNUCCI, L. - GEROMETTA, P. S. - MUSSONI L. et al. One month follow-up of haemostatic variables in patients

- undergoing aortocoronary bypass surgery. Effect of aprotinin. *Thromb Haemost* 1995, 73, 356-61.
122. HAZAMA, S. - EISHI, K. - YMACHIKA, S. et al. Inflammatory response after coronary revascularization: off-pump versus on-pump (heparin-coated circuits and poly2methoxyethylacrylate-coated circuits). *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2004, 10, 90-6.
123. LINDHOLM, L. - WESTERBERG, M. - BENGTSSON, A. et al. A closed perfusion system with heparin coating and centrifugal pump improves cardiopulmonary bypass biocompatibility in elderly patients. *Ann Thorac Surg* 2004, 78, 2131-8, discussion 2138.
124. RANUCCI, M. - ISGRO, G. - SORO, G. et. al A. Reduced systemic heparin dose with phosphorylcholine coated closed circuit in coronary operations. *Int J Artif Organs* 2004, 27, 311-9.
125. ZIMMERMANN, A. K. - AABERT, H. - REIZ, A. et al. Hemocompatibility of PMEA coated oxygenators used for extracorporeal circulation procedures. *Asaio J* 2004, 50, 193-9.
126. WHITTEN, C. W. - ALLISON, P. M. - Latson, T. W., et al. Thromboelastographic fibrinolysis does not correlate with levels of D-dimers after cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 1991, 75, A432.
127. CASATI, V. - GERLI, C. - FRANCO, A. et al. Activation of coagulation and fibrinolysis during coronary surgery: on-pump versus off-pump techniques. *Anesthesiology* 2001, 95, 1103-9.
128. VEDIN, J. - ANTOVIC, A. - ERICSSON, A. et al. Hemostasis in off-pump compared to on-pump coronary Artery bypass grafting: a prospective, randomized study. *Ann Thorac Surg* 2005, 80, 586-93.
129. ENGLBERGER, L. - IMMER, F. F. - ECKSTEIN, F. S. et al. Off-pump coronary artery vypase operation does not increase

- procoagulant and fibrinolytic activity: preliminary results. *Ann Thorac Surg* 2004, 77, 1560-6.
130. MARIANI, M. A. - GU, Y. J. - BOONSTRA, P. W. et al. Procoagulant activity after offpump coronary operation: is the current anticoagulation adequate? *Ann Thorac Surg* 1999, 67, 1370-5.
131. QUIGLEY, R. L. - FRIED, D. W. - PYM, J. et al. Off-pump coronary artery bypass surgery may produce a hypercoagulable patient. *Heart Surg Forum* 2003, 6, 94-8.
132. SHANN, K. G. - LIKOSKY, D. S. - MURKIN, J. M. et al. An evidence-based review of the practice of cardiopulmonary bypass in adults: a focus on neurologic injury, glycemic control, hemodilution, and the inflammatory response. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006,132, 283-290.
133. CASATI, V. - DILLA VALLE, P. - BENUSSI, S. et al. Effects of tranexamic acid on postoperative bleeding and related hematochemical variables in coronary surgery: Comparison between on-pump and off-pump techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004, 128, 83-91.
134. JAREŠ, M. - VANĚK, T. - STRAKA, Z. et al. Tranexamic acid reduces bleeding after off-pump coronary artery bypass grafting. *J Cardiovasc Surg* 2003, 44, 205-208.
135. VANĚK, T. - JAREŠ, M. - FAJT, R. et al. Fibrinolytic inhibitors in off-pump coronary surgery: a prospective, randomized, double-blind TAP study (tranexamic acid, aprotinin, placebo). *Eur J Cardiothorac Surg* 2005, 28, 563-568.
136. MURPHY, G. J. - MANGO, E. - LUCCHETTI, V. et al. A randomized trial of tranexamic acid in combination with cell salvage plus a meta-analysis of randomized trials evaluating tranexamic acid in off-pump coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006, 132, 471- 480.

