

Univerzita Karlova  
2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Motole  
Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny



**Habilitační práce**

**Význam viskoelastických metod tromboelastografie/rotační  
tromboelastometrie (TEG/ROTEM) na jednotce intenzivní péče**

**MUDr. Miroslav Durila, Ph.D.**

**Praha 2016**

## **Poděkování**

Rád bych poděkoval svému staršímu kolegovi MUDr. Pavlu Cyprichovi za motivaci napsat tuto habilitační práci a své manželce za stálou podporu.

## Obsah

Seznam použitých zkratk	4
1. Úvod	5
1.1. Princip TEG	7
1.2. Princip ROTEM	8
1.3. Parametry TEG	8
1.4. Parametry ROTEM	9
1.5. Typy vyšetření ROTEM a jejich obecná interpretace	11
1.6. Limity TEG/ROTEM	12
2. Cíle a rozčlenění práce	14
3. Problematika metodologie TEG/ROTEM	15
4. Problematika TEG/ROTEM u život ohrožujícího krvácení	29
5. Problematika sepse/SIRS	39
6. Oblast diseminované intravaskulární koagulace	45
7. Rutinní vyšetřování srážení plné krve pomocí ROTEM vede ke značnému snížení aplikací mražené krevní plazmy pacientům na JIP	49
8. ROTEM může být používán úspěšně nejenom v léčbě ŽOK, ale i v hodnocení hemokoagulačního profilu před invazivním výkonem či chirurgickou operací	51
9. Závěr	53
10. Použitá literatura	57
11. Příloha – publikované články <i>in extenso</i>	61

## Seznam použitých zkratek

APTEM	vyšetření rotační tromboelastometrie s použitím aprotininu
APTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas
ALT	alaninaminotransferáza
AST	aspartátaminotransferáza
CT	clotting time, čas srážení
CFT	clot formation time, čas tvorby koagula
ČMP	čerstvá mražená plazma
DIK	diseminovaná intravaskulární koagulace
EXTEM	aktivovaný (obsahuje aktivátor vnější cesty) typ rotační tromboelastometrie
FIBTEM	vyšetření funkčního fibrinogenu pomocí rotační tromboelastometrie
HEPTEM	vyšetření rotační tromboelastometrie s použitím heparinázy
IL-6	interleukin 6
INR	international normalised ratio
INTEM	aktivovaný (obsahuje aktivátor vnitřní cesty) typ rotační tromboelastometrie
JIP	jednotka intenzivní péče
K	kinetics, rychlost vzniku koagula
LY, LI	lýza koagula (lysis index)
MA	maximální amplituda
MCF	maximum clot firmness
MODS	multiorgan dysfunction syndrome, syndrom multiorgánové dysfunkce
NATEM	nativní (neaktivovaný) typ rotační tromboelastometrie
PCC	prothrombin complex concentrate, koncentrát protrombinového komplexu
PCT	prokalcitonin
PT	protrombinový čas
R	reakční čas
ROTEM	rotační tromboelastometrie
SIRS	systemic inflammatory response syndrome, syndrom systémové zánětlivé odpovědi
SOFA	sepsis/sequential organ failure assessment score
TEG	tromboelastografie
ŽOK	život ohrožující krvácení

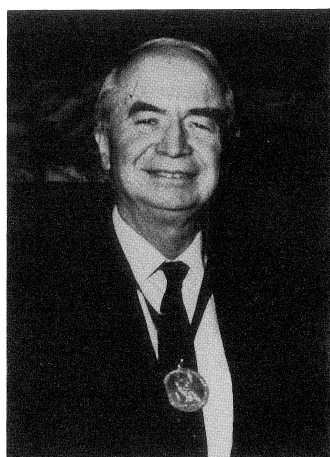
### Klíčová slova

hemokoagulace, krvácení, protrombinový čas, ROTEM, sepse, TEG, tromboelastografie

## 1. Úvod

Viskoelastické metody tromboelastografie (TEG) a rotační tromboelastometrie (ROTEM) jsou hemokoagulační metody, které měří mechanické vlastnosti koagula (viskoelastické vlastnosti trombu) v průběhu jeho tvorby, stabilizace a lýzy. Na rozdíl od běžných hemokoagulačních testů, jako jsou protrombinový čas (PT) či aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT), které vyšetřují srážení krevní plazmy (centrifugováním trombocytů, erytrocytů atd.), pro vyšetření TEG/ROTEM se používá plná krev.

Metoda tromboelastografie byla poprvé zmíněna jejím vynálezcem německým hematologem profesorem Helmutem Hartertem (1918-1993) v roce 1948 [1], který část studií absolvoval i v Praze (obrázek 1). Touto metodou bylo poprvé v historii možné kvantitativně odlišit jednotlivé fáze krevního srážení. Výhodou testů TEG/ROTEM je možnost vyšetřovat srážení krve ihned po odběru krve přímo u lůžka pacienta (point of care, POC), tudíž jsou označovány i jako „bedside“ testy. Na přístrojích TEG/ROTEM je možné nastavit libovolnou teplotu měření, což umožňuje měřit srážení krve při pacientově teplotě, např. při 32°C. Toho lze využít při zjišťování vlivu hypotermické koagulopatie u krvácejícího hypotermického pacienta (porovnáním výsledků vyšetření získaných z měření při 32°C a 37°C). K vyšetření se používá minimální množství krve: 0,3 ml pro základní vyšetření ROTEM a 0,36 ml pro základní vyšetření TEG. Nejcenější výhodou TEG/ROTEM je rychlá dostupnost výsledků. Základní přehled o koagulačním profilu získáme do cca 10 minut od začátku měření, čehož se využívá u krvácejícího pacienta. V takovém případě vyšetřování srážení krve pomocí standardních hemokoagulačních testů PT/APTT nelze prakticky využít, jelikož dostupnost těchto výsledků je až za cca 45 minut, kdy již může být situace u krvácejícího pacienta zcela jiná.



**Obrázek 1.** Profesor Helmut Hartert (1918-1993). Ocenění Poiseuille zlaté medaile na 5. mezinárodním kongresu bioreologie v roce 1983 Baden-Baden (Německo).

Od roku 1948 až do roku 1996 byl název tromboelastografie používán obecně. Nicméně v roce 1996 se stal registrovanou ochrannou známkou firmy Hemoscope Corporation (Niles, IL, USA) a od té doby název tromboelastografie (TEG) značí, že vyšetření bylo prováděno na přístroji od firmy Hemoscope. Podobně firma Pentapharm GmbH (Mnichov, Německo) modifikovala jak přístroj, tak i název na rotační tromboelastometrii (ROTEM). V roce 2010 byla metoda ROTEM schválena pro klinické použití americkou FDA (Food and Drug Administration, [www.fda.gov](http://www.fda.gov)).

Oba přístroje TEG (obrázek 2) a ROTEM (obrázek 3) využívají podobný princip měření mechanických vlastností koagula.



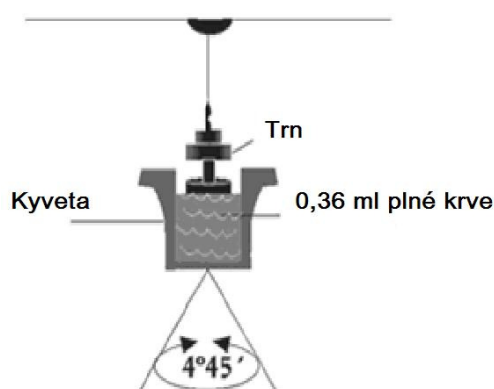
**Obrázek 2.** Tromboelastograf (TEG)



**Obrázek 3.** Rotační tromboelastometr (ROTEM)

## 1.1. Princip TEG

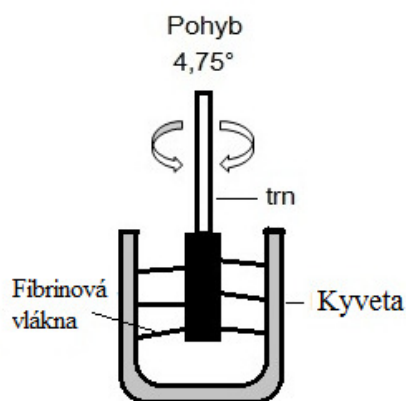
Základem přístroje je kyveta obsahující vzorek krve o definovaném objemu (0,36 ml). Do vzorku je ponořen měřicí trn zavěšený na torzním drátě. Pohonná jednotka vykonává oscilační rotační pohyb kyvety se vzorkem s úhlovou amplitudou  $4^{\circ}45'$ . Každá rotace trvá 10 sekund a mezi jednotlivými rotacemi je jednosekundová pauza. Pohyb trnu, který visí na torzním drátu a je volně ponořený v krvi, je monitorován (obrázek 4). Jakmile se začnou vytvářet první fibrinová vlákna, začne se pohyb kyvety přenášet na měřicí trn (tahá ho za sebou). S nárůstem fibrinové sítě, za kterou odpovídá síla a rychlost interakce fibrinu a trombocytů, se mění amplituda výkyvu trnu a jeho zpoždění za pohonnou jednotkou. Mechanicko-elektrickým převodníkem jsou změny pohybu trnu přeměněny na elektrický signál: elektromagnetický snímač registruje změny elektromagnetického pole vyvolané pohybem torzního drátu, na němž je zavěšen měřicí trn. Výsledkem je grafický záznam změn smykového napětí (elasticity) v reálném čase v podobě tromboelastografické křivky. Během fibrinolýzy dochází k rozpouštění trombu a vazeb mezi fibrinem a trombocyty, a tím se snižuje i velikost pohybu trnu. Fibrinolýzu je ale potřeba odlišit od retrakce koagula, kdy dochází k odtržení fibrinových vláken od stěny kyvety, což je pak přístrojem detekováno jako fibrinolýza. Popsaným způsobem TEG dokumentuje iniciační tvorbu koagula, rychlost tvorby koagula, sílu - pevnost koagula (fibrin - trombocytovou interakci) a konečnou lýzu koagula.



Obrázek 4. Princip TEG

## 1.2. Princip ROTEM

Princip ROTEM je podobný TEG, ale kyveta o definovaném objemu 0,3 ml je statická a oscilační rotační pohyb vykonává trn (obrázek 5). Trn je pevně fixován, aby se zabránilo vlivu otřesů z okolí přístroje. To umožňuje provádět vyšetření i v průběhu transportu přístroje (na rozdíl od TEG, kde je trn volně visící a velice citlivý k jakémukoli otřesu z okolí). Jakmile se začnou vytvářet v kyvetě fibrinová vlákna, dochází k brzdění pohybu trnu (zvyšuje se odpor proti fibrinovým vláknům) a tyto změny pohybu - amplitudy jsou přes optický systém (zrcadélko na trnu odráží optický paprsek pod změněným úhlem) transformovány do elektrického signálu. Výsledkem je pak opět vznik tromboelastografické křivky, která je téměř identická s křivkou TEG.



Obrázek 5. Princip ROTEM

## 1.3. Parametry TEG

TEG křivka má charakteristický tvar a je definována pěti základními parametry (obrázek 6) (nejčastěji se používá aktivace kaolinem, který aktivuje vnitřní cestu srážení):

**R – reakční čas** – doba od zahájení měření do okamžiku tvorby zjistitelného koagula (amplituda 2 mm). Tento interval představuje počáteční formování fibrinu a odráží přítomnost koagulačních faktorů a jejich inhibitorů. Prodlužuje se při deficitu koagulačních faktorů nebo vlivem antikoagulancií (heparin), zkracuje se u hyperkoagulačních stavů. Představuje iniciační fázi srážení.



**K** – čas od **R** do doby dosažení amplitudy 20 mm. Proto je **K** ukazatelem rychlosti tvorby silného koagula. Zkracuje se při zvýšené hladině fibrinogenu a vyšším počtu trombocytů, prodlužuje se antikoagulační léčbou nebo deficitem těchto faktorů.

**Úhel  $\alpha$  (alfa)** – je daný odklonem TEG křivky od horizontální linie v čase **R**. Podobně jako **K** informuje o rychlosti tvorby koagula. V případě hypokoagulačního stavu, kdy amplituda koagula nedosáhne 20 mm (**K** je nedefinované), je **úhel  $\alpha$**  spolehlivější než parametr **K**. Představuje propagační fázi srážení.

**MA** – maximální amplituda (mm) – je nejvyšší odchylka TEG křivky, odráží absolutní pevnost koagula, která závisí na interakci destiček a fibrinu vazbou na receptory IIb/IIIa.

**TMA** - čas do dosažení maximální amplitudy.

**G** - parametr momentální síly koagula (shear elastic modulus strength nebo SEMS), je měřen v dynech na centimetr čtvereční. Je vypočten z **MA** následujícím postupem:

$G = 5000 \text{ MA} / (100 - \text{MA})$ . Amplituda o velikosti 50 mm (normální hodnota plné krve) koresponduje se SEMS 5000 dyne/cm<sup>2</sup>. Zvýšení **MA** z 50 na 67 mm je ekvivalentem dvojnásobného zvýšení SEMS. Proto je tento parametr citlivější na malé změny síly koagula nebo rozpadu koagula v porovnání s **MA**, která je měřená v mm.

**Koagulační index (CI)** - parametr, který popisuje celkový koagulační stav pacienta, je odvozen od předešlých parametrů **R**, **K**, **MA** a **úhlu  $\alpha$**  v nativní plné krvi. Normální hodnoty se pohybují v rozmezí od -3,0 do + 3,0. Pozitivní hodnoty (CI > 3) poukazují na hyperkoagulační stav, negativní hodnoty (CI < -3) poukazují na hypokoagulační stav.

**Parametry LY30 a LY60** měří procento lýzy koagula 30 a 60 minut po dosažení hodnoty maximální amplitudy. Když jsou hodnoty těchto parametrů vysoké, svědčí to o zvýšené fibrinolytické aktivitě.

#### 1.4. Parametry ROTEM

Podle aktivační reagentie se používají testy EXTEM, INTEM, NATEM, FIBTEM - viz níže. Popisujeme a hodnotíme následující parametry (obrázek 6):

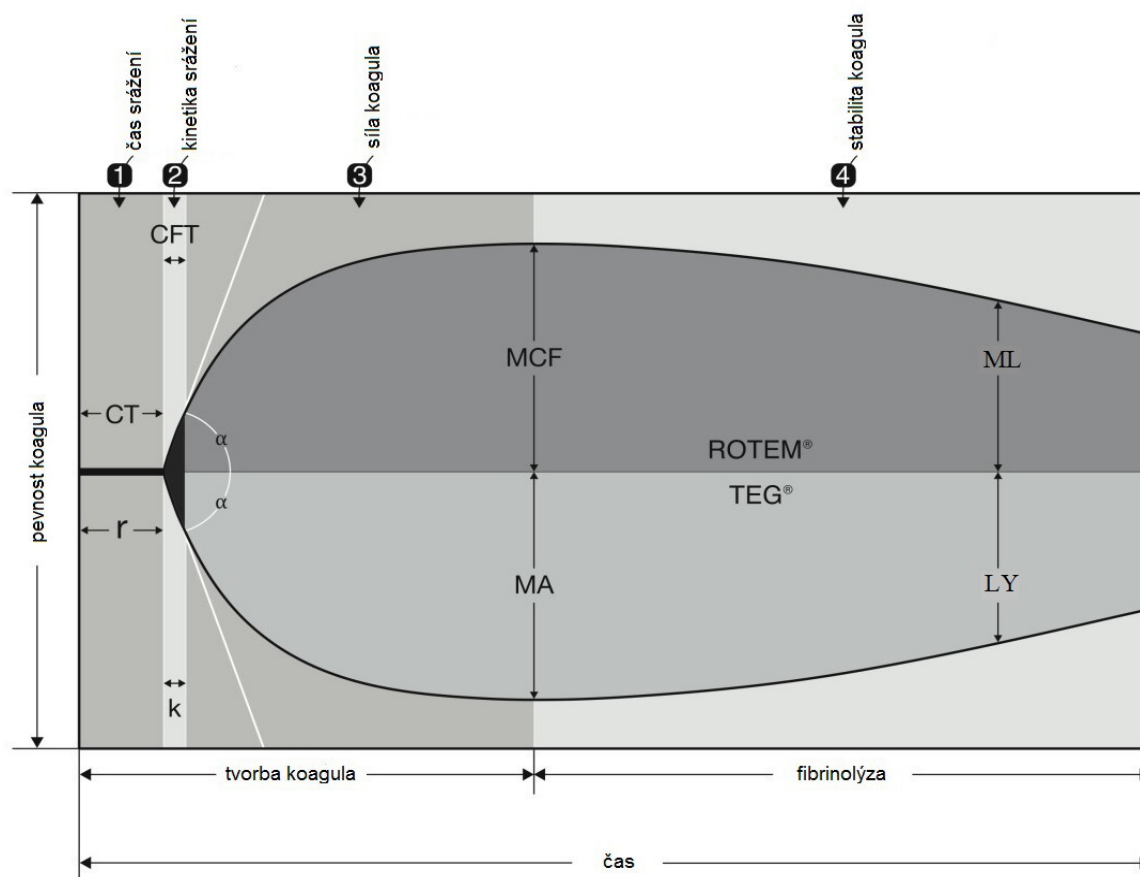
**CT - clotting time** – čas počátečního srážení, který představuje čas od iniciace vyšetření do detekce prvních fibrinových vláken o amplitudě 2 mm, je odrazem iniciační fáze srážení. Jeho prodloužená hodnota svědčí především o deficitu srážecích faktorů nebo o inhibici srážení heparinovými substancemi v závislosti na použitém testu (viz níže).

**CFT - clot formation time** - je doba od **CT** do amplitudy 20 mm a představuje **spolu s úhlem  $\alpha$**  (úhel tečny mezi CT a křivkou) rychlost formování koagula, je odrazem propagační fáze srážení. Tyto parametry jsou patologicky hypokoagulační (malý **úhel  $\alpha$**  a dlouhý **CFT**) při poruše destiček nebo fibrinogenu a k diferenciální diagnostice je nutné provést vyšetření funkčního fibrinogenu (viz níže).

**MCF - maximum clot firmness** – představuje maximální sílu koagula a je výsledkem interakce fibrinogenu, trombocytů a koagulačního faktoru XIII. I v případě nízké hodnoty **MCF** je k diagnostice nutné vyšetřit hladinu funkčního fibrinogenu.

**A5, A10 - amplituda 5 a 10 minut od CT** – představuje sílu koagula 5 a 10 minut od **CT**. Protože koreluje s **MCF**, je možné se jí řídit ještě před dosažením **MCF** (v naléhavých případech nahrazuje **MCF**), a tak rychleji terapeuticky zasáhnout.

**LI 30, LI 60, ML - lysis index 30 a 60 minut od CT, ML (maximální lýza)** – představují parametry fibrinolýzy, tj. procento lýzy koagula z hodnoty **MCF** a vypovídají o stabilitě koagula.



**Obrázek 6.** Parametry TEG/ROTEM

### **Parametry TEG a ROTEM a normální hodnoty nejčastěji používaných testů -**

(TEG aktivován kaolinem - aktivuje vnitřní cestu srážení, ROTEM aktivován tkáňovým faktorem, který aktivuje vnější cestu - EXTEM).

R (reakční čas), CT (clotting time) – iniciační fáze srážení, normální hodnota je 5 – 8 min pro TEG a 38 – 79 s pro EXTEM;

K (kinetics), CFT (clot formation time), úhel  $\alpha$  – představují propagační fázi srážení, normální hodnoty pro K jsou 1 – 4 min a pro CFT 34-159 s, normální hodnoty pro úhel  $\alpha$  TEG jsou 50 – 70° a pro EXTEM 63- 83°;

MA (maximální amplituda), MCF (maximum clot firmness) – představují maximální pevnost - sílu koagula, normální hodnota pro TEG je 50-70 mm a pro EXTEM je 50-72 mm;

LY a ML – parametry fibrinolýzy (procento lýzy z MA/MCF), normální hodnota je lýza koagula v 30. minutě < 8 % a v 60. minutě < 15 % pro TEG a < 6 % v 30. minutě a < 15 % v 60. minutě pro ROTEM.

### **1.5. Typy vyšetření ROTEM a jejich obecná interpretace**

V zásadě se pro vyšetření ROTEM používá nesrážlivá krev antikoagulovaná citrátem a k aktivaci vzorku se přidává kalcium (vyšetření je vhodné provést do 2 hodin od odběru, jelikož v tomto časovém okně je vzorek nejstabilnější). Pokud by se do vzorku nepřidávala další aktivační reagentie, získali bychom globální hemokoagulační profil nativní krve, tzv. NATEM. Tento test však není rutinně používán, jelikož čas do iniciace srážení je relativně dlouhý (cca 10 - 15 minut) a v léčbě život ohrožujícího krvácení (ŽOK) je z časového důvodu nevyhovující. Nicméně je nejcitlivější a dokáže detekovat i jemné koagulopatie, což bude blíže komentováno v dalším textu. Ve snaze získat výsledky koagulace co nejrychleji, především v případě ŽOK, přidávají se do krevního vzorku aktivační reagentie. K iniciaci srážení pak dochází již do 80 s – 240 s (dle typu testu) a do 10 minut získáme základní informace o koagulačním profilu, což nám umožňuje záhy terapeuticky intervenovat.

