

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
Přírodovědecká fakulta
Laboratoř růstových regulátorů

**Vliv odlišných typů mimotělního oběhu na
funkci trombocytů během kardiochirurgických
výkonů**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor:	Bc. Pavla Chaloupková
Studijní program:	N1501 Experimentální biologie
Studijní obor:	Experimentální biologie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	doc. Mgr. Luděk Slavík, Ph.D.
Termín odevzdání práce:	2020

Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracovala samostatně za použití citované literatury.

V Olomouci dne

.....

Chtěla bych poděkovat panu doc. Mgr. Ludřku Slavíkovi, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce. Zároveň bych chtěla poděkovat kolektivu koagulační laboratoře Hemato-onkologické kliniky FN a LF UP v Olomouci za vytvoření příjemného pracovního prostředí. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za podporu a trpělivost.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Pavla Chaloupková
Název práce	Vliv odlišných typů mimotělního oběhu na funkci trombocytů během kardiochirurgických výkonů
Typ práce	diplomová
Pracoviště	Koagulační laboratoř: Hemato-onkologické kliniky FN a LF UP v Olomouci
Vedoucí práce	doc. Mgr. Luděk Slavík, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2020
Abstrakt	<p>Tato diplomová práce se zabývá základní složkou hemostázy při kardiochirurgických operacích, jež je zajišťována krevními destičkami společně s koagulačními faktory. Jsou zde porovnávány dva různé průběhy kardiochirurgických operací, kdy v jednom případě je posuzován vliv navrácení krve z přístroje Cell saver na hodnoty agregace a trombin generačního testu.</p> <p>Teoretická část pojednává o hemostáze, kdy je zvláštní důraz kladen na schopnost agregace trombocytů na poškozený endotel cévní stěny. Dále je pojednáváno o patofyziologii oběhového ústrojí, která je invazivně léčena kardiochirurgickými výkony za použití přístroje pro mimotělní oběh společně s rekuperačním přístrojem Cell saver.</p> <p>Experimentální část se věnuje měření agregace trombocytů pomocí optického agregometru Apact 4004, a provádění trombin generačního testu prostřednictvím fluorometru Ceveron® Alpha a následného porovnání mezi vyšetřovanými skupinami pacientů. Měření parametrů bylo prováděno – při započetí kardiochirurgického výkonu, po ukončení operace, po ukončení mimotělního oběhu a po navrácení buněk z přístroje Cell saver. Porovnání bylo provedeno u skupiny pacientů, podstupujících kardiochirurgický výkon za použití mimotělního oběhu bez navrácení krve z přístroje Cell saver oproti skupině pacientů, jejichž operace byla provedena za stejných podmínek, ale došlo k navrácení krve z rekuperačního přístroje.</p>
Klíčová slova	Agregace, optická agregometrie, krevní destička, trombin generační test, mimotělní oběh, Cell saver
Počet stran	80
Počet příloh	0
Jazyk	Český

Bibliographical identification

Author's first name and surname	Pavla Chaloupková
Title of thesis	The influence of cardiosurgery on platelet function test
Type of thesis	Bachelor
Department	Laboratory of Growth Regulators
Supervisor	doc. Mgr. Luděk Slavík, Ph.D.
The year of presentation	2020
Abstract	<p>This diploma thesis deals with the basic components of hemostasis in cardiac surgery, which are provided by platelets together with coagulation factors. Two different courses of cardiac surgery are compared here, in one case the effect of blood return from the Cell Saver device on the value of aggregation and thrombin generation test is assessed.</p> <p>The theoretical part deals with hemostasis, where a special risk is placed on the ability of platelets to aggregate on the damaged endothelium of the vascular wall. Another is the pathophysiology of the circulatory system, which is invasively treated by cardiac surgery using devices for extracorporeal circulation together with the recuperation device Cell Saver.</p> <p>The experimental part is devoted to the measurement of platelets using an optical aggregometer Apact 4004, which performs thrombin generation using a Ceveron® Alpha fluorometer and subsequent evaluation among examined patients. The parameters were measured - at the beginning of the cardiac surgery, after the end of the operation, after the end of the extracorporeal circulation and after returning the cells from the Cell Saver device. Comparison of proven groups of patients undergoing cardiac surgery using extracorporeal circulation without blood return from the Cell Saver device with a limited number of patients, surgery with placement under the same conditions, but also to return blood from the recuperation device.</p>
Keywords	Aggregation, optical aggregometry, platelet, thrombin generation assay, extracorporeal circulation, Cell saver
Number of pages	80
Number of appendices	0
Language	Czech

OBSAH

ÚVOD.....	8
CÍLE PRÁCE.....	9
TEORETICKÁ ČÁST.....	10
1 FYZIOLOGIE KRVETVORBY.....	10
1.1 Tvorba a vývoj krevních destiček.....	10
2 HEMOSTÁZA.....	11
2.1 Krevní destičky.....	11
2.1.1 Aktivace krevních destiček.....	12
2.1.2 Adheze krevních destiček.....	13
2.1.3 Agregace krevních destiček.....	14
2.1.4 Retrakce krevních destiček.....	15
2.2 Cévní systém.....	15
2.2.1 Vazokonstrikce.....	16
3 HEMOSTATICKÉ MECHANIZMY.....	17
3.1 Primární hemostáza.....	17
3.2 Systém plazmatických faktorů.....	18
3.2.1 Koagulační faktory.....	18
3.2.2 Vnější cesta aktivace koagulace.....	20
3.2.3 Vnitřní cesta aktivace koagulace.....	21
3.2.4 Systém přirozených inhibitorů koagulační kaskády.....	22
3.2.4.1 Serpiny.....	23
3.2.4.2 Kuniny.....	24
3.2.4.3 Protein C a jeho systém.....	24
3.3 Fibrinolytický systém.....	25
3.3.1 Plazminogen.....	25
3.3.1.1 Aktivátory plazminogenu.....	26
3.3.2 Plazmin.....	26
3.3.3 Inhibitory fibrinolýzy.....	26
4 PATOFYZIOLOGIE KARDIOVASKULÁRNÍHO SYSTÉMU.....	28
4.1 Kardiochirurgické řešení.....	28
4.2 Mímotělní oběh.....	28
4.2.1 Základní uspořádání MTO.....	29
4.2.1.1 Čerpadla.....	29
4.2.1.2 Oxygenátory.....	30
4.2.1.3 Výměník tepla.....	31

4.2.1.4	Náplň přístroje pro mimotělní oběh	31
4.2.1.5	Cell Saver	31
4.2.2	Použití heparinu u MTO	32
4.2.3	Fyziologie MTO	33
4.2.3.1	Náplň mimotělního oběhu a hemodiluce	33
4.2.3.2	Nastavení parametrů hemodynamiky	33
4.2.3.3	Hypotermie	34
4.2.4	Patofyziologie MTO	35
4.2.4.1	Systémová odpověď organismu	35
4.2.4.2	Porucha mikrocirkulace během MTO	35
4.2.4.3	Biokompatibilita vnitřního povrchu	36
4.2.4.4	Změny hemostázy	36
5	STATISTICKÉ HODNOCENÍ	37
	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	38
6	MATERIÁL A METODY	38
6.1	Chemikálie	38
6.2	Materiál a přístrojová technika	39
6.3	Použité metody	40
6.3.1	Odběr a zpracování krve	40
6.3.2	Laboratorní stanovení	41
6.3.3	Agregometrie	41
6.3.3.1	Měření agregometrie	43
6.3.4	Trombin generační test	43
6.3.4.1	Měření TGT	45
	VÝSLEDKY	46
7	SOUBOR PACIENTŮ	47
7.1	Průběh operace	47
7.2	Skupina pacientů označená jako kontrola bez navrácení krve z Cell saveru	48
7.3	Skupina pacientů označená jako separace s navrácením krve z Cell saveru	54
7.3.1	Vybrané parametry průběhu operace CPB	59
7.4	Parametry měřené u vyšetřovaných skupin pacientů	60
7.4.1	Statistické hodnocení vyšetřovaných skupin	66
	DISKUZE	73
	ZÁVĚR	75
	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	76
	SEZNAM LITERATURY	78

ÚVOD

Krvetvorba, neboli hematopoéza, je proces tvorby krve v organismu, jež je nejprve lokalizována do žloutkového vaku a konečným stupněm je její tvorba v kostní dřeni. Krev je složena z plazmy a krevních elementů (trombocyty, erytrocyty a leukocyty) a její ztráta může být život ohrožující. Existuje však systém kaskád zahrnující cévní stěnu, krevní destičky, tkáňovou složku a činitele koagulačního systému, jež slouží jako ochranný mechanismus zástavy krvácení a nazývá se hemostáza. Během hemostatického procesu dochází k adhezi trombocytů k poraněnému endotelu cév a následné agregaci (shlukování vlivem induktorů či samovolně), což má za následek tvorbu krevní zátky. Vzniklý trombus je poté zpevňován přeměnou rozpustného fibrinogenu na nerozpustný fibrin, který je tvořen na podkladě enzymatických reakcí spuštěných po kontaktu koagulačních faktorů s obnaženým endotelem cévní stěny.

Pro porozumění patofyziologickým procesům kardiovaskulární soustavy je důležitá nejen znalost příčin nemocí srdce a cév, ale i podíl účasti krevních elementů na těchto procesech. V České republice je úmrtnost na kardiovaskulární choroby jednou z nejčastějších příčin úmrtí (cca 53 %). Při jejím řešení je prvně volena neoperativní léčba, kterou je nutné v případě selhání nahradit léčbou invazivní či kardiochirurgickou. Převážná většina kardiochirurgických operací probíhá s použitím přístroje pro mimotělní oběh, který vedle dočasné náhrady srdce a plic slouží také jako autotransfuzní přístroj, a bývá použit společně s přístrojem Cell saver, jež je využíván pro shromažďování krve z operačního pole, která může být po filtraci navrácena zpět pacientům.

V této diplomové práci se zabýváme rozdíly agregace vyvolané induktory (kolagen, adenosindifosfát, ristocetin, epinefrin) krevních destiček, jež byla měřena pomocí optického agregometru Apact 4004, a rozdíly hodnot trombin generačního testu měřených pomocí fluorometru Ceveron® Alpha, při kardiochirurgických výkonech. Porovnáváme skupinu pacientů, kterým nebyla po ukončení operace navrácena krev z přístroje Cell saver (kontrola) oproti skupině pacientů, jež byli operováni stejně, ale došlo k navrácení krve z tohoto přístroje (separace).

CÍLE PRÁCE

1. Literární rešerše problematiky hemostázy a účasti trombocytů v patofyziologii mimotělního oběhu.
2. Aplikace metodik a postupů vyšetření funkčního stavu trombocytů a plazmatického koagulačního systému.
3. Návrh protokolu vyšetření laboratorních parametrů u kardiochirurgického výkonu.
4. Zhodnocení souboru pacientů podstupujících kardiochirurgický výkon s využitím rekuperace krevních buněk oproti standardnímu postupu.

TEORETICKÁ ČÁST

1 FYZIOLOGIE KRVETVORBY

Krvetvorba, neboli hematopoéza, je proces tvorby krve v organismu. V embryonálním vývoji je zpočátku (mezoblastové období) lokalizovaná do oblasti žloutkového vaku, kde se embryonální kmenové buňky diferenciují v kmenové krvetvorné buňky. Posléze tento úkon přejímají játra a slezina (hepatolienální období). Konečným stupněm je tvorba v kostní dřeni kde je přítomen „pool“, neboli zásoba, hematopoetických kmenových buněk, jež jsou pluripotentní pro všechny nelymfoidní i lymfoidní řady. Primitivní i vyzrálejší kmenové buňky podléhají dělení, kdy jedna z dceřiných buněk je identická s mateřskou kmenovou buňkou (tzv. self renewal – samoobnovování kmenových buněk) a druhá se dále diferencuje. Toto dělení se nazývá asymetrické.

Hematopoéza je pod kontrolou řady interleukinů (IL), CSF (colony stimulating factors) a také zde hrají roli interakce kmenových buněk se stromatem hemopoetických orgánů (HIM). HIM buněčné elementy tvoří makrofágy či monocyty, endotelie, retikulární buňky a další. Jen díky souhře všech výše zmíněných faktorů je umožněna normální hematopoéza (Pecka, 2002; Penka & Slavičková, 2011).

1.1 Tvorba a vývoj krevních destiček

Trombocyty vznikají odštěpováním cytoplazmy ze zralých megakaryocytů, jež se již nadále nedělí, dochází v nich pouze ke zmnožení genomu v jádře. V oblasti cytoplazmy megakaryocytů je možné detekovat vznik demarkačních membrán lemující úseky, které se označují jako protrombocyty. Protrombocyty jsou posléze fragmentací uvolňovány do kapilárního systému v kostní dřeni. Dalším diferenciačním stádiem je megakaryoblast (megakaryocyt I), také označovaný jako nezralý megakaryocyt, který představuje přibližně 20 % megakaryocytární populace. Jedná se o buňku velkou asi 6–20 μm s intenzivně bazofilní cytoplazmou a velkým jádrem, jež obsahuje mnoho prominujících nukleolů. Megakaryoblasty se dále přeměňují v promegakaryocyty (megakaryocyty II) jejichž velikost je 15–20 μm a jejich zastoupení v populaci je asi 25 %. Zrající a vyzralé megakaryocyty (megakaryocyty III) již mají v cytoplazmě detekovatelný Golgiho aparát a endoplazmatické retikulum a jsou největší z této vývojové řady (40 – 60 μm) a nejfrekventovanější (asi 60 % megakaryocytární řady). Vývoj takto zralého megakaryocytu trvá 5–10 dní (Pecka, 2002; Penka & Slavičková, 2011).

2 HEMOSTÁZA

Hemostáza je přesně regulovaný proces, který dokáže zastavit krvácení pouze v místě poranění, v případě neporušeného cévního řečiště naopak udržuje tekutost krve. Za určitých okolností však může docházet ke srážení krve i bez narušení integrity cév, jež souvisí s řadou patologických okolností. Na homeostázi se především podílejí krevní destičky, cévy a plazmatické faktory. (Pecka, 2004; Penka & Slavičková, 2011)

2.1 Krevní destičky

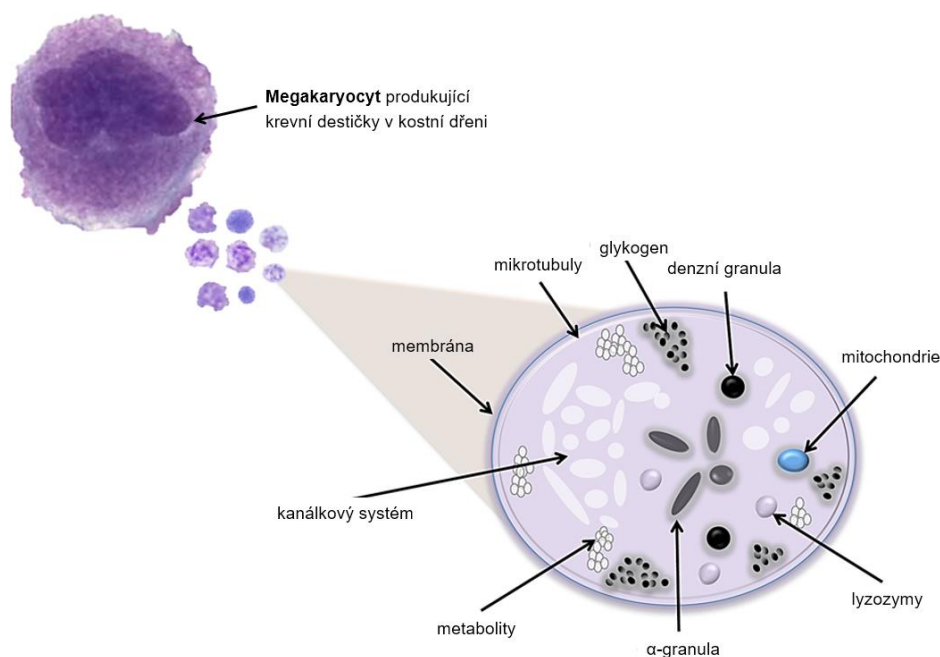
Trombocyty jsou bezjaderné buňky diskoidní struktury, mající přibližně třetinovou velikost oproti erytrocytu a v 1 mm³ krve se jich vyskytuje 150 000–300 000. Jak je již výše zmíněno, vznikají odštěpováním cytoplazmy megakaryocytů a to buď v kostní dřeni, anebo pasážováním megakaryocytů skrze stěnu kapilár (buňka je mechanicky namáhána). Hlavním regulačním hormonem je trombopoetiny produkovaný v tkáni jater a ledvin, jež stimuluje produkci a diferenciaci megakaryocytů v kostní dřeni. Krevní destičky se především uplatňují v primární homeostázi a to například specifickou vazbou na faktory VII a V, nebo přímou aktivací faktoru XII a XI. (Pecka, 2004; Penka & Slavičková, 2011)

Jedním ze základních znaků je neschopnost replikace, a tudíž krevní destička přežije v oběhu přibližně 8–12 dnů. Na povrchu cytoplazmatické membrány obsahují glykoproteiny bránící uchycení destiček k nepoškozenému endotelu cévy a naopak umožňují přichycení (adheraci) ke stěně, jež je poškozená, a to především díky kolagenu, který je obnažen právě při poškození hlubších vrstev cév (Kittnar 2011).

Cytoplazma trombocytů dle Kittnara (2011) obsahuje tyto organely:

- Mitochondrie produkující ADP a ATP.
- Trombostein umožňující krevní destičce aktivně měnit tvar během procesu agregace.
- Aktin a myozin (kontraktilní filamenta) jež jsou identické se svalovými buňkami.
- Rezidua Golgiho aparátu a endoplazmatického retikula, jež se podílejí na syntéze enzymů a také slouží jako zásobárna vápenatých iontů.
- Prostaglandin, fibrin stabilizující faktor, růstový faktor (stimuluje proliferaci fibrinoblastů a endotelových buněk).

Nadále se v trombocytech vyskytují tři typy morfologicky odlišných granul. A to α -granula obsahující proteiny, denzní granula s ADP, ATP, vápenatými ionty a serotoninem a v poslední řadě lysozomy obsahující především štěpící enzymy (Pecka, 2004; Kittnar 2011).



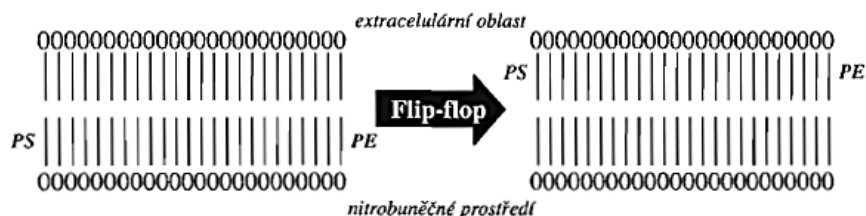
Obrázek 1. Struktura krevní destičky – upraveno dle Zapata et. al (2014)

2.1.1 Aktivace krevních destiček

Trombocyty mohou být aktivovány dvěma způsoby a to stykem se subendoteliálními strukturami, anebo aktivátory (trombin, kolagen) vyplavenými do krevního oběhu. Při aktivaci dochází k deformaci destiček (dochází ke zvětšování plochy, na které dochází k interakci faktorů koagulační kaskády), degranulaci, uvolnění prokoagulačních faktorů včetně sekrece dalších aktivátorů destiček. Důležitou regulační úlohu má i fosfolipidová membrána na jejich povrchu a to díky negativnímu náboji, jež urychluje interakci koagulačních faktorů (Pecka 2006).

Během aktivace trombocytů dochází uvnitř buňky dle Pecky (2006) k několika mechanismům:

- *Přesun nitrobuněčného vápníku* - díky 3 kompartmentů
 - Mitochondrie.
 - Denzní tubulární systém – jedná se o transformované endoplazmatické retikulum.
 - Extracelulárnímu vápníku.
- *Změně membránové struktury*
 - Poškození membrány s následnou tvorbou membránových mikročástic.
 - Přetočení membrány, flip-flop mechanismus (přetočení plazmatické membrány trombocytů a vystavení negativně nabitých fosfolipidů sloužících jako podkladový matrix pro tvorbu koagulačních komplexů).