137. JAREŠ, M. - VANĚK, T. - BEDNÁŘ, F. et al. Off-pump versus on-pump coronary artery surgery - Identification of fibrinolysis using rotation thromboelastography; A preliminary, prospective, randomized study. *Int Heart J* 2007, 48, 57-67.
138. CVACHOVEC, K. - HORÁČEK, M. - VISLOCKÝ, I. A retrospective survey of fibrinolysis as an indicator of poor outcome after cardiopulmonary bypass and a possible early sign of systemic inflammation syndrome. *Eur J Anaesthesiol* 2000, 17, 173-176.
139. CHENG, D. C. - BAINBRIDGE, D. - MARTIN J. E. et al. Does off-pump coronary artery bypass reduce mortality, morbidity, and resource utilization when compared with conventional coronary artery bypass? A meta-analysis of randomized trials. *Anesthesiol* 2005, 102, 188-203.
140. CASTIGLIONI, A. - VERZINI, A. - PAPPALARDO, F. et al. Minimally invasive closed circuit versus standard extracorporeal circulation for aortic valve replacement. *Ann Thorac Surg* 2007, 2, 586-91.
141. REMADI, J. P. - RAKOTOARIVELO, Z. - MARTICHO, P. et al. Prospective randomized study comparing coronary artery bypass grafting with the new mini-extracorporeal circulation Jostra System or with a standard cardiopulmonary bypass. *Am Heart J* 2006, 1, 198.
142. CASATI, V. - GERLI, C. - FRANCO, A. et al. Activation of coagulation and fibrinolysis during coronary surgery: on-pump versus off-pump techniques. *Anesthesiology* 2001, 5, 1103-9.
143. PAPARELLA, D. - GALEONE, A. - VENNERI, M. T. et al. Activation of the coagulation system during coronary artery bypass grafting: comparison between on-pump and off-pump techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006, 2, 290-7.
144. JAREŠ, M. - VANĚK, T. - BEDNÁŘ, F. et al. Off-pump versus on-pump coronary artery surgery. Identification of fibrinolysis

- using rotation thromboelastography; A preliminary, prospective, randomized study. *Int Heart J* 2007, 1, 57-67.
145. VANĚK, T. - JAREŠ, M. - ŠNIRCOVÁ, J. et al. Fibrinolysis in coronary artery surgery: detection by thromboelastography. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2007, 6, 700-4.
146. SNIRCOVA, J. - JARES, M. - MALY, M. et al. Postoperative blood loss in coronary surgery - No real impact of fibrinolysis detected by thromboelastography and D-dimers. A prospective, randomized study, *Int. Heart J.* 49 (1) 2008, 25-38.
147. SPEGAR, J. - VANEK, T. - SNIRCOVA, J. et al. Local and systemic application of tranexamic acid in heart valve surgery: a prospective, randomized, double blind LOST study; *J. Thromb Thrombolys* 2011, 32(3), 303-310.

Seznam publikací autora

A) Články v časopisech s IF související s tématem dizertační práce

1. Jares M., Vanek T., Bednar F., Maly M., **Snircova J.**, Straka Z.: Off-pump versus on-pump coronary artery surgery - Identification of fibrinolysis using rotation thromboelastography; A preliminary, prospective, randomized study. *Int. Heart J.* 48 (1) 2007, 57-67 **IF: 0,929**
2. **Snircova J.**, Jares M, Maly M, Straka Z, Spegar J., Vanek T.: Postoperative blood loss in coronary surgery - No real impact of fibrinolysis detected by thromboelastography and D-dimers. A prospective, randomized study, *Int. Heart J.* 49 (1) 2008, 25-38 **IF: 0,947**
3. **Snircova J.**, Jares M, Maly M, Straka Z, Vanek T.: Impact of Cardiopulmonary bypass on Fibrinolysis in Coronary Surgery; *Heart Surgery Forum* Vol.11; Suppl 1: 2008,s. S189, **IF: 0,488**
4. Spegar J, Vanek T, **Snircova J.**, Fajt R, Straka Z, Pazderkova P, Maly M: Local and systemic application of tranexamic acid in heart valve surgery: a prospective, randomized, double blind LOST study; *J. Thromb Thrombolys* 2011, 32(3):303–310 **IF: 1,476**
5. Spegar J, Vanek T, **Snircova J.**: O-14 Local and systemic application of tranexamic acid in heart valve surgery: a prospective, randomized, double blind LOST study, *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 25 (3), Supp, 2011, S6-S7 **IF: 1,640**