K vyšetření vnitřní cesty se používá test INTEM (obsahuje aktivátor vnitřní cesty - ellagová kyselina). Nejvýznamnější je hodnocení parametru *CT*, který bývá prodloužený v případě deficitu faktorů vnitřní cesty (např. hemofilie) nebo v důsledku působení heparinu. Jelikož je tento test citlivý k účinku vysokých dávek heparinu, spolu s testem HEPTEM (obsahuje

heparinázu k neutralizaci heparinu) se používá především v kardiochirurgii k monitorování účinku heparinu.

K vyšetření vnější cesty srážení se používá test EXTEM (obsahuje aktivátor vnější cesty - tromboplastin, obsahuje také inhibitor heparinu, a proto není ovlivněn heparinem). Tento test je základním testem, poněvadž v organismu hraje vnější cesta aktivace srážení (dle buněčného modelu hemostázy) hlavní roli. Parametr *CT* bývá prodloužen v případě deficitu faktorů vnější cesty. Parametry *CFT*, *úhel  $\alpha$*  a *MCF* jsou ovlivněny jak počtem trombocytů, tak i hladinou fibrinogenu. Proto při hypokoagulačních hodnotách *CFT* (prodloužená hodnota), *úhlu  $\alpha$*  (nízká hodnota) a *MCF* (nízká hodnota) je nutné odlišit, zda se jedná o deficit fibrinogenu nebo o poruchu/deficit trombocytů. K tomu používáme další typ testu na vyšetření funkčního fibrinogenu - FIBTEM (obsahuje ireverzibilní blokátor trombocytů - cytochalasin D) a posuzuje se jeho *MCF*. V případě nízké hladiny fibrinogenu je primárně nutná jeho substituce do normy. V případě normálních hodnot fibrinogenu je ale potřeba substituovat trombocyty.

Pokud je na EXTEM patrna fibrinolýza (vysoké procento LI30 a LI60), k jejímu potvrzení se používá APTEM /T -APTEM (obsahuje antifibrinolytikum aprotinin/tranexamová kyselina). Jedná se o případy, kdy obraz fibrinolýzy může být způsoben retrakcí koagula při hyperkoagulačních stavech (dochází k utržení fibrinových vláken od stěny kyvety a přístroj to detekuje jako fibrinolýzu) a tyto stavy je nutné odlišit. Porovnávají se křivky EXTEM versus APTEM/T -APTEM. Pokud se fibrinolytická křivka upraví, jedná se o fibrinolýzu (podáváme pacientovi antifibrinolytika) a pokud ne, jedná se o retrakci koagula.

## 1.6. Limity TEG/ROTEM

Na rozdíl od situace *in vivo*, kyveta neobsahuje endotel a postrádá střižné síly vznikající proudem krve při povrchu endotelu. Proto tyto testy nejsou citlivé na poruchu primární hemostázy, kde výsledkem je vznik destičkového trombu (např. von Willenbrandova nemoc, Bernard-Soulierův syndrom, Glanzmannova trombasténie, Heřmanského-Pudlákův syndrom), a není citlivá ani na vliv antiagregancií v primární hemostáze (procesy adheze a agregace). V současnosti je již však k dispozici ROTEM *platelet* – analyzátor funkce krevních destiček na principu impedanční agregometrie. K vyšetření se používají speciální kyvety, které slouží k měření agregace krevních destiček na povrchu, po aktivaci běžnými induktory destiček

(kyselina arachidonová, ADP, TRAP). Použití různých aktivátorů agregace umožňuje nejen detekovat celkový stav primární hemostázy, ale také rozlišit, který mechanismus aktivace destiček je případně zablokován, a selektivně tak vyhodnotit účinek jednotlivých typů antiagregancií. Přístroj ROTEM *platelet* se implementuje jako přídatný modul k tromboelastometru ROTEM *delta*.

Přestože obě metodiky (přístroje) jsou si velice podobné, nelze výsledky obou vyšetření srovnávat a nelze výsledky TEG alternovat s výsledky ROTEM a obráceně [2-4]. Příčinou je používání jiných aktivačních reagensů, lidský faktor (ROTEM má automatické pipetování a TEG manuální) a odlišné technické parametry. Je doporučováno používat k monitoraci hemokoagulace u jednoho pacienta jeden typ přístroje a do budoucna je nutné pracovat na standardizaci metodologie.

## 2. Cíle a popis rozčlenění práce

Cílem této habilitační práce bylo přinést více světla do problematiky vyšetřování srážení krve pomocí metody TEG a ROTEM u pacientů na jednotce intenzivní péče (JIP). Samotný komentář je rozčleněn do šesti částí dle problematiky.

- I. První část se věnuje problematice **metodologie**, jelikož doposud trvá diskuse, která metodika je přesnější (TEG/ROTEM) a jak docílit toho, aby bylo možné srovnávat výsledky vyšetření různých pracovišť.
- II. Další část je věnovaná využití TEG a ROTEM v oblasti **život ohrožujícího krvácení (ŽOK)**. Zde jsou prezentovány algoritmy, jak poskytovat cílenou léčbu koagulopatie u pacienta s ŽOK a jak postupovat v diagnostice a terapii ŽOK za pomoci obou metod.
- III. Třetí oblastí je problematika **seps**e, kdy při vyšetření srážení krve nalézáme neshody mezi standardními testy PT/APTT a pacientovým klinickým stavem. U těchto pacientů vidáme patologicky prodloužené hodnoty PT/APTT navzdory přítomnosti multiorgánové dysfunkce, která je spojena s hyperkoagulačním stavem. Zdá se, že tromboelastografie lépe odpovídá pacientovu stavu, jelikož ve většině případů svědčí o hyperkoagulačním stavu i při prodloužených hodnotách PT/APTT.
- IV. **Diseminovaná intravaskulární koagulace (DIK)** je stav, který je nesmírně těžko monitorovaný jenom za pomoci standardních laboratorních testů. Zdá se, že metoda rotační tromboelastometrie může být nápomocná v terapii DIK u pacientek na gynekologicko-porodnickém JIP.
- V. ROTEM může být používán úspěšně nejenom v léčbě ŽOK, ale i při hodnocení hemokoagulačního profilu **před invazivním výkonem či chirurgickou operací**.
- VI. Rutinní vyšetřování srážení plné krve pomocí ROTEM vede k značnému snížení aplikací mražené krevní plazmy pacientům na JIP (adopce nového paradigmatu v hodnocení hemokoagulace plné krve-buněčného modelu hemostázy).

### 3. Problematika metodologie

Metoda tromboelastografie je používána od roku 1948. Nicméně až do doby rozvoje počítačové technologie byla používána pouze v laboratoři a její využití se velmi pravděpodobně nerozšířilo dále proto, že výsledky byly zpracovávány manuálně a jejich hodnocení bylo složité. Po nástupu počítačové éry byly sestrojeny 2 přístroje - TEG a ROTEM, které již byly propojeny s počítačem a samotné vyšetření a vyhodnocování výsledků bylo automatizováno. Práce se tímto způsobem značně zjednodušila a bylo možné využívat tromboelastografii i u lůžka pacienta jako tzv. „bedside“ metodu. To bylo druhým hlavním důvodem pro renesanci této metody. Nicméně zůstaly nedořešené problémy metodologie tromboelastografie. TEG/ROTEM je možné vyšetřovat nativně (bez přidání aktivátorů), ale první výsledky jsou k dispozici až za cca 10-15 minut, což nevyhovuje situacím u kriticky krvácejícího pacienta. Proto se začaly používat aktivační reagenty jako kaolin, celit, tkáňový faktor (TEG) a ellagová kyselina či tromboplastin (ROTEM). Tím se vyřešil problém týkající se rychlosti dostupnosti výsledku, jelikož po přidání aktivátoru jsou první výsledky k dispozici do 80 sekund (ROTEM-EXTEM) a základní přehled o hemokoagulačním profilu získáme cca za 10 minut od začátku vyšetření.

Problémem ale nadále zůstalo uskladnění a transport vzorku na místo, kde se přístroj nachází (vedlejší operační sál, hematologická laboratoř atd.). Proto se začaly krevní vzorky odebírat do zkumavek s obsahem citrátu, což umožňuje analýzu vzorku do 2 hodin od odběru (ROTEM). To byl další úspěšný krok v procesu standardizace preanalytické fáze vyšetření.

### 3.1.

**První prezentovaná práce se týká metodologie TEG a má název „Arteriovenous differences of hematological and coagulation parameters in patients with sepsis“.**

V této práci jsme zkoumali, zda je rozdíl ve srážení arteriální a venózní krve u septických pacientů na JIP. Někteří autoři popisují rozdíly ve srážení krve metodou TEG mezi arteriální a venózní krví [5], jiní autoři popisují rozdíly v hladině fibrinogenu a TAT (trombin-antitrombin komplexy), ale i dalších parametrech [6-8].

U 44 pacientů s těžkou sepsí jsme porovnávali srážení žilní krve získané z centrálního žilního katétru zavedeného cestou via *vena subclavia* a z arteriálního katétru zavedeného via *arteria radialis*. K proplachu cévních setů jsme používali heparin, a proto jsme k vyloučení vlivu heparinového proplachu používali kyvety s heparinázou. K aktivaci vzorku byl použit kaolin a vzorek byl vyšetřen do 4 minut od odběru (bez citrátové antikoagulace). V našem případě jsme nenašli žádné rozdíly v parametrech TEG mezi arteriální a venózní krví, ale zjistili jsme statisticky významný rozdíl v hladině antitrombinu a D-dimerů.

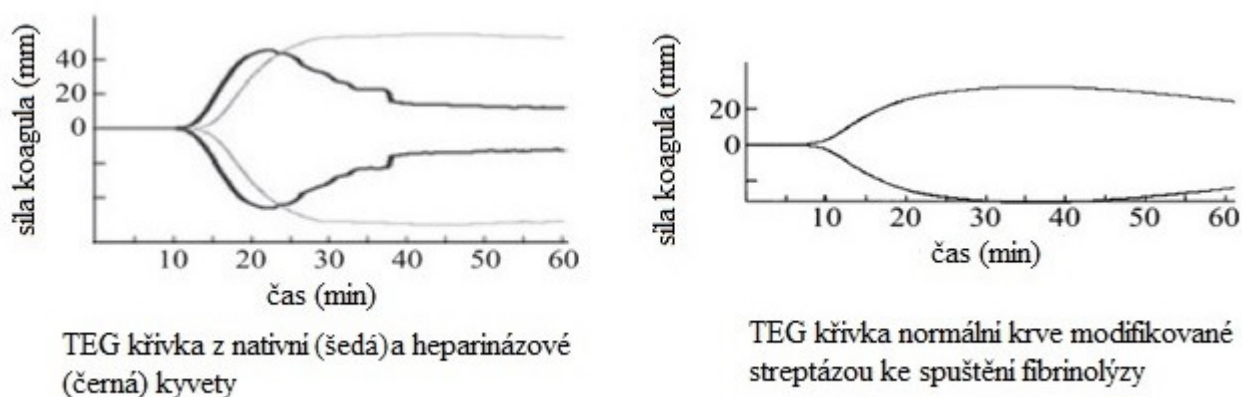
Závěrem jsme konstatovali, že pro TEG vyšetření krve je možné používat jak arteriální, tak i venózní krev, ale ke sledování dynamiky změn (opakované vyšetřování) doporučujeme místo odběru nezaměňovat.



### 3.2.

Další práce nese název „*Heparinase-modified thromboelastometry can result in a fibrinolytic pattern*“ a popisujeme v ní riziko spojené s používáním heparinázových kyvet.

Arteriální a venózní sety jsou k udržení průchodnosti katétru proplachovány heparinovým roztokem (4 IU heparinu/ml, 3ml/hod). K eliminaci vlivu heparinu na srážení krve je doporučeno používat kyvety s heparinázovým povrchem. Opakovaně jsme ale ve vzorku vyšetřeném v kyvetě s heparinázou našli obraz suspektní fibrinolýzy, který se ale odlišoval od pravé fibrinolýzy vyvolané přidáním fibrinolytika *in vitro* (streptáza) (obrázek 7).



**Obrázek 7**

Makroskopický nález koagula odtrženého od stěny kyvety svědčí o retrakci koagula, v kyvetě se streptázou koagulum nebylo přítomné (tekutá krev). Podobný fenomén fibrinolýzy v heparinázové kyvetě byl nezávisle na našem pozorování popsán asi o čtyři měsíce později autory Moreland a spol. [9].

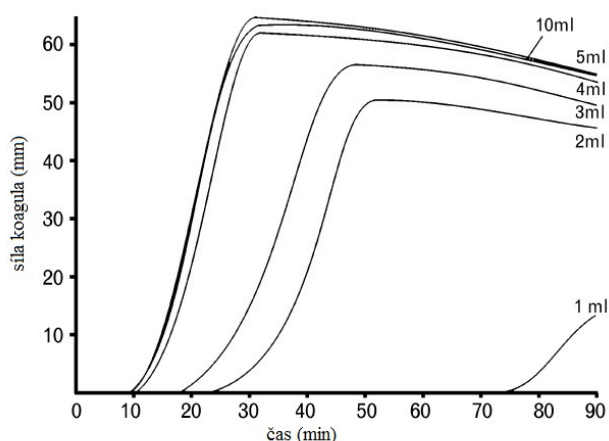
Závěrem této práce je, že pokud je to možné, je lépe vyhnout se používání heparinázových kyvet za účelem eliminace efektu heparinového proplachu, anebo výsledky hodnotit obezřetně. Alternativou je použít jiný způsob eliminace heparinu ze setu např. odtáhnutím a znehodnocením dostatečného objemu krve před samotným odběrem krevního vzorku pro vyšetření TEG. To bylo také naším dalším úkolem.

### 3.3.

#### **Práce s názvem „Discard volume necessary for elimination of heparin flush effect on thromboelastography“.**

V této práci jsme si dali za úkol najít alternativní způsob eliminace heparinového proplachu v arteriálních setech, tj. jiný než používání heparinázových kyvet, které jsou důležité v diagnostice přítomnosti endogenních heparinoidů či jiných heparinů. Zjišťovali jsme, jaký minimální objem krve je nutné odtáhnout z arteriálního setu před samotným odběrem krevního vzorku pro vyšetření TEG. Jinými slovy, zjišťovali jsme, jaké množství krve je nutné odtáhnout k dostatečné eliminaci heparinu z arteriálního setu.

Prováděli jsme TEG vyšetření postupně po předešlém odtáhnutí 1, 2, 3, 4, 5 a 10 ml krve. Zjistili jsme, že po odtáhnutí 4 ml krve, tj. pětinašobku objemu arteriálního setu, již není patrný efekt heparinu na parametry TEG (obrázek 8).



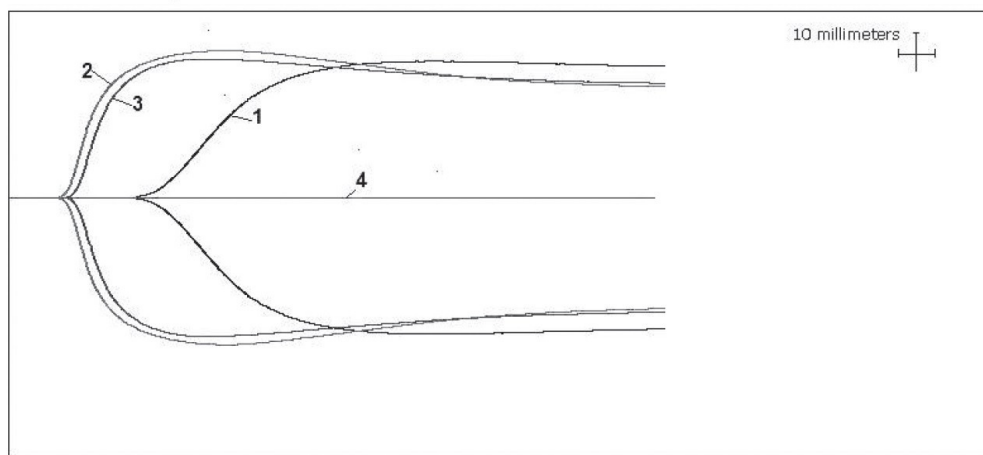
**Obrázek 8 :** TEG křivky získané po odtáhnutí 1 – 10 ml krve. Křivky byly rekonstruovány použitím průměrných hodnot R,  $\alpha$  úhlu, MA a TMA od 10 pacientů.

Závěrem jsme tak mohli konstatovat, že jako alternativní způsob eliminace heparinového efektu lze místo heparinázových kyvet použít metodu eliminace pomocí odtáhnutí dostatečného objemu krve, tj. pětinašobku mrtvého prostoru arteriálního setu.

### 3.4.

**Práce s názvem „Hypocoagulation state in severe systematic inflammatory response syndrome/sepsis is consistent with endogenous heparinoid effect as detected by thromboelastography“.**

Popisujeme v ní případ pacienta po chirurgické cystektomii, u kterého se perioperační průběh zkomplikoval vznikem infarktu myokardu. V takovém případě by pacient měl být antikoagulován kvůli infarktu, na druhé straně však antikoagulace po rozsáhlém operačním výkonu není žádoucí. Po odtáhnutí dostatečného objemu krve před samotným odběrem krevního vzorku pro vyšetření TEG (postup dle výsledku naší výše zmíněné práce č. 3) jsme odebrali krevní vzorek pro vyšetření TEG. Na základě výsledku jsme vyslovili podezření na vliv endogenních heparinoidů (obrázek 9), jejichž přítomnost je často popisovaná především v souvislosti s operací jater [10] a jejichž účinek je v případě krvácení možné antagonizovat adekvátní dávkou protamin sulfátu [11] (obrázek 9). Pokud ale dojde k předávkování protaminem, efekt je hypokoagulační [12] (obrázek 9). V našem případě pacient nekrvácel a na základě výsledku TEG jsme nemuseli žádným způsobem zasahovat do bezprostřední pooperační péče.



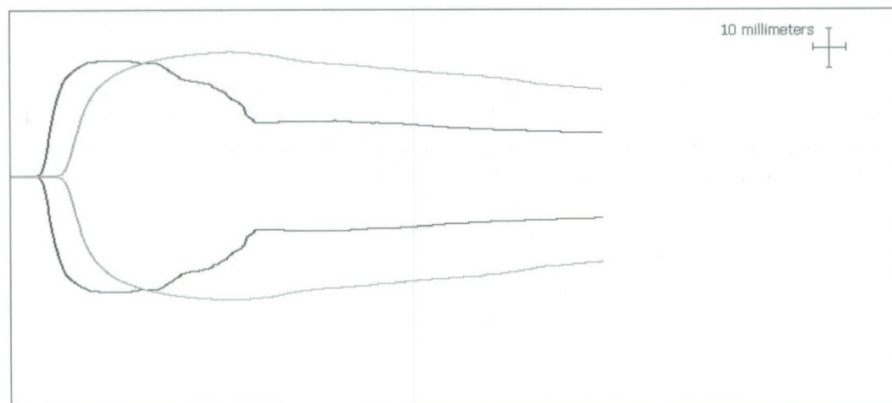
**Obrázek 9** 1 - nativní TEG (kaolin a bez heparinázy), 2 - heparinázový TEG (kaolin a kyveta s heparinázou), 3 - nativní TEG po přidání 0,5 U protamin sulfátu, 4 - nativní TEG po přidání 20 U protamin sulfátu

Závěrem chceme upozornit, že pomocí TEG vyšetření je možné zachytit přítomnost endogenních heparinoidů, které mohou ohrozit pacienta v pooperačním období zvýšeným krvácením. Adekvátnost uvažované terapie lze ověřit *in vitro* před samotným podáním léku pacientovi.

### 3.5.

#### **Práce s názvem „Kaolin activated thromboelastography can result in false positive fibrinolytic trace“.**

V této práci poukazujeme na limity aktivovaných metod, konkrétně zde při aktivaci kaolinem. Na jedné straně tyto metody urychlují dostupnost výsledku TEG, mohou ale také tyto výsledky zkreslovat. Prezентujeme případ, kde kaolinem aktivovaný vzorek poukazuje na přítomnost fibrinolýzy a nativní vzorek tento obraz postrádá (obrázek 10). Jelikož hladina D-dimerů byla nízká (94 ng/ml), nativní vzorek lépe koreloval s laboratorní hodnotou i s klinickým stavem pacienta (pacient nejevil známky krvácení). Tento fenomén vysvětlujeme tím, že kaolin má komplexní efekt na trombocyty a může je aktivovat [13]. Hyperfunkce trombocytů je spojena se vznikem hyperretrakce koagula [14].