Obrázek 2. Flip-flop fenomén membrány trombocytů – převzato od Pecka (2006)

Ligandy (antagonisty) aktivují krevní destičky sledem řetězových reakcí zprostředkovaných biologickou odpovědí neboli tvorbu destičkové zátky.

Mezi morfologické projevy aktivace dle Pecky (2006) patří:

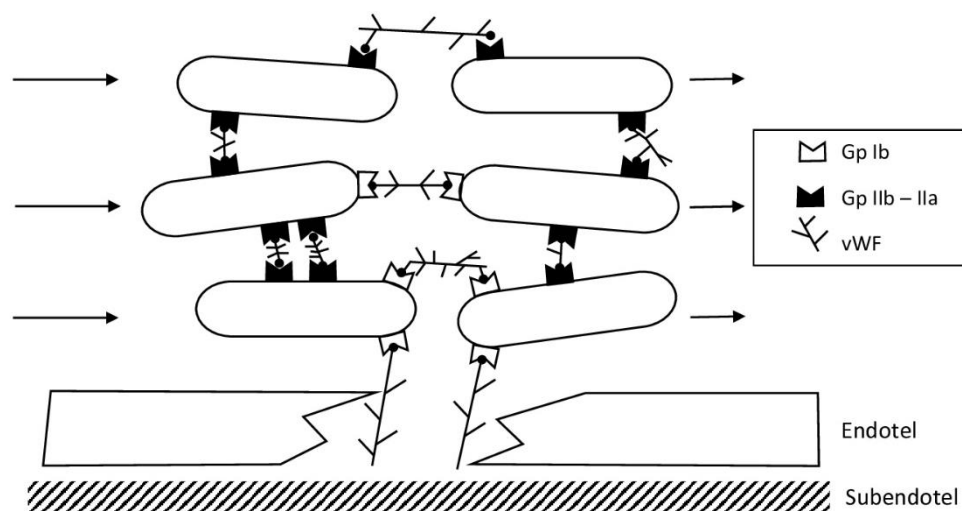
- Změna tvaru – dochází k aktivaci kontraktálního aparátu krevní destičky tvorbou pseudopodií rozprostírajících se po povrchu.
- Adheze (přilnavost).
- Agregace (shlukování).
- Smršťování (retrakce) adherovaných a agregovaných trombocytů

2.1.2 Adheze krevních destiček

Adhezí trombocytů k receptorům kolagenních vláken bazální membrány cévní stěny započíná tvorba primární cévní zátky. Jedná se o komplexní proces vyžadující přítomnost několika adhezivních proteinů. Uplatňuje se především von Willebrandův faktor (vWF), fibrinogen, fibronektin a Ca^{2+} ionty, kdy vWF má vazebná místa (pro glykoprotein Ib, IIb/IIIa a pro kolagen typu I, III a VI), jež jsou důležitá pro jeho navázání na obnažená kolagenní vlákna a následného připojení trombocytů jeho vyvázáním na glykoprotein Ib v komplexu glykoprotein Ib/V/IX. Krevní destičky také mohou adherovat k subendoteliálním strukturám pomocí receptorového komplexu glykoproteinu Ia/IIa.

Krevní destička následně mění svůj tvar a vytvořením pseudopodií (výběžků) přilne k povrchu. Během tohoto procesu zvětšují svůj objem až desetinásobně.

Je nutné podotknout, že adhezivita je lineárně závislá na počtu trombocytů (Niewenhius et al. 1985; Pecka, 2006; Penka & Slavičková, 2011).



Obrázek 3. Adheze trombocytů – upraveno dle Pecka (2006)

Hlubší vrstvy stěny cév, jež jsou tvořené svalovými buňkami, elastinem, subendoteliálními mikrofilamenty a kolagenem váží trombocyty velmi rychle. Na obnaženou cévní výstelku adherují krevní destičky díky komplexu [Gp Ib-V-IX], který se váže na vWF obnažené cévní stěny. Tento komplex je složen ze 4 glykoproteinových jednotek, a to Gp Iba, Gp Ibβ, Gp IX a Gp V, komplex má také vazebné místo pro trombin, jež moduluje odpověď destičky k trombinu (Kroll et al. 1991; Pecka, 2006).

2.1.3 Agregace krevních destiček

K agregaci neboli vzájemnému shlukování trombocytů, dochází vlivem změny konformace glykoproteinové struktury glykoproteinu IIb/IIIa po obsazení receptorů krevních destiček agonisty. Tato konformační změna umožňuje vyvázání vWF nebo fibrinogenu mezi dvěma receptory na odlišných destičkách. Agregace většinou probíhá ihned po adhezi, ale může být vyvolána i přímo a to působením řady induktorů (tromboxan A₂, ADP, kolagen, adrenalin, vazopresin, kyselina arachidonová a další).

Během agregace dochází zprvu pouze k částečnému spojování receptorů na pseudopodiích (primární agregace) a posléze, při silnějším aktivačním impulzu dochází k těsnému spojení trombocytů (sekundární agregace). Následně se jednotlivé agregáty postupně rozprostírají a splývají navzájem, přičemž dochází k jejich viskózní přeměně. Destičky jsou spojovány skrze molekulu fibrinogenu a to přesněji skrze jeho karboxylové skupiny gama řetězců v D-doméně (Mayo et al, 1996; Pecka, 2006).

2.1.4 Retrakce krevních destiček

Ke smršťování destičkového trombu dochází díky působení cytoskeletárního systému trombocytů. Dochází tak k obnovení průchodnosti poranění cévy, jež je uzavřena primární hemostatickou zátkou. K retrakci je nutný přísun ATP a také zdatnost a životaschopnost destiček. Během tohoto procesu dochází k vytlačení séra ze smršťujícího se koagula. Vazba fibrinogenu trombocytů na destičkový aktivátor podporuje kontrakci cévní stěny (Pecka, 2006).

2.2 Cévní systém

Cévní systém (endoteliální cévní výstelka) hraje v hemostáze jednu z nejdůležitějších úloh.

Do procesu krevního srážení zasahuje dle Pecky (2004) několika způsoby:

- Schopnost vazokonstrikce – dochází k zabránění unikání krve z řečiště a umožnění aktivace ostatních systémů.
- Místo interakce jednotlivých složek všech systémů hemostázy.
- Zdroj a zásobárna některých faktorů, inhibitorů a dalších látek důležitých pro zástavu krvácení.

Cévy mají třívrstvou strukturu. První vrstva se nazývá intima, která je tvořena jednovrstevnou výstelkou endoteliálních buněk, jež jsou spojené polysacharidovou intracelulární matrix a obklopené bazální membránou, pod kterou se nachází extracelulární matrix (ECM), jehož hlavními buňkami jsou fibroblasty a buňky hladké svaloviny. Následujícími dvěma vrstvami jsou medie a adventicie.

Cévní výstelka (endotel) na svém povrchu nese řadu receptorů a probíhá zde především metabolismus kyseliny arachidonové, která syntetizuje vWF, endotelin a tkáňový aktivátor plazminogenu (Pecka, 2004; Penka & Slavičková, 2011).

Endoteliální buňky mají podstatnou úlohu při primární hemostáze, jelikož udržují krevní destičky v intaktním stavu a brání jeho adhezi na cévní stěnu.

Dle Pecky (2004) kontrolují aktivaci trombocytů několika mechanismy:

- Vytvářejí elektrostatický náboj negativního charakteru znemožňující negativně nabitým krevním destičkám přilnout k endotelu cév.
- Vytvářejí bariéru mezi krví a tkáněmi – oddělují od cirkulace vysoce trombogenní subendoteliální vrstvy (zejména na bázi kolagenu).
- Snižují prostacyklin stabilizující destičku stimulací pomocí cAMP.
- Produkují endonukleázy přeměňující ADP na neaktivní AMP

2.2.1 Vazokonstrikce

Při poškození cévy dochází k minimalizaci krevního průtoku a zábránám krevních ztrát.

Tento děj se nazývá vazokonstrikce a dle Kittnara (2011) se děje těmito mechanizmy:

- *Mechanicky* – krev, odtékající z cévního řečiště do okolních tkání, utlačuje poškozenou cévu.
- *Kontrakcí svalové vrstvy cévní stěny* – dochází ke stahu svalové vrstvy na základě uvolněných látek chemické podoby z místa poškozené tkáně (serotonin, tromboxan A₂, epinefrin a další). Na kontrakci svalové hmoty cév se také podílejí nervové reflexy, jež jsou spouštěny podněty bolestivé povahy.

3 HEMOSTATICKÉ MECHANIZMY

Po poškození povrchu cévy dochází k zahájení procesu krevního srážení, ke kterému dochází bezprostředně po ataku tvorbou primární hemostatické zátky, ze které se aktivací dalších zpevňovacích procesů stává zátka definitivní (Pecka, 2004).

Mezi základní mechanizmy hemostázy dle Pecky (2004) patří:

- Primární hemostáza.
- Systém plazmatických koagulačních faktorů.
- Fibrinolýza.

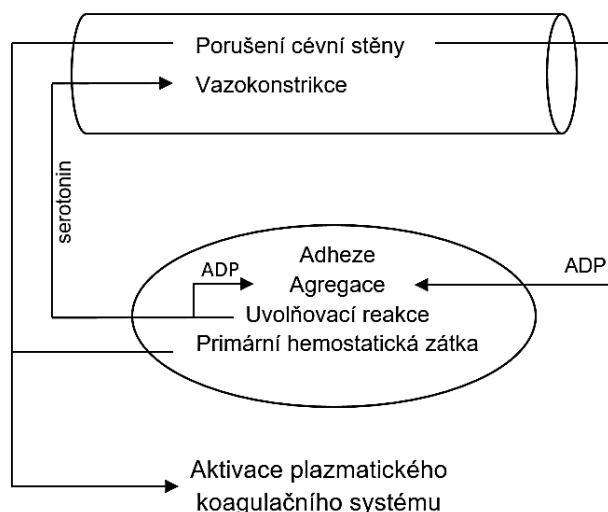
3.1 Primární hemostáza

Jedná se o proces výstavby primární cévní zátky, kdy klíčovou roli zaujímají trombocyty. Aby destičky zajišťovali dostatečným způsobem proces primární hemostázy, nepostačuje pouze jejich normální počet a funkce, ale je zapotřebí aby obsahovaly granula (denzní, α , lysozomy) ve své centrální části (Colman et al., 2001; Pecka, 2004, Penka & Slavičková, 2011).

Tabulka 1. Obsah destičkových granul – upraveno dle Penka & Slavičková (2011)

denzní granula	α - granula	lysozomy
ATP, ADP	Destičkový faktor 4	Fukozidázy
Kalcium, serotonin	B-tromboglobulin	Galaktozidázy
Pyrofosfát, P selektin	Fibrinogen, fibronektin	Glukouronidázy
Transformující růstový faktor b	Faktor V	Katepsin
Adrenalin a noradrenalin	Trombospondin	Glukohydrolázy
GDP/GTP	Destičkový růstový faktor	
	α_2 - mikroglobulin, α_2 - antiplazmin	

Prvotním procesem tvorby destičkového agregátu je adheze destiček k obnaženému subendotelu cév, jež je zprostředkovávána strukturou destičkové membrány obsahující fosfolipidy (cholesterol, fosfatidylcholin, sfingomyelin, fosfatidilserin aj.), glykolipidy a glykoproteiny, a řadou stimulů (například ADP pocházející z perivaskulární tkáně). Nakonec destičky poté pod vlivem ADP, trombinu, adrenalinu či kyseliny arachidonové započínají agregaci, jež vede k formulaci trombocytární zátky (Pecka, 2004, Penka & Slavičková, 2011).



Obrázek 4. Schéma primární hemostázy – upraveno dle Pecky (2004)

3.2 Systém plazmatických faktorů

Plazmatický koagulační systém představuje skupinu dějů vedoucích ke vzniku nerozpustného fibrinu z fibrinogenu. Fibrin je dále přeměňován na fibrinové polymery, jež spontánně polymerují a jsou propojeny kovalentními vazbami díky působením aktivovaného faktoru XIII. Dochází tak ke tvorbě vláknité sítě, ve které jsou zachycovány krevní buňky – dochází ke tvorbě krevní sraženiny (fibrinové zátky) jež nahrazuje primární trombus vytvořený agregovanými trombocyty (Pecka, 2004; Kittnar 2011).

Soubor těchto dějů také nazýváme jako hemokoagulační kaskádu, a můžeme ji dle Kittnara (2011) rozdělit do tří hlavních kroků:

1. Formulace aktivátoru protrombinu.
2. Přeměna protrombinu na trombin.
3. Přeměna fibrinogenu na fibrin.

3.2.1 Koagulační faktory

Koagulační faktory jsou proteiny cirkulující v plazmě v neaktivním stavu. Většinou jsou tvořeny játry a některé potřebují k syntéze vitamín K. Převážná část faktorů (krom tkáňového faktoru) je v plazmě v podobě koenzymu a pro svou správnou funkci vyžadují proteolytické štěpení, při kterém dochází ke vzniku koagulačně aktivního enzymu (Pecka, 2004, Kittnar, 2011; Penka & Slavičková 2011).

Faktory této kaskády dělíme dle Schloesser et al. (1997), Hu et al. (1998), Pecky (2004), Achneck et al. (2010), Kittnara (2011) a Penky & Slavičkové (2011) na:

- **K dependentní faktory:** Faktory potřebují vitamín K ke svojí funkci a to zejména pro karboxylaci gama glutamového zbytku. Bez této karboxylace není faktor schopen vazby na Ca^{2+} a fosfolipidy. Neznamená to však, že nejsou tvořeny, jen zůstávají v koagulačně neaktivní formě. (Penka & Slavičková, 2011)
 - *Faktor II (protrombin)* je vázán díky Ca^{2+} na záporně nabitě fosfolipidy, kde dochází ke štěpení protrombinázou na aktivní formu (α trombin), jež může působit jak prokoagulačně, tak antikoagulačně. Kromě štěpení fibrinogenu také katalyzuje další reakce, sloužící ke tvorbě koagula (aktivace buněk, posílení koagulace a zabránění nadměrného srážení
 - *Faktor IV (kalcium)* má schopnost vazby na Ca^{2+} a fosfolipidy díky karboxylaci gama glutamového zbytku.
 - *Faktor VII (prokonvertin)* má sám o sobě proteolytickou aktivitu (schopen štěpit faktor X) a je charakterizován krátkým biologickým poločasem rozpadu.
 - *Faktor IX (antihemolitický faktor A)* je enzymaticky aktivní v komplexu zvaném tenáza aktivující faktor X na Xa. IXa forma je také schopna za přítomnosti vápenatých iontů a fosfolipidů aktivovat faktor VII.
 - *Faktor X (Stuart-Powerové)* je považován za nejmocnějšího aktivátora. Je také schopný vazby na trombomodulin jež vede k aktivaci proteinu C.
- **Faktory citlivé k trombinu:**
 - *Faktor V (proakcelerin)* se nachází v plazmě a α -granulách trombocytů a je homologní s faktorem VIII. Může být aktivován dvěma způsoby – faktorem X či limitovanou proteolýzou trombinu.
 - *Faktor VIII (antihemolitický faktor B)* cirkuluje v plazmě ve vazbě na vWF ze které je uvolňován kontaktem s fosfolipidy nebo trombinem. V koagulační kaskádě je součástí komplexu zvaného tenáza.
 - *Faktor XI (antihemolytický faktor C)* cirkuluje v plazmě v komplexu s vysokomolekulárním kinogenem (HMWK). Proces aktivace probíhá za limitovanou proteolýzou faktoru XII, faktoru VII a trombinem v přítomnosti záporně nabitých částic. V aktivní formě je schopen aktivovat faktor XII a štěpit řetězce fibrinogenu a plazminogen na plazmin.
 - *Faktor XIII (fibrin-stabilizující faktor)*, jež je přítomný v plazmě v podobě tetrameru, anebo buňkách v podobě dimeru. Je také nazýván jako fibrin stabilizující a ve své aktivní formě katalyzuje formaci intermolekulárních vazeb mezi různými proteiny (fibrinové monomery, α_2 -antiplazmin, fibronektin aj.)

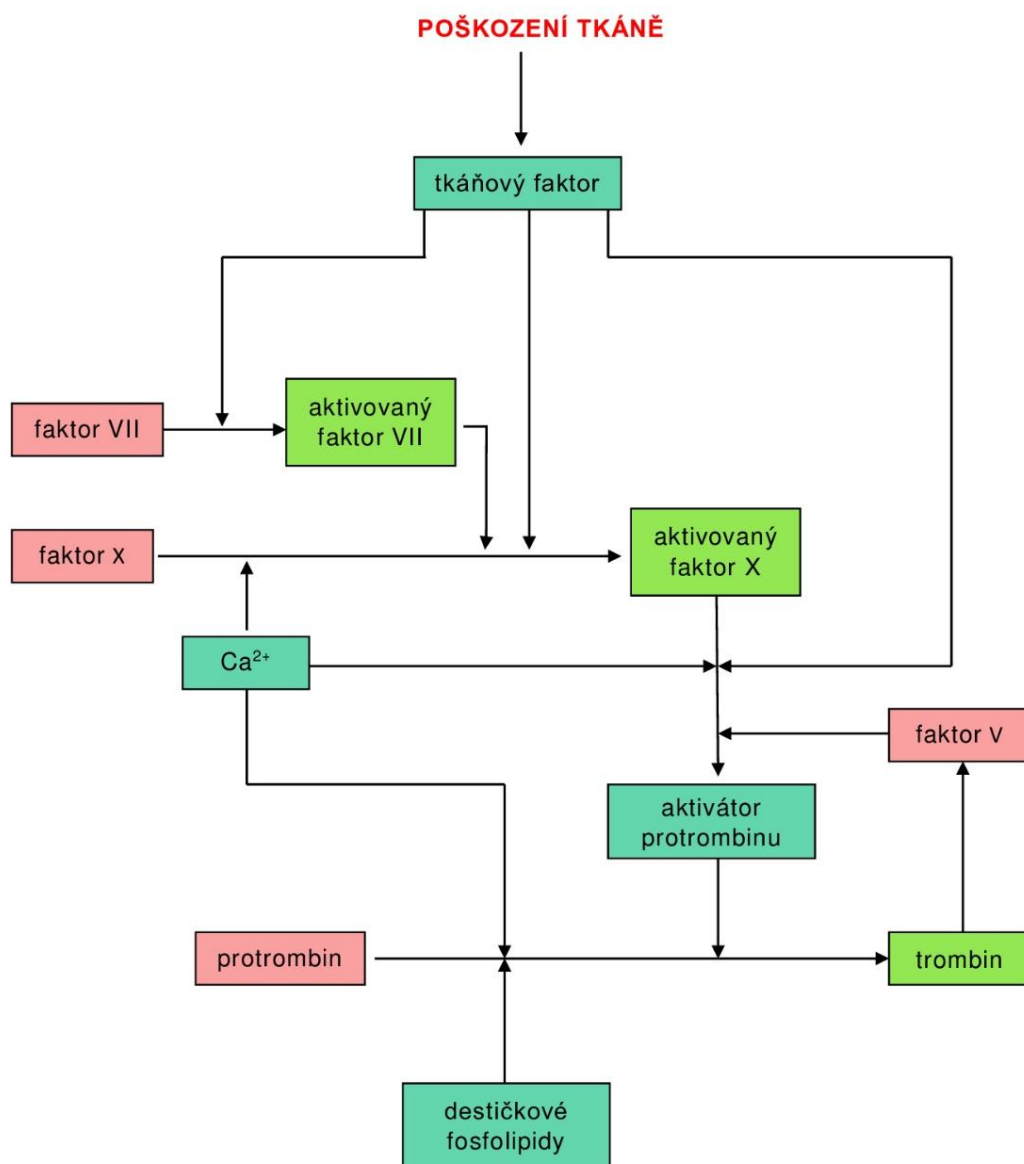
- **Faktory fáze kontaktu:**
 - *Faktor XII (Hagemanův)* je do aktivovaného stavu převeden kontaktem se subendotelovými strukturami při poranění (tzv. autoaktivace) nebo proteázami. Zásahuje také do imonologického systému.
 - *Fletcherův faktor (prekalikrein)* je gamaglobulin jež v plazmě cirkuluje díky vazbě na HMWK. Aktivace nastává díky faktoru XII.
 - *Fitzgeraldův faktor (HMWK – vysokomolekulární kininogen)* působí jako kofaktor aktivace na povrch navázaného faktoru XII kalikreinem. HMWK se také váže na trombocyty v aktivovaném stavu, buňky endotelu a neutrofilů.
- **Plazmatické a buněčné faktory:**
 - *Faktor I (fibrinogen)* se vyskytuje v plazmě a α -granulách trombocytů. Jedná se o fibrilární protein, jehož strukturu a stabilitu udržuje přítomnost vápenatých iontů. Je přeměňován dvěma způsoby a to buď štěpením trombinem na fibrin, anebo plazminem na fibrinogen degradační produkty. Podstatnou funkcí je vazba krevních destiček mezi sebou a na endotel cév díky destičkovým glykoproteinům a dalším adhezivním proteinům.
 - *Faktor III (tkáňový)* je ihned po syntetizaci plně funkční a nepotřebuje proteolytickou modifikaci k plnění své funkce. Řadíme jej mezi transmembránové glykoproteiny, jehož bílkovinná složka je úzce spojena s fosfolipidy – tato vazba je nutná pro koagulační aktivitu.