B) Články v recenzovaných časopisech bez IF související s tématem dizertační práce

1. Vanek T., Jares M., **Snircova J.**, Maly M.: Fibrinolysis in coronary artery surgery: detection by thromboelastography. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2007, 6, 700 - 704
2. Vaněk T., **Šnircová J.**: Fibrinolyza v kardiologii a možnosti jejího ovlivnění, *Anest Intenziv Med*, 18, 2007 č.5, s. 282 – 285
3. Vaněk T, Špegár J, **Šnircová J.** Antifibrinolytika v kardiologii – pohled z konce prvního desetiletí nového milénia. *Cor Vasa* 2010, 52, (Suppl 1):48–51

C) Články v časopisech s IF bez vztahu k dizertační práci

1. **Snircova J.**, Vanek T., Kopa M., Jares M.: Comparison of alfentanil and remifentanil based balanced fast-track cardiac anaesthesia. *European Journal of Anaesthesiology*, Vol 24, Supp 41, 2007, 23-24
IF: 1,435
2. Spegar J, **Snircova J.**, Vanek T, on behalf of the MSM0021620817 study group. Release of plasma free haemoglobin during cardiopulmonary bypass in heart valve surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009, 23 (3), Supp, 2009, S5 **IF 1,062** abstract
3. Vanek T, **Snircova J.**, Spegar J, Straka Z, Horak J, Maly M. Increase in plasma free haemoglobin during cardiopulmonary bypass in heart valve surgery: assessment of renal dysfunction by RIFLE classification. *Perfusion* 2009, 24 (3) 179-183. **IF: 0,642**

D) Články v recenzovaných časopisech bez IF bez vztahu k dizertační práci

1. Trnka L., **Drahovská J.**: Jak se mění v posledních letech počty nově zjištěných onemocnění tuberkulózou u nás a u našich sousedů (Slovensko, Polsko, Německo a Rakousko), *Stud Pneumol.*, 65, 2005, č.1, s 5 – 9
2. Trnka L., **Šnircová J.**, Krejbich F.: Vyhledávání tuberkulózy mezi bezdomovci a imigranty v praxi, *Zdravotnictví ČR*, 9, 2006, č.4, s 144-148
3. **Šnircová J.**, Vaněk T., Fajt R., Hrabák J., Jareš M., Kopa M.: Fast-track a ultra fast-track kardioanestézie – sledování bolesti a dalších parametrů v pooperačním období, *Anest Intenziv Med*, 18, 2007 č.5, s. 276 – 281

E) Aktivní účast na konferencích

1. Trnka L., **Drahovská J.**, Janečková H.: Problematika vulnerabilních skupin v naší společnosti - příklad vyhledávání tuberkulózy u rizikových skupin obyvatelstva. Seminář BCA 04-05/5. Praha IPVZ 2.6.2005
2. Trnka L., **Drahovská J.**: Jak se měnila v roce 2004 situace tuberkulózy v České republice v porovnání s předcházejícími roky? 3. mezinárodní seminář pneumologů Hradeckého, Pardubického a Středočeského kraje. Deštná 17.-18.6.2005
3. Trnka L., **Šnircová J.**, Halová H., Davies N.: Effective implementation of the I and E scheme in TB case detection and DOT treatment of homeless in a TB low burden country in Central Europe. Workshop evaluation TB incentives and enablers in context of scale-up. Paris 23.10.2005