**Obrázek 10.** TEG křivka kaolinem aktivovaného vzorku (černá) a nativního vzorku bez přidání kaolinu (šedá)

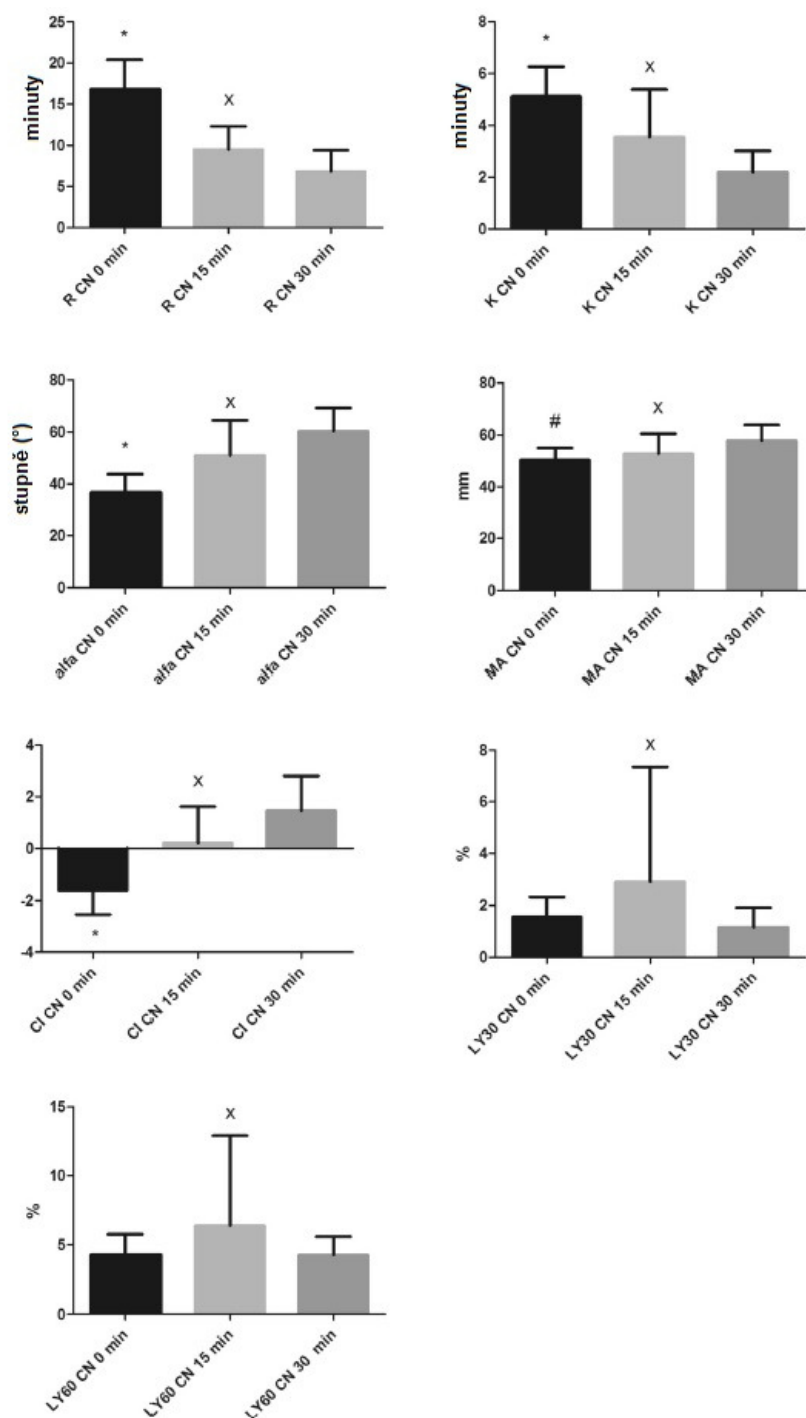
Závěrem je, že nativní metoda TEG se oproti kaolinem aktivované metodě jeví jako hodnověrnější a lépe koreluje s klinickým stavem pacienta. Výsledky kaolinem aktivovaného TEG musíme proto hodnotit obezřetně.

### 3.6.

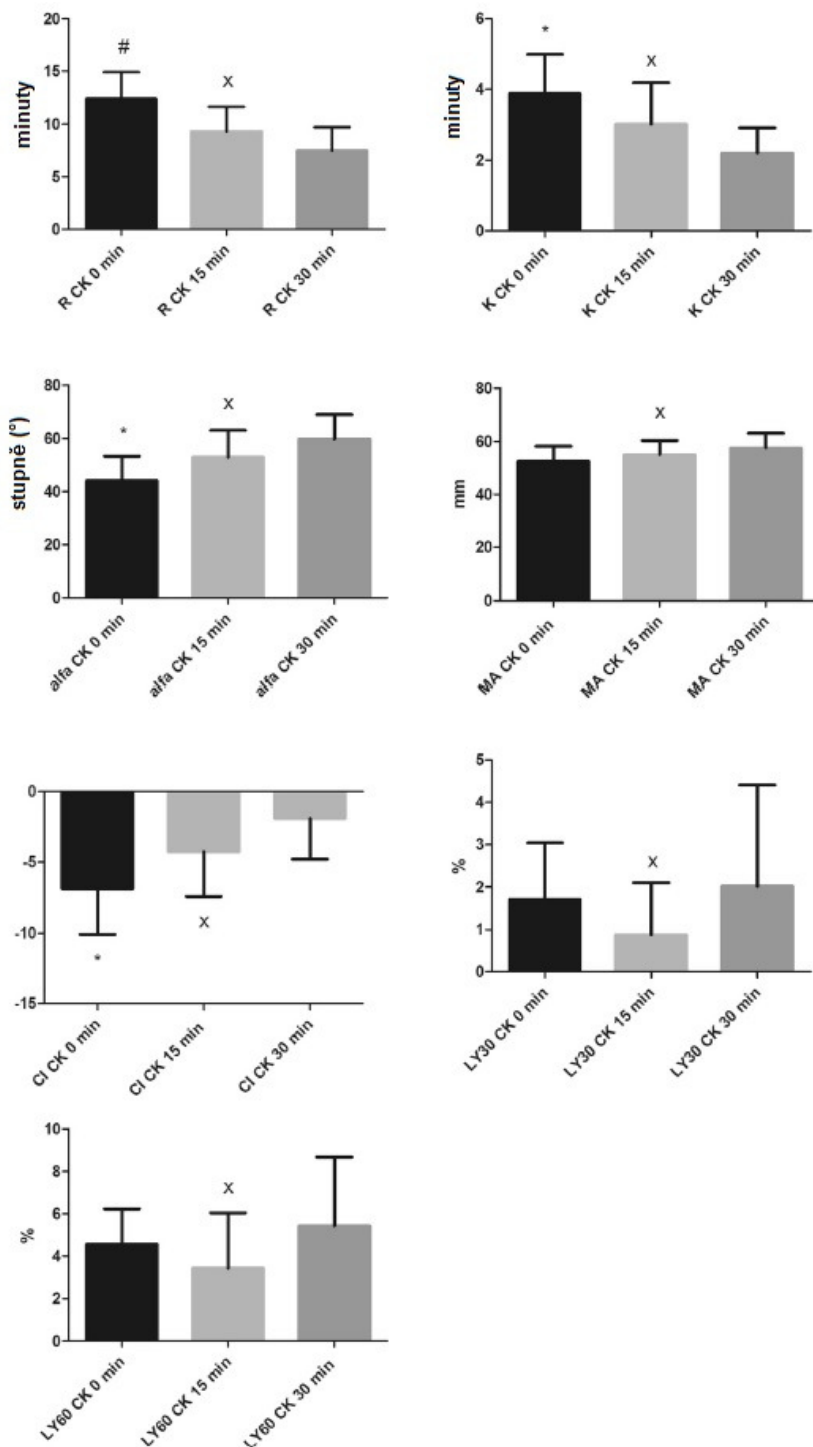
V další práci s názvem „*Time impact on non-activated and kaolin-activated blood samples in thromboelastography*“ jsme zjišťovali, zda je možné využít čas k aktivaci citrátového vzorku, jelikož jsme v předešlé práci poukázali na nevýhody kaolinu. Cílem bylo zjistit, zda je možné nahradit aktivování vzorku kaolinem prostým čekáním po určitou dobu (inkubace vzorku citrátové krve po určitou dobu při pokojové teplotě před samotným vyšetřením). Mnoho autorů popisuje fenomén autoaktivace citrátového vzorku a shodují se na tom, že citrátový vzorek krve je nestabilní v čase a s plynoucím časem dochází k hyperkoagulačnímu trendu [15-19]. Příčina tohoto jevu není jasná. Jedna z teorií tvrdí, že citrát není schopen úplně zabránit aktivaci srážení krve. Většina autorů proto doporučuje ponechat citrátový vzorek při pokojové teplotě minimálně 30 minut a pak iniciovat vyšetření (buď nativní, nebo aktivované kaolinem). Žádný z autorů ale nesledoval vliv času na vzorek po 0., 15. a 30. minutě a neporovnával rozdíly mezi nativním a aktivovaným vzorkem (aktivace kaolinem) v těchto časových bodech. V naší studii jsme dospěli k závěru, že časem dochází k aktivaci vzorků obou skupin (nativních i aktivovaných), nicméně po 15. minutě již nejsou rozdíly v čase mezi 15. a 30. minutou statisticky signifikantní ( $p > 0,05$ ) (obrázek 11 a 12).

V dalším kroku jsme porovnali hodnoty obou skupin (nativních a kaolinem aktivovaných vzorků) a po 15. minutě jsme již statisticky signifikantní rozdíly mezi parametry TEG nezaznamenali (obrázek 13).

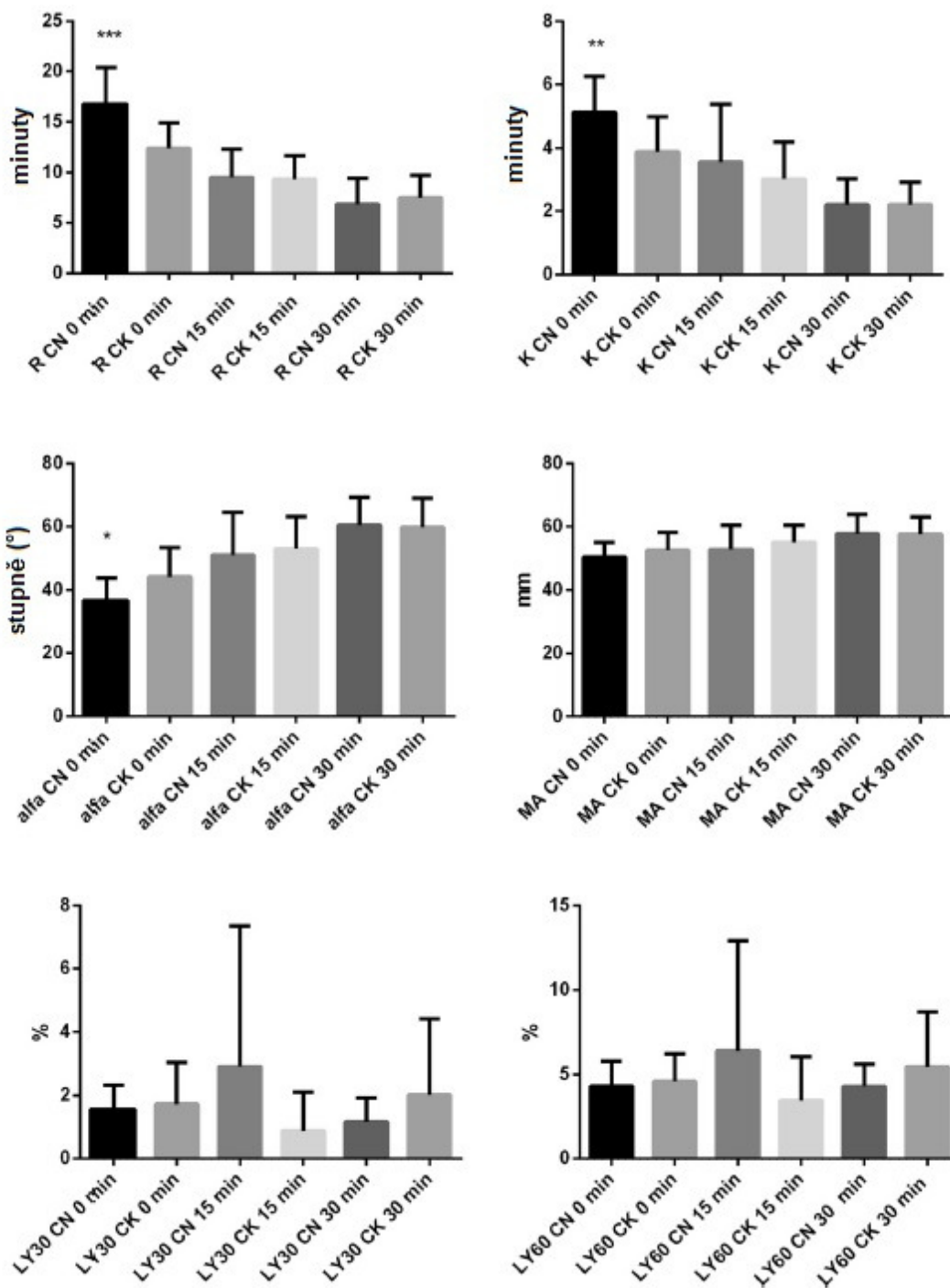
Závěrem tedy můžeme shrnout, že citrátové krevní vzorky nativní či kaolinem aktivované jsou nestabilní v čase, nicméně již po 15 minutách dochází k jejich stabilizaci. Pokud se nejedná o urgentní situaci, je vhodnější použít nativní metodu (bez kaolinu) a využít tento fenomén „aktivace časem“ u citrátového vzorku a vyšetření provést za 15-30 minut od odběru.



**Obrázek 11.** Rozdíly v parametrech ve skupině vzorků nativní citrátové krve (CN) po 0, 15, 30 minutách. Malé značky signalizují signifikantní rozdíly a chybové úsečky představují směrodatnou odchylku. \* značí signifikantní rozdíly mezi CN 0 min vs. CN 15 min a mezi CN 0 min vs. CN 30 min,  $p < 0.05$ ; # značí signifikantní rozdíly mezi CN 0 min vs. CN 30 min,  $p < 0.05$ ; x značí signifikantně nevýznamný rozdíl mezi CN 15 min vs. CN 30 min,  $p > 0.05$ .



**Obrázek 12.** Rozdíly v parametrech ve skupině vzorků citrátové kaolinem aktivované krve (CK) po 0, 15, 30 minutách. \* značí signifikantní rozdíly mezi CK 0 min vs. CK 15 min a mezi CK 0 min. vs. CK 30 min,  $p < 0.05$ ; # značí signifikantní rozdíly mezi CK 0 min vs. CK 30 min,  $p < 0.05$ ; x značí signifikantně nevýznamný rozdíl mezi CK 15 min vs. CK 30 min,  $p > 0.05$ .



**Obrázek 13.** Rozdíly mezi citrátovou nativní metodou (CN) a citrátovou kaolinem aktivovanou metodou (CK) v jednotlivých parametrech po 0, 15, 30 minutách. Malé značky signalizují statisticky významné rozdíly mezi metodami v rámci stejné časové skupiny a chybové úsečky představují směrodatnou odchylku. \* značí rozdíl  $p < 0.05$ ; \*\* značí rozdíl  $p < 0.01$ ; \*\*\* značí rozdíl  $p < 0.001$ .



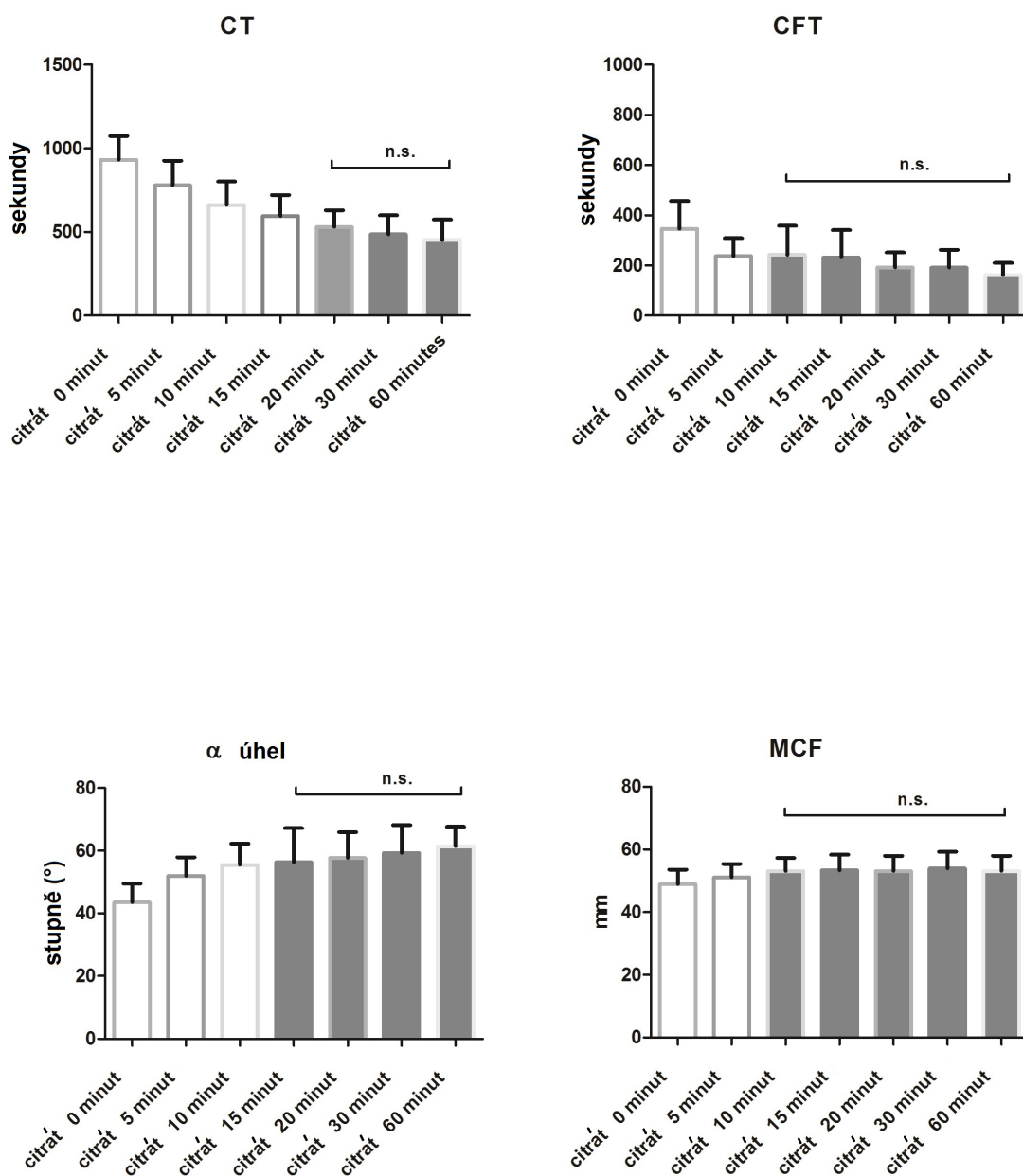
### 3.7.

**Práce s názvem „*Stability of non-activated rotational thromboelastometry assay in time of citrated blood (appropriate time interval for analysis)*“ navazuje na předešlou práci (3.6) týkající se stability citrátového vzorku při vyšetření TEG.**

Jelikož nativní vyšetření bez přidávaných aktivačních reagensí je nejcitlivější na jemné koagulopatie (v dalších pracích budeme prezentovat případy, kdy pacient krvácel i navzdory normálním hodnotám INTEM/EXTEM a NATEM odhalil koagulopatii), rozhodli jsme se provést podobnou práci i s použitím ROTEM. Při metodě ROTEM se používá výlučně citrátem antikoagulovaná krev, což je dalším krokem ke standardizaci metodiky mezi jednotlivými pracovišti.

Prováděli jsme vyšetření NATEM (aktivace citrátové krve se provede přidáním kalcia) v čase 0, 5, 10, 15, 20, 30 a 60 minut od odběru. Vzorek stál po tuto dobu při pokojové teplotě a pět minut před samotnou analýzou byl zahřát na nastavenou teplotu přístroje v zahřívací části přístroje. Zjistili jsme, že mezi 20. – 60. minutou již nejsou patrné statisticky významné rozdíly v parametrech ROTEM, i když mezi 30. a 60. minutou jsou rozdíly nejmenší (obrázek 14).

Závěrem práce konstatujeme, že citrátový nativní vzorek je v čase nestabilní, nicméně po 20 minutách již dochází ke stabilizaci vzorku. Jelikož nejstabilnější parametry NATEM jsou mezi 30. a 60. minutou, doporučujeme provádět vyšetření v tomto časovém okně, které je velice praktické pro běžnou praxi (odpovídá času transportu krevního vzorku na místo analýzy). Věříme, že tato práce přispěje ke standardizaci NATEM metody.



**Obrázek 14.** Parametry ROTEM s použitím citrátu v závislosti od času uplynulého od odběru vzorku. Parametry získané analýzou krve po 0, 5, 10, 15, 20, 30 a 60 minutách od odběru vzorku. Data představují  $\pm$  směrodatnou odchylku; n.s. = nesignifikantní rozdíly hodnot mezi jednotlivými časovými body ( $p > 0.05$ ) pro každý parametr.