Dle aktivace faktorů dělíme hemokoagulační kaskádu dle Kittnara (2011) do tří skupin:

- Vnější hemokoagulační kaskáda.
- Vnitřní hemokoagulační kaskáda.
- Společná hemokoagulační kaskáda.

3.2.2 Vnější cesta aktivace koagulace

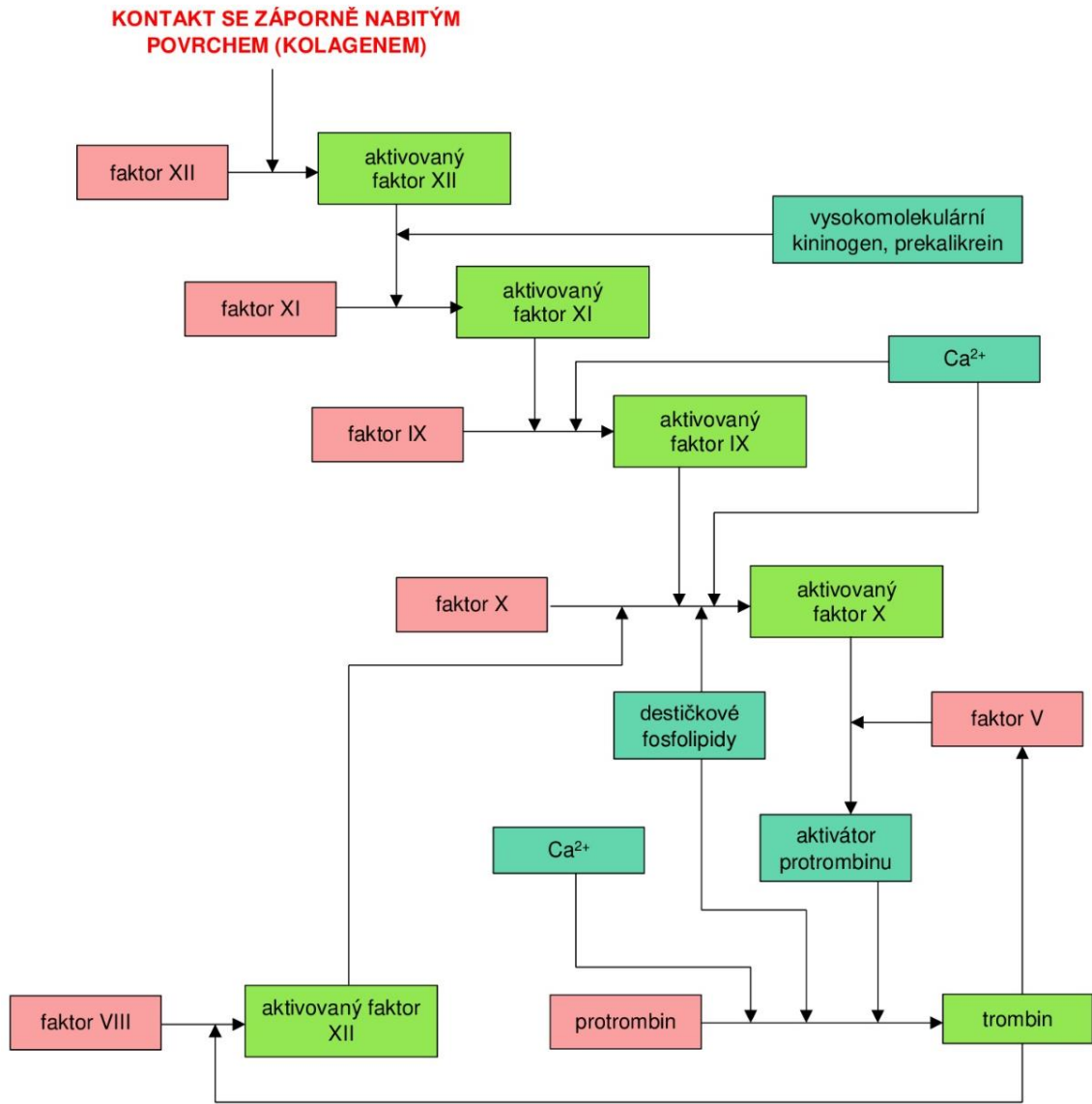
Vnější koagulační cesta přeměny protrombinu na trombin je vyvolána porušením celistvosti cév, kdy dochází k úniku krve do okolních tkání. Dochází k expozici tkáňového faktoru, jež se váže na aktivovaný faktor VII volně cirkulující v plazmě za vzniku komplexu, který aktivuje faktor X společně s faktorem V (v přítomnosti vápenatých iontů). Následně dochází k přeměně protrombinu na trombin aktivující tvorbu fibrinu z fibrinogenu. Fibrinové monomery poté polymerují a díky stabilizaci faktorem XII vzniká nerozpustný fibrin (Pecka, 2004; Kittnar, 2011).



Obrázek 5. Vnější hemokoagulační kaskáda – upraveno dle Kittnar (2011)

3.2.3 Vnitřní cesta aktivace koagulace

Během vnitřní koagulační cesty se přeměna protrombinu na trombin spouští ve fázi kontaktu, při které dochází k aktivaci faktoru XII (cestou reakce s negativně nabitým povrchem kolagenu), jež dále aktivuje faktor XI a IX za přítomnosti HMWK. Během této kaskády reakcí dochází také k zesílení vyvolávajícího efektu, který vede k aktivaci faktoru V a VII. Tenáza, vytvořená faktorem IX a VII, generuje postačující množství faktoru X, jež společně s faktorem V (v komplexu protrombinázy) konvertuje protrombin na trombin. Takto vzniklý trombinu poté aktivuje přeměnu fibrinogenu na fibrin, jehož monomery polymerují a stabilizují faktor XII (aktivovaný trombinem), což dává za vznik nerozpustného fibrinu (Pecka, 2004; Kittnar, 2011).



Obrázek 6. Vnitřní hemokoagulační cesta – upraveno dle Kittnar (2011)

3.2.4 Systém přirozených inhibitorů koagulační kaskády

Fyziologicky se v krvi vyskytuje malé množství aktivních koagulačních faktorů i ve fyziologickém stavu, a proto je nutná regulace k udržení rovnovážného stavu (množství generovaných enzymů musí odpovídat množství enzymů v inaktivním stavu).

Důležitou roli tedy v procesu hemokoagulace hrají přirozené inhibitory patřící k základním koagulačním faktorům. V organismu mají za úkol zpětnovazební mechanismus sloužící k zabránění nekontrolovatelného srážení krve společně s faktorem II, V a X (Penka & Slavíčková, 2011).

3.2.4.1 Serpiny

Serpiny jsou inhibitory serinových proteáz, jejichž komplex serpin-serinová proteáza je po uvolnění do krevního oběhu vychytávána v játrech příslušnými receptory.

Mezi serpiny dle Penky & Slavičkové (2011) řadíme:

- *Antitrombin (AT)* je proteinem akutní fáze a jehož poločas v plazmě se za patologických stavů zkracuje z obvyklých 2–3 dnů na méně než 3 hodiny. Regulace jeho syntézy je navázána na regulaci syntézy fibrinogenu. AT primárně působí na endotel a má antiproteázovou aktivitu, je tedy primárním inhibitorem trombinu, protože dochází ke tvorbě ireverzibilního komplexu s trombinem a dalšími serinovými proteázami. Sám má schopnost pomalé inhibice faktoru II, VII (za přítomnosti heparinu jako kofaktoru) a X.
- *Heparin kofaktor II (HCII)*, přítomný na cévním endotelu, specificky inhibuje trombin. Jeho účinek je urychlován heparinem (především dermatan sulfátem)
- *C1 inhibitor (C1INH)* syntetizovaný v játrech patří mezi nejmocnější inhibitory faktorů kontaktu, kdy zasahuje do systému komplementu a je také schopen inhibovat.
- *Inhibitor aktivovaného PC (PCI)* se nachází v řadě tělních tekutin a ve vazbě na heparin inhibuje řadu proteáz včetně aktivovaného proteinu C v komplexech.
- *Proteinázový inhibitor závislý na proteinu Z (ZPI)* je produkovaný játry a za přítomnosti fosfolipidů a vápenatých iontů je rychlým inhibitorem faktoru X. Bez těchto kofaktorů však dokáže za přítomnosti heparinu inhibovat funkci faktoru XI. Jeho hlavní funkcí je tedy tlumení koagulační odpovědi před vytvořením protrombinázy.
- *Protein Z (PZ)* v plazmě cirkuluje v komplexu se ZPI a patří mezi K dependentní glykoproteiny. Působí jako kofaktor při inhibici faktoru X.

Tabulka 2. Klasifikace vybraných serpinů – upraveno dle Law et al. (2006)

název	klasifikace	cílová proteáza	kofaktory
AT	SERPINC1	trombin, faktor X a IX	GAG
HCII	SERPIND1	trombin	GAG
ZPI	SERPINA10	faktor X a IX	Ca ²⁺ , PL, PZ
PCI	SERPINA5	trombin, PC, tPA	Heparin, TM

Vysvětlivky: tPA – tkáňový aktivátor plazminogenu, GAG – glykosaminoglykan, PL- fosfolipidy, PZ – protein Z

3.2.4.2 Kuniny

Jedná se o inhibitory proteáz se strukturou „Kunitzova doména“ v molekule. Mezi hlavní zástupce patří inhibitor zevní koagulační cesty (TFPI) kolující v plazmě ve vazbě na lipoproteiny o nízké hmotnosti (LDL). Přibližně 10 % TFPI je vázáno na trombocyty, jež ho po stimulaci trombinem uvolňují, následně dochází k přímé inhibici faktoru X, kdy po přidání heparinu dochází k urychlení reakce. Hlavním působkem tohoto inhibitoru je zabránění nadměrné aktivace koagulační kaskády (Penka & Slavíčková, 2011).

3.2.4.3 Protein C a jeho systém

Systém proteinu C je přirozená antikoagulační cesta, jejímž cílem je regulace tvorby sraženiny štěpením faktorů V a VIII. Jelikož systém vykazuje antikoagulační a protizánětlivé schopnosti, moduluje obranu organismu na cizí podmět, a to především během formy akutního zánětu.

Mezi systém proteinu C dle Penky & Slavíčkové (2011) řadíme:

- *Protein C (PC)* je tvořený v hepatocytech. K jeho aktivaci dochází na povrchu endotelu cév, kde jako kofaktor reakce působí receptor trombomodulin, kdy komplex trombin-trombomodulin za přítomnosti vápenatých iontů aktivuje protein C, který za přítomnosti proteinu S inaktivuje faktor V a VIII. Jeho hlavním inhibitorem je PCI a α_1 -antitripsinem.
- *Protein S (PS)* je uložen v α -granulách trombocytů a endotelu cév. Mezi jeho hlavní funkce patří podpoření vazby aktivovaného PC na fosfolipidy, kdy jako kofaktor působí pouze ve volném stavu. Také inhibuje aktivitu tkáňového faktoru s podporou neutralizace faktoru X.
- *Trombomodulin (TM)* přítomný na cévním endotelu, řadíme mezi integrální transmembránové glykoproteiny. V hemostáze působí jako kofaktor pro aktivaci PC trombinem, inhibitor proteolytického působení trombinu, a urychluje inaktivaci trombinu antitrombinem (za přítomnosti galaktozaminoglykanu).

3.3 Fibrinolytický systém

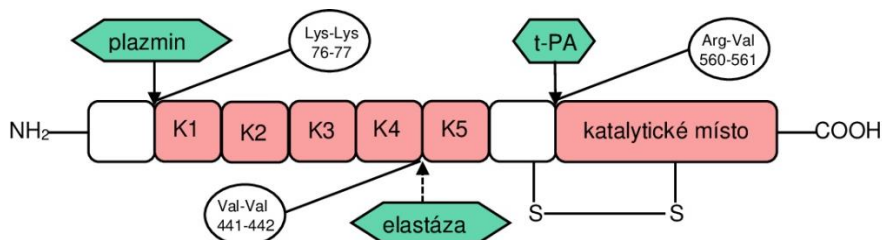
Fibrinolýza je dynamická a vysoce kontrolovaná odpověď organismu na tvorbu fibrinových depozit. Představuje síť inhibitorů a aktivátorů propojenou s řadou zpětnovazebných (pozitivních i negativních) reakcí, zajišťující přesnou regulaci rovnováhy v systému. Je také velice podobná plazmatickému koagulačnímu systému v řadě svých reakčních a aktivačních kroků. Hlavním enzymem fibrinolytického systému je plazmin vznikající štěpením plazminogenu, kdy mezi jeho aktivátory zevní cesty patří tPA v cévním řečišti a uPA (urokinázový typ plazminogenu) v extravaskulární síti. Aktivace také může proběhnout vnitřní cestou a to díky faktoru XII, HMWK a prekalikreinu.

Fibrinolýza je fyziologicky vázána na místo poranění, v koagulu je plazminogen přítomen od počátku jeho vzniku, ale je nutná jeho aktivace působením tkáňového aktivátoru uvolňujícího z poškozené tkáně, kdy následně dochází k přeměně na plazmin. Ten působí proteolyticky na krevní sraženinu a v konečné fázi je inaktivován kolujícími antiplazminy – především α_2 - antiplazminem (Pecka, 2004; Kittnar, 2011, Penka & Slavičková, 2011).

3.3.1 Plazminogen

Plazminogen patří mezi jednořetězcové glykoproteiny syntetizované v játrech ve dvou formacích – Lys- plazminogen tvořící menší molekulu a mající kratší biologický poločas rozpadu, a Gly- plazminogen. Jeho bílkovinový řetězec sestává z 790 aminokyselin a dvou cukerných složek. Je schopen vazby na povrchy nejrůznějších buněk včetně endotelu. V plazmě se vyskytuje v částečné vazbě na histidin-bohaté glykoproteiny.

Lidský plazminogen je tvořen 5 „Kringle“ doménami spojených disulfidickými vazbami obsahující afinitní místa pro vazbu lysinu, jež jsou důležité pro jeho interakci s fibrinem a α_2 - antiplazminem. Dále také obsahuje proteázové místo a peptidy s koncovou aminoskupinou (Pecka, 2004; Penka & Slavičková, 2011).



Obrázek 7. Struktura plazminogenu – upraveno dle Pecka (2004)

Vysvětlivky: K1 – K5 ... Kringle domény

3.3.1.1 Aktivátory plazminogenu

Jak je již výše zmíněno, přeměna plazminogenu na plazmin může být provedena vnitřní a vnější cestou.

Mezi aktivátory plazminogenu dle Pecky (2004) a Penky & Slavíčkové (2011) patří:

- *Tkáňový aktivátor plazminogenu* je syntetizován především endotelem cév ale i monocyty a megakaryocyty. Jeho uvolnění z endoteliálních buněk je díky vlivu trombinu, PC, histaminu, bradykininu či interleukinů. Koncentrace plazminogenu je zvyšována po žilní okluzi ale i při stresové reakci, kdy dochází k uvolnění katecholaminu a vazopresinu.
- *Urokinázový aktivátor plazminogenu* cirkuluje v plazmě samostatně a je uvolňován řadou buněk včetně endoteliálních. Jeho hlavní funkcí je štěpení extracelulárního matrix, čímž umožňuje migraci buněk důležitou v procesech hojení, zánětu, embryogenezi aj.

3.3.2 Plazmin

Plazmin je proteolytický enzym o nízké specifitě, jež krom fibrinu štěpí i další proteiny koagulačního systému jako je fibrinogen, koagulační faktor II, V a VIII, glykoprotein Ib, vWF a trombospondin. Plazmin také stimuluje agregaci trombocytů či aktivovat části komplementu. Nachází se ve třech formacích, kdy je lehký řetězec ve všech strukturách stejný a těžký řetězec se liší dle místa štěpení molekuly.

Plazmin zajišťuje rozpuštění krevního koagula a je ze systému vyvazován příslušnými inhibitory, kdy je posléze v neaktivní formě vychytáván monocytomakrofágovým systémem (Pecka, 2004).

3.3.3 Inhibitory fibrinolýzy

Mezi nejdůležitější inhibitory fibrinového systému patří α_2 -antiplazmin a inhibitory aktivátoru plazminogenu (PAI). A_2 -antiplazmin je glykoprotein tvořený v játrech, vyskytující se v plazmě v nadbytku, čímž je schopen okamžité reakce s volným plazminem, kdy dochází k jeho kompetici s fibrinem o volné lyzinové místo plazminu. V procesu srážení je pomocí faktoru XIII navázán na α - řetězec fibrinu za vzniku neaktivního komplexu.

PAI je řazen mezi serpiny a rozlišujeme tři typy: PAI-1, PAI-2 a PAI-3 (viz tabulka 3). Největší množství PAI-1 je obsažen v trombocytech (přesněji α -granulách), a jeho aktivita stoupá s přibývajícím věkem. PAI-2 syntetizovaný histiocyty, placentou a monocyty/makrofágy je naopak v plazmě pouze ve stopovém množství.

Dalším důležitým inhibítozem fibrinolýzy je také TAFI (inhibitor fibrinolýzy aktivovaný trombinem) jež řadíme mezi proenzymy syntetizované v játrech. Po jeho aktivaci trombinem dochází k odštěpení ze substrátu C-terminální aminokyseliny lyzin a arginin, představující vazebná místa pro tPA a plazminogen čímž dochází k blokaci vazby na fibrin. Výsledkem je tedy snížení fibrinolytického potenciálu (Penka & Slavíčková, 2011).

Tabulka 3. Místo výskytu inhibitorů aktivátorů plazminogenu

název	místo výskytu
PAI-1	endotel, hepatocyty, adipocyty, buňky hladkých svalů, trombocyty
PAI-2	leukocyty, placenta
PAI-3	identické s inhibítozem PC

4 PATOFYZIOLOGIE KARDIOVASKULÁRNÍHO SYSTÉMU

Abychom porozuměli patofyziologickým procesům kardiovaskulární soustavy, je důležitá nejen znalost příčin nemocí srdce a cév, ale i podíl účasti krevních elementů na těchto procesech. Trombocyty jsou zde základním elementem a pro organismus jsou také jedním z nejdůležitějších induktorů hemostázy a tvorby trombu. Díky tomu patří k jejich biologické výbavě mechanismy a buněčné látky, zprostředkovávající změnu tvaru trombocytů, adhezi k různým povrchům, následnou schopnost agregace a uvolňovací reakce.