4. Trnka L., **Šnircová J.**, Hrkal J., Krejbich F.: Latentní subklinická tuberkulózní infekce u zdravotníků FNB. Celoústavní seminář FN Na Bulovce, Praha 14.11.2005
5. Trnka L., **Šnircová J.**, Krejbich F.: Latentní tuberkulózní infekce (LTBI) u zdravotníků FNB. Seminář KPHCH FN Na Bulovce, Praha 28.11.2005
6. Trnka L., **Šnircová J.**, Krejbich F.: Motivované vyhledávání TB u rizikových skupin v ČR (Dosavadní výsledky projektu BCA 04-05/3). Seminář "Motivované vyhledávání a doléčování TB u rizikových skupin v ČR", Ministerstvo zdravotnictví ČR, Praha 30.11.2005
7. Zatloukal P., Trnka L., **Šnircová J.**, Petrášková K., Kos S., Gawlíková S., Mudra R.: Klinická analýza případů TB u žadatelů o azyl a ilegálních imigrantů. Seminář "Motivované vyhledávání a doléčování TB u rizikových skupin v ČR", Ministerstvo zdravotnictví ČR, Praha 30.11.2005
8. Zatloukal P., Trnka L., **Šnircová J.**, Patlejchová L., Kantorová Z.: Klinická analýza případů TB - studie u bezdomovců. Seminář "Motivované vyhledávání a doléčování TB u rizikových skupin v ČR", Ministerstvo zdravotnictví ČR, Praha 30.11.2005
9. Zatloukal P., Trnka L., **Šnircová J.**, Petrášková K., Kos S., Gawlíková S., Mudra R.: Klinická analýza případů TB u žadatelů o azyl a ilegálních imigrantů. Seminář "Motivované vyhledávání a doléčování TB u rizikových skupin v ČR", Ministerstvo zdravotnictví ČR, X. Hradecké pneumologické dny, Hradec Králové 17.6.2006
10. Zatloukal P., Trnka L., **Šnircová J.**, Patlejchová L., Kantorová Z.: Klinická analýza případů TB - studie u bezdomovců. Seminář "Motivované vyhledávání a doléčování TB u rizikových skupin v ČR", X. Hradecké pneumologické dny, Hradec Králové 17.6.2006

11. **Šnircová J.**: Fast-track a ultra-fast-track kardioanestézie v kardiochirurgii - sledování pooperačního období. Vědecká konference pro oblasti kardiologie / kardiochirurgie / kardioanestézie. III. interní-kardiologická klinika FNKV Praha 21.11.2006
12. **Šnircová J.**, Vaněk t., Fajt R., Hrabák J., Jareš M., Voráč D.: Fast-track a ultra-fast-track kardioanestézie v kardiochirurgii - sledování pooperačního období. II. sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie, Brno 30.11.-1.12.2006
13. **Šnircová J.**, Vaněk T., Jareš J.: Sledování pooperačního období po fast-track a ultra fast-track kardioanestézii. IX. Kardioanesteziologické vědecké dny s mezinárodní účastí, Pardubice 19.-20.4.2007
14. **Snircova J**, Vanek T, Kopa M, Jares M: Comparison of alfentanil and remifentanil based balanced fast-track cardiac anaesthesia, "22nd Annual Meeting Of The European Association of cardiothoracic anaesthesiologists, EACTA 2007", Poland, Krakow 13.-16.6.2007, přednáška v anglickém jazyce
15. **Snircova J**, Jares M, Maly M, Straka Z, Vanek T.: Impact of Cardiopulmonary bypass on Fibrinolysis in Coronary Surgery; 18th World Congress World Society of Cardio-Thoracic Surgeons, WSCTS 2008, Greece, Kos 30.4. – 3.5. 2008, přednáška v anglickém jazyce
16. Špegár J, **Šnircová J**, Vaněk T za podpory MSM0021620817: Uvolnění volného plazmatického hemoglobinu během mimotělního oběhu u operací srdečních chlopní. Kardioanesteziologické vědecké dny s mezinárodní účastí, Pardubice, 2009
17. Špegar J, **Snircova J**, Vanek T on behalf of the MSM0021620817 study group: O-10 Release of plasma free haemoglobin during cardiopulmonary bypass in heart valve surgery. Konference: "24th

Annual Meeting of European Association of Cardiothoracic Anaesthesiologists organised by EACTA, Athens, 2009, přednáška v anglickém jazyce

18. Spegar J, Vanek T, **Snircova J**: O-14 Local and systemic application of tranexamic acid in heart valve surgery: a prospective, randomized, double blind LOST study. Konference: "26th Annual Meeting of European Association of Cardiothoracic Anaesthesiologists organised by EACTA", Vienna, 2011, přednáška v anglickém jazyce