### 3.8.

**V práci „Evaluation of fibrinogen concentrates and prothrombin complex concentrates on coagulation changes in a hypothermic in vitro model using thromboelastometry and thromboelastography“ pojednáváme o problematice správné teploty měření.**

Mnohokrát byla diskutována otázka, zda je správnější provádět vyšetření TEG a ROTEM při teplotě 37°C nebo při aktuální teplotě pacienta, např. při 30°C při podchlazení atd. Obecně převládá názor, že teplota 37°C, při které se provádějí běžné testy PT/APTT, není vyhovující a že by se vyšetření mělo provádět při pacientově aktuální teplotě. Ideálním řešením je provést vyšetření současně při pacientově teplotě např. 30°C a při standardní teplotě 37°C. Porovnáním těchto dvou TEG/ROTEM křivek bychom mohli zjistit nebo vyloučit vliv hypotermické koagulopatie. To je možné realizovat na přístroji TEG, ale přístroj ROTEM toto paralelně neumožňuje. Museli bychom dokončit vyšetření, přestavit teplotu přístroje a měření opakovat. To je ale v akutním stavu nepraktické. Proto je v běžné praxi obecně preferována standardní teplota měření 37°C a rovněž tak i v naší praxi. Argumenty pro tento postup jsou následující: hypotermického pacienta musíme vždy co nejdříve zahřívát ve snaze dosáhnout co nejrychleji normotermii a zajímá nás, zda v pacientově krvi není přítomná koagulopatie, která bude přetrvávat i po zahřátí pacienta na 37°C (tuto koagulopatii bychom mohli léčit již v průběhu zahřívání).

Teoreticky bychom mohli hypotermickou koagulopatii léčit i podáváním (tj. zvýšením koncentrace) samotných srážecích faktorů jako např. preparáty fibrinogenu či faktory protrombinového komplexu (faktory II, VII, IX, X) atd. Sporné je, zda tyto faktory budou funkční i při hypotermii. Co se stane, když pacient po aplikaci srážecích faktorů dosáhne normotermii a v jeho krvi bude vysoká hladina srážecích faktorů? Nebude pacient ohrožen vznikem hyperkoagulačního stavu a rizikem tromboembolických komplikací? S cílem najít odpovědi na tyto otázky jsme realizovali následující studii *in vitro*.

V prvním kroku jsme krevní vzorek vyšetřili pomocí TEG a ROTEM současně při teplotě 37°C a 30°C. V druhém kroku jsme do hypotermických vzorků (zkumavek) přidali fibrinogen (dávka přepočtená na hmotnost dospělého jedince) a separátně i faktory protrombinového komplexu. V posledním kroku jsme vzorky s přidanými faktory zahřáli opět na 37°C.

Zjistili jsme, že při 30°C skutečně dochází k hypotermické hypokoagulaci. Tu bylo možné korigovat podáním fibrinogenu, ale ne podáním faktorů protrombinového komplexu (koagulopatie se zhoršila). Autoři Honickel a spol. popisují účinnost faktorů protrombinového

komplexu až při teplotě 33°C [20]. Po zahřátí vzorků s přidaným fibrinogenem jsme pozorovali trend k hyperkoagulaci, nicméně při použití doporučených dávek nedošlo k statisticky signifikantním rozdílům mezi vstupními výsledky při 37°C a po zahřátí vzorku na 37°C. Nicméně pokud by se podávaly dávky nestandardně vyšší ve snaze obejít hypotermickou koagulopatii podáváním vysokých dávek fibrinogenu, musíme připustit riziko vzniku hyperkoagulačního stavu a tromboembolických komplikací.

Závěrem práce je, že hypotermickou koagulopatii lze efektivně korigovat podáním fibrinogenu, nicméně po zahřátí vzorku do normotermie dochází k hyperkoagulačnímu trendu. Pokud není možné současně provádět vyšetření TEG/ROTEM při obou teplotách, tj. při 37°C, a pacientově teplotě, např. při 30°C, zdá se bezpečnější provádět vyšetření při standardní teplotě 37°C.

#### 4. Problematika TEG/ROTEM u život ohrožujícího krvácení

Život ohrožující krvácení (ŽOK) při traumatických úrazech je vedoucí příčinou úmrtí, kterým by bylo možné předejít adekvátní a rychlou terapií [21]. Rozvoj koagulopatie je jedním ze tří faktorů smrtelné triády (hypotermie, hypokoagulace, acidóza), která musí být adekvátně léčena. A právě tromboelastografie se jeví jako metoda vhodná pro monitoraci srážení krve u ŽOK. Oproti běžným hemokoagulačním testům má dvě nesmírné výhody:

- a. jedná se o „bedside“ metodu, která umožňuje získat informace o koagulačním profilu hned u lůžka pacienta, a to do cca 10 minut;
- b. hodnocením srážlivosti plné krve poskytuje informace o jednotlivých fázích srážení, tj. o iniciační fázi, propagační fázi, poskytuje informace o pevnosti koagula a nakonec i informace o fibrinolýze, která je v případě ŽOK velice častá.

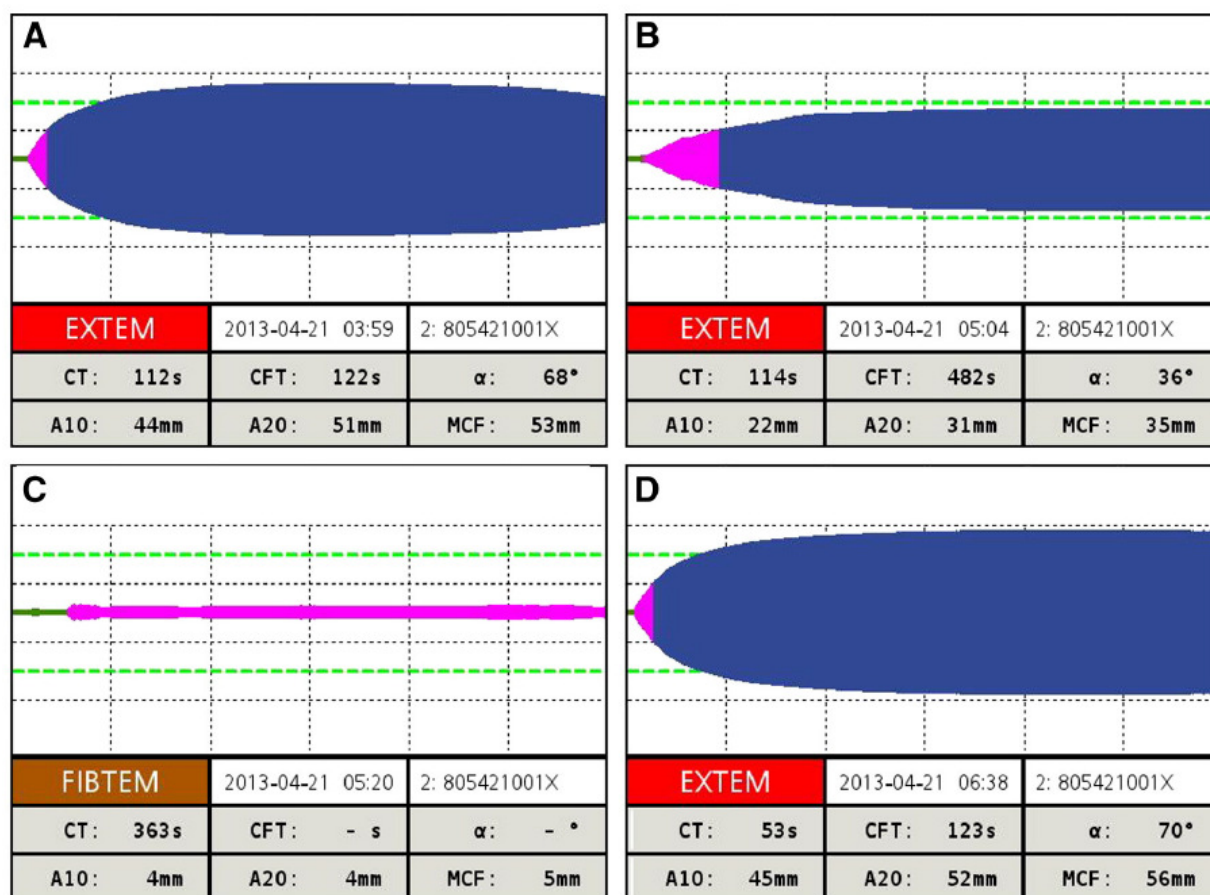
Díky těmto dvěma přednostem tromboelastografie můžeme do cca 10 minut cíleně zasáhnout do poškozené části hemostázy. Pokud jsou výsledky v normě a pacient krvácí, je podezření na chirurgický zdroj krvácení nebo se jedná o poruchu primární hemostázy.

V současné době v léčbě ŽOK celosvětově existují dvě paradigmatata:

1. časné zahájení transfúzního protokolu, tj. podávání krevní plazmy, erytrocytární masy a trombocytů v poměru 1:1:1;
2. časná cílená terapie koagulopatie pomocí tromboelastografie (převážně ROTEM). Tato viskoelastická metoda je zakomponována v současných multioborových Evropských doporučeních pro léčbu traumatického krvácení (síla doporučení 1C) [22] a v doporučeních Evropské anesteziologické společnosti pro léčbu perioperačního krvácení [23].

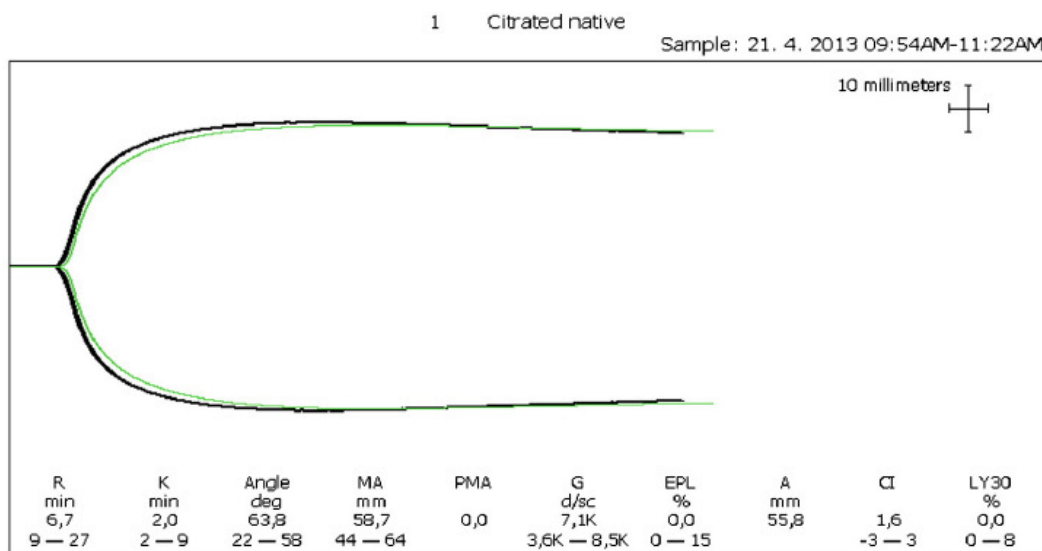
#### 4.1.

V naší první práci týkající se problematiky ŽOK s názvem „*Rotational thromboelastometry along with thromboelastography plays a critical role in the management of traumatic bleeding*“ popisujeme léčbu těžkého traumatického krvácení. U pacientky se vstupní koagulační poruchou dle ROTEM jsme se ji rozhodli korigovat podáváním krevní plazmy (obrázek 15A). Nicméně při kontrole cca za 1 hodinu jsme zjistili, že i navzdory kontinuálnímu podávání krevní plazmy krvácení pokračuje a rovněž progreduje koagulopatie dle ROTEM (obrázek 15B). V tomto případě jsme již dle ROTEM přistoupili k substituci koagulačních faktorů formou fibrinogenového přípravku a přípravku obsahující faktory protrombinového komplexu (obrázek 15D).



**Obrázek 15.** Vyšetření ROTEM. A – EXTEM před chirurgickou intervencí, po kterém následovalo podání ČMP. EXTEM (B) a FIBTEM (C) za 1 hodinu po kontinuálním podávání ČMP, po kterém následovala agresivnější terapie. D – EXTEM po adekvátní terapii. Referenční hodnoty pro EXTEM: CT = 38-79 s, CFT = 34-159 s,  $\alpha$  uhel = 63°–83°, MCF = 50-72 mm. Referenční hodnoty pro FIBTEM: MCF = 9 -25 mm.

Jelikož teplota pacientky klesla na 33°C a anemizace pokračovala, provedli jsme vyšetření TEG při teplotě 33°C a 37°C. Nález vyloučil přítomnost těžké hypotermické koagulopatie (obrázek 16) a bylo vysloveno podezření na přítomnost chirurgického zdroje krvácení, které se posléze potvrdilo.



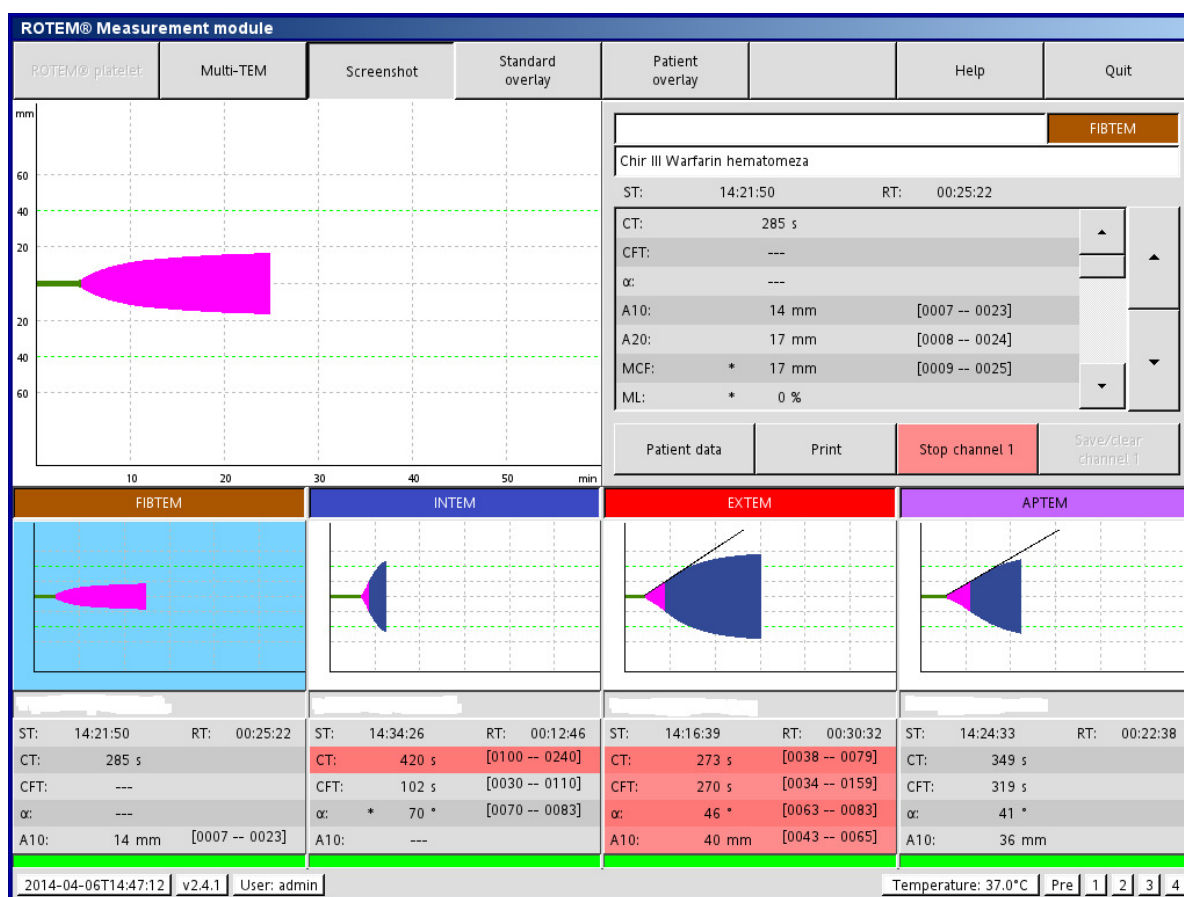
**Obrázek 16.** Vyšetření tromboelastografie (TEG). Černá křivka získaná měřením při teplotě 37°C a zelená křivka získaná měřením při teplotě 33°C. Téměř identické výsledné křivky vylučují hypotermickou koagulopatii jako příčinu krvácení.

Závěrem poukážeme na skutečnost, že u těžkého traumatického krvácení není možné úspěšně korigovat vznikající koagulopatii jenom pomocí transfuzních přípravků a je nutné cíleně substituovat fibrinogen a faktory protrombinového komplexu. Tromboelastografické vyšetření lze použít i k vyloučení těžké hypotermické koagulopatie o teplotě pacienta 33°C. Normální výsledky tromboelastografie u krvácejícího pacienta správně poukazovaly na pravděpodobný chirurgický zdroj krvácení, který se posléze potvrdil. Běžné laboratorní hemokoagulační testy u ŽOK nelze z praktických důvodů používat.

## 4.2.

Práce „Význam rotačnej tromboelastometrie (ROTEM) v perioperačnom období u warfarinizovaného pacienta“ dokumentuje, že i předávkování warfarinem lze předoperačně řídit pomocí ROTEM.

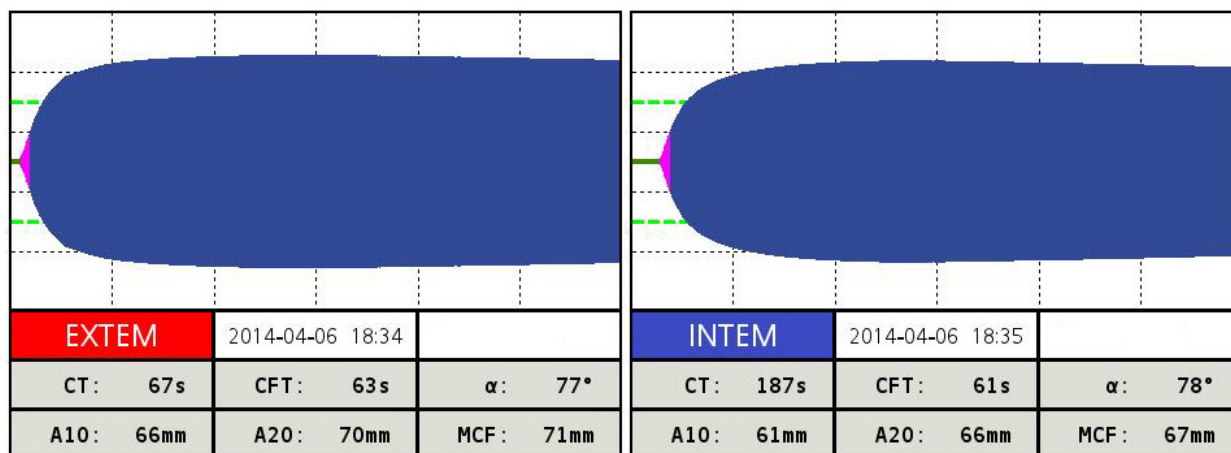
U pacienta, který chronicky užíval warfarin pro fibrilaci síní, se objevily bolesti břicha a rozvinula se hemateméza při koagulační poruše ve smyslu neměřitelných hodnot INR a APTT. Provedený ROTEM však poskytl lepší informace o hemokoagulačním profilu pacienta a vyloučil deficit fibrinogenu, fibrinolýzu a potvrdil předávkování warfarinem při značně prodloužených hodnotách CT INTEM i EXTEM (obrázek 17).



**Obrázek 17.** ROTEM při neměřitelných hodnotách PT-INR a APTT a před podáním 2 TU ČMP a 1200 IU PCC. Červeně jsou zvýrazněné patologické hodnoty. Nejvíce je poškozená iniciační fáze koagulace obou cest (zevní i vnitřní), která svědčí pro nedostatek srážecích faktorů. Hladina fibrinogenu je v normě a fibrinolýza není přítomna.



Na základě výsledku ROTEM jsme pacientovi podali 1200 IU faktorů protrombinového komplexu (2 krevní plazmy byly podané ošetřujícím lékařem před vyšetřením ROTEM), pacient následně přestal krvácet, kontrolní výsledek ROTEM byl v normě (obrázek 18) a kontrolní INR mělo hodnotu 1,8. Při následném gastroscopickém vyšetření žaludku byla zjištěna hemoragická gastropatie v posthemoragickém stádiu. Pacient byl při těchto hemokoagulačních hodnotách operován pro známky peritonitidy a ileu bez krvácivých komplikací.



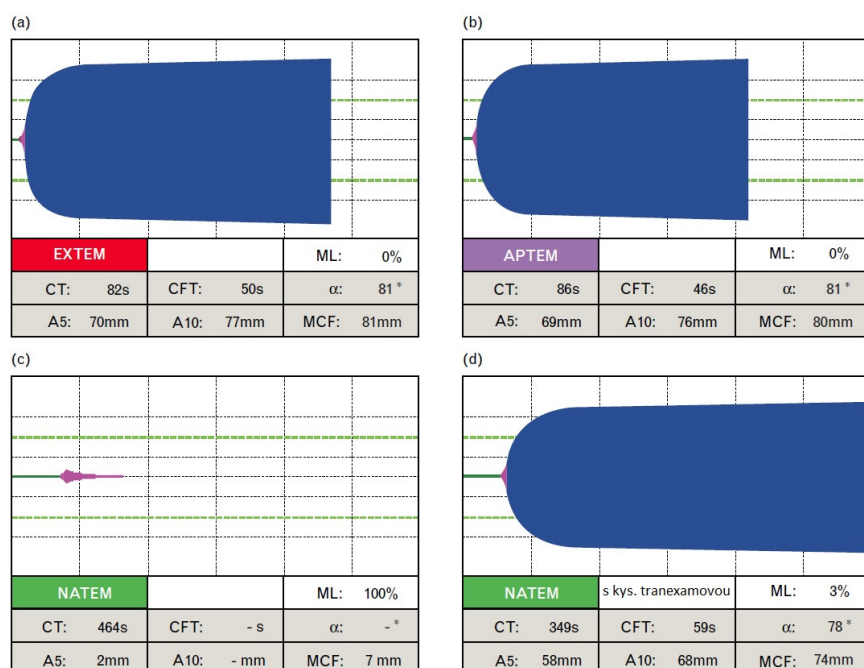
**Obrázek 18.** ROTEM po terapii při INR 1,8. Všechny parametry EXTEM a INTEM jsou v normě.