V České republice je úmrtnost na kardiovaskulární choroby jednou z nejvyšších na světě a přibližuje se k 53 % všech úmrtí. Mezi faktory zvyšující riziko tohoto onemocnění zahrnujeme kouření, diabetes melitus, hypertenze, hyperlipidémie a zvýšená hladina cholesterolu (> 6,2 mmol/l) (Matýšková & Hrachovinová, 1999; Nosál & Jančicová, 1990; Povýšil & Šteiner, 2007).

V patofyziologii oběhové řečiťe rozlišujeme urgentní (invazivní) stavy a chronické, kterými se v této diplomové práci nadále zabývat nebudeme. Při nedostatečně efektivní léčbě trombotického uzávěru je nutné přejít k řešení pomocí invazivních metod.

4.1 Kardiochirurgické řešení

Převážná většina kardiochirurgických operací probíhá s použitím přístroje pro mimotělní oběh, který vedle dočasné náhrady srdce a plic slouží také jako autotransfuzní přístroj. Jako jednu z nejpoužívanějších metod považujeme koronární bypass neboli přemostění zúženého nebo uzavřeného úseku tepny za účelem obnovení perfuze tkáně pro srdeční sval, přičemž dochází ke snížení rizika náhlého úmrtí (infarkt myokardu), které je jednou z nejzávažnějších komplikací (Wagner, 2009).

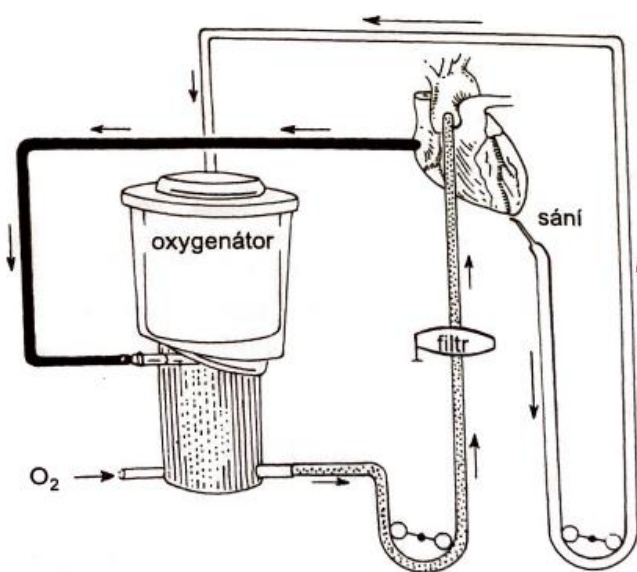
4.2 Mimetělní oběh

Zavedením mimotělního oběhu (MTO) do léčby získaných a vrozených srdečních vad se dostalo chirurgům možnosti operace na otevřeném srdci. Jedná se o bezkrevné (nikoli absolutně) a stacionární operační pole, jež chirurg získá dočasným odkloněním cirkulace krve od srdce a plic. MTO taktéž slouží jako autotransfuzní zařízení, jelikož je veškerá krev z chirurgického pole nasávána zpět, kde probíhá její filtrace a následný návrat do hlavního venózního systému. Mimetělní oběh po dobu operace nahrazuje plíce a srdce tím, že je zajišťována tkáňová perfuze zahrnující výměnu plynů a udržující teplotu těla podle specifických požadavků daných typem onemocnění či požadavků chirurga (Vaněk, 2002; Wagner, 2009).

4.2.1 Základní uspořádání MTO

Venózní krev je derivována gravitací dvěma kanylami, které jsou zavedeny do horní a dolní duté žíly, anebo pravé síně, odkud odtéká do mechanické pumpy a přes výměník tepla do oxygenátoru. Odkysličená krev je poté přečerpávána zpět do tepenného systému kanylou zavedenou do vzestupné aorty či stehenní tepny, pokud je centrální kanylace obtížná (jedná se o reoperace, zákrocích na ascendentní aortě nebo při minimálně invazivních operacích). Součástí MTO je vedle hlavních součástí také klapka regulující žilní návrat z pacienta, kardiotoracké sání, zajišťující odsávání krve a vzduchu z otevřených srdečních dutin, kořene aorty, levostranných srdečních oddílů (dekomprese srdce) a u perioperačního pole. Tato krev je nejprve shromažďována v rezervoáru s filtrem zachycující tkáňový detritus, tromby a kalcifikace (tedy vše, jež může způsobit případnou embolizaci), taktéž zde dochází ke zbavení volně rozpuštěných vzduchových bublin.

Krev odtékající z perioperačního pole může být zpracována, anebo rekuperována pomocí koncentrátoru či centrifugy (Cell Saver), než se vrátí zpět do MTO (Vaněk, 2002; Wagner, 2009).



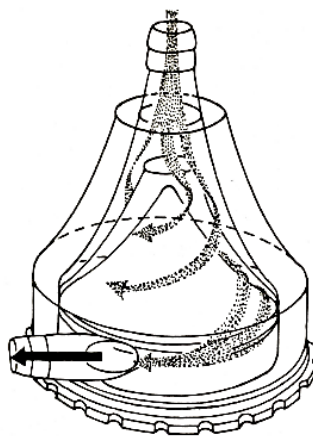
Obrázek 8. Schéma přístroje pro mimotělní oběh – převzato od Vaněk (2002)

4.2.1.1 Čerpadla

Mezi nejběžněji používaná čerpadla pro MTO patří rotační čerpadlo, jež se sestává z hadice, která je komprimována dvěma otáčejícími válečky, jež tak vytlačují krev ven. Objem, který tudy protéká je dán objemem hadice a počtem otáček. Při průtoku také dochází k poškozování krevních elementů, a to zejména erytrocytů.

Dále jsou také používány centrifugační čerpadla pracující na zcela odlišném principu. Jejich základem je plastový kónus, jež rychlým otáčením reguluje tlak uvádějící krev do pohybu.

Na rozdíl od rotačního čerpadla se jedná o neokluzivní typ, jehož výkon závisí především na objemu krve zde přitékající, periferní resistenci a otáčkách kónusu. Mezi přednosti patří téměř nulové riziko vzduchových embolií, menší poškození krevních elementů i menší aktivace komplementu. Bohužel jsou v běžné kardiouchirurgii využívány výjimečně z ekonomického důvodu (Sarkar & Prabhu, 2017; Vaněk, 2002).



Obrázek 9. Schéma centrifugačního čerpadla, – převzato od Vaněk (2002)

4.2.1.2 Oxygenátory

Všechny oxygenátory pracují na téměř stejném principu, kdy se jedná o výměnu plynů (O_2 a CO_2) ve směru tlakového gradientu, jež odpovídá fyzikálním zákonům. Mezi nejčastěji používané patří bublinové a membránové oxygenátory.

Bublinové oxygenátory jsou dnes již méně využívány a jejich princip spočívá v tom, že je kyslík vpravován v podobě mikrobublin do krve a k výměně plynů dochází na jejich povrchu. Mají však řadu nevýhod, mezi které patří pění krve při vpravování kyslíku, čímž vzrůstá riziko vzniku mikroembolií, a také denaturace plazmatických bílkovin či časové omezení použití oxygenátoru – pokud je spuštěn déle jak dvě hodiny, stoupá frekvence komplikací zahrnující úmrtí v pooperačním průběhu.

Membránové oxygenátory jsou dnes převažující skupinou, jelikož napodobují výměnu plynů, jaká je provázena v plicích. Krev i kyslík jsou od sebe odděleny membránou, nejčastěji polypropylenovou či silikonovou s nepravidelně uspořádanými póry ve stěně. Výměna plynů je prováděna dle tlakového spádu přes póry, jež nejsou za normálních okolností propustné pro tekutinu. Oxygenátor je ventilován 100% kyslíkem, aby se dosáhlo maximální tlakové difference pro difuzi kyslíku a to bez toxického efektu. Vysoký průtok plynů tak způsobuje „vymytí“ CO_2 čímž je zajištěna výměna plynů. Při použití polypropylenové membrány je bezpečná doba užití okolo šesti hodin, zatímco u silikonových je doba použití neomezená (Sarkar & Prabhu, 2017; Vaněk, 2002).

4.2.1.3 Výměník tepla

Jedná se o součást oxygenátoru skládající se ze soustavy trubic, ve kterých proudí teplá či studená voda. Tyto trubice jsou obtékány krví, jež je schopna absorbovat teplo, nebo naopak teplo předávat, přičemž rychlost ochlazování těla není řízena žádnými pravidly oproti rychlosti ohřevu, jež má u operovaného významná omezení. Teplota vody tak nesmí přesáhnout hodnotu 42 °C, protože je zvyšováno nebezpečí denaturace plazmatických bílkovin, a rozdíl teploty krve a vody nesmí přesáhnout 10 °C, protože se vzestupem teploty dochází k poklesu rozpustnosti plynů a hrozí tak nebezpečí mikroembolií a to zejména v oblasti mozku (Vaněk, 2002).

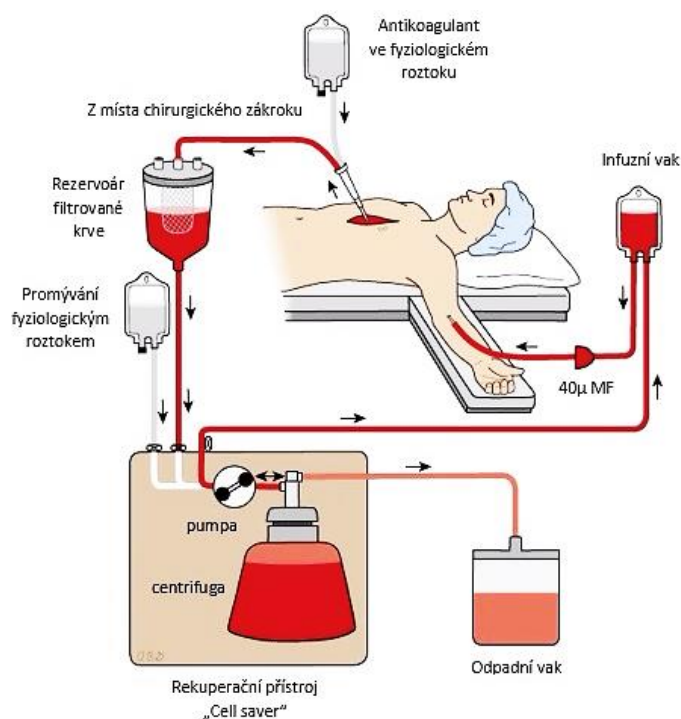
4.2.1.4 Náplň přístroje pro mimotělní oběh

Při MTO bývá používána plně heparinizovaná krev. Jedná se však o nepraktický postup, kdy byla krev odebírána od dárců v den operace, přičemž je téměř vylučován akutní chirurgický výkon. Použití této krve mělo i další závažné důsledky jak v časném období (hypotenze, hemolýza, vzestup viskozity), tak i dlouhodobé v podobě hepatitid.

Jelikož bývají kardiochirurgické úkony s použitím MTO často akutní, bylo nutné využití krystaloidních nebo koloidních roztoků. Poklesem hematokritu (jedná se o podíl erytrocytů ku plné krvi) a tedy i viskozity, došlo ke zlepšení průtoku krve tkáněmi a zlepšení žilního návratu, čímž došlo k eliminaci vlivu hypotermie na cirkulaci. Za optimální hodnotu je zde považován pokles hematokritu na 25 %, přičemž i pokles na 20 % je organismem dobře tolerován (Vaněk, 2002).

4.2.1.5 Cell Saver

Tento rekuperační přístroj je využíván během výkonů, při kterých by se krev za jiných okolností stávala odpadem. Slouží k shromažďování krve z operačního pole, kterou posléze obohacuje antikoagulační přísadou a filtruje. Po naplnění zásobníku je krev pumpou přečerpána do centrifugy, kde se odstřeďuje a posléze promývána fyziologickým roztokem. Získaná suspenze erytrocytů má hodnotu hematokritu 0,45 s příměsí leukocytů a trombocytů. Je nutné, aby retransfuze do těla pacienta proběhla nejpozději do 6 hodin od započetí operace (Qin et al., 2016).



Obrázek 10. Schéma operace při použití přístroje Cell Saver – upraveno dle www.caseoftheday.cz

4.2.2 Použití heparinu u MTO

Použití heparinu při mimotělním oběhu je absolutní podmínkou. Je podáván ještě před zavedením kanyl do jednotlivých venózních systémů.

Heparin má krátký poločas rozpadu a je tedy vylučován z organismu exponenciálně. Jeho účinek je u jednotlivých pacientů variabilní, proto je nutné účinnost heparinu v průběhu operace sledovat. Mezi nejpoužívanější metodu patří sledování activated clotting time (ACT), sledující antikoagulační účinky vysokodávkovaných přípravků. Dochází k měření času v sekundách, potřebného ke srážení celé krve po expozici aktivátoru vnitřní dráhy přidáním aktivátorů faktoru XII.

Po ukončení MTO a odstranění kanyl, je heparin neutralizován protaminem, přičemž tento děj není zcela nikdy bez komplikací. Mezi nejčastější reakce patří hypotenze (tj. nízký tlak), anebo anafylaktická reakce (tj. akutní alergická reakce na podkladě imunopatologické reakce I. typu), jež může mít i tragické důsledky (Vaněk, 2002; Wagner, 2009; Penka & Slavičková, 2011).

4.2.3 Fyziologie MTO

Fyziologie mimotělního oběhu se kvalitativně neliší od normální intaktní hemodynamiky. Průtok MTO je ekvivalentní srdečnímu výdeji a dodávka kyslíku se rovná součinu obsahu kyslíku v krvi a průtoku. Mezi základní determinanty, se kterými je pracováno během mimotělního oběhu je na jedné straně průtok, tlak, koncentrace hemoglobinu a jeho saturace kyslíkem, a na druhé straně spotřeba kyslíku (Wagner, 2009).

4.2.3.1 Náplň mimotělního oběhu a hemodiluce

Přístroj pro MTO může být naplněn krví, bezkrevní krystaloidní náplní nebo směsí obou předchozích. V dnešní době je okruh naplňován 1 500 až 2 000 ml, což odpovídá asi 35 % intravaskulárního objemu (mimo cév) u 70 kg pacienta. Určitá diluce (zředění krve) je pro reologii výhodná, přičemž vysoká diluce snižuje viskozitu krve a dodávku kyslíku do organismu. Jako bezpečný spodní hranice je považována hodnota hematokritu 20–25 % pro střední hypotermii.

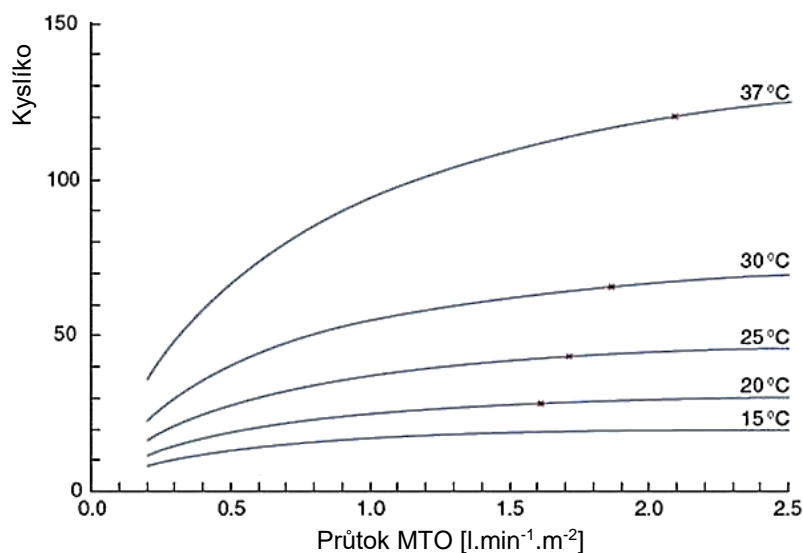
Často se vyskytující problém hemodiluce je možné řešit několika způsoby, a to nízkým plicním objemem okruhu, tím se rozumí krátké a tenké hadice, či venózním sáním a tolerance nižší hladiny ve venózním rezervoáru. Mezi účinné opatření také patří tzv. autologní plicní technika, jež spočívá ve vytlačení části náplně venózní krví mimo okruh při zahájení MTO, přičemž je možné dostat mimo cirkulaci přibližně 700 ml původní náplně, čímž dojde k zamezení skokového poklesu viskozity krve (Wagner, 2009).

4.2.3.2 Nastavení parametrů hemodynamiky

Základní strategie vedení MTO je předmětem různých pohledů. Podstatou je odolnost organismu vůči oběhovému šoku, jež je individuální a má svoje limity. Mezi hlavní faktory ovlivňující nastavení parametrů patří průtok neboli perfuze, jehož normální hodnota pro použití je 80 ml/kg/min přičemž byly také provedeny úspěšné výkony s průtokem nižším.

Současný princip nastavení průtoku je založený na fyziologických měřeních na psech a zdravých mladých dobrovolnících. V souvislosti s pokrokem, jež vedl ke zmenšení plicního objemu, byla odzkoušena metoda bezkrevní náplně MTO, kde se ale objevil problém s poklesem kyslíku vzniklý hemodilucí, jež byl vyřešen snížením jeho spotřeby hypotermií. Při volbě optimální kompenzace dodávky kyslíku do organismu vedle sebe nalézáme dva faktory, a to koncentrace hemoglobinu (Hb) a průtok.

Jako jediné omezení MTO je považována ztráta pulzního toku na který organizmus reaguje změnou mikrocirkulace (zlepšující tranzit červených krvinek, kapilární perfuzi a pomáhající i při lymfatické drenáži) a makrocirkulace (Vaněk, 2002; Wagner, 2009).



Obrázek 11. Normogram orientačního nastavení průtoku MTO z hlediska spotřeby kyslíku při různých teplotách – upraveno dle Kirklin & Barratt-Boyes (1993)

4.2.3.3 Hypotermie

Hypotermie neboli snížení teploty, je prostředek snížení spotřeby kyslíku, jež umožňuje krátkodobou zástavu srdce spjatou s provedením zákroku. Tento stav chrání tělo, tedy především mozek, před hypoxií při hraničních hemodynamických parametrech daných hemodilucí a hraniční perfuzí. Vedle tohoto hlavního mechanismu je také uplatňováno snížené uvolňování neurotransmiterů v mozku (glutamát), jež mají toxický charakter pro neurony, jelikož aktivuje kaskádu enzymů (kaspáz), navozujících apoptickou smrt buněk. Obecně je však známo, že hypotermie ovlivňuje zpomalením enzymů, což je sice výhodné pro snížení metabolismu ale nevýhodné pro koagulaci v plazmě.

Vliv teploty na metabolickou aktivitu je charakterizován tzv. teplotním koeficientem, odpovídajícím poměru metabolické rychlosti a určité tkáně při dvou teplotách, mezi kterými je rozdíl 10 °C. Čím je tato hodnota vyšší, tím hlubší je pak pokles metabolismu, přičemž tento vztah odpovídá spíše exponenciálním požadavkům než lineárním.

Hypotermie také vede ke snížení tkáňové perfuze a zvýšení viskozity krve, která je spjata s orgánovými komplikacemi během či po operačním výkonu a také je závislá na množství hemoglobinu.

Při snížení teploty organismu dochází ke zvýšené rozpustnosti kyslíku a oxidu uhličitého. S tím je spjat pokles jejich parciálních tlaků a také vzestup pH krve, jež vyvolává obraz respirační alkalózy. Pro předejití tohoto stavu byla vynalezena pH-strategie, při které byl přidáván CO₂ do oxygenátoru, a nebo alfa-stat teorie, jejíž podstatou je udržování normálního transmembránového pH gradientu v buňkách při teplotních fluktuacích (Wagner, 2009).

4.2.4 Patofyziologie MTO

Mimotělní oběh přináší pro tělo také negativní účinky, na které je kladen velký důraz při samotné operaci nebo po jeho ukončení.