Seznam obrázků

Obrázek č. 1. Schéma typického MO zobrazuje všechny základní komponenty popsané v textu

Obrázek č. 2. Mechanismus aktivace hemostázy a fibrinolýzy během srdeční operace

Obrázek č. 3. Dynamický model plazmatické koagulace a fibrinolýzy

Obrázek č. 4. Princip tromboelastografie TEG® a ROTEM®

Obrázek č. 5. Tromboelastografické křivky TEG® (123) a ROTEM® (124)

Obrázek č. 6. Tromboelastografické křivky

Obrázek č. 7. Závislost pooperačních krevních ztrát na MCF v čase LOT 150 min v čase t_3

Obrázek č. 8. Hladiny D-dimerů ($ng\ ml^{-1}$) v jednotlivých časech dle skupin

Obrázek č. 9. Vztah mezi LOT (150 min.) v čase t_3 a hladinou D-dimerů (na konci operace) ve skupině A

Obrázek č. 10. Pooperační krevní ztráty (za 24h) v závislosti od hladin D-dimerů na konci operace ve skupině A

Seznam tabulek

Tabulka č. 1. Hemostatické abnormality během srdeční operace v MO

Tabulka č. 2. Příčiny získané hyperfibrinolýzy

Tabulka č. 3. Nomenklatura parametrů TEG® and ROTEM®

Tabulka č. 4. Základní demografický údaje, předoperační hematologické parametry, a perioperační charakteristiky

Tabulka č. 5. Porovnání tromboelastografických parametrů v jednotlivých časech

Tabulka č. 6. Změny hladin D-dimerů v čase (ng ml^{-1})

Tabulka č. 7. Základní demografické údaje a perioperační charakteristiky

Tabulka č. 8. Základní hematologické parametry v pre-, peri- a pooperačním období (24h po operaci)

Tabulka č. 9. Porovnání tromboelastografických parametrů v jednotlivých časech

Tabulka č. 10. Hladiny D-dimerů v jednotlivých časech (ng ml^{-1})

Tabulka č. 11. Spearmanův korelační koeficient mezi vybranými hodnotami

Seznam příloh

(publikace související s předmětem dizertační práce)

Příloha 1

Jares M., Vanek T., Bednar F., Maly M., Snircova J., Straka Z.: **Off-pump versus on-pump coronary artery surgery - Identification of fibrinolysis using rotation thromboelastography**; A preliminary, prospective, randomized study. *Int. Heart J.* 48 (1) 2007, 57-67

Příloha 2

Snircova J, Jares M, Maly M, Straka Z, Spegar J., Vanek T.: **Postoperative blood loss in coronary surgery - No real impact of fibrinolysis detected by thromboelastography and D-dimers. A prospective, randomized study**, *Int. Heart J.* 49 (1) 2008, 25-38

Příloha 3

Snircova J, Jares M, Maly M, Straka Z, Vanek T.: **Impact of Cardiopulmonary bypass on Fibrinolysis in Coronary Surgery**; *Heart Surgery Forum* Vol.11; Suppl 1: 2008,s. S189

Příloha 4

Vanek T., Jares M., Snircova J., Maly M.: **Fibrinolysis in coronary artery surgery: detection by thromboelastography**. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2007, 6, 700 - 704

Příloha 5

Vaněk T., Šnircová J.: **Fibrinolýza v kardiouchirurgii a možnosti jejího ovlivnění**, *Anest Intenziv Med*, 18, 2007 č.5, s. 282 – 285

Příloha 6

Spegar J, Vanek T, Snircova J, Fajt R, Straka Z, Pazderkova P, Maly M: **Local and systemic application of tranexamic acid in heart valve surgery: a prospective, randomized, double blind LOST study**; *J. Thromb Thrombolys* 2011, 32(3):303–310

Příloha 7

Spegar J, Vanek T, Snircova J: **O-14 Local and systemic application of tranexamic acid in heart valve surgery: a prospective, randomized, double blind LOST study**, *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 25 (3), Supp, 2011, S6-S7