Závěrem můžeme říci, že i v předoperační přípravě pacienta předávkovaného warfarinem je možné využít ROTEM a že i přes vysoké INR 1,8 je možné provést operační výkon bez krvácivých komplikací za podmínky normálních hodnot ROTEM.

### 4.3.

#### „Nonactivated thromboelastometry able to detect fibrinolysis in contrast to activated methods (EXTEM/INTEM) in a bleeding patient“

Tato práce vyzdvihuje postavení nativní metody, tj. bez přidání aktivačních reagensů, (NATEM) u krvácejícího pacienta. Popisujeme případ pacienta v těžké sepsi (pneumonie po aspiraci nafty) s multiorgánovým selháním (dialýza s heparinovou antikoagulací pro anurii, umělá plicní ventilace pro respirační selhání), který začal krváčet z dýchacích cest a difúzně kolem zavedených invazí (centrální žilní katétr, dialyzační katétr, arteriální katétr, dutina ústní a nosní). Vyšetření ROTEM (EXTEM i INTEM) neprokázalo žádnou vážnější poruchu (obrázek 19a), přestože u pacienta se jednalo o ŽOK (krvácení do dýchacích cest). Jelikož je NATEM nejcitlivější metodou na identifikaci veškerých koagulopatií, rozhodli jsme se provést toto vyšetření. Nalezli jsme těžkou primární fibrinolýzu, která byla potvrzena přidáním antifibrinolytika do kyvety (křivka se následně upravila) (obrázek 19c, d). Dle výsledku NATEM jsme pacientovi podali antifibrinolytika a krvácení se následně zastavilo.



**Obrázek 19** ROTEM křivky pro EXTEM, APTEM a NATEM (bez a s přidáním tranexamové kyseliny).

Závěrem chceme upozornit, že v případech, kdy pacient krvácí, přestože testy EXTEM/INTEM jsou normální, je vhodné provést i NATEM vyšetření, které nám může pomoci odhalit raritní koagulační poruchu.

#### 4.4.

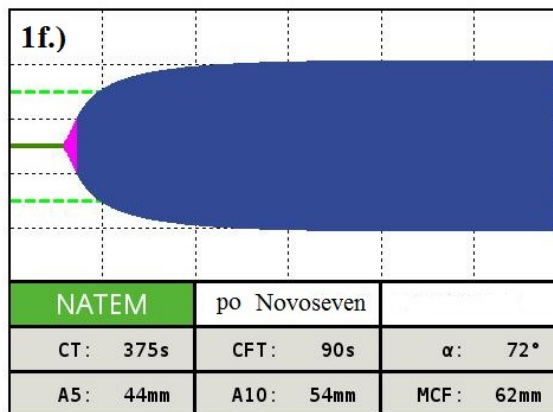
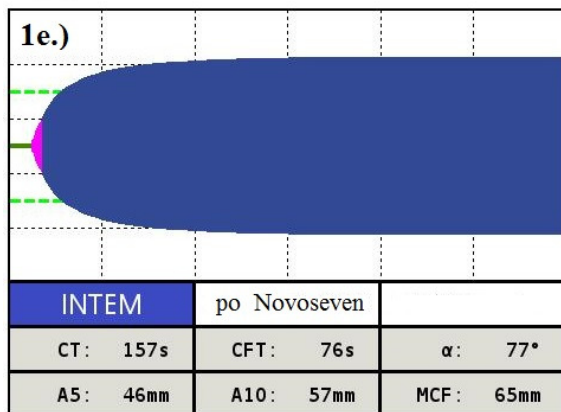
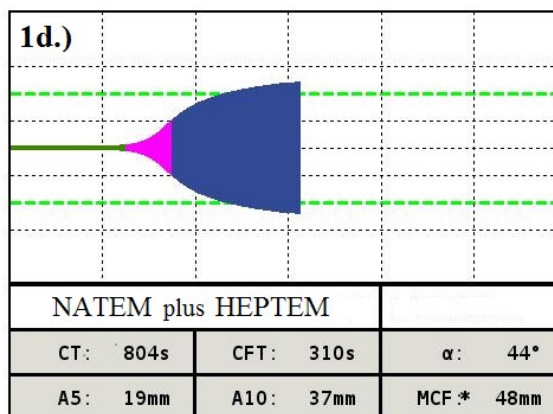
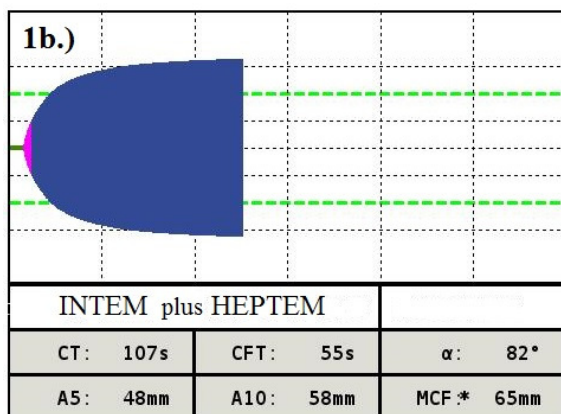
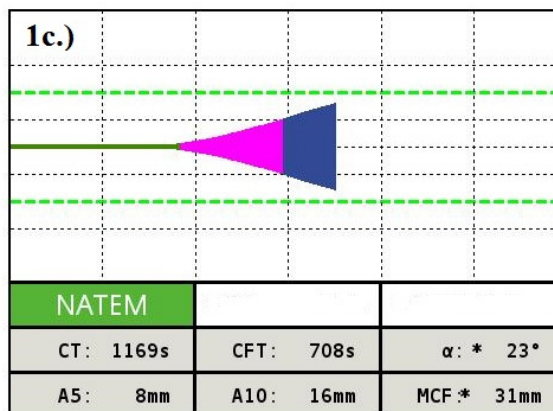
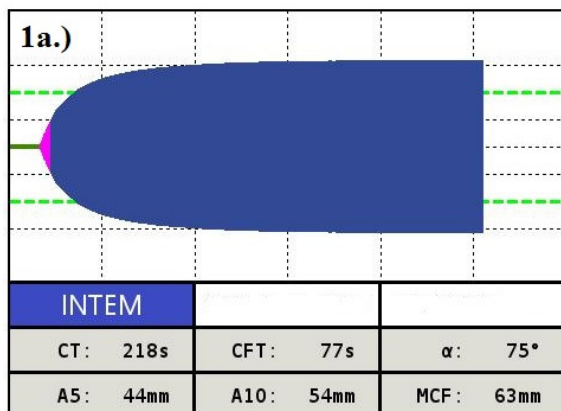
##### ***„Endogenous Heparinoids May Cause Bleeding in Mucor Infection and can be Detected by Nonactivated Thromboelastometry and Treated by Recombinant Activated Factor VII“***

Práce rovněž poukazuje na význam vyšetření NATEM u krvácející dětské pacientky.

Mukormykóza je houbovitě onemocnění, pro které je charakteristické napadení a prorůstání cévního endotelu [24]. Při destrukci endotelu dochází k uvolňování endogenních heparinoidů, které mohou být detekovány pomocí tromboelastografie [25] a jejichž přítomnost může vést k závažnému krvácení [26].

Popisujeme případ 12leté pacientky s mukormykózou, u které po drenáži fluidotoraxu a ascitu došlo k neúmyslnému poranění sleziny. Stav byl komplikován krvácením a následnou splenektomií, ale krvácení pokračovalo i přes opakované revize dutiny břišní, kdy jednoznačný zdroj krvácení nebyl nalezen. Jednalo se o difúzní krvácení. Laboratorní hemokoagulační testy ani aktivovaný ROTEM - EXTEM, INTEM nevysvětlovaly příčinu krvácení (obrázek 20a). Provedli jsme vyšetření NATEM, kde byl detekován efekt heparinoidů, který jsme potvrdili heparinázovým testem (HEPTEM zlepšil tvar křivky) (obrázek 20c, d). Terapie faktory protrombinového komplexu a protamin sulfátem byla neúspěšná (jak *in vitro* v kyvetě tak *in vivo*), a proto se na doporučení hematologa přistoupilo k podávání rekombinantního aktivovaného faktoru VII (Novoseven®). Po této terapii pacientka přestala krvácet a nález NATEM se upravil (obrázek 20f). Terapie rekombinantním aktivovaným faktorem VII byla nutná po dobu 3 týdnů spolu s antimykotickou terapií. Domníváme se, že toto období bylo nutné pro reparaci cév a cévního endotelu.

Závěrem chceme znovu upozornit na význam nativního vyšetření ROTEM-NATEM v případě, že pacient krvácí navzdory na první pohled normálním výsledkům EXTEM/INTEM.



**Obrázek 20.** ROTEM křivky za přítomnosti endogenních heparinoidů a po léčbě rFVIIa (Novoseven®). (A) INTEM; (B) HEPTEM; (C) NATEM; (D) INTEM s přidáním HEPTEM - reagentie obsahující heparinázu do kyvety během vyšetření kontrolního vzorku, NATEM s přidáním HEPTEM; (E) INTEM po léčbě Novoseven®; (F) NATEM po léčbě Novoseven®.

#### 4.5.

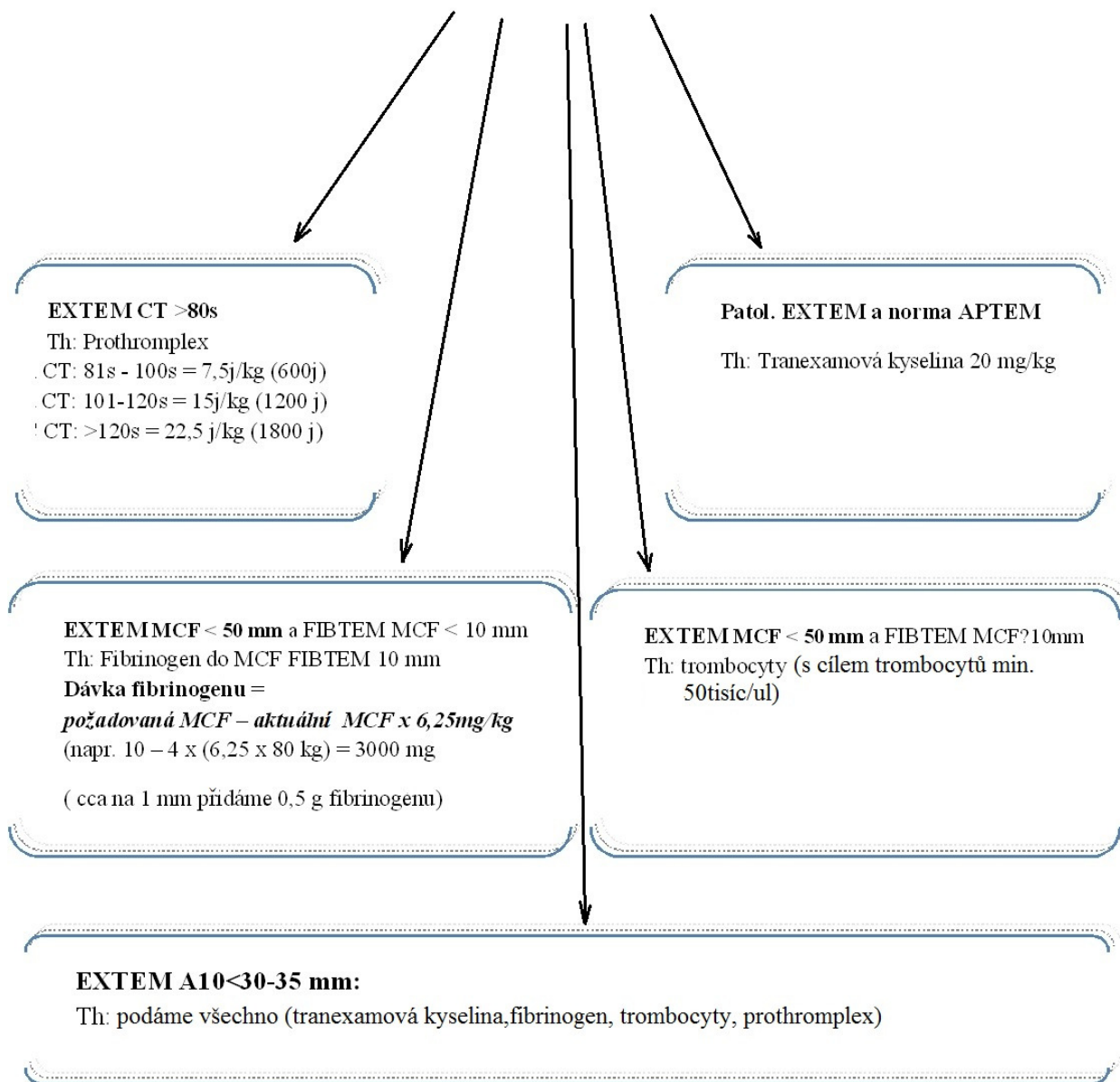
Přehledový článek „*Role of prothrombin complex concentrate in perioperative coagulation therapy*“ pojednává o významu protrombinového komplexu (prothrombin complex concentrate, PCC) v terapii krvácení způsobeného předávkováním warfarinem, ale i v jiných situacích ŽOK, jako je kraniotrauma, polytrauma, perioperační krvácení atd. Byl citován v současných Evropských doporučených postupech pro léčbu traumatického krvácení (citace 583) [22]. Článek diskutuje otázku používání krevní plazmy versus PCC ke korekci koagulopatie, jelikož se v posledním období kumulují důkazy o rizicích spojených s podáváním krevní plazmy (TACO - transfusion-associated circulatory overload, TRALI - transfusion related acute lung injury) [27]. V závěru článku je konstatováno, že podávání krevní plazmy při terapii ŽOK je opodstatněné v iniciační fázi k udržení rovnováhy prokoagulačních i antikoagulačních faktorů. Jakmile je nalezen a téměř ošetřen zdroj krvácení, můžeme dle ROTEM přistoupit k aplikaci PCC ke zlepšení tvorby trombinu a fibrinu.

#### 4.6.

Přehledový článek „*Význam rotačnej tromboelastometrie (ROTEM) v manažmente perioperačného krvácania*“ má edukační charakter pro zdravotníky v postgraduálním vzdělávání. Vysvětluje obecně i na příkladech využití ROTEM v léčbě perioperačního krvácení. Popisuje výhody i nevýhody metodiky, zabývá se otázkou, při jaké teplotě má být měření prováděno a nabízí přehledným způsobem rozmezí normálních hodnot parametrů ROTEM pro různé věkové kategorie: normální hodnoty obecně, normální rozmezí pro těhotné ženy ve třetím trimestru, normální hodnoty pro děti 0 - 3 měsíců, 4 - 12 měsíců, 13 - 24 měsíců, 2 - 5 let, 6 - 10 let a 11 - 16 let. Dále poskytuje jednoduché schéma pro léčbu ŽOK (obrázek 21).

## Vyšetření ROTEM při ŽOK

EXTEM- FIBTEM (příp. INTEM, T-APTEM, NATEM)



Pokud je vše v normě a pacient krvácí, vyšetříme INTEM a NATEM .

Při ŽOK vyšetřujeme z časových důvodů současně EXTEM, FIBTEM, INTEM (ale pokud máme situaci "pod kontrolou", základním testem je EXTEM a další testy dovyšetříme podle jeho výsledku).

**Obrázek 21.** Schéma terapie koagulopatie pomocí ROTEM.

## 5. Problematika sepse/SIRS (systemic inflammatory response syndrome)

Sepse je syndrom dysregulované systémové zánětlivé odpovědi organismu na infekční agens. Jde o závažný stav a nemocniční mortalita se pohybuje mezi 28,3 až 41,1 % v Severní Americe a v Evropě [28, 29]. SIRS je syndrom systémové zánětlivé odpovědi na neinfekční inzult. Oba tyto stavy mohou vést k multiorgánovému selhání a smrti pacienta, pokud není včas poskytnuta adekvátní terapie, tj. odstranění inzultu - v případě sepse antibiotická terapie a symptomatická terapie k udržení rovnováhy mezi dodávkou a spotřebou kyslíku v tkáních. Zánětlivá reakce organismu je úzce propojena s hemostázou. Primárním cílem zánětlivé odpovědi je lokalizace infekce vytvořením fibrinové sítě. Přehnaná a nekontrolovaná zánětlivá reakce organismu vede k hyperkoagulačnímu stavu, charakterizovanému tvorbou fibrinových depozitů obturujících mikrocirkulaci, což vede k poruše perfuze orgánů a následně k multiorgánové dysfunkci (MODS) až selhání [30, 31]. Tento stav je charakterizován rozvojem diseminované intravaskulární koagulace (DIK), kdy na jedné straně dochází k tvorbě trombů a na druhé straně ke spotřebě srážecích faktorů a následnému krvácení [32]. Na základě běžných laboratorních hemokoagulačních testů (PT/APTT) je velice těžké správně zhodnotit stav hemostázy v případech sepse či SIRS. Jejich hodnoty bývají často prodloužené i přes vysoké hladiny fibrinogenu a D-dimerů, které spolu s klinickým stavem pacienta svědčí spíše o hyperkoagulačním stavu. Na druhé straně v určitém stadiu se může skutečně jednat o hypokoagulační stav [33, 34]. Müller se svými spolupracovníky v přehledovém článku o využití tromboelastografie v sepsi zdůrazňuje, že koagulopatie v sepsi je dynamický proces a vybízí vědce k sekvenčnímu monitorování hemostázy v průběhu sepse [35]. Běžnými testy PT/APTT nelze zachytit hyperkoagulaci, jelikož odrážejí jenom část srážení krve vyšetřením srážlivosti krevní plazmy a ne plné krve. Metoda tromboelastografie je jedna z mála hematologických metod, které dokážou diagnostikovat hyperkoagulační stav i v těchto případech [36-38].

Z výše uvedených důvodů jsme se rozhodli sledovat dynamické změny hemokoagulačního profilu v pooperačním období u pacientů podstupujících rozsáhlý chirurgický výkon - resekce jícnu (pro tumor) pomocí tromboelastografie a rovněž profil dalších hematologických a biochemických vyšetření. Sledovali jsme rozdíly v parametrech mezi skupinami pacientů se SIRS a septickou komplikací.

## 5.1.

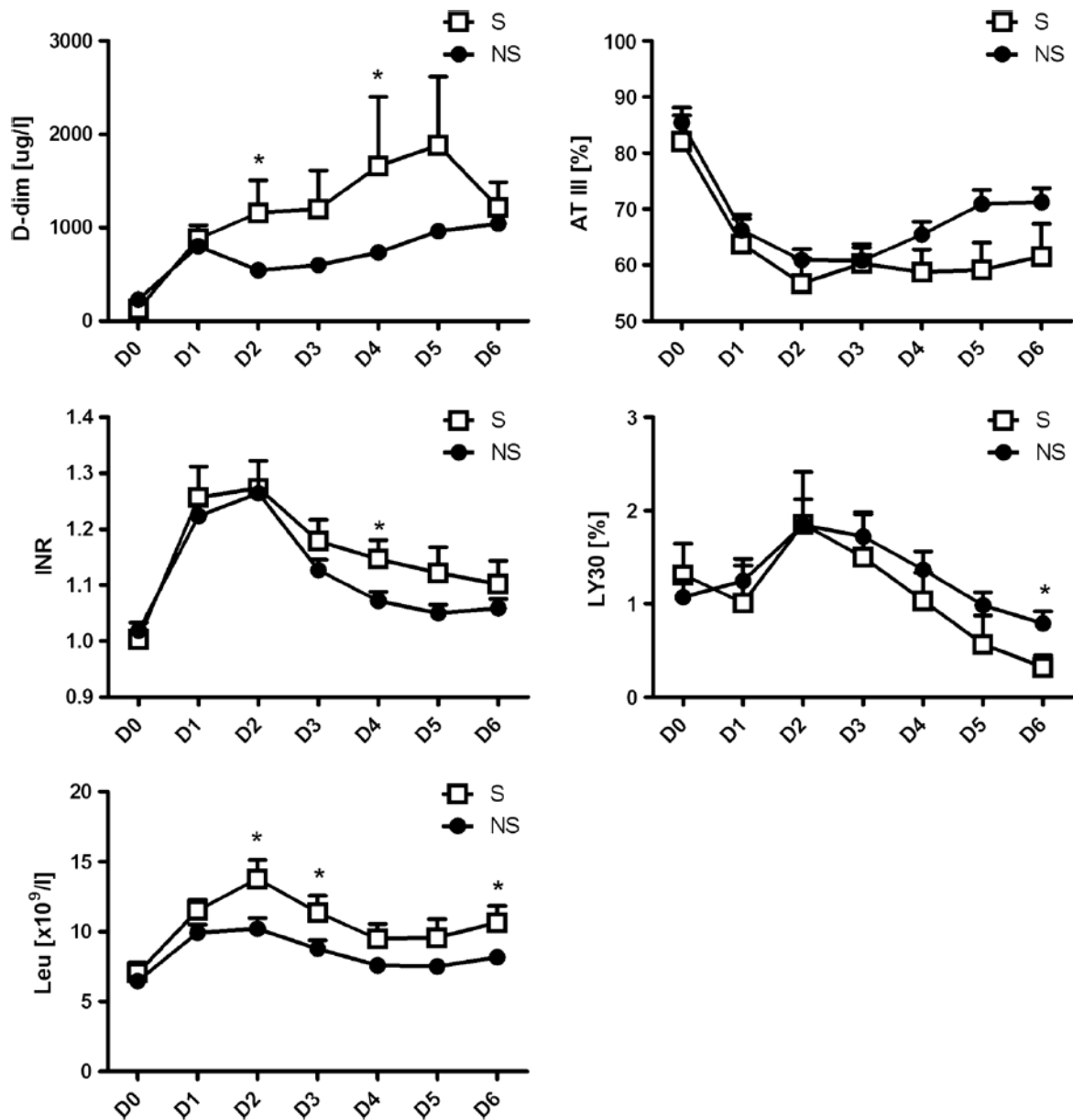
V práci s názvem „*Early diagnostic markers of sepsis after oesophagectomy (including thromboelastography)*“ jsme u pacientů po chirurgické resekci jícnu sledovali dynamiku vývoje zánětlivých parametrů a hemokoagulačních parametrů včetně TEG po dobu 6 pooperačních dnů, a to u pacientů s pooperačním SIRS a septickou komplikací (komplikace ve smyslu pneumonie, rozpad anastomózy jícnu atd).