4.2.4.1 Systémová odpověď organismu

SIRS neboli systémová odpověď organismu, je interpretována jako reakce na protahovaný kontakt krve s neendotelovými povrchy mimotělního oběhu, plynem a porušenou tkání při operaci. Primárně bývá lokalizovaná v místě poškození, ale může se projevit i jako extendovaná po celém organismu.

Za klíčový moment je považována interakce aktivovaných endotelových buněk s bílými krvinkami a krevními destičkami, jež vede ke ztrátě soudržnosti cév, se kterou je spjat únik cirkulující tekutiny a translokace aktivovaných leukocytů do tkání (Sarkar & Prabhu, 2017; Wagner, 2009).

Míra inflamační reakce, je kontrolována v zásadě třemi způsoby:

- *Vývoj materiálu, jež méně aktivují nespecifickou či získanou imunitu organismu:* membránové oxygenátory, centrifugální pumpa a heparinizace povrchů.
- *Dočasná inhibice iniciačních segmentů nespecifické obrany:* inhibitory destičkových funkcí, inhibice neutrofilů (projev apoptické smrti), kortikoidy a proteázové inhibitory.
- *Dočasná kvantitativní redukce krevních obranných systémů:* pomocí separačních technik, jako je separace či filtrace leukocytů, trombocytů a plazmatických systémů.

4.2.4.2 Porucha mikrocirkulace během MTO

Poruchu mikrocirkulace během operace s mimotělním oběhem není dodnes zcela objasněna, avšak závisí na několika faktorech, mezi které patří převaha vazokonstrikčních faktorů (angiotenzin, endotelin, vazopresin a katecholaminy) nad vazodilatačními (prostaglandiny a oxid uhličitý), zvýšená tuhost červenýchrvinek a mikroembolizace tukovými kapkami či vzduchem.

Je tedy nutné během výkonu podávání vazodilatancí, mírné hemodiluce a manitolu jež předcházejí tomuto problému (Wagner, 2009).

4.2.4.3 Biokompatibilita vnitřního povrchu

Biokompatibilita vnitřního povrchu okruhu pro mimotělní oběh souvisí s vývojem biomateriálů, jež mají vlastnosti endotelu a dochází tak ke snížení nežádoucích patologických stavů během operace, jako je výše zmíněné SIRS či aktivace koagulačního systému. Mezi nejpoužívanější modifikace povrchu patří heparinizace vnitřního okruhu, jehož principem je přidávání kopolymerů do biomateriálů, z nichž jsou vyráběny hadice pro MTO a aditivy modifikované povrchy.

Díky vývoji těchto materiálů bylo sníženo množství podávaných transfuzí během operačního výkonu a také následné zkrácení pobytu pacienta na jednotce intenzivní péče (Wagner, 2009).

4.2.4.4 Změny hemostázy

Důsledkem hemodiluce náplní MTO dochází k nerovnoměrnému poklesu hladiny koagulačních faktorů v krevní plazmě. Především se bavíme o poklesu faktoru V a fibrinogenu, jež je absorbován na vnitřní povrch mimotělního oběhu. Plazmatické faktory také podléhají denaturaci (strukturální změně), a to především díky oxygenátoru, kontaktu se vzduchem a odsáváním krve z operačního pole.

Také dochází k poklesu trombocytů v důsledku hemodiluce a adheze na fibrinogenem potažený povrch MTO. Početní pokles však nedosahuje hodnot, jež by vysvětloval hemostatický defekt, významnější je tedy porucha destičkových funkcí, která se projevuje jako prodloužení času krvácení v závislosti na délce mimotělního oběhu. Destičky tedy jeví pouze částečnou aktivaci se ztrátou alfa-granulí a glykoproteinových receptorů Ib, IIb/IIIa (Cheng, 1998; Berendes et al., 2003; Wagner, 2009).

Tabulka 4. Hemostatické abnormality během srdeční operace v MTO – upraveno dle Wagner (2009)

plazmatické faktory	trombocytární faktory
Pokles denaturace koagulačních faktorů	Trombocytopenie
Pokles fyziologických inhibitorů (ATIII, proteinu C, proteinu S)	Trombocytopenie (aktivace/desenzitizace) Snížená reaktivita destiček (degranulace)
Pokles inhibitorů fibrinolýzy (PAI, α_2 -antiplasmin)	Pokles povrchu receptorů pro vWF a fibrinogen (Ib, IIb/IIIa)
Primární fibrinolýza	Hypotermie
Diseminovaná intravaskulární koagulace	Protaminem vyvolaná dysfunkce/inhibice

5 STATISTICKÉ HODNOCENÍ

Pro vyhodnocení hodnot naměřených u vyšetřovaných skupin pacientů byl použit Mann–Whitney U test, jež se řadí mezi neparametrické statistické metody. Tyto testy jsou používány při statistickém porovnávání dat, u kterých není možný předpoklad normálního rozdělení pravděpodobnosti sledovaného znaku. Jsou založeny na testování nulové hypotézy týkající se pouze obecných vlastností rozdělení sledované veličiny ve statistických souborech (rozdělení v porovnávaných souborech dat, shoda tvaru křivky).

Mann–Whitneyův test se používá při hodnocení nepárových pokusů, tedy když porovnáme dvě různé výběrové skupiny (A , B). Dochází k testování hypotézy, že veličina X , odpovídající skupině „ A “ a veličina Y odpovídající skupině „ B “ mají totéž rozdělení pravděpodobnosti. Přitom veličiny X a Y nemusí odpovídat Gaussovu normálnímu rozdělení, kdy náhodná veličina X má v celém základním souboru normální rozdělení závislé na parametru střední hodnoty a směrodatné odchylky charakterizující variabilitu náhodné veličiny X (Bedáňová & Večerek, 2007).

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6 MATERIÁL A METODY

6.1 Chemikálie

Agregometrické stanovení:

- *Adenosindifosfát* – ADP (HYPHEN BioMed: Neuville-sur-Oise, Francie; konečná koncentrace 200 μ M)
- *Epinefrin* – *EPI* (HYPHEN BioMed: Neuville-sur-Oise, Francie; konečná koncentrace 1 mM)
- *Kolagen* – *KOL* (HYPHEN biomed, Neuville-sur-Oise, Francie; konečná koncentrace 10 μ g/ml)
- *Ristocetin* – *RISTO* (Helena Biosciences Europe: Gateshead, Velká Británie; konečná koncentrace 1,5 mg/ml)

Trombigenační test:

- *Ceveron*[®] *TGA Reagent RC Low* – 5 pM rekombinantní lidský tkáňový faktor s nízkou koncentrací fosfolipidových micel, pufr Tris-Hepes-NaCl (Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH: Vídeň, Rakousko; konečný objem 1 ml)
- *Ceveron*[®] *TGA Substrate* – 1 mM fluorogenní peptidový substrát Z-Gly-Gly-Arg-AMC (Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH: Vídeň, Rakousko; konečný objem 3 ml)
- *Ceveron*[®] *TGA Reaction Buffer* – Tris-Hepes-NaCl pufr, hovězí sérový albumin (Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH: Vídeň, Rakousko; konečný objem 1 ml)
- *CaCl₂* (Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH: Vídeň, Rakousko; konečná koncentrace 25 mM)

6.2 Materiál a přístrojová technika

- Plazma bohatá na krevní destičky
- Plazma chudá na krevní destičky
- Agregometr Apact 4004 (LABiTec, Ahrensburg, Německo)
- Vakuové zkumavky (3,8% citrát sodný, Greiner Bio-one, Kremsmünster, Rakousko)
- Jednorázové mikrokyvety s míchadélkem pro agregometrii (LABiTec, Ahrensburg, Německo)
- Pipety a příslušné špičky (Eppendorf AG, Hamburk, Německo)
- Plazmaexpresor (Trigon-plus: Říčany u Prahy, Česká republika, vysokorychlostní rotor – AB 50.10A)
- Analyzátor Ceveron® Alpha (Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH: Vídeň, Rakousko)
- Jednorázové kyvety pro TGT (Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH: Vídeň, Rakousko)
- Biologický termostat BT 120 (LAB systém)
- Mrazící boxy (-20°C, -80°C), lednice (4-8°C)

6.3 Použité metody

6.3.1 Odběr a zpracování krve

Odběr krve probíhá za určitých standardních podmínek zajišťujících jistou objektivitu. V případě odběru pro hematologické vyšetření je třeba, aby byl proveden zpravidla ráno na lačno, kvůli značným výkyvům počtů krvinek a jednotlivých látek v plazmě.

Nejčastěji je krev lékařem odebírána z *vena cubitalis* v pažní části ruky do umělohmotné nebo silikonované skleněné zkumavky obsahující citrát sodný, jehož poměr s krví je roven 1:10. Po samotném odběru je nutné, aby došlo k promíchání obsahu uvnitř zkumavky, a to převrácením dnem vzhůru o počtu 5-7krát (krví nesmí být třepáno – kvůli traumatizaci buněk, a ani se promíchání nesmí zanedbat – může dojít k částečné aktivaci hemostatických procesů). Poté je vzorek přepraven do laboratoří, kde je nutné jeho zpracování do 2 hodin od samotného odběru, aby bylo možné výsledky považovat za relevantní (Pecka & Bláha, 2010).

V laboratoři je následně označený biologický vzorek připravován pro jednotlivá hematologická vyšetření, jež dle Pecky & Bláhy (2010) dělíme dle typů plazmy na:

- *Citrátová plazma chudá na obsah krevních destiček (PPP):*
 1. Koagulační vyšetření – citrátová krev je zcentrifugována při 2000-2500 g po dobu 10 minut. Dochází tak k oddělení PPP od usazených krvinek, jež je možné použít k bezprostřednímu vyšetření, či k uchování při teplotách -60 až -80 °C pro pozdější použití.
 2. Stanovení funkce krevních destiček – opět probíhá centrifugace za standardních podmínek, kdy by počet destiček v PPP neměl přesahovat množství $20 \cdot 10^8/l$.
- *Citrátová plazma bohatá na obsah krevních destiček (PRP):*
 - Odebraná krev je promísena jemným převrácením zkumavky a následně probíhá centrifugace při 250 g po dobu 10 minut. Poté je PRP stažena do nové označené zkumavky, kde počet trombocytů přesahuje hodnotu $100 \cdot 10^9/l$.
- *Bezdestičková plazma:* používá se dvojnásobná centrifugace.
 - První probíhá při 3 000 g po dobu 10 minut, poté je plazma přenesena do nové zkumavky a opět centrifugována při stejných podmínkách. Takto připravená plazma je především vhodná pro stanovení protilátek typu lupus antikoagulans.

6.3.2 Laboratorní stanovení

V hematologické laboratoři je prováděna celá řada vyšetření, jež mají odhalit jak příčinu krvácení, tak příčinu trombózy. Zásadním krokem je však správný oděr a následná preanalytická fáze hematologických vyšetření.

Podle samotného principu stanovení tak dělíme laboratorní testy na:

- *Fotometrické* – principem je stanovení intenzity zbarvení, které vzniká jako důsledek štěpení specifického chromogenního substrátu, měřeného pomocí spektrofotometrů.
- *Koagulační* – základem je měření času potřebného k vytvoření koagula od momentu přidání reagensie k vyšetřované plazmě. Analýzu je možné provádět jak manuálně, tak pomocí koagulometrů.
- *Imunologické* – založeny na reakci mezi antigenem a protilátkou. Mezi nejčastěji používané patří enzymové imunometody či elektroimunodifuze.
- *Nefelometrické* – neboli zákalové testy, jsou založené na světle, jež je odražené od koloidních částic obsažených v plazmě. Dochází tedy k měření vzniklého zákalu po vytvoření koagula nebo po agregaci trombocytů (Dobrotová, 2006).

6.3.3 Agregometrie

Vzájemné shlukování krevních destiček (agregace) následuje buď ihned po adhezi, anebo po přímém působení řady induktorů (ADP, kolagen, kyselina arachidonová aj.) na receptory trombocytů. Laboratorně lze tento děj sledovat pomocí agregometrů, kdy se využívá plazma bohatá na krevní destičky či plná krev. Nejčastěji je využíváno dvou metod – *spontánní* (samovolná) agregace, jež nastává bez přidání induktorů, a *stimulovaná* (Pecka & Bláha, 2010).

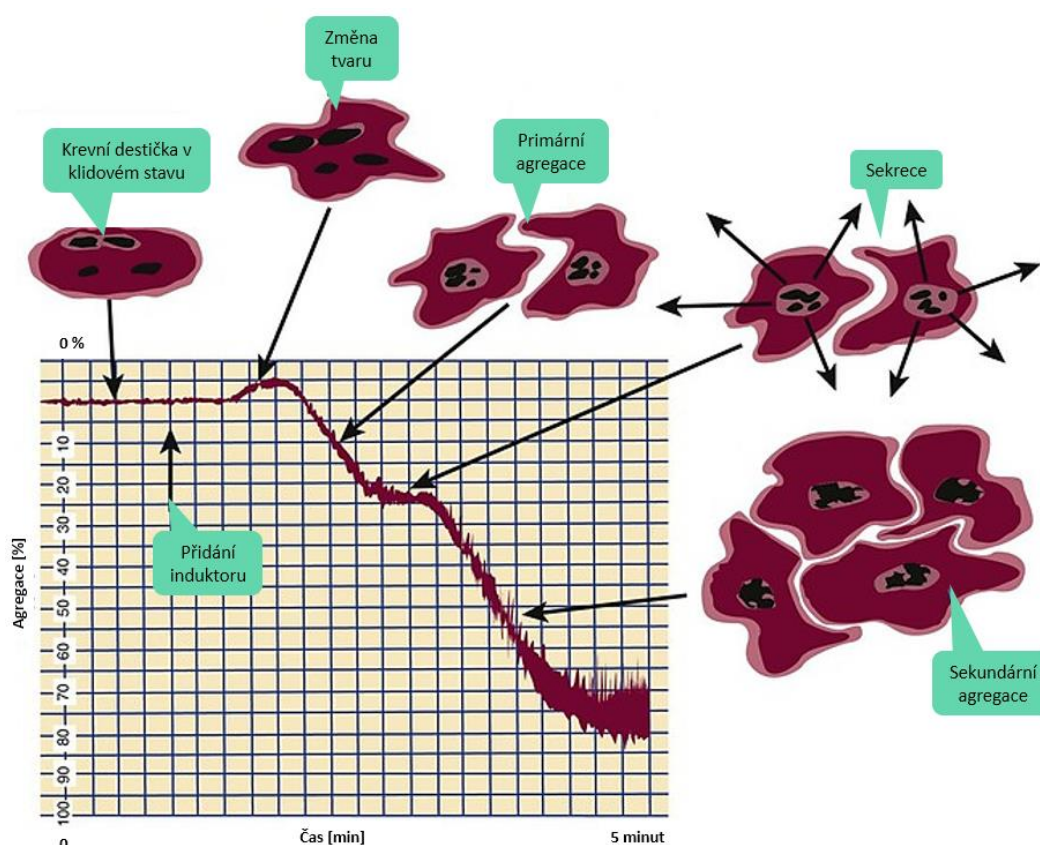
Mezi nejčastěji využívané přístroje patří optické agregometry, které mohou být napojené na záznamový přístroj, na kterém je vyhotovena agregační křivka odpovídající probíhajícímu agregačnímu ději. Podle Pecka & Bláha (2010) lze z této křivky odvodit tyto parametry:

- *Maximální sklon (m_s)* – odpovídá rychlosti nárůstu transmise světla v důsledku tvorby agregátů trombocytů.
- *Maximální amplituda (m_a)* – udává aktuální nejvyšší možnou agregační odpověď na daný podmět a je vyjádřena v procentech.
- *Doba latence agregační křivky (t_{lat})* – hodnota reprezentuje čas od přidání induktoru do doby, než dojde ke změně transmise světla. Je však využíváno pouze u kolagenu.

Tabulka 5. Koncentrace jednotlivých induktorů pro agregometrii – upraveno dle Pecka & Bláha (2010)

doporučené finální koncentrace reagensů v testu	
adenosindifosfát	20 $\mu\text{mol/l}$
epinefrin	300 $\mu\text{mol/l}$
kolagen	10 $\mu\text{g/l}$
kyselina arachidonová	500 $\mu\text{g/ml}$
ristocetin	1,5 mg/l

Metoda optické agregometrie patří mezi turbidimetrické stanovení agregace trombocytů, kdy je metoda založena na detekci rozdílu propustnosti světla fotometrem po přidání induktoru destiček do PRP. Nejčastěji bývá využívána k diagnostice vrozených i získaných poruch funkce destiček. Mezi základní inhibitory zde patří ADP, RISTO, KOL, EPI a AA. Ristocetin je peptid aktivující trombinový receptor, jež pomáhá vazbě vWF na komplex glykoproteinu Ib/IX/V, proto abnormality agregace trombocytů vyvolané tímto induktorem jsou nejčastěji spojovány s deficitem nebo dysfunkcí vWF a slouží tak k jejich diagnostice (Pecka & Bláha, 2010; Koltai e al., 2017).



Obrázek 12. Agregace trombocytů po přidání induktoru – upraveno dle www.oncohemakey.com

6.3.3.1 Měření agregometrie

Pro měření agregometrie v této diplomové práci byla odebraná krev centrifugována deset minut při 900 rpm, čímž došlo k vytvoření rozhraní mezi plazmou bohatou na krevní destičky a zbytkem krve. Následně byla PRP odebrána pomocí automatické pipety a přenesena do jednorázových kyvet obsahující míchadélko umístěných v agregometru Apact 4004, kde byla plazma během průběhu celého měření zahřívána na 37 °C. Následně bylo provedeno nastavení pozadí přístroje a přidání 20 µl jednotlivých inhibitorů (ADP, EPI, KOL, RISTO). Poté již byla spuštěna samotná analýza probíhající 600 sekund.

Měření bylo prováděno u *kontrolní skupiny* a to před započítím operace a na jejím konci, a *separované skupiny*, u které se měření provádělo před operací, během a po jejím ukončení a následně po navrácení trombocytárního koncentrátu z Cell Saveru. Po ukončení měření byly porovnávány maximální absorbance v čase u obou skupin.



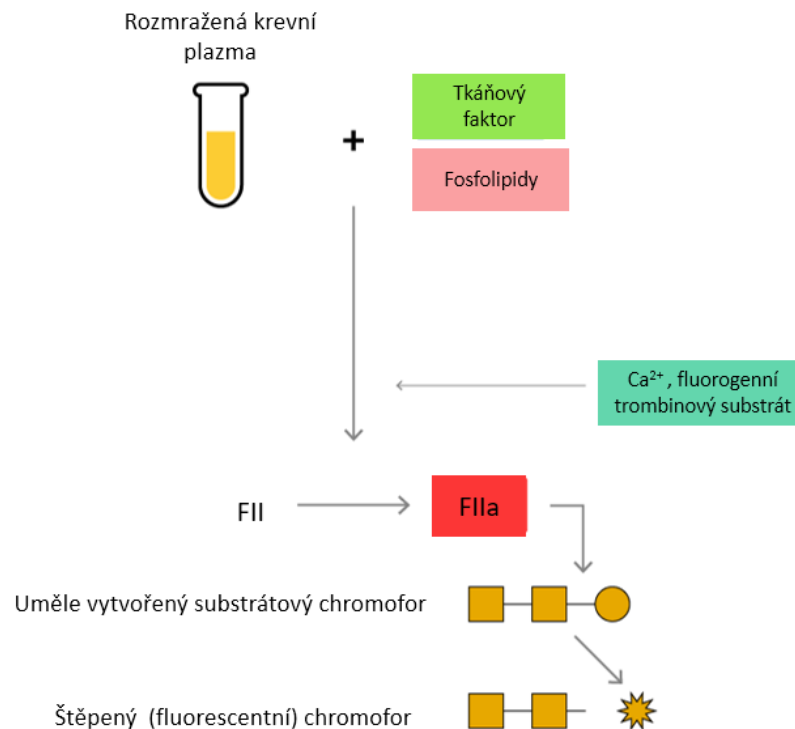
Obrázek 13. Agregometr Apact 4004 – převzato z www.labitec.de



Obrázek 14. Jednorázová kyveta pro Apact 4004 – převzato z www.biovendor.cz

6.3.4 Trombin generační test

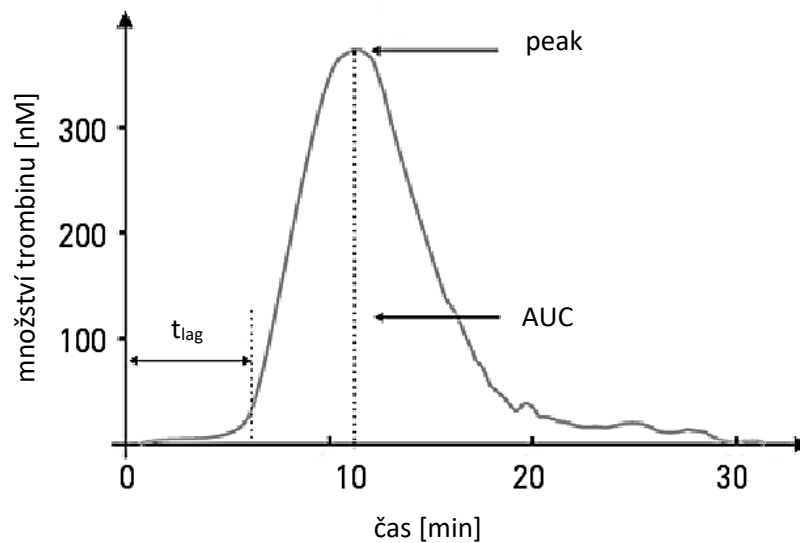
Trombin generační test (TGT) slouží k detailnímu posouzení tvorby trombinu v čase. Měření umožňuje posouzení funkce koagulace díky měření kinetiky generace trombinu. Pro vlastní stanovení se využívá jak PPP tak PRP, kdy je sledována vznikající formace trombinu s fluorogenním substrátem při aktivaci koagulační kaskády chloridem vápenatým a tkáňovým faktorem. Trombin vznikající v průběhu hemokoagulace přeměňuje substrát na fluorofor vydávající signál, který je kontinuálně zaznamenáván fluorometrem a vyhodnocen jako křivka generace trombinu (Pecka & Bláha, 2010).



Obrázek 15. Princip trombin generačního testu – upraveno dle www.coagulationassays.com

Hodnocení křivky generace trombinu dle Pecka & Bláha (2010) :

- *Endogenní trombinový potenciál (AUC)* – plocha pod křivkou odpovídající celkovému množství vygenerovaného trombinu udávána v mM.
- *Iničiační fáze (t_{lag})* – čas od iniciace do první trombinové generace, neboli doba za kterou je aktivovaný koagulační systém, vyjadřována v minutách.
- *Time to Peak (t_{peak})* – doba za kterou je dosažena maximální formace trombinu.
- *Peak trombin (peak)* – nejvyšší koncentrace trombinu udávaná v mM.



Obrázek 16. Parametry křivky generace trombinu – upraveno dle www.semanticscholar.org

6.3.4.1 Měření TGT

Pro měření generace trombinu byla použita zmražená (-80 °C) krevní plazma chudá na krevní destičky, kterou bylo nutné před zahájením analýzy vytemperovat na teplotu 37 °C pomocí biologického termostatu BT 120. Následně byla plazma přesunuta do přístroje Ceveron® Alpha, u kterého bylo nutné provedení promytí přístroje před zahájením samotné analýzy. Poté byly jednotlivé reagentie umístěny na určené pozice a mohlo tak dojít i k umístění vzorků, kdy byl na pozici jedna umístěn vzorek slepý. Nakonec byl spuštěn *TGA RCL Reagent_[V003] Single* test a probíhala samostatná analýza. Po ukončení měření byly porovnávány hodnoty t_{lag} , peak a AUC u kontrolní a separované skupiny pacientů.



Obrázek 17. Přístroj Ceveron® Alpha – převzato z www.diapharma.com

VÝSLEDKY

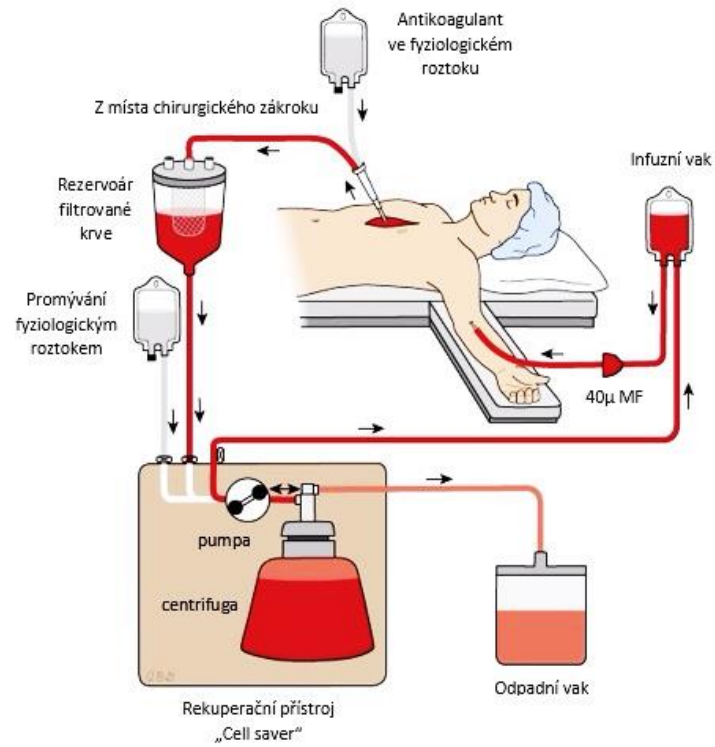
V této kapitole poskytujeme porovnání výsledků souboru vyšetřovaných pacientů obsahující údaje o charakteristice pacientů, předoperační medikaci, parametrech mimotělního oběhu, transfuzní terapii, výskytu klinických komplikací, hodnot trombin generačního testu a aktivity krevních destiček v různých fázích kardiochirurgického výkonu.

Rozlišujeme zde kontrolní skupinu pacientů a skupinu pacientů se separací, jež prodělaly stejné kardiochirurgické operace za použití mimotělního oběhu a rekuperačního přístroje Cell saver, s rozdílným krokem po ukončení operace. U kontrolní skupiny nebylo provedeno navrácení krve z přístroje Cell saver, jelikož se stala odpadním materiálem (obrázek 19) a byl proveden trombin generační test a měření agregace při zahájení operace a po jejím ukončení. Naopak u skupiny pacientů se separací byla provedena tzv. autotransfuze krve z přístroje Cell saver (obrázek 20) a trombin generační test společně s měřením agregometrie byly provedeny při zahájení operace, po ukončení operace, po ukončení MTO a po navrácení buněk z přístroje Cell saver.

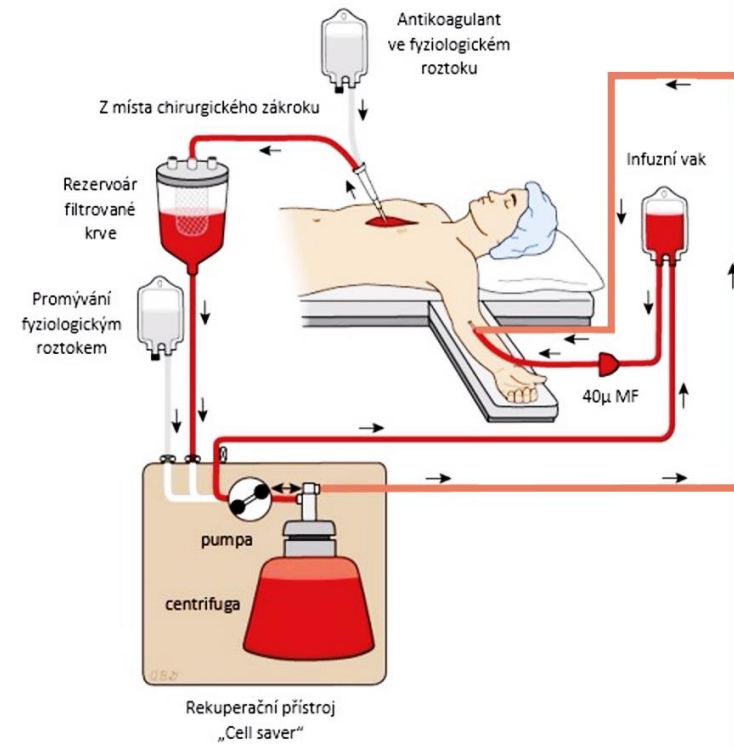
Posledním krokem bylo statistické zhodnocení a porovnání naměřených hodnot u jednotlivých skupin pacientů, jež jsou popsány níže v práci.

7 SOUBOR PACIENTŮ

7.1 Průběh operace



Obrázek 19. Průběh operace bez navrácení krve z Cell Saveru u kontrolní skupiny pacientů



Obrázek 18. Průběh operace s navrácením krve z Cell Saveru u skupiny pacientů se separací.

7.2 Skupina pacientů postupujících kardiochirurgický zákrok s použitím Cell Saveru bez navrácení krve, označená jako kontrola

Tabulka 6. Údaje o vstupní a antikoagulační medikaci, předoperačních vyšetření, krevních ztrát aj. u kontrolní skupiny pacientů

pacient	ASA	CLOP/TIC	LMWH	ACTstart	ACTmax	ACTend	heparin	protamin	TT min	TT end	Ztráty OP	Ztráty24	EBR	FFP
1	0	0	0	141	486	118	450	450	27,0	37,0	500	270	0	3
2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
3	1	0	0	126	456	117	320	350	30,8	36,9	500	230	2	2
4	1	1	0	121	500	147	330	350	34,5	36,9	600	510	3	0
5	0	0	1	126	436	123	290	350	34,8	36,6	700	1390	5	4
6	1	0	0	155	560	138	310	400	34,6	36,5	300	510	2	0
7	0	0	1	139	437	122	360	400	33,3	36,0	500	280	2	2
8	0	0	1	129	474	N/A	430	450	33,3	37,0	200	580	0	0
9	0	0	1	140	595	144	310	350	30,4	35,4	700	1520	4	5
10	1	0	1	160	418	129	420	450	34,5	36,8	500	500	4	2
11	0	0	0	115	523	116	300	250	34,5	35,9	500	660	5	0
12	0	0	0	126	455	N/A	400	400	35,8	36,4	400	260	1	0
13	0	0	1	128	478	137	320	350	34,2	37,0	300	220	2	2
14	1	0	0	156	459	N/A	380	350	35,4	36,7	800	310	3	0
15	1	1	1	135	445	116	380	400	35,8	36,8	400	360	0	0
16	0	0	0	143	548	147	320	400	33,4	36,8	500	420	2	2
17	0	0	1	112	477	N/A	410	400	34,4	36,9	300	650	1	0
18	1	1	0	128	606	N/A	400	400	36,1	36,9	300	550	0	0
19	1	0	0	131	527	112	440	450	34,1	36,9	400	520	0	0
20	1	1	0	116	638	N/A	230	250	35,3	36,8	200	280	0	0
21	0	1	0	128	440	N/A	320	350	35,5	37,0	300	400	0	0
22	1	0	0	132	664	N/A	340	400	34,9	37,0	300	490	0	0

pacient	ASA	CLOP/TIC	LMWH	ACTstart	ACTmax	ACTend	heparin	protamin	TT min	TT end	Ztráty OP	Ztráty24	EBR	FFB
23	1	1	0	134	459	N/A	280	300	36,8	36,9	400	1800	5	2
24	1	0	0	127	436	N/A	280	300	33,7	37,2	300	710	0	0
25	1	0	0	124	491	124	420	400	36,5	36,6	600	470	0	0
26	1	0	0	137	484	N/A	300	300	35,0	36,9	300	220	0	0
27	0	0	1	115	451	140	340	350	35,3	36,3	500	450	2	2
28	1	0	0	108	548	111	360	450	35,3	36,3	600	200	2	2
29	1	0	0	146	518	116	360	400	34,7	36,9	400	350	2	0
30	0	0	1	170	700	118	420	480	33,0	36,9	400	280	4	4
31	1	0	0	87	498	110	400	400	35,6	36,8	1200	690	6	2
32	1	0	0	103	445	N/A	400	400	35,6	36,9	1000	260	2	0
33	0	0	0	123	732	102	240	250	35,7	36,9	800	1330	4	4
34	1	1	0	98	593	N/A	240	250	35,7	36,9	400	330	2	0
35	1	1	0	99	469	N/A	320	350	35,4	36,8	200	590	0	0
36	0	0	1	194	487	N/A	410	450	36,1	37,0	300	510	0	0
37	1	0	0	190	462	N/A	400	400	35,7	36,7	300	430	0	0
38	1	0	1	150	462	N/A	380	400	34,5	36,7	300	550	3	2
39	1	1	0	134	530	N/A	330	350	36,6	36,8	300	310	0	0
40	0	0	0	123	500	128	320	350	35,4	36,8	700	390	2	0
41	1	1	0	128	439	109	350	350	35,6	36,6	600	740	0	0
42	0	0	0	154	469	122	370	350	33,6	36,9	500	970	5	5
43	0	0	1	128	238	N/A	100	100	36,1	36,2	150	120	0	0

Vysvětlivky: ASA – kyselina acetylsalicylová (0 – NE, 1 – ANO), CLOPI/TICAGR – klopidogrel/ticagrelor (0 – NE, 1 – ANO), LMWH – nízkomolekulární heparin (1 – protidestičková medikace), ACTstar – aktivovaný srážecí čas [s] na začátku výkonu, ACTmax – maximální aktivovaný srážecí čas [s], ACTend – aktivovaný srážecí čas na konci výkonu [s], Heparin – celková dávka [UI], Protamin – celková dávka [mg], TTmin – nejnižší teplota tělesného jádra [°C], TTend – teplota tělesného jádra na konci výkonu [°C], Ztráty OP- peroperační krevní ztráty [ml], Ztráty24 – ztráty z drenů během prvních 24 h na JIP [ml], : EBR – erytrocytární koncentrát [počet jednotek], FFB – čerstvě zmražená plazma [počet jednotek]

Jedna jednotka = 450 ml

Tabulka 7. Přehled substituční léčby a zdravotních komplikací u kontrolní skupiny

pacient	TAD	FBG	OCPL	TXApoop	revize	Euroscore	ICULOS	HLOS	úmrť	klinické problémy	CMP	psychosy	AKI
1	0	0	0	0	0	1,81	3	20	0	AIM	0	0	0
2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A		N/A	N/A	N/A
3	0	0	0	0	0	2,77	4	11	0	PSY, FiS	0	1	0
4	0	0	0	0	0	4,17	3	10	0	FiS	0	0	0
5	0	0	2	1	1	2,64	4	19	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	5,54	3	9	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	2,14	3	18	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	9,79	6	10	0	CMP	1	0	0
9	0	0	0	0	0	2,06	3	14	0	FiS	0	0	0
10	0	0	0	1	0	10,21	3	14	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	2,04	4	9	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	2,83	4	11	0	FiS	0	0	0
13	0	0	0	0	0	12,56	4	11	0	PS,FiS	0	1	0
14	0	0	0	0	0	2,37	3	8	0	FiS	0	0	0
15	0	0	0	0	0	3,19	4	13	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	6,90	5	17	0	FiS	0	0	0
17	0	0	0	0	0	2,06	3	9	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0,60	2	8	0		0	0	0
19	0	0	0	0	0	0,55	3	8	0		0	0	0
20	0	0	0	0	0	2,52	3	10	0	FiS	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0,99	3	10	0		0	0	0
22	0	0	0	0	0	0,65	2	8	0		0	0	0

pacient	TAD	FBG	OCPL	TXApoop	revize	Euroscore	ICULOS	HLOS	úmrť	klinické problémy	CMP	psychosy	AKI
23	0	0	0	0	0	2,09	3	9	0	PS, ALI	0	1	0
24	0	0	0	0	0	2,13	3	8	0	FiS	0	0	0
25	0	0	0	0	0	2,36	3	8	0		0	0	0
26	0	0	0	0	0	0,86	3	8	0	FiS	0	0	0
27	0	0	0	0	0	3,43	3	15	0	FiS	0	0	0
28	0	0	0	0	0	1,62	3	8	0	FiS	0	0	0
29	0	0	0	0	0	3,33	2	11	0		0	0	0
30	0	0	0	1	0	2,25	3	14	0		0	0	0
31	0	0	0	0	1	2,47	25	25	0	AIM, resp.insuf	0	0	1
32	0	0	0	0	0	1,60	3	9	0		0	0	0
33	0	1	1	1	0	2,13	3	9	0		0	0	0
34	0	0	0	0	0	1,19	4	10	0	FiS	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0,90	2	7	0		0	0	0
36	0	0	0	0	N/A	0,65	3	6	0		0	0	0
37	0	0	0	0	0	1,61	3	12	0		0	0	0
38	0	0	0	0	0	2,11	4	16	0	FiS	0	0	0
39	0	0	0	0	0	1,29	3	16	0		0	0	0
40	0	0	0	0	0	1,26	5	16	0	PS	0	1	0
41	0	0	0	0	0	0,50	2	12	0	dehisc.rány	0	0	0
42	0	0	0	0	0	3,98	3	14	0	pacemaker	0	0	0
43	0	0	0	0	0	4,44	2	9	0	Fis	0	0	0

Vysvětlivky: TAD – trombocytární koncentrát [počet jednotek], FBG – koncentrát fibrinogenu [á 1g], Ocples – koncentrát protrombinového komplexu [á 500 UI], TXApoop – dodatečná dávka kyseliny tranexamové [30 mg/kg], Revize – pro krvácení či časnou tamponádu do 48 hodin (0 – NE, 1 – ANO), Euroscore – logistická hodnota udávající pravděpodobnost časného hospitalizačního úmrť [%], ICULOS – délka pobytu na JIP [dny], HLOS – délka hospitalizace [dny], Úmrť – do 30. dne (0 – NE, 1 – ANO), ACB – aortokoronární bypass, AVR – náhrada aortální chlopně, MVR – náhrada mitrální chlopně, TVP – plastika trikuspidální chlopně, MVP – plastika mitrální chlopně, AA – náhrada ascendentní aorty (re- – reoperace), CMP – cévní mozková příhoda, PSY – organický psychosyndrom, AKI – akutní selhání ledvin