Zjistili jsme, že zánětlivé parametry jsou signifikantně vyšší ve skupině septických pacientů již 1. pooperační den. Rovněž i hemokoagulační parametry se skutečně mění již od 1. dne po operaci. Hodnota PT-INR (international normalised ratio) výrazně stoupá u obou skupin od 1. dne a 4. pooperační den je signifikantně vyšší v septické skupině pacientů (obrázek 22). Hladina D-dimerů prudce stoupá 1. pooperační den a od 2. pooperačního dne je signifikantně vyšší v septické skupině (obrázek 22). Antitrombin klesá rovněž již 1. pooperační den a je nižší ve skupině septických pacientů, i když rozdíly nejsou statisticky významné (obrázek 22). Počet trombocytů v podstatě napodobuje změny antitrombinu a fibrinogen značně stoupá u obou skupin stejně (obrázek 23). Tromboelastografické vyšetření neprokázalo hypokoagulační tendenci ve smyslu prodloužených hodnot iniciace srážení (R a K parametry), jak jsme zjistili u PT-INR, spíše naopak, hodnoty R a K byly zkráceny (data nebyla publikována v tomto článku ale v dalším, viz níže). Nebyly přítomné ani významné rozdíly mezi oběma skupinami. Zajímavé bylo zjištění týkající se probíhající fibrinolýzy. Fibrinolýza je od 3. pooperačního dne nižší ve skupině septických pacientů, a to především 6. pooperační den, kdy dosahuje staticky významných rozdílů (obrázek 22).

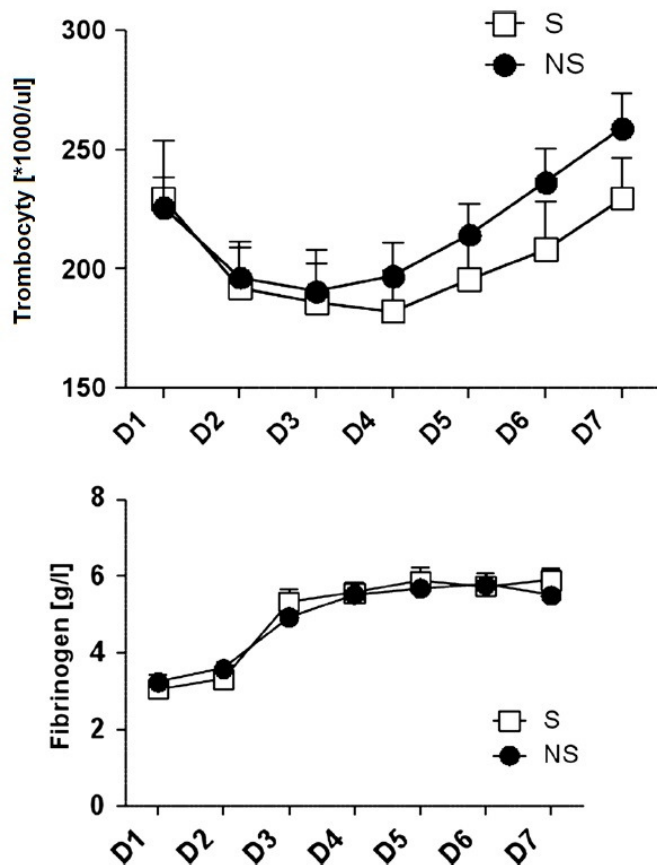
Tyto nálezy jsou ve shodě s pracemi dalších autorů [37, 39-41], kteří popisují prodloužené hodnoty PT-INR u septických pacientů a současně pozorují spíše hyperkoagulační stav ve výsledcích TEG, který je navíc charakterizován sníženou aktivitou fibrinolýzy u těchto pacientů. Prodlouženou hodnotu PT-INR vysvětlují autoři Li a spol. sníženou aktivitou FVII u septických pacientů [40] a autoři Kuiper a spol. vysvětlují oslabení fibrinolýzy zvýšenou hladinou PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) [41].

Tento nálezy oslabené hypofibrinolýzy ale nekoreluje se zvýšenou hladinou D-dimerů, nicméně TEG nám poskytuje informace jenom o stavu hemokoagulace v systémové krvi a to nevyklučuje tvorbu fibrinových depozitů a jejich následnou fibrinolýzu na úrovni mikrocirkulace.





**Obrázek 22.** Průměrné pooperační hodnoty sérových D-dimerů (A); ATIII (B); INR (C); LY-30 (D); a leukocytů (E). Změny v koncentraci hematologických a koagulačních faktorů ve skupině septických (S) a neseptických (NS) pacientů ode dne chirurgického zákroku (D0) do 6. pooperačního dne (D6). Překvapivě TEG není časným prediktorem rozvoje sepse. \* značí signifikantní rozdíl  $p < 0.05$ .



**Obrázek 23.** Vývoj změn v počtu trombocytů a hladiny fibrinogenu v průběhu času v skupině septických (S) a neseptických (NS) pacientů ode dne chirurgického zákroku (D0) do 6. pooperačního dne (D6). Nejsou přítomné signifikantní rozdíly. \* je značka násobení.

Závěrem této práce je, že sekvenční měření biochemických parametrů ALT, AST, PCT a IL-6 může pomoci v časné diferenciální diagnostice SIRS/Sepse. SIRS i septický stav ovlivňuje hemokoagulační profil podobně a TEG nelze použít jako časný prediktor rozvoje sepse. I přes prodloužené hodnoty PT-INR se u obou skupin v bezprostředním pooperačním období jedná spíše o hyperkoagulační stav. Signifikantně vyšší hladina D-dimerů byla zjištěna u pacientů se sepsí od druhého pooperačního dne a od pátého dne je signifikantně nižší fibrinolýza, čehož by bylo možné využít v diferenciální diagnostice septického stavu.

## 5.2.

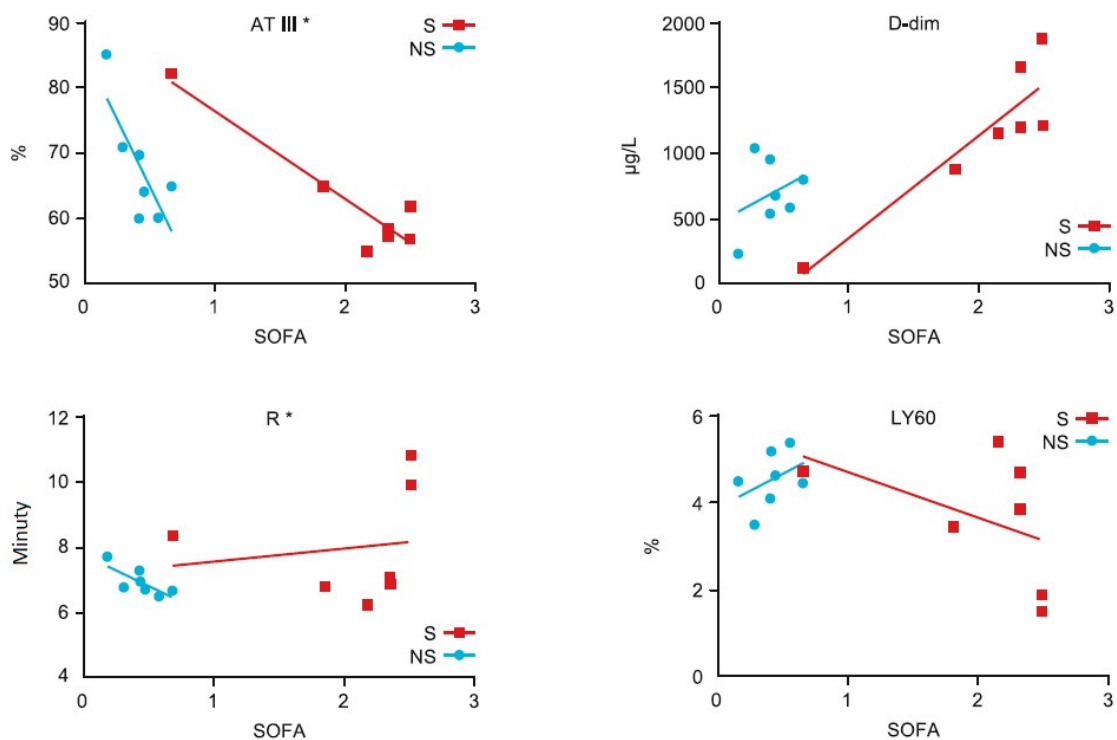
**V navazující práci „Coagulation profile after esophagectomy in SIRS and sepsis evaluated by thromboelastography and relationship with organ dysfunction development“ jsme hledali vzájemný vztah mezi změnou hemokoagulačního profilu u SIRS a septických pacientů a rozvojem orgánové dysfunkce.**

V parametrech TEG jsme našli hyperkoagulační stav v obou skupinách reprezentovaný zkrácením parametrů R a K, které představují iniciační fázi srážení, až do 5. pooperačního dne, kdy došlo k jejich normalizaci. Nicméně ve skupině septických pacientů byly hodnoty těchto parametrů oproti SIRS skupině signifikantně prodloužené ( $p < 0,05$ ) a parametry TPI (thrombotic potential index) a LY 60 byly signifikantně nižší. To znamená, že u septických pacientů se objevil hypokoagulační trend.

Při zkoumání vzájemných vztahů mezi hemokoagulačními parametry a orgánovou dysfunkcí jsme zjistili statisticky významnou negativní korelaci mezi hladinou antitrombinu a SOFA skóre (Sequential/Sepsis Organ Dysfunction Score) u obou skupin pacientů, i když ve skupině septických pacientů byla tato korelace výraznější (obrázek 24). Navíc v septické skupině jsme pozorovali signifikantně pozitivní korelaci SOFA skóre s D-dimery a parametrem R a negativní korelaci s parametrem LY 60, i když v posledních dvou případech nebyly signifikantně významné (obrázek 24).

Tyto nálezy u septických pacientů mohou být důsledkem probíhající diseminované intravaskulární koagulace (DIK), která dynamicky přechází z počátečního hyperkoagulačního stavu do pozdějšího hypokoagulačního stavu (díky spotřebě prokoagulačních a antikoagulačních faktorů). Ostrowski rovněž popisuje vyšší SOFA a DIK skóre u hypokoagulačních pacientů se sepsí [38].

Ve skupině pacientů se SIRS jsme našli signifikantní negativní korelaci mezi R parametrem a SOFA skóre (obrázek 24), což znamená, že tito pacienti jsou vystaveni vyššímu riziku vzniku trombózy.



**Obrázek 24.** Vztah mezi SOFA skóre a TEG/laboratorními parametry ode dne chirurgického zákroku (D0) do 6. pooperačního dne (D6) ve skupině neseptických (NS, modrá barva) a septických (S, červená barva) pacientů. Ve skupině NS pro AT  $r = -0.78$ ,  $r^2 = 0.60$ ,  $p < 0.05$ ; pro D-dim (D-dimery)  $r = +0.3$ ,  $r^2 = 0.09$ ,  $p > 0.05$ ; pro R parametr (reakční čas)  $r = -0.76$ ,  $r^2 = 0.58$ ,  $p < 0.05$ ; pro LY60 (% fibrinolýzy)  $r = +0.4$ ,  $r^2 = 0.16$ ,  $p > 0.05$ . Ve skupině S pro AT  $r = -0.94$ ,  $r^2 = 0.88$ ,  $p < 0.05$ ; pro D-dim (D-dimery)  $r = +0.90$ ,  $r^2 = 0.81$ ,  $p < 0.05$ ; pro R parametr (reakční čas)  $r = +0.16$ ,  $r^2 = 0.03$ ,  $p > 0.05$ ; pro LY60 (% fibrinolýzy)  $r = -0.5$ ,  $r^2 = 0.22$ ,  $p > 0.05$ ; \* značí  $p < 0.05$ .

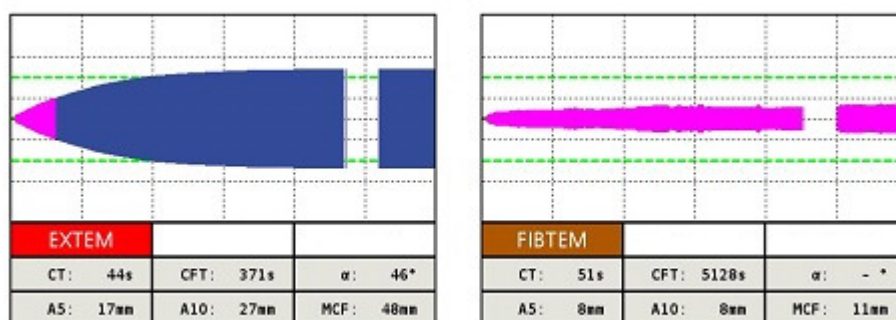
Závěrem bychom mohli shrnout, že hemokoagulační profil jak pacientů se SIRS, tak i pacientů se sepsí je v iniciačním stadiu syndromů hyperkoagulační a že nízká hladina antitrombinu je spojena s rozvojem orgánové dysfunkce. Z toho vyplývá, že udržení normální hladiny antitrombinu by mohlo zabránit rozvoji orgánové dysfunkce. Charakter hemokoagulačních změn se v čase mění a v sepsi progreduje do hypokoagulačního stavu, pravděpodobně jako důsledek DIK, který je spojen se zhoršením SOFA. Pacienti se SIRS jsou na druhou stranu více vystaveni riziku vzniku trombózy.

## 6. Oblast diseminované intravaskulární koagulace (DIK)

Diseminovaná intravaskulární koagulace představuje v medicíně nelehký problém jak při diagnostice, tak i při terapii tohoto stavu. I v této oblasti může být metoda tromboelastometrie nápomocná.

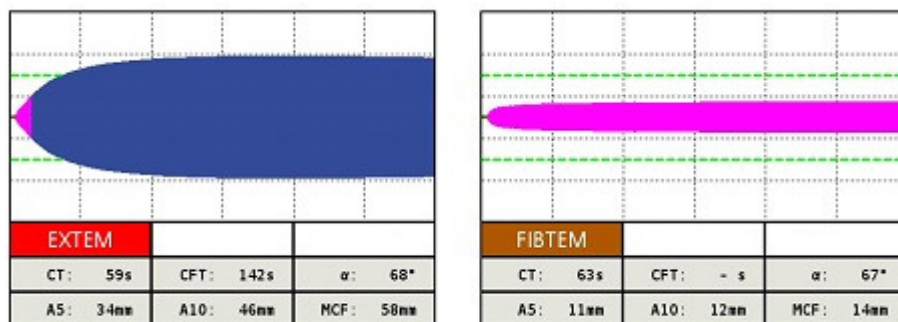
### 6.1.

Práce „Úloha antitrombinu a tromboelastometrie v manažmente počínajúcej diseminovanej intravaskulárnej koagulopatie po peripartálnej hysterektomii“ popisuje prípad rodičky, u ktorej se peripartálný průběh zkomplikoval závažným krvácením a nutnou hysterektomií. Rodička podstoupila porod, který byl komplikován rozvojem ŽOK, a bylo nutné přistoupit k hysterektomii v rámci záchrany jejího života. Pooperační průběh ale nepokračoval standardně bez komplikací a byl zaznamenán pokles hemoglobinu, hladiny antitrombinu na 52%, trombocytů na  $62 \times 10^9/l$  a fibrinogenu na 2,51 g/l. Kontrolní vyšetření ROTEM potvrdilo laboratorní nález (obrázek 25a). Jelikož pacientka již nekrvácela a vypočítané DIK skóre mělo hodnotu 4 a vedlo k podezřením na počínající DIK, bylo pacientce podáno 500 jednotek antitrombinu. Kontrolní ROTEM se následně upravil do normy (obrázek 25b), hladina antitrombinu stoupla na 97% a hodnota trombocytů spontánně vzrostla na  $84 \times 10^9/l$ , rovněž se zvýšila i hladina fibrinogenu na 3,28 g/l a další pokles hemoglobinu již nenastal.



a

**Obrázek 25a.** ROTEM křivky před podáním a po podání antitrombinu při non-overt DIK. Na EXTEM křivce vidíme zkrácení času srážení (CT), reprezentující iniciační fázi srážení a zhoršení propagační fáze (CFT). Přítomný je pokles trombocytů v laboratoři na  $62 \times 10^9/l$  a antitrombinu na 52%. Hladina funkčního fibrinogenu (FIBTEM) MCF je 11 mm.



b

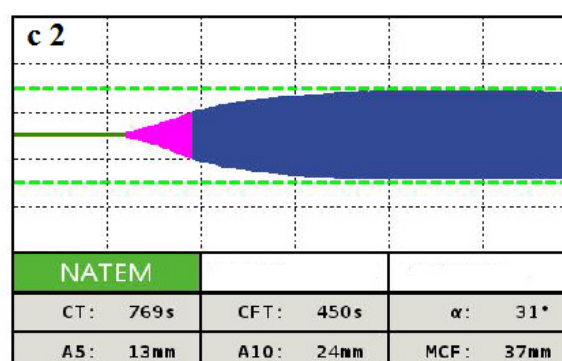
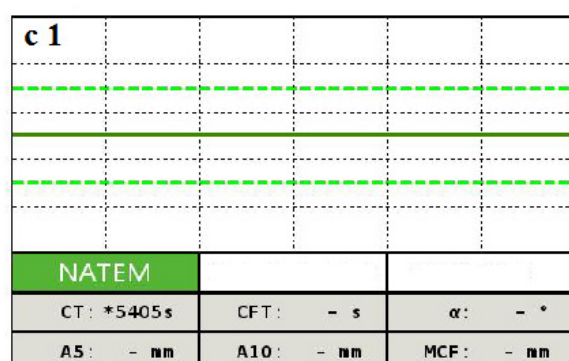
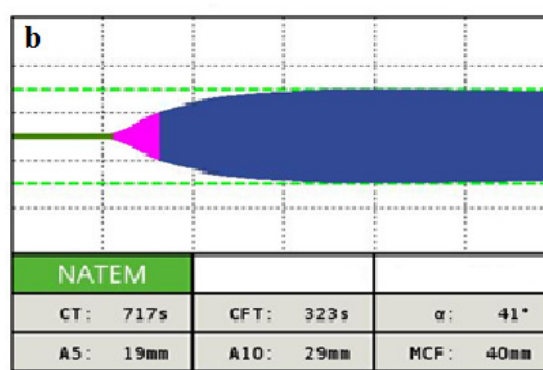
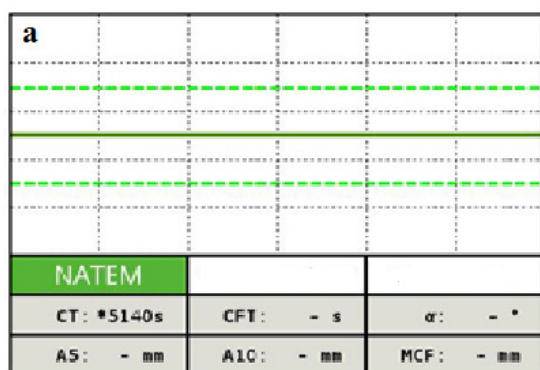
**Obrázek 25b.** ROTEM křivky před podáním a po podání antitrombinu při non-overt DIK. Normální ROTEM křivka po terapii 500 jednotek antitrombinu. Oproti obrázku 25a vidíme zlepšení propagační fáze, síly koagula a funkčního fibrinogenu (FIBTEM MCF 14 mm). Hladina antitrombinu je 97%.

Závěrem lze říci, že opakované vyšetření ROTEM a vyšetření hladiny antitrombinu může být nápomocné při časném záchytu DIK a při monitorování účinku terapie.