Jedna jednotka = 450 ml

Tabulka 8. Přehled komorbidit a základních laboratorních parametrů u kontrolní skupiny pacientů

pacient	AIM	FiS	GIT	resp.ins	Hkt start	Hkt min	Hkt end	Ca start	Ca min	Ca end	lac start	lac max	lac end
1	1	0	0	0	43,9	30,4	31,3	1,07	1,47	1,50	1,0	2,0	1,9
2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
3	0	1	0	0	40,1	25,2	26,9	0,90	1,34	1,25	1,0	2,0	1,0
4	0	1	0	0	36,6	26,6	28,3	0,91	1,26	1,29	0,8	0,9	0,7
5	0	0	0	0	37,1	27,4	30,3	0,69	1,26	1,00	0,6	0,9	0,9
6	0	0	0	0	40,8	26,4	34,3	1,14	1,30	1,22	0,7	1,0	1,2
7	0	0	0	0	36,8	28,7	30,5	0,80	1,28	1,25	0,9	0,8	0,8
8	0	0	0	0	47,6	31,8	34,2	1,15	1,23	1,26	0,5	0,7	0,7
9	0	1	0	0	41,1	27,8	31,0	0,93	1,24	1,29	0,6	0,8	1,0
10	0	0	0	0	29,0	23,8	25,5	0,89	0,80	1,22	0,7	1,1	1,0
11	0	0	0	0	41,4	27,4	29,4	1,17	1,34	1,30	0,5	0,8	0,8
12	0	1	0	0	36,3	25,7	27,2	1,05	1,32	1,34	0,6	1,2	1,2
13	0	1	0	0	34,4	24,6	28,7	0,74	1,29	1,31	0,8	0,8	0,9
14	0	1	0	0	40,0	25,5	28,0	0,88	1,37	1,32	0,7	1,7	1,3
15	0	N/A	0	0	40,0	28,0	28,0	0,86	1,29	1,27	1,4	1,2	1,4
16	0	1	0	0	43,1	30,1	31,7	1,09	1,32	1,38	0,7	0,5	0,6
17	0	0	0	0	38,7	27,5	27,6	0,79	1,24	1,27	0,4	0,8	0,8
18	0	0	0	0	38,3	32,1	33,4	0,78	1,27	1,25	0,8	0,7	0,9
19	0	0	0	0	42,4	31,2	32,3	0,94	1,34	1,32	0,8	0,8	1,0
20	0	0	1	0	38,7	27,8	29,5	0,84	1,32	1,32	0,5	1,4	1,4
21	0	0	0	0	45,1	36,0	37,0	1,04	1,17	1,25	0,8	0,7	0,8
22	0	0	0	0	40,3	n/A	31,5	0,94	N/A	1,28	1,0	N/A	0,7

pacient	AIM	FiS	GIT	resp.ins	Hkt start	Hkt min	Hkt tend	Ca start	Ca min	Ca end	lac start	lac max	lac end
23	0	0	0	1	40,1	31,3	30,7	0,90	1,13	1,30	1,4	1,2	1,3
24	0	1	0	0	41,8	30,2	30,9	0,87	1,40	1,36	1,1	0,8	0,9
25	0	0	0	0	49,4	32,6	33,9	0,96	1,16	1,10	1,0	0,9	0,9
26	0	1	0	0	39,8	33,5	34,0	1,00	1,31	1,18	0,5	0,6	0,6
27	0	1	0	0	34,4	23,6	26,1	1,09	1,38	1,32	0,7	1,3	1,8
28	0	1	0	0	35,7	25,3	26,8	0,87	1,28	1,27	0,4	0,6	0,7
29	0	0	0	0	33,6	27,7	27,9	0,80	1,38	1,38	1,1	1,2	1,0
30	0	0	0	0	30,4	28,7	30,2	0,90	0,93	1,28	0,8	1,0	1,1
31	1	0	0	1	33,7	24,3	29,6	0,97	1,33	1,29	1,5	1,3	1,4
32	0	0	0	0	39,9	30,7	33,8	0,85	1,34	1,35	0,9	0,9	1,1
33	0	0	0	0	29,5	29,8	31,7	0,95	1,31	1,30	0,7	1,5	1,8
34	0	1	0	0	38,8	29,8	28,9	1,02	1,33	1,30	0,4	0,8	0,8
35	0	0	0	0	29,9	22,8	28,9	1,24	1,35	1,33	0,8	1,0	0,8
36	0	0	0	0	45,7	36,1	37,6	0,86	1,28	1,27	2,1	2,2	1,9
37	0	0	0	0	39,5	31,5	34,2	0,87	1,24	1,22	0,9	0,8	0,9
38	0	1	0	0	36,0	26,1	29,9	0,84	1,31	1,29	0,7	0,9	0,9
39	0	0	0	0	37,9	31,5	30,3	0,75	1,21	1,49	0,8	0,8	0,8
40	0	0	0	0	27,9	22,8	29,4	1,00	1,10	1,26	0,9	0,9	0,8
41	0	0	0	0	46,8	35,6	36,2	1,00	1,21	1,32	0,9	0,7	0,8
42	0	0	0	0	42,8	29,1	28,1	0,88	1,33	1,25	1,0	0,9	2,3
43	0	1	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

Vysvětlivky: AIM – akutní ischemie myokardu, FiS – pooperační fibrilace síní, GIT – gastrointestinální komplikace, RI – respirační insuficience, Hkt start – hematokrit na počátku operace, Hkt min – minimální hodnota hematokritu, Hkt end – hodnota hematokritu po ukončení operace, Ca start – hodnota kalcia při započetí operace [mmol/l], Ca end – hodnota kalcia po ukončení operace [mmol/l], lac start – hodnota laktátu při počátku operace [mmo/l], lac end – hodnota laktátu po ukončení operace [mmol/l]

7.3 Skupina pacientů postupujících kardiochirurgický zákrok s použitím Cell Saveru s navrácení krve, označená jako separace

Tabulka 9. Údaje o vstupní a antikoagulační medikaci, předoperačních vyšetření, krevních ztrát aj. u skupiny pacientů se separací

pacient	ASA	CLOP/TIC	LMWH	ACTstart	ACTmax	ACTend	heparin	protamin	TT min	TT end	Ztráty OP	Ztráty24	EBR	FFP
1	0	0	0	130	677	109	500	500	33,6	36,9	300	530	2	3
2	0	0	0	127	537	N/A	400	400	31,9	36,0	400	1490	0	4
3	0	1	0	135	433	N/A	390	450	33,8	37,0	500	830	2	0
4	1	0	0	155	620	113	390	400	34,3	36,9	700	520	2	0
5	0	0	0	117	527	131	340	350	33,6	36,4	1200	330	0	0
6	0	0	0	108	627	117	400	400	33,9	36,2	800	360	0	0
7	0	0	1	142	608	N/A	450	500	34,5	37,0	300	520	4	1
8	1	0	0	132	578	129	360	450	31,1	36,4	1500	820	2	4
9	0	0	0	128	450	118	410	400	34,7	36,8	400	230	0	0
10	1	0	0	145	477	127	530	470	34,8	36,7	600	370	2	1
11	0	0	1	136	649	142	490	500	26,7	37,0	2000	450	4	2
12	0	0	1	114	568	116	300	350	34,1	36,5	300	470	0	0
13	0	0	1	119	523	123	320	350	33,2	36,8	800	420	0	0
14	0	0	0	124	588	112	450	400	34,3	37,0	900	960	1	2
15	0	0	0	107	476	N/A	360	400	34,7	37,0	500	360	3	1
16	0	0	0	107	630	106	340	450	33,4	36,8	800	350	1	3
17	0	0	0	133	600	140	500	600	34,2	36,8	500	310	0	0
18	0	0	1	121	659	148	270	300	34,5	36,6	300	510	4	0
19	0	0	1	148	515	132	320	350	34,0	36,7	400	330	2	0
20	0	0	0	129	543	N/A	400	400	34,8	37,0	500	420	0	0
21	1	0	0	127	505	104	280	350	34,7	36,1	300	960	4	0
22	1	0	1	265	729	N/A	280	300	34,4	37,0	500	270	1	0
23	0	0	0	138	542	117	500	550	33,9	36,7	700	470	4	3
24	0	0	0	136	688	137	440	550	33,3	37,3	1200	700	2	2

Tabulka 10. Přehled substituční léčby a zdravotních komplikací u skupiny pacientů se separací

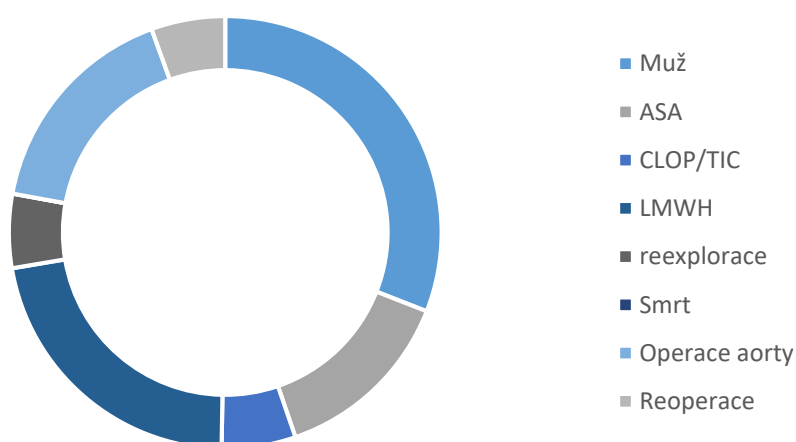
pacient	TAD	FBG	OCPL	TXApoop	revize	Euroscore	ICULOS	HLOS	úmrť	klinické problémy	CMP	psychosy	AKI
1	0	0	0	0	0	1,07	3	10	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	1,46	3	9	0	FiS	0	0	0
3	0	1	0	1	0	8,87	4	8	0	PSY, AKI	0	1	1
4	0	0	0	0	0	8,86	13	13	1	FiS, GIT	0	0	0
5	0	0	0	0	0	2,13	3	8	0	PSY, FiS	0	1	0
6	0	0	0	0	0	1,80	4	10	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	2,74	39	54	N/A	PSY, RI	0	1	0
8	0	0	0	0	0	2,33	12	22	0	FiS, GIT, RI	0	0	0
9	0	0	0	0	0	2,46	3	12	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	2,06	4	10	0	resp.insuf.	0	0	0
11	0	0	0	1	0	3,56	5	11	0	PS	0	1	0
12	0	0	0	1	0	3,38	3	18	0	AVB III-pacemaker	0	0	0
13	0	0	0	0	0	1,98	3	12	0	FiS	0	0	0
14	0	0	0	0	0	2,43	3	16	0	FiS, perik.výpotek	0	0	0
15	0	0	0	0	0	2,52	3	16	0	Fis	0	0	0
16	0	1	1	0	1	1,26	3	12	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	4,72	3	14	0	PS,FiS	0	1	0
18	0	0	0	0	0	3,16	3	12	0	FiS	0	0	0
19	0	0	0	0	0	2,78	3	10	0	FiS	0	0	0
20	0	0	0	0	0	4,13	3	10	0	FiS	0	0	0
21	0	0	0	0	0	2,11	4	12	0		0	0	0
22	0	0	0	0	0	3,78	2	8	0	FiS	0	0	0
23	1	2	0	1	0	3,08	3	11	0		0	0	0
24	0	2	2	1	0	2,20	2	9	0	NovoSeven	0	0	0

Tabulka 11. Přehled komorbidit a základních laboratorních parametrů u skupiny pacientů se separací

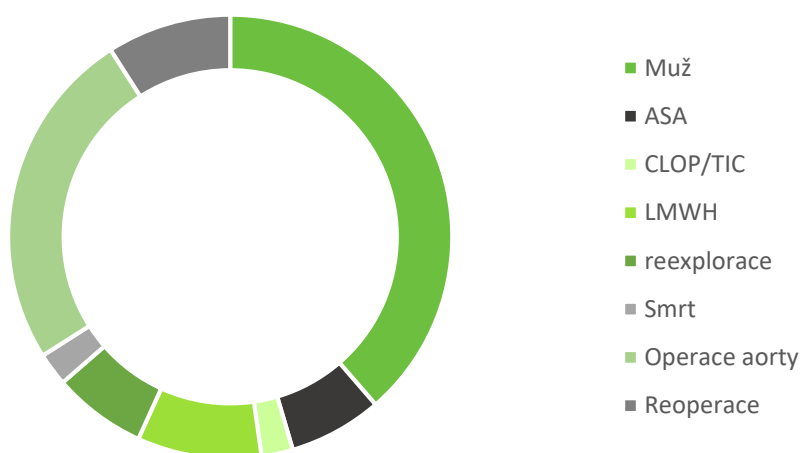
pacient	AIM	FiS	GIT	resp.ins	Hkt start	Hkt min	Hk tend	Ca start	Ca min	Ca end	lac start	lac max	lac end
1	0	0	0	0	40,9	28,8	29,3	0,90	1,26	1,26	0,9	0,7	0,7
2	0	1	0	0	44,7	31,3	32,9	0,87	1,38	1,33	1,7	1,2	1,0
3	0	0	0	0	46,1	23,7	25,8	1,03	1,29	1,27	1,2	1,3	1,2
4	0	1	1	0	46,1	30,1	28,4	1,18	1,36	1,29	1,6	1,7	1,5
5	0	1	0	0	41,7	28,5	29,6	0,84	1,22	1,25	0,8	0,8	0,9
6	0	0	0	0	41,5	28,1	30,4	1,06	1,51	1,49	0,9	1,2	1,4
7	0	0	0	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
8	0	1	1	1	43,8	28,4	29,5	1,17	1,35	1,33	1,2	1,1	1,1
9	0	0	0	0	47,1	30,5	32,2	0,85	0,90	1,33	0,7	0,9	1,1
10	0	1	0	1	35,8	27,1	27,8	0,99	1,32	1,31	1,0	0,9	0,8
11	0	0	0	0	37,5	25,8	24,9	1,20	1,36	1,29	0,6	3,4	2,7
12	0	0	0	0	40,9	26,7	28,3	0,93	1,36	1,29	0,7	0,8	1,1
13	0	1	0	0	41,6	22,5	28,2	0,79	1,39	1,28	0,8	1,1	1,4
14	0	1	0	0	49,0	33,1	33,8	1,02	1,34	1,33	0,7	1,2	1,2
15	0	1	0	0	44,1	23,4	27,9	0,99	1,28	1,41	2,0	1,6	2,0
16	0	0	0	0	42,4	27,9	29,1	0,91	1,30	1,20	1,3	1,3	1,2
17	0	1	0	0	41,0	29,7	32,0	0,85	1,34	1,41	0,7	1,3	1,3
18	0	1	0	0	40,7	27,4	24,0	1,06	1,38	1,32	0,9	0,9	0,9
19	0	1	0	0	41,0	24,8	23,6	0,92	1,29	1,24	0,7	1,0	0,9
20	0	1	0	0	46,9	32,0	33,2	1,18	1,42	1,37	1,9	1,9	1,5
21	0	0	0	0	38,7	26,8	27,7	0,94	1,35	1,29	1,7	1,9	1,7
22	0	1	0	0	39,2	26,3	23,9	0,84	1,23	1,19	0,9	0,9	9,7
23	0	0	0	0	40,8	25,0	26,4	0,81	1,24	1,00	1,1	1,4	2,0
24	0	0	0	0	45,1	29,1	30,3	0,88	1,31	0,8	1,4	1,2	1,3

Tabulka 12. Demografie vyšetřovaných skupin pacientů

Parametry	Kontrola		Separace		P
	Nr.	%	Nr	%	
Muž	12	80,0 %	18	94,7 %	0,299
ASA	5	35,7 %	3	16,7 %	0,252
CLOP/TIC	2	14,3 %	1	5,6 %	0,568
LMWH	8	57,1 %	4	22,2 %	0,068
reexplorace	2	14,3 %	3	16,7 %	1,000
Smrt	0	0,0 %	1	5,9 %	1,000
Operace aorty	6	42,9 %	11	61,1 %	0,476
Reoperace	2	14,3 %	4	22,2 %	0,672



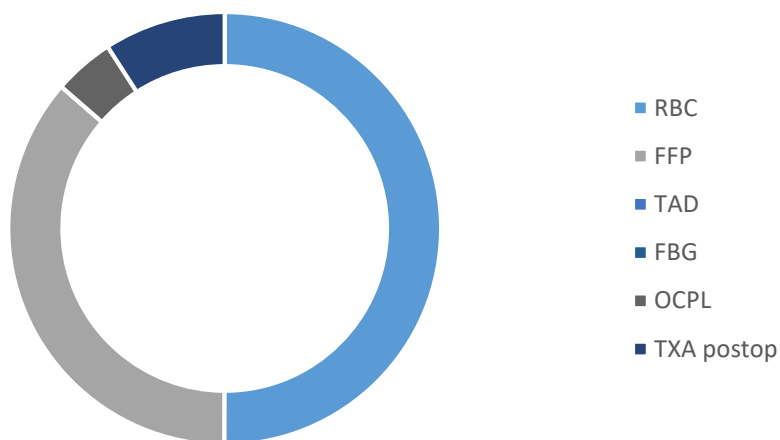
Obrázek 20. Demografie kontrolní skupiny pacientů



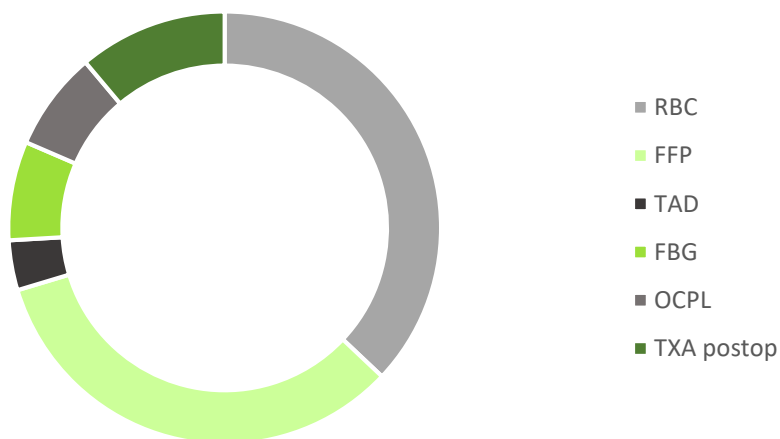
Obrázek 21. Demografie skupiny pacientů se separací

Tabulka 13. Pooperační komplikace vyšetřovaných skupin pacientů

Parametry	Kontrola		Separace		P
	Nr.	%	Nr	%	
RBC	11	78,6 %	10	55,6 %	0,266
FFP	8	57,1 %	9	50,0 %	0,735
TAD	0	0,0 %	1	5,6 %	1
FBG	0	0,0 %	2	11,1 %	0,492
OCPL	1	7,1 %	2	11,1 %	1
TXA postop	2	14,3 %	3	16,7 %	1



Obrázek 22. Pooperační komplikace u kontrolní skupiny pacientů



Obrázek 23. Pooperační komplikace u skupiny pacientů se separací

7.3.1 Vybrané parametry průběhu operace CPB

Tabulka 14. Vybrané parametry průběhu operace CPB vyšetřovaných skupin pacientů

Parametry	Kontrola			Separace			P
	Průměr	SD	Medián	Průměr	SD	Medián	
ACTstart [s]	135,8	16,6	133,5	131,2	14,4	133,5	0,423
ACTmax [s]	504,0	80,4	480,0	587,8	104,9	614,0	0,019
ACTend [s]	131,8	16,4	128,0	125,1	12,7	128,0	0,274
Heparin [mg]	357,9	57,5	330,0	383,9	70,1	375,0	0,270
protamin [mg]	395,0	54,5	375,0	413,9	56,4	400,0	0,262
TT min [°C]	32,8	2,7	34,2	33,8	1,1	33,9	0,909
TT end [°C]	36,6	0,5	36,9	36,7	0,3	36,9	0,743
Perioperační ztráta krve [ml]	564,3	253,0	500,0	605,6	336,9	500,0	0,705
Ztráta krve za 24 h [ml]	652,1	468,8	510,0	711,7	382,0	530,0	0,425
Euroscore	3,62	2,05	2,96	3,37	2,84	2,00	0,077
Hkt start	40,1	5,1	40,5	42,5	3,3	42,0	0,114
Hkt min	27,8	2,2	27,6	28,2	2,9	28,3	0,651
Hkt end	30,1	2,6	29,9	30,0	2,6	29,4	0,914
Ca start [mmol/l]	1,0	0,2	1,0	1,0	0,2	1,0	0,761
Ca min [mmol/l]	1,3	0,1	1,3	1,3	0,2	1,3	0,382
Ca end [mmol/l]	1,3	0,1	1,3	1,3	0,1	1,3	0,581
lac start [mmol/l]	0,8	0,2	0,8	1,0	0,4	0,9	0,035
lac max [mmol/l]	1,1	0,4	0,9	1,2	0,7	1,1	0,467
lac end [mmol/l]	1,0	0,3	1,0	1,1	0,3	1,1	0,411
ICULOS (dny)	3,7	0,9	3,5	7,1	8,5	4,0	0,165
HLOS (dny)	12,9	4,6	10,5	14,6	10,8	11,5	1,000
věk (roky)	68,3	6,8	67,0	64,2	10,0	67,0	0,329

Během kardiopulmonární operace byly zaznamenávány vybrané parametry u vyšetřovaných skupin pacientů. Před zahájením samotné operace bylo nutné pacienty připojit na MTO, jež po dobu výkonu nahrazoval funkci srdce a plic. V tabulce je možné vidět porovnání kontrolní skupiny pacientů a skupiny pacientů se separací u jednotlivých parametrů. Lze také zaznamenat výrazné snížení perioperačních a konečných ztrát krve u pacientů se separací.