## 6.2.

Práce „*Management septickéj diseminovanéj intravaskulárnej koagulopatie pomocou antitrombinu a heparínu a význam tromboelastometrie v diagnostike heparínovej rezistencie*“ popisuje podobný prípad DIK, tentokrát u pacientky po gynekologickém vyšetření komplikovaném sepsí.

Pacientka podstoupila běžné gynekologické vyšetření, po kterém došlo ke komplikacím ve smyslu rozvoje těžké sepse s nutností podpory oběhu katecholaminy. Sepse byla potvrzena laboratorně vysokými hladinami zánětlivých parametrů a v hematologickém a hemokoagulačním vyšetření progredoval pokles hemoglobinu (77 g/l), trombocytů ( $80 \times 10^9/l$ ), fibrinogenu (1,46 g/l), antitrombinu (44%), došlo k prodloužení PT-ratio na 2,59 a vzestupu D-dimerů nad 15000 ng/ml, a to i při podávání preventivní dávky nízkomolekulárního heparinu a substituci antitrombinem (s cílem 80%). Vypočítané DIK skóre mělo hodnotu 6. Vzhledem na neúčinnost nízkomolekulárního heparinu a podaných dávek antitrombinu jsme se rozhodli postupovat razantněji a přistoupili jsme ke kontinuálnímu intravenóznímu podávání heparinu a substituci antitrombinu jsme cílili na 100%. Vyšetření ROTEM (NATEM) potvrdilo dostatečnou heparinovou antikoagulaci (obrázek 26a) a pacientka nejevila známky krvácení. Nicméně po několika hodinách došlo k poklesu trombocytů a antitrombinu a zdálo se, že i přes kontinuální podávání heparinu DIK progreduje. Na kontrolním vyšetření NATEM jsme již neviděli efekt heparinu (obrázek 26b), a proto jsme vyslovili podezření na vznik heparinové rezistence, která může být přítomna u septického stavu. Zvýšili jsme dávku heparinu s cílem dosažení hodnoty anti Xa v rozmezí 0,5 - 0,6 a hladinu antitrombinu jsme udržovali nad 90%. Poté se NATEM vrátil do původního stavu a vliv heparinu byl potvrzen vyšetřením s heparinázou (HEPTM) (obrázek 26 c1, c2).



**Obrázek 26 ROTEM-NATEM křivky při terapii heparinem**

a - vliv heparinu na začátku terapie, nedochází k srážení krve

b - není přítomný vliv heparinu i přes jeho kontinuální i.v. podávání, je podezření na vznik heparinové rezistence

c1 - opět je patrný efekt heparinu

c2 - efekt heparinu je potvrzený heparinázou (HEPTEM)

Závěrem chceme opět konstatovat, že ROTEM (NATEM) může být nápomocný v terapii DIK (diagnostika heparinové rezistence) a že v našem případě jsme byli schopni zastavit pokračování DIK kombinací nefrakcionovaného heparinu (anti Xa 0,5) a udržováním dostatečné hladiny antitrombinu (hladina antitrombinu > 90%).



## **7. Rutinní vyšetřování srážení plné krve pomocí ROTEM vede k značnému snížení aplikací mražené krevní plazmy pacientům na JIP (adopce nového paradigmatu hodnocení hemostázy - buněčného modelu hemostázy).**

Na našem oddělení Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny je metoda ROTEM s oblibou denně využívána k diagnostice, monitoraci a terapii koagulopatie nejen u traumatického krvácení, ale i v perioperačním období. V případě těžkého traumatického krvácení metoda tromboelastografie umožňuje zintenzivnit prokoagulační terapii a snižuje mortalitu pacientů ve srovnání s léčbou na základě standardních hemokoagulačních testů [42, 43]. Její běžné používání v perioperačním období u kardiochirurgických pacientů významně snižuje krvácení, aplikaci transfuzních přípravků a morbiditu pacientů [44, 45]. Používání tromboelastografie je spojeno s méně intenzivním krvácením a nižší spotřebou transfuzních přípravků i v oboru spondylochirurgie [46] a v hepatotransplantologii [47]. Další autoři uvádějí, že pomocí ROTEM byli schopni predikovat intenzitu krvácení v perioperačním období u dětských kardiochirurgických pacientů [48], ale i u traumatických pacientů [49]. Zjištění a zkušenosti těchto autorů jsou ve shodě s našimi nálezy a zejména díky metodě ROTEM se na našem oddělení podařilo významně snížit spotřebu krevní plazmy.

### **7.1.**

Práce „*Rutinné používanie tromboelastometrie (ROTEM) k hodnoteniu koagulácie (adopcia „novej“ paradigmy hodnotenia koagulácie) na jednotke intenzívnej starostlivosti vedie k značnému zníženiu podávania krvnej plazmy*“ popisuje, jakým způsobem se díky ROTEM změnil náš pohled na hodnocení srážení krve a jaký to mělo praktický dopad v klinické praxi. Standardní hemokoagulační testy PT/APTT často nekorelují s klinickým stavem pacienta v perioperačním období, a to velmi pravděpodobně kvůli tomu, že nehodnotí srážlivost plné krve, ale pouze krevní plazmy. Tuto výhodu, kromě jiných, poskytuje metoda ROTEM. V mnoha případech i přes prodloužené hodnoty PT/APTT nacházíme u těchto pacientů spíše hyperkoagulační stav. Tato diskrepance je pro lékaře JIP často nepříjemná a nutí lékaře rozhodovat se spíše na základě jejich dlouholetých zkušeností. Nicméně současná medicína je, a má být založená na důkazech! Proto jsme provedli studii, při které jsme porovnávali

koagulační profil pacientů na JIP získaný pomocí standardních testů a pomocí ROTEM před chirurgickým provedením tracheostomie, a sledovali jsme výskyt krvácivých komplikací (viz další práce níže). Zjistili jsme, že navzdory prodlouženým hodnotám standardních testů při dobrém výsledku ROTEM nedochází ke krvácivým komplikacím. Podobně jsme postupovali i u jiných typů výkonů (zavedení centrálního žilního katétru, hrudní drenáž, chirurgické výkony jako laparotomie, torakotomie atd.), přičemž výkony proběhly bez krvácivých komplikací. Uvedená data zatím nebyla publikována. Toto zjištění změnilo náš pohled na hodnocení hemokoagulace a vedlo k rutinnímu používání ROTEM v perioperačním období. Výsledkem je výrazné snížení aplikací krevní plazmy u našich pacientů. Spotřeba krevní plazmy se díky tomuto novému paradigmatu hodnocení hemokoagulace (hodnocení plné krve - buněčný model hemostázy) snížila na našem oddělení o 66% (tabulka 1), což nepřímo znamená i snížení rizik pro pacienta, která souvisejí s aplikací plazmy, jakož i značnou úsporu finančních prostředků.

<b>Období</b>	<b>spotřeba ČMP</b>	<b>cena za ČMP</b>	<b>počet pacientů</b>
2009	6097 jednotek	4 924 800 Kč	774
2010	7809 jednotek	6 357 334 Kč	724
2011	6138 jednotek	4 926 769 Kč	809
2012	6331 jednotek	5 153 183 Kč	794
2013	4028 jednotek	3 357 866 Kč	821
2014	2990 jednotek	2 492 556 Kč	723
2015	2173 jednotek	1 811 479 Kč	736

**Tabulka 1.** Přehled spotřeby ČMP za období bez používání ROTEM (2009-2012) a po implementaci ROTEM do denní praxe (2013-2015)

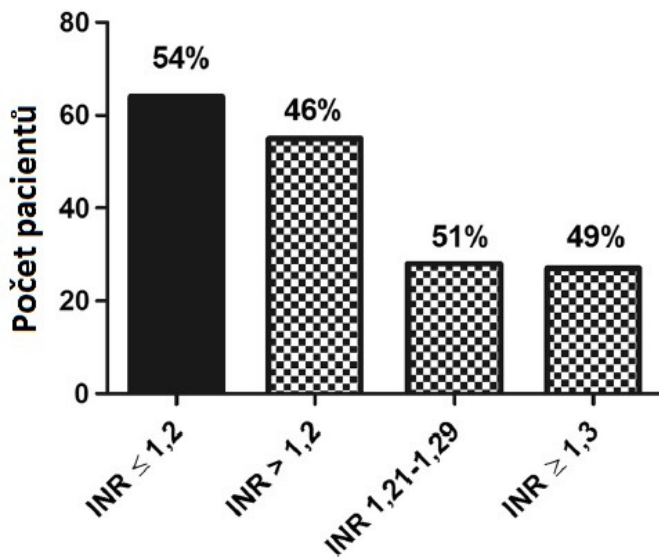
Závěrem práce lze říci, že rutinní používání metody ROTEM k hodnocení hemokoagulace u pacientů na JIP v perioperačním období či období před invazivním výkonem změnilo dosavadní pohled na hodnocení srážení krve. Toto nové paradigma hodnocení srážení plné krve vedlo k výraznému snížení podávání krevní plazmy až o 66%.

## **8. ROTEM může být používán úspěšně nejenom v léčbě ŽOK, ale i při hodnocení hemokoagulačního profilu před invazivním výkonem či chirurgickou operací.**

Tato část práce pojednává o významu ROTEM při hodnocení srážení krve před invazivním výkonem u pacientů na JIP. Jak již bylo naznačeno v předchozím odstavci, v současnosti přibývají práce, které konfrontují roli standardních koagulačních testů (PT/APTT) s tromboelastografií v hodnocení hemokoagulačního stavu před invazivním výkonem (zavedení centrálního žilního katétru, hrudní drenáž, chirurgická laparotomie či torakotomie atd.). Obecně není doporučováno preventivně před invazivním výkonem korigovat PT-INR < 1,5 např. podáváním krevní plazmy (či PCC) a ukazuje se, že ani u vyšších hodnot PT-INR > 1,5 není rozdíl v intenzitě krvácení v průběhu výkonu v závislosti na tom, zda krevní plazma byla nebo nebyla preventivně aplikována [50]. Autorka Muller navíc popisuje jenom marginální prokoagulační vliv na trombin generační čas a parametry ROTEM [51]. Nicméně v praxi je i přes tyto studie snaha preventivně korigovat hodnoty PT/APTT podáváním krevní plazmy z obavy výskytu krvácivých komplikací z mnoha důvodů, včetně těch forezních.

### **8.1.**

V naší práci s názvem „*Tracheostomy in intensive care unit patients can be performed without bleeding complications in case of normal thromboelastometry results (EXTEM CT) despite increased PT-INR: a prospective pilot study*“ poukazujeme na to, že výkon, jako je chirurgické provedení tracheostomie, může být proveden bez krvácivých komplikací i při hodnotách PT-INR 1,84, pokud je výsledek ROTEM normální. Do studie byli zahrnuti pacienti jak septičtí, tak i neseptičtí. Toto zjištění mění pohled na postavení PT/APTT v hodnocení hemokoagulace před invazivním výkonem a zabraňuje zbytečnému podávání krevní plazmy, případně i odložení výkonu do doby korekce laboratorních testů. Jelikož téměř polovina pacientů podstupujících tento výkon měla patologické hodnoty PT-INR > 1,2 (obrázek 27), toto zjištění má nepochybně velký praktický význam.



**Obrázek 27.** Frekvence pacientů s laboratorní koagulopatií reprezentovanou INR

Podobné zkušenosti popisují i jiní autoři, např. Pietri a spol. [5252], kteří nezaznamenali krvácivé komplikace u pacientů se selháním jater ani při hodnotě PT-INR nad 1,8.

Tento poznatek a z něj vyplývající nový pohled na hodnocení hemokoagulace pomocí ROTEM (hodnocení srážlivosti plné krve) využíváme i v přípravě pacienta na různé typy invazivních výkonů (chirurgická operace, zavedení centrálního žilního katétru, drenáž atd.), naše data ale zatím nebyla publikována.

Závěrem práce chci konstatovat, že i přes patologicky prodloužené hodnoty protrombinového času lze provést výkon, jako je chirurgická tracheostomie, bez krvácivých komplikací, pokud výsledky ROTEM jsou normální.

## 9. Závěr

Tromboelastografické vyšetření krve poskytuje na rozdíl od běžných hemokoagulačních testů informace o srážení plné krve v krátkém čase. Vyšetřením jednotlivých fází srážení (iniciační fáze, propagační, pevnost koagula, fibrinolýza) umožňuje cíleně terapeuticky zasáhnout do postižené částí srážení. Ve srovnání s běžnými hemokoagulačními testy PT, APTT má tato metoda řadu výhod i nevýhod, které jsem se v této habilitační práci snažil popsat, vysvětlit a poukázat na způsob, jak výhody této metody využít v klinické praxi a nabídnout alespoň částečné řešení problémů souvisejících s jejím používáním.

### *V první části jsem se věnoval metodologii vyšetření.*

Zjistil jsem, že pro vyšetření TEG u septických pacientů lze použít jak arteriální, tak i venózní krev, jelikož mezi nimi nejsou statisticky významné rozdíly v parametrech TEG. Nicméně ke sledování dynamiky změn (opakované vyšetřování) doporučujeme místo odběru nezaměřovat. Používání heparinázových kyvet může být příčinou obrazu falešné fibrinolýzy, a proto by neměly být standardně používány za účelem neutralizace vlivu heparinového proplachu cévních setů. Alternativou je použití jiného způsobu eliminace heparinu ze setu, např. odtáhnutím a znehodnocením dostatečného objemu krve (pětinásobku mrtvého prostoru cévního setu) před samotným odběrem krevního vzorku pro vyšetření TEG. Pomocí TEG je možné zachytit přítomnost endogenních heparinoidů v perioperačním období, které mohou pacienta ohrozit zvýšeným krvácením. Adekvátnost zvažované terapie lze před samotným podáním léku pacientovi ověřit *in vitro*. Nativní metoda TEG se oproti kaolinem aktivované jeví jako hodnověrnější a lépe koreluje s klinickým stavem pacienta. Výsledky kaolinem aktivovaného TEG musíme proto hodnotit obezřetně. Citrátové krevní vzorky nativního TEG či TEG aktivovaného kaolinem jsou nestabilní v čase, nicméně již po 15 minutách dochází k jejich stabilizaci. Pokud se nejedná o urgentní situaci, je vhodnější použít nativní metodu (bez kaolinu), využít fenoménu „aktivace časem“ a vyšetření provést za 15-30 minut od odběru.

I při vyšetření ROTEM je citrátový nativní vzorek v čase nestabilní, nicméně po 20 minutách i zde dochází ke stabilizaci vzorku. Jelikož nejstabilnější parametry NATEM jsou mezi 30. a 60. minutou, doporučujeme provádět ROTEM v tomto časovém okně, které je velice praktické pro běžnou praxi (transport krevního vzorku na místo analýzy). Hypotermickou koagulopatii detekovanou pomocí TEG/ROTEM lze *in vitro* efektivně korigovat podáním fibrinogenu. Nicméně po zahřátí vzorku do normotermie lze pozorovat hyperkoagulační trend.

Pokud není možné současně provádět vyšetření TEG/ROTEM při standardní teplotě 37°C a při pacientově teplotě, např. 30°C, zdá se bezpečnější provádět vyšetření při standardní teplotě 37°C.

Věřím, že tyto práce přispějí ke standardizaci tromboelastografických metod.

***V druhé části jsem se věnoval využití tromboelastografických metod v léčbě život ohrožujícího krvácení (ŽOK).***

Ve svých pracích poukazuji na skutečnost, že u těžkého traumatického krvácení není možné úspěšně korigovat vznikající koagulopatii jen pomocí transfuzních přípravků, a je nutné cíleně substituovat fibrinogen a faktory protrombinového komplexu. Tromboelastografické vyšetření lze použít k vyloučení těžké hypotermické koagulopatie při teplotě pacienta 33°C. Normální výsledky tromboelastografie u krvácejícího pacienta poukazují na možnou přítomnost chirurgického zdroje krvácení. Laboratorní hemokoagulační testy u ŽOK nelze z praktických důvodů používat. I v případě terapie koagulopatie a krvácení způsobeného předávkováním warfarinem je možné využít ROTEM, a i přes vysoké INR lze operační výkon provést bez krvácivých komplikací, pokud jsou hodnoty ROTEM vyšetření normální.

V případech, kdy pacient krvácí i navzdory normálním hodnotám aktivovaných testů ROTEM-EXTEM/INTEM, je vhodné provést nativní vyšetření ROTEM-NATEM, které nám může pomoci odhalit raritní koagulační poruchu ve smyslu fibrinolýzy či přítomnosti endogenních heparinoidů. Při terapii ŽOK je podávání krevní plazmy opodstatněné v iniciační fázi k udržení rovnováhy prokoagulačních i antikoagulačních faktorů. Jakmile je ale nalezen a téměř ošetřen zdroj krvácení, můžeme dle ROTEM přistoupit k aplikování PCC za účelem zlepšení tvorby trombinu a fibrinu.

V přehledovém a edukačním článku vysvětluji obecně i na příkladech využití ROTEM v léčbě perioperačního krvácení. Poskytuji přehled rozmezí normálních hodnot parametrů ROTEM pro různé věkové kategorie: normální hodnoty obecně, normální rozmezí pro těhotné ženy v třetím trimestru, normální hodnoty pro děti 0 - 3 měsíců, 4 - 12 měsíců, 13 - 24 měsíců, 2 - 5 let, 6 - 10 let a 11 - 16 let. Na závěr nabízím jednoduché schéma terapie ŽOK.

***V třetí části se věnuji problematice biochemické a hematologické diagnostiky sepse/SIRS a postavení tromboelastografie v hodnocení dynamických změn hemokoagulace.***

Zjistil jsem, že sekvenční měření biochemických parametrů ALT, AST, PCT a IL-6 může pomoci v časně diferenciatní diagnostice SIRS/Sepse. SIRS i septický stav ovlivňuje

hemokoagulační profil podobně, a TEG tedy nelze použít jako časný prediktor rozvoje sepse. U pacientů se sepsí byla zjištěna signifikantně vyšší hladina D-dimerů od druhého pooperačního dne, od pátého dne je signifikantně nižší fibrinolýza, čehož by bylo možné využít při diferenciální diagnostice septického stavu. Hemokoagulační profil jak pacientů se SIRS, tak i pacientů se sepsí, je v iniciačním stadiu syndromů hyperkoagulační i navzdory prodlouženým hodnotám PT-INR a nalezená nízká hladina antitrombinu je spojena s rozvojem orgánové dysfunkce. Z toho vyplývá, že udržení normální hladiny antitrombinu by mohlo zabránit rozvoji orgánové dysfunkce. Charakter hemokoagulačních změn se v čase mění a v sepsi progreduje do hypokoagulačního stavu, pravděpodobně jako důsledek DIK, který byl spojen se zhoršením SOFA skóre. Pacienti se SIRS jsou na druhou stranu více vystaveni riziku vzniku trombózy.

***Ve čtvrté části poukazují na význam ROTEM jako pomocného vyšetření v oblasti diagnostiky a monitoraci účinnosti terapie v případě diseminované intravaskulární koagulace (DIK).***

Zjistil jsem, že pomocí ROTEM vyšetření lze zachytit hypokoagulační stav při suspektním DIK (v peripartálním období), který se po podání antitrombinu normalizoval, a i laboratorně došlo k zastavení konzumpce koagulačních faktorů. Nativní ROTEM-NATEM může být nápomocný v diagnostice heparinové rezistence vzniklé v průběhu terapie DIK u pacientky s těžkou sepsí. Progresi DIK se podařilo zabránit kombinovanou terapií nefrakcionovaného heparinu (anti Xa 0,5) a udržováním dostatečné hladiny antitrombinu (> 90%).

***V páté a šesté části této práce popisují klinický dopad rutinního používání ROTEM za účelem hodnocení hemokoagulace u pacientů na JIP a používání této metody i v období před invazivním zákrokem v případě patologicky prodloužených hodnot standardních hemokoagulačních testů PT/APTT.***

Vyšetřování srážlivosti plné krve pomocí ROTEM mění dosavadní pohled na hemokoagulace. Ukazuje se, že výsledky ROTEM lépe korespondují s klinickým stavem pacienta v porovnání se standardními hemokoagulačními testy PT/APTT. V mnoha případech nacházíme u pacientů na JIP i navzdory prodlouženým hodnotám PT/APTT normokoagulační nebo spíše hyperkoagulační stav. Léčba perioperačního krvácení pomocí ROTEM je spojena s menším množstvím podávání transfuzních přípravků a se snížením morbidity a mortality pacientů. Jednoduchost metody ROTEM a rychlost dostupnosti výsledků vedly u našich lékařů k oblíbenosti tohoto vyšetření a k jeho rutinnímu využívání nejenom u ŽOK, ale i v perioperačním období. Adopce tohoto nového paradigmatu - hodnocení srážení plné krve

pomocí ROTEM vyústila na našem oddělení k výraznému snížení podávání krevní plazmy, a to až o 66%, bez vzniku krvácivých komplikací.

V poslední práci poukazují na možnost využití ROTEM i při hodnocení srážení krve před invazivním výkonem. Zjistil jsem, že i v případě patologicky prodloužených hodnot protrombinového času lze provést výkon, jako je chirurgická tracheostomie, bez krvácivých komplikací, pokud jsou výsledky ROTEM normální. Tohoto poznatku využíváme i před jinými typy invazivních výkonů (chirurgická operace, zavedení centrálního žilního katétru, drenáž atd.), tato data však zatím nebyla publikována. Existuje jenom minimum prací, které by se zabývaly touto problematikou, a proto bude tato oblast i nadále cílem našeho dalšího výzkumu.



## 10. Použitá literatura

1. Hartert H: **Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie: einem neuen Untersuchungsverfahren [Studies with thrombelastography coagulation: a new investigation procedure]**. *Klin Wochenschr* 1948, **26**(37-38):577-583.
2. Hagemo JS, Naess PA, Johansson P, Windelov NA, Cohen MJ, Roislien J, Brohi K, Heier HE, Hestnes M, Gaarder C: **Evaluation of TEG((R)) and RoTEM((R)) interchangeability in trauma patients**. *Injury* 2013, **44**(5):600-605.
3. Larsen OH, Fenger-Eriksen C, Christiansen K, Ingerslev J, Sorensen B: **Diagnostic performance and therapeutic consequence of thromboelastometry activated by kaolin versus a panel of specific reagents**. *Anesthesiology* 2011, **115**(2):294-302.
4. Tomori T, Hupalo D, Teranishi K, Michaud S, Hammett M, Freilich D, McCarron R, Arnaud F: **Evaluation of coagulation stages of hemorrhaged swine: comparison of thromboelastography and rotational elastometry**. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010, **21**(1):20-27.
5. Manspeizer HE, Imai M, Frumento RJ, Parides MK, Mets B, Bennett-Guerrero E: **Arterial and venous Thrombelastograph variables differ during cardiac surgery**. *Anesth Analg* 2001, **93**(2):277-281, 271st contents page.
6. Blann AD, Adams RA, Katai F, Ashleigh R, Taberner DA: **Haematology and coagulation indices in paired samples of arterial and venous blood from patients with arterial disease**. *Haemostasis* 1996, **26**(2):72-78.
7. Woller T, Lawall H, Amann B, Angelkort B: **Comparison of haemostatic parameters in arterial and venous blood from patients with peripheral arterial occlusive disease**. *Vasa* 1999, **28**(1):10-14.
8. Ozsoylu S: **The comparison of the coagulation factors in arterial and venous blood**. *Acta Haematol* 1969, **41**(5):303-308.
9. Moreland V, Teruya J, Jariwala P: **Artifact hyperfibrinolysis in thromboelastography with the use of a heparinase cup**. *Arch Pathol Lab Med* 2010, **134**(12):1736.
10. Senzolo M, Agarwal S, Zappoli P, Vibhakorn S, Mallett S, Burroughs AK: **Heparin-like effect contributes to the coagulopathy in patients with acute liver failure undergoing liver transplantation**. *Liver Int* 2009, **29**(5):754-759.
11. Gouvea G, Toledo R, Diaz R, Auler L, Enne M, Martinho JM: **Protamine sulphate for treatment of severe post-reperfusion coagulopathy in pediatric liver transplantation**. *Pediatr Transplant* 2009, **13**(8):1053-1057.
12. Gibbs NM, Yim D, Weightman W, Sheminant M, Rowe R: **The effect of excess protamine on thrombelastography in vitro**. *Anaesth Intensive Care* 2006, **34**(5):579-585.
13. Walsh PN: **The effects of collagen and kaolin on the intrinsic coagulant activity of platelets. Evidence for an alternative pathway in intrinsic coagulation not requiring factor XII**. *Br J Haematol* 1972, **22**(4):393-405.
14. Katori N, Tanaka KA, Szlam F, Levy JH: **The effects of platelet count on clot retraction and tissue plasminogen activator-induced fibrinolysis on thrombelastography**. *Anesth Analg* 2005, **100**(6):1781-1785.
15. Camenzind V, Bombeli T, Seifert B, Jamnicki M, Popovic D, Pasch T, Spahn DR: **Citrate storage affects Thrombelastograph analysis**. *Anesthesiology* 2000, **92**(5):1242-1249.

16. White H, Zollinger C, Jones M, Bird R: **Can Thromboelastography performed on kaolin-activated citrated samples from critically ill patients provide stable and consistent parameters?** *Int J Lab Hematol* 2010, **32**(2):167-173.
17. Wasowicz M, Srinivas C, Meineri M, Banks B, McCluskey SA, Karkouti K: **Technical report: analysis of citrated blood with thromboelastography: comparison with fresh blood samples.** *Can J Anaesth* 2008, **55**(5):284-289.
18. Vig S, Chitolie A, Bevan DH, Halliday A, Dormandy J: **Thromboelastography: a reliable test?** *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001, **12**(7):555-561.
19. Gilman EA, Koch CD, Santrach PJ, Schears GJ, Karon BS: **Fresh and citrated whole-blood specimens can produce different thromboelastography results in patients on extracorporeal membrane oxygenation.** *Am J Clin Pathol* 2013, **140**(2):165-169.
20. Honickel M, Rieg A, Rossaint R, Braunschweig T, Spronk HM, ten Cate H, van Oerle R, Tolba R, Grottke O: **Prothrombin complex concentrate reduces blood loss and enhances thrombin generation in a pig model with blunt liver injury under severe hypothermia.** *Thromb Haemost* 2011, **106**(4):724-733.
21. Cothren CC, Moore EE, Hedegaard HB, Meng K: **Epidemiology of urban trauma deaths: a comprehensive reassessment 10 years later.** *World J Surg* 2007, **31**(7):1507-1511.
22. Rossaint R, Bouillon B, Cerny V, Coats TJ, Duranteau J, Fernandez-Mondejar E, Filipescu D, Hunt BJ, Komadina R, Nardi G *et al*: **The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition.** *Crit Care* 2016, **20**:100.
23. Kozek-Langenecker SA, Afshari A, Albaladejo P, Santullano CA, De Robertis E, Filipescu DC, Fries D, Gorlinger K, Haas T, Imberger G *et al*: **Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology.** *Eur J Anaesthesiol* 2013, **30**(6):270-382.
24. Ibrahim AS, Spellberg B, Avanesian V, Fu Y, Edwards JE, Jr.: **Rhizopus oryzae adheres to, is phagocytosed by, and damages endothelial cells in vitro.** *Infect Immun* 2005, **73**(2):778-783.
25. Senzolo M, Coppel J, Cholongitas E, Riddell A, Triantos CK, Perry D, Burroughs AK: **The effects of glycosaminoglycans on coagulation: a thromboelastographic study.** *Blood Coagul Fibrinolysis* 2007, **18**(3):227-236.
26. Montalto P, Vlachogiannakos J, Cox DJ, Pastacaldi S, Patch D, Burroughs AK: **Bacterial infection in cirrhosis impairs coagulation by a heparin effect: a prospective study.** *J Hepatol* 2002, **37**(4):463-470.
27. Kor DJ, Stubbs JR, Gajic O: **Perioperative coagulation management--fresh frozen plasma.** *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2010, **24**(1):51-64.
28. Levy MM, Artigas A, Phillips GS, Rhodes A, Beale R, Osborn T, Vincent JL, Townsend S, Lemeshow S, Dellinger RP: **Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study.** *Lancet Infect Dis* 2012, **12**(12):919-924.
29. Mayr FB, Yende S, Angus DC: **Epidemiology of severe sepsis.** *Virulence* 2014, **5**(1):4-11.
30. Dobson GP, Letson HL, Sharma R, Sheppard FR, Cap AP: **Mechanisms of early trauma-induced coagulopathy: The clot thickens or not?** *J Trauma Acute Care Surg* 2015, **79**(2):301-309.
31. Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M: **Coagulopathy of Acute Sepsis.** *Semin Thromb Hemost* 2015, **41**(6):650-658.

32. Venugopal A: **Disseminated intravascular coagulation.** *Indian J Anaesth* 2014, **58**(5):603-608.
33. Haase N, Ostrowski SR, Wetterslev J, Lange T, Moller MH, Tousi H, Steensen M, Pott F, Soe-Jensen P, Nielsen J *et al*: **Thromboelastography in patients with severe sepsis: a prospective cohort study.** *Intensive Care Med* 2015, **41**(1):77-85.
34. Ostrowski SR, Haase N, Muller RB, Moller MH, Pott FC, Perner A, Johansson PI: **Association between biomarkers of endothelial injury and hypocoagulability in patients with severe sepsis: a prospective study.** *Crit Care* 2015, **19**:191.
35. Muller MC, Meijers JC, Vroom MB, Juffermans NP: **Utility of thromboelastography and/or thromboelastometry in adults with sepsis: a systematic review.** *Crit Care* 2014, **18**(1):R30.
36. Koch A, Meesters MI, Scheller B, Boer C, Zacharowski K: **Systemic endotoxin activity correlates with clot formation: an observational study in patients with early systemic inflammation and sepsis.** *Crit Care* 2013, **17**(5):R198.
37. Park MS, Martini WZ, Dubick MA, Salinas J, Butenas S, Kheirabadi BS, Pusateri AE, Vos JA, Guymon CH, Wolf SE *et al*: **Thromboelastography as a better indicator of hypercoagulable state after injury than prothrombin time or activated partial thromboplastin time.** *J Trauma* 2009, **67**(2):266-275; discussion 275-266.
38. Ostrowski SR, Windelov NA, Ibsen M, Haase N, Perner A, Johansson PI: **Consecutive thromboelastography clot strength profiles in patients with severe sepsis and their association with 28-day mortality: a prospective study.** *J Crit Care* 2013, **28**(3):317 e311-311.
39. Prakash S, Verghese S, Roxby D, Dixon D, Bihari S, Bersten A: **Changes in fibrinolysis and severity of organ failure in sepsis: a prospective observational study using point-of-care test--ROTEM.** *J Crit Care* 2015, **30**(2):264-270.
40. Li J, Liu Y, Yin W, Zhang C, Huang J, Liao C, Nie L, Zhou Y, Xiao P: **Alterations of the preoperative coagulation profile in patients with acute appendicitis.** *Clin Chem Lab Med* 2011, **49**(8):1333-1339.
41. Kuiper GJ, Kleinegris MC, van Oerle R, Spronk HM, Lance MD, Ten Cate H, Henskens YM: **Validation of a modified thromboelastometry approach to detect changes in fibrinolytic activity.** *Thromb J* 2016, **14**:1.
42. Gonzalez E, Moore EE, Moore HB, Chapman MP, Chin TL, Ghasabyan A, Wohlaer MV, Barnett CC, Bensard DD, Biffi WL *et al*: **Goal-directed Hemostatic Resuscitation of Trauma-induced Coagulopathy: A Pragmatic Randomized Clinical Trial Comparing a Viscoelastic Assay to Conventional Coagulation Assays.** *Ann Surg* 2016, **263**(6):1051-1059.
43. Durila M, Malosek M: **Rotational thromboelastometry along with thromboelastography plays a critical role in the management of traumatic bleeding.** *Am J Emerg Med* 2014, **32**(3):288 e281-283.
44. Deppe AC, Weber C, Zimmermann J, Kuhn EW, Slottosch I, Liakopoulos OJ, Choi YH, Wahlers T: **Point-of-care thromboelastography/thromboelastometry-based coagulation management in cardiac surgery: a meta-analysis of 8332 patients.** *J Surg Res* 2016, **203**(2):424-433.
45. Nakayama Y, Nakajima Y, Tanaka KA, Sessler DI, Maeda S, Iida J, Ogawa S, Mizobe T: **Thromboelastometry-guided intraoperative haemostatic management reduces bleeding and red cell transfusion after paediatric cardiac surgery.** *Br J Anaesth* 2015, **114**(1):91-102.

46. Naik BI, Pajewski TN, Bogdonoff DI, Zuo Z, Clark P, Terkawi AS, Durieux ME, Shaffrey CI, Nemergut EC: **Rotational thromboelastometry-guided blood product management in major spine surgery.** *J Neurosurg Spine* 2015, **23**(2):239-249.
47. Trzebicki J, Flakiewicz E, Kosieradzki M, Blaszczyk B, Kolacz M, Jureczko L, Pacholczyk M, Chmura A, Lagiewska B, Lisik W *et al*: **The use of thromboelastometry in the assessment of hemostasis during orthotopic liver transplantation reduces the demand for blood products.** *Ann Transplant* 2010, **15**(3):19-24.
48. Kim E, Shim HS, Kim WH, Lee SY, Park SK, Yang JH, Jun TG, Kim CS: **Predictive Value of Intraoperative Thromboelastometry for the Risk of Perioperative Excessive Blood Loss in Infants and Children Undergoing Congenital Cardiac Surgery: A Retrospective Analysis.** *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2016.
49. Schochl H, Cotton B, Inaba K, Nienaber U, Fischer H, Voelckel W, Solomon C: **FIBTEM provides early prediction of massive transfusion in trauma.** *Crit Care* 2011, **15**(6):R265.
50. Muller MC, Arbous MS, Spoelstra-de Man AM, Vink R, Karakus A, Straat M, Binnekade JM, de Jonge E, Vroom MB, Juffermans NP: **Transfusion of fresh-frozen plasma in critically ill patients with a coagulopathy before invasive procedures: a randomized clinical trial (CME).** *Transfusion* 2015, **55**(1):26-35; quiz 25.
51. Muller MC, Straat M, Meijers JC, Klinkspoor JH, de Jonge E, Arbous MS, Schultz MJ, Vroom MB, Juffermans NP: **Fresh frozen plasma transfusion fails to influence the hemostatic balance in critically ill patients with a coagulopathy.** *J Thromb Haemost* 2015, **13**(6):989-997.
52. De Pietri L, Bianchini M, Montalti R, De Maria N, Di Maira T, Begliomini B, Gerunda GE, di Benedetto F, Garcia-Tsao G, Villa E: **Thrombelastography-guided blood product use before invasive procedures in cirrhosis with severe coagulopathy: A randomized, controlled trial.** *Hepatology* 2016, **63**(2):566-573.

**Seznám článků, které jsou podkladem k habilitační práci (v pořadí, v jakém se objevují v textu):**

**DURILA, Miroslav, KALINCIK Tomas, JURCENKO Sergej, PELICHOVSKA Martina, HADACOVA Ivana a CVACHOVEC Karel.** Arteriovenous differences of hematological and coagulation parameters in patients with sepsis. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* [online]. 2010, roč. 21, č. 8, s. 770–774. ISSN 0957-5235. **IF10 = 1.408**

**DURILA, M., KALINCIK T., CVACHOVEC K. a FILHO R..** Heparinase-modified thromboelastography can result in a fibrinolytic pattern. *Anaesthesia* [online]. 2010, roč. 65, č. 8, s. 864–865. ISSN 0003-2409. **IF10 = 3.008**

**DURILA, Miroslav, KALINCIK Tomas, PACAKOVA Zuzana a CVACHOVEC Karel.** Discard volume necessary for elimination of heparin flush effect on thromboelastography. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* [online]. 2010, roč. 21, č. 2, s. 192–195. ISSN 0957-5235. **IF10 = 1.408**

**DURILA, M., BURES J., PELICHOVSKA M. a CVACHOVEC K..** Hypocoagulation state in severe systemic inflammatory response syndrome/sepsis is consistent with endogenous heparinoid effect as detected by thromboelastography. *Anaesthesia and Intensive Care*. 2011, roč. 39, č. 3, s. 508–509. ISSN 0310-057X. **IF11 = 1.279**

**DURILA, M.** Kaolin activated thromboelastography can result in false positive fibrinolytic trace. *Anaesthesia and Intensive Care*. 2011, roč. 39, č. 4, s. 775–776. ISSN 0310-057X. **IF11 = 1.279**

**DURILA, Miroslav, LUKAS Pavel, BRONSKY Jiri a CVACHOVEC Karel.** Time impact on non-activated and kaolin-activated blood samples in thromboelastography. *Bmc Anesthesiology* [online]. 2015, roč. 15, s. 50. ISSN 1471-2253. Dostupné z: doi:10.1186/s12871-015-0033-9. **IF15 = 1.320**

**DURILA, Miroslav, ŠEVČÍKOVÁ Silvie, VYMAZAL Tomáš.** Stability of non-activated rotational thromboelastometry assay in time of citrated blood (appropriate time interval for analysis) přijatý k tisku do časopisu *Clinical laboratory* 11/2016. **IF13 = 1.084**

**DURILA, Miroslav, LUKAS Pavel, ASTRAYERKHAVA Marta a VYMAZAL Tomas.** Evaluation of fibrinogen concentrates and prothrombin complex concentrates on coagulation changes in a hypothermic in vitro model using thromboelastometry and thromboelastography. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* [online]. 2015, roč. 75, č. 5, s. 407–414. ISSN 0036-5513. Dostupné z: doi:10.3109/00365513.2015.1031694. **IF15 = 1.471**

**DURILA, Miroslav** a MALOSEK Martin. Rotational thromboelastometry along with thromboelastography plays a critical role in the management of traumatic bleeding. *American Journal of Emergency Medicine* [online]. 2014, roč. 32, č. 3, s. 288.e1. ISSN 0735-6757. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajem.2013.09.038. **IF14 = 1.274**

**DURILA, Miroslav**, SCHÜTZNER Jan, VYMAZAL Tomáš. Význam rotačnej tromboelastometrie (ROTEM) v perioperačnom období u warfarinizovaného pacienta. Česká chirurgická spoločnosť *Rozhledy v chirurgii* 2016; roč. 95, č. 8, s. 329-332.

**DURILA, Miroslav**. Nonactivated thromboelastometry able to detect fibrinolysis in contrast to activated methods (EXTEM, INTEM) in a bleeding patient. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2016 Oct;27(7):828-830. PMID: 26656899. **IF15 = 1.242**

**DURILA, Miroslav**, PAVLICEK Petr, HADACOVA Ivana, NAHLOVSKY Jiri a JANECKOVA Daniela. Endogenous Heparinoids May Cause Bleeding in Mucor Infection and can be Detected by Nonactivated Thromboelastometry and Treated by Recombinant Activated Factor VII: A Case Report. *Medicine* [online]. 2016, roč. 95, č. 8, s. e2933. ISSN 0025-7974. Dostupné z: doi:10.1097/MD.0000000000002933. **IF15 = 1.206**

TANAKA KA, MAZZEFFI M, **DURILA, M**. Role of prothrombin complex concentrate in perioperative coagulation therapy. *J Intensive Care*. 2014 Oct 29;2(1):60. doi: 10.1186/s40560-014-0060-5. eCollection 2014. Review. PMID:25705417, Časopis Japonské spoločnosti intenzívnej medicíny, recenzovaný, zatiaľ bez IF. Byl citován v současných Evropských doporučených postupech pro management traumatického krvácení (citace 583).

**DURILA, Miroslav**. Význam rotačnej tromboelastometrie (ROTEM) v manažmente perioperačného krvácania. *Anest. intenziv. Med.*, 27, 2016, č. 4, s. 259-266

**DURILA, M.**, BRONSKY J., HARUSTIAK T., PAZDRO A., PECHOVA M. a CVACHOVEC K. Early diagnostic markers of sepsis after oesophagectomy (including thromboelastography). *Bmc Anesthesiology* [online]. 2012, roč. 12, s. 12. ISSN 1471-2253. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2253-12-12. **IF12 = 1.188**

**DURILA, M.** a HARUSTIAK T.. Coagulation profile after esophagectomy in SIRS and sepsis evaluated by thromboelastography and relationship with organ dysfunction development. *Bratislava Medical Journal-Bratislavske Lekarske Listy* [online]. 2016, roč. 117, č. 6, s. 312–315. ISSN 0006-9248. Dostupné z: doi:10.4149/BLL\_2016\_062. **IF15 = 0.454**

**DURILA Miroslav**, TESLÍK L., ASTRAVERKHAVA M., VYMAZAL T. Úloha antitrombínu a tromboelastografie v manažmente počínajúcej diseminovanej intravaskulárnej koagulopatie po peripartálnej hysterektómii. *Anest. intenziv. Med.*, 27, 2016, č. 2, s. 75-77

**DURILA Miroslav**, SALAJ Peter, SOUČKOVÁ Helena, ASTRAVERKHAVA Marta, BEROUŠEK Jan. Management septické diseminovanéj intravaskulárnej koagulopatie pomocou antitrombínu a heparínu a význam tromboelastometrie v diagnostike heparínovej rezistencie. Prijato k tisku do časopisu České společnosti anesteziologie a intenzivní medicíny *Anest. intenziv. Med.* Listopad 2016

**DURILA Miroslav**, BEROUŠEK Jan, VYMAZAL Tomáš. Rutinné používanie tromboelastometrie (ROTEM) k hodnoteniu koagulácie (adopcia „novej“ paradigmy hodnotenia koagulácie) na jednotke intenzívnej starostlivosti vedie k značnému zníženiu podávania krvnej plazmy. časopis České společnosti pro transfuzní lékařství a České hematologické společnosti. *Transfúze Hematol dnes.* 22, 2016, No.3, s. 168-173.

**DURILA Miroslav**, LUKAS Pavel, ASTRAVERKHAVA Marta, BEROUSEK Jan, ZABRODSKY Michal a VYMAZAL Tomas. Tracheostomy in intensive care unit patients can be performed without bleeding complications in case of normal thromboelastometry results (EXTEM CT) despite increased PT-INR: a prospective pilot study. *Bmc Anesthesiology* [online]. 2015, roč. 15, s. 89. ISSN 1471-2253. Dostupné z: doi:10.1186/s12871-015-0073-1. **IF15 = 1.320**