7.4 Parametry měřené u vyšetřovaných skupin pacientů

Tabulka 15. Měřené parametry kontrolní skupiny pacientů

pacient	číslo vzorku	TGTt [min]	TGTm [nM]	TGTe [nM]	KOL	ADP	RISTO	EPI	PLT	Výkon	délka ECC	délka svorky	tr. před výkonem	tr. po výkonu
1	I	3,2	638,1	4040,0	99	75	85	24	267	Bentall sec.	130	90	232	189
	II	5,3	170,5	2687,1	52	74	70	19	177					
2	I	4,3	198,4	2586,3	72	98	99	99	229	AVR	60	30	256	163
	II	3,6	287,3	2911,8	78	93	99	99	317					
3	I	3,3	305,6	3461,1	99	98	99	30	194	Bentall sec., ACB	183	150	194	103
	II	6,1	143,8	2506,0	43	91	89	27	103					
4	I	4,1	178,2	2715,7	99	90	98	90	247	MVR, ACB (revize)	135	102	247	116
	II	11	79,9	1744,1	65	75	71	72	116					
5	I	3,1	309,8	3480,9	91	74	86	77	371	MVR, TVP, MAZE, PFO	185	135	371	216
	II	5,7	157,3	2954,0	21	73	95	22	216					
6	I	5,3	96,9	2076,3	37	98	87	91	185	Reoperace AVR	108	84	158	87
	II	6,5	157,4	2382,6	10	57	80	44	101					
7	I	2,3	451,0	2603,7	99	99	99	99	196	MVR, TVP	128	102	170	136
	II	4,5	116,9	1423,2	99	98	96	83	130					
8	I	4,8	231,4	3260,2	96	86	99	88	350	Bentall sec., ACB, PFO	136	100	272	177
	II	N/A	N/A	N/A	98	78	97	16	188					
9	I	4,7	238,7	2737,5	82	80	92	93	275	Bentall sec.	123	92	206	126
	II	8,0	140,4	2490,5	31	82	99	37	111					
10	I	47,0	1,9	1,7	57	69	83	66	220	AVR, TVP, redo	102	73	274	150
	II	5,3	184,3	2740,8	35	88	98	99	212					
11	I	5,3	127,6	2138,7	15	40	93	33	171	AA-Bental	110	84	182	128
	II	4,2	124,3	1743,1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A					
12	I	4,4	149,1	1906,1	8	71	87	86	332	AVR,MVR	153	123	304	194
	II	7,1	79,6	1251,6	74	58	99	24	198					
13	I	4,4	177,1	2668,7	96	55	86	87	106	MVR, TVP,PFO	123	99	186	109
	II	7,0	144,5	2165,7	54	59	93	67	124					
14	I	3,7	384,9	2754,8	9	59	88	13	331	MVP,ACB	163	104	331	152
	II	4,4	275,3	2473,2	6	50	84	8,5	168					
15	I	3,4	521,0	4542,3	99	89	99	99	337	Bentall sec.	130	90	232	189
	II	7,2	164,9	2622,9	92	63	84	11	186					

pacient	číslo vzorku	TGTt [min]	TGTm [nM]	TGTe [nM]	KOL	ADP	RISTO	EPI	PLT	Výkon	délka ECC	délka svorky	tr. před výkonem	tr. po výkonu																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
16	I	4,1	240,6	2685,7	12	71	85	30	337	MVP,TVP,	130	98	264	210																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	5,2	115,2	2383,6	16	60	77	34	237	ACD, aner					17	I	3,4	306,1	2267,9	99	87	88	86	314	MVP,TVP,	130	105	319	108	II	6,0	105,8	2332,3	12	64	99	17	134	ACB,MAZE	18	I	4,6	181,5	1983,5	97	92	94	86	262	ACB mini	53	33	212	218	II	4,4	196,8	1977,8	99	96	99	94	186		19	I	4,5	167,1	2188,0	99	95	99	98	399	AVR, ACB	128	81	208	191	II	3,8	161,1	1656,7	32	44	63	30	206		20	I	3,8	200,6	2307,2	96	77	99	90	269	ACB mini	55	34	216	175	II	5,4	116,3	1759,5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A		21	I	4,7	165,9	2238,8	57	29	99	62	296	ACB mini	45	28	264	194	II	5,3	148,7	2182,1	32	11	99	8	194		22	I	4,1	152,2	1862,5	99	86	99	92	401	ACB mini	48	29	286	206	II	4,3	189,4	2253,8	73	85	99	89	231		23	I	5,2	169,7	1932,5	12	25	87	32	332	ACB mini	51	31	273	245	II	5,5	175,5	2214,5	18	18	99	89	206		24	I	5,4	146,1	2051,9	24	86	90	25	303	ACB mini	70	50	319	184	II	4,8	181,4	1827,2	50	97	99	49	290		25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227		26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12
17	I	3,4	306,1	2267,9	99	87	88	86	314	MVP,TVP,	130	105	319	108																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	6,0	105,8	2332,3	12	64	99	17	134	ACB,MAZE					18	I	4,6	181,5	1983,5	97	92	94	86	262	ACB mini	53	33	212	218	II	4,4	196,8	1977,8	99	96	99	94	186		19	I	4,5	167,1	2188,0	99	95	99	98	399	AVR, ACB	128	81	208	191	II	3,8	161,1	1656,7	32	44	63	30	206		20	I	3,8	200,6	2307,2	96	77	99	90	269	ACB mini	55	34	216	175	II	5,4	116,3	1759,5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A		21	I	4,7	165,9	2238,8	57	29	99	62	296	ACB mini	45	28	264	194	II	5,3	148,7	2182,1	32	11	99	8	194		22	I	4,1	152,2	1862,5	99	86	99	92	401	ACB mini	48	29	286	206	II	4,3	189,4	2253,8	73	85	99	89	231		23	I	5,2	169,7	1932,5	12	25	87	32	332	ACB mini	51	31	273	245	II	5,5	175,5	2214,5	18	18	99	89	206		24	I	5,4	146,1	2051,9	24	86	90	25	303	ACB mini	70	50	319	184	II	4,8	181,4	1827,2	50	97	99	49	290		25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227		26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																					
18	I	4,6	181,5	1983,5	97	92	94	86	262	ACB mini	53	33	212	218																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	4,4	196,8	1977,8	99	96	99	94	186						19	I	4,5	167,1	2188,0	99	95	99	98	399	AVR, ACB	128	81	208	191	II	3,8	161,1	1656,7	32	44	63	30	206		20	I	3,8	200,6	2307,2	96	77	99	90	269	ACB mini	55	34	216	175	II	5,4	116,3	1759,5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A		21	I	4,7	165,9	2238,8	57	29	99	62	296	ACB mini	45	28	264	194	II	5,3	148,7	2182,1	32	11	99	8	194		22	I	4,1	152,2	1862,5	99	86	99	92	401	ACB mini	48	29	286	206	II	4,3	189,4	2253,8	73	85	99	89	231		23	I	5,2	169,7	1932,5	12	25	87	32	332	ACB mini	51	31	273	245	II	5,5	175,5	2214,5	18	18	99	89	206		24	I	5,4	146,1	2051,9	24	86	90	25	303	ACB mini	70	50	319	184	II	4,8	181,4	1827,2	50	97	99	49	290		25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227		26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																														
19	I	4,5	167,1	2188,0	99	95	99	98	399	AVR, ACB	128	81	208	191																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	3,8	161,1	1656,7	32	44	63	30	206						20	I	3,8	200,6	2307,2	96	77	99	90	269	ACB mini	55	34	216	175	II	5,4	116,3	1759,5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A		21	I	4,7	165,9	2238,8	57	29	99	62	296	ACB mini	45	28	264	194	II	5,3	148,7	2182,1	32	11	99	8	194		22	I	4,1	152,2	1862,5	99	86	99	92	401	ACB mini	48	29	286	206	II	4,3	189,4	2253,8	73	85	99	89	231		23	I	5,2	169,7	1932,5	12	25	87	32	332	ACB mini	51	31	273	245	II	5,5	175,5	2214,5	18	18	99	89	206		24	I	5,4	146,1	2051,9	24	86	90	25	303	ACB mini	70	50	319	184	II	4,8	181,4	1827,2	50	97	99	49	290		25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227		26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																							
20	I	3,8	200,6	2307,2	96	77	99	90	269	ACB mini	55	34	216	175																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	5,4	116,3	1759,5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A						21	I	4,7	165,9	2238,8	57	29	99	62	296	ACB mini	45	28	264	194	II	5,3	148,7	2182,1	32	11	99	8	194		22	I	4,1	152,2	1862,5	99	86	99	92	401	ACB mini	48	29	286	206	II	4,3	189,4	2253,8	73	85	99	89	231		23	I	5,2	169,7	1932,5	12	25	87	32	332	ACB mini	51	31	273	245	II	5,5	175,5	2214,5	18	18	99	89	206		24	I	5,4	146,1	2051,9	24	86	90	25	303	ACB mini	70	50	319	184	II	4,8	181,4	1827,2	50	97	99	49	290		25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227		26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																
21	I	4,7	165,9	2238,8	57	29	99	62	296	ACB mini	45	28	264	194																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	5,3	148,7	2182,1	32	11	99	8	194						22	I	4,1	152,2	1862,5	99	86	99	92	401	ACB mini	48	29	286	206	II	4,3	189,4	2253,8	73	85	99	89	231		23	I	5,2	169,7	1932,5	12	25	87	32	332	ACB mini	51	31	273	245	II	5,5	175,5	2214,5	18	18	99	89	206		24	I	5,4	146,1	2051,9	24	86	90	25	303	ACB mini	70	50	319	184	II	4,8	181,4	1827,2	50	97	99	49	290		25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227		26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																									
22	I	4,1	152,2	1862,5	99	86	99	92	401	ACB mini	48	29	286	206																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	4,3	189,4	2253,8	73	85	99	89	231						23	I	5,2	169,7	1932,5	12	25	87	32	332	ACB mini	51	31	273	245	II	5,5	175,5	2214,5	18	18	99	89	206		24	I	5,4	146,1	2051,9	24	86	90	25	303	ACB mini	70	50	319	184	II	4,8	181,4	1827,2	50	97	99	49	290		25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227		26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																		
23	I	5,2	169,7	1932,5	12	25	87	32	332	ACB mini	51	31	273	245																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	5,5	175,5	2214,5	18	18	99	89	206						24	I	5,4	146,1	2051,9	24	86	90	25	303	ACB mini	70	50	319	184	II	4,8	181,4	1827,2	50	97	99	49	290		25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227		26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																											
24	I	5,4	146,1	2051,9	24	86	90	25	303	ACB mini	70	50	319	184																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	4,8	181,4	1827,2	50	97	99	49	290						25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227		26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																																																				
25	I	3,2	442,6	2697,4	92	82	94	81	291	ACB mini	55	37	265	235																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	4,5	239,7	2382,1	93	88	90	84	227						26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124		27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																																																																													
26	I	3,9	319,6	2962,6	99	83	99	74	146	ACB	57	35	130	115																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	4,1	281,5	2863,8	70	61	92	23	124						27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131		28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																																																																																																						
27	I	3,7	154,3	2130,4	99	81	89	43	229	MVR, TVP	140	100	197	111																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	8,5	116,1	2213,4	24	48	91	8	131						28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107		29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																																																																																																																															
28	I	4,9	170,4	2315,8	99	95	99	97	232	AA	113	86	171	89																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	4,4	314,1	2066,8	59	80	76	59	107						29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153		30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
29	I	4,0	193,8	2319,7	78	64	86	75	274	AVR,ACB	147	121	207	125																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	8,1	135,2	2595,2	81	52	71	25	153						30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162		31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
30	I	29,0	1,3	8,6	76	65	87	65	274	AA redo	96	55	263	144																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	5,6	143,2	2754,8	47	43	41	12	162						31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275		32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
31	I	4,0	238,6	2445,4	99	93	99	86	317	ACB mini	85	43	230	186																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	3,4	257,9	2252,7	99	89	99	90	275						32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
32	I	5,2	161,3	2180,8	14	90	92	56	357	ACB mini	69	43	231	224																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	II	2,3	425,5	2724,1	12	84	93	11	354																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																

pacient	číslo vzorku	TGTt [min]	TGTm [nM]	TGTe [nM]	KOL	ADP	RISTO	EPI	PLT	Výkon	délka ECC	délka svorky	tr. před výkonem	tr. po výkonu
33	I	2,3	503,6	2953,3	99	75	89	84	402	AVR+AA	160	130	222	108
	II	1,9	324,1	2414,8	59	36	88	11	N/A					
34	I	2,4	399,6	2773,8	99	99	99	99	293	ACB	82	44	233	230
	II	2,5	276,8	2468,1	98	97	92	88	N/A					
35	I	2,2	404,7	2518,2	4	25	93	77	290	ACB	72	42	276	201
	II	2,2	376,4	2614,6	3	30	85	6	230					
36	I	2,4	499,0	3184,7	75	50	77	11	526	ACB mini	88	41	283	201
	II	2,6	387,2	2679,5	63	40	79	6	322					
37	I	2,2	457,3	2937,8	89	99	99	84	N/A	ACB mini	45	26	294	196
	II	2,2	494,0	2960,6	91	90	99	83	N/A					
38	I	2,5	264,3	2142,3	96	90	96	64	235	ACB+MAZE	93	50	213	175
	II	4,1	222,2	2363,2	13	80	99	25	171					
39	I	3,1	637,3	3849,1	99	15	97	87	306	ACB mini	85	55	227	280
	II	7,2	184,9	2340,7	88	24	96	58	317					
40	I	2,2	528,5	3127,8	98	99	99	91	266	ACB mini	62	39	130	148
	II	3,5	132,7	3179,3	99	99	99	99	75					
41	I	4,9	191,4	2329,0	9	23	93	57	N/A	ACB mini	62	34	323	299
	II	4,0	206,9	2195,0	43	34	99	21	360					
42	I	3,8	179,3	2887,2	99	99	99	91	N/A	AA, ACB	153	111	215	142
	II	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A					
43	I	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	ACB off pump	N/A	N/A	251	118
	II	5,5	192,7	2737,6	99	98	83	99	277					

Vysvětlivky: Operační výkony: BS, ACB, uzPFO, reAVR, MVR, TVP, AVR, RF MAZE, SKN, MAZEuz, reACB, Délka ECC – délka mimotělního oběhu [min], Délka svorky – délka aortální svorky [min], Trombocyty před OP / po OP – počet trombocytů před a po operaci [množství * 10⁻⁹ v litru krve], KOL I – agregace kolagenu na začátku operace [%], KOL II – po ukončení operace [%], RISTO I – agregace ristocetinu na začátku operace [%], RISTO II – po ukončení operace [%], ADP I – agregace adenosinu na začátku operace [%], ADP II – po ukončení operace [%], EPI I – agregace epinefrinu na začátku operace [%], EPI II – po ukončení operace [%], TGTt I – Tlag na začátku operace [min], TGTt II – Tlag po ukončení operace [min], TGTm I – peak na začátku operace [nM], TGTm II – peak po ukončení operace [nM], TGTe I – AUC na začátku operace [nM], TGTe II – AUC po ukončení operace [nM]

Tabulka 16. Měřené parametry u skupiny pacientů se separací

pacient	číslo vzorku	TGTt [min]	TGTm [nM]	TGTe [nM]	KOL	ADP	RISTO	EPI	PLT	Výkon	délka ECC	délka svorky	objem odběru	objem PRP	tr. před OP/po OP
1	I	2,6	221,3	4213,9	99	90	92	96	272	Bentall sec.	118	99	844	550	291/167
	II	4,4	202,2	3009,5	5	3	94	5	118						
	III	7,1	159,4	2779,1	34	92	99	94	184						
	IV	4,6	200,0	2904,3	48	77	99	88	195						
2	I	4,8	199,9	3147,2	99	89	99	99	373	Bentall sec.	151	101	987	617	262/177
	II	5,2	151,3	3074,3	5	3	90	11	162						
	III	6,7	176,7	3037,2	88	95	98	78	288						
	IV	5,0	147,5	2757,9	87	75	89	79	288						
3	I	6,8	44,5	1057,2	9	2	99	6	74	reoprace AVR, autoplastika	98	68	908	473	166/76
	II	5,6	23,8	678,8	53	85	99	82	314						
	III	4,4	171,8	2808,7	14	66	88	20	106						
	IV	6,3	130,4	2441,3	16	62	77	26	105						
4	I	13,5	3,0	13,6	99	84	98	94	364	reoperace AVR	91	65	857	505	201/143
	II	15,4	1,8	9,1	7	14	99	4	154						
	III	5,5	138,8	2776,5	17	74	92	40	132						
	IV	4,1	174,7	2787,7	14	60	80	34	173						
5	I	2,5	518,2	3224,5	99	89	99	91	292	Bentall sec.	119	90	883	581	259/168
	II	4,2	213,7	2603,2	8	6	99	7	101						
	III	7,1	154,2	2080,6	76	87	92	24	190						
	IV	4,0	206,9	2246,9	28	63	79	14	182						
6	I	3,3	510,2	4193,7	28	86	93	94	196	Bentall sec.	130	90	800	475	200/118
	II	4,2	281,6	3187,2	36	16	99	7	82						
	III	4,8	183,9	3014,0	27	76	99	21	121						
	IV	5,1	188,7	3152,8	17	58	66	23	130						
7	I	5,4	96,8	2000,6	11	8	99	7	69	MVR, ACB, resekce ouška	150	98	788	464	161/144
	II	7,1	103,4	1897,6	48	62	70	49	172						
	III	3,5	121,6	1563,1	11	15	19	13	168						
	IV	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A						
8	I	4,9	152,1	2100,0	13	5	99	1	50	Bentall sec.	143	110	927	563	146/77
	II	4,9	169,4	1900,1	18	74	98	24	95						
	III	3,5	183,1	1933,0	22	59	88	19	95						
	IV	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A						
9	I	3,8	255,2	2751,9	99	95	99	86	356	MVR, TVP, ROLS	103	84	800	570	265/165
	II	3,9	182,2	2932,7	3,6	5	99	3	172						
	III	4,9	168,6	1979,8	21	81	58	34	88						
	IV	4,6	174,1	2274,8	50	84	99	14	161						

pacient	číslo vzorku	TGTt [min]	TGTm [nM]	TGTe [nM]	KOL	ADP	RISTO	EPI	PLT	Výkon	délka ECC	délka svorky	objem odběru	objem PRP	tr. před OP/po OP
10	I	4,4	212,8	3085,0	88	75	99	72	242	MVP, ACB	103	76	800	550	172/150
	II	4,3	168,0	2888,6	14	9	99	8	75						
	III	9,5	116,4	2334,6	17	84	93	23	159						
	IV	4,5	177,8	2494,9	50	76	99	21	155						
11	I	4,1	111,1	1233,4	99	93	99	93	147	AA-Bental, hemiarch, MAZE	208	161	800	550	272/186
	II	5,0	69,7	1223,4	88	36	97	11	132						
	III	7,9	75,5	984,7	81	69	64	63	205						
	IV	5,4	119,0	1722,6	76	70	79	40	225						
12	I	2,3	622,0	3739,9	99	75	99	96	263	MVP, TVP, ROLS	140	107	800	550	177/112
	II	3,1	357,8	3693,6	3	7	99	1	91						
	III	3,8	384,1	2877,3	36	66	71	50	130						
	IV	4,1	185,2	1906,5	21	5	99	24	116						
13	I	4,4	212,7	2130,1	96	87	99	92	202	AA-Bental, SCB	140	108	800	550	183/94
	II	5,3	171,3	2151,7	6	9	99	7	76						
	III	N/A	N/A	N/A	18	37	85	13	114						
	IV	N/A	N/A	N/A	13	30	52	11	109						
14	I	4,5	214,0	2402,0	78	6	96	11	260	AA-David	150	120	870	500	186/166
	II	5,5	132,8	2044,0	3	6	99	1	108						
	III	7,8	101,1	1470,1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A						
	IV	5,2	107,0	1338,2	6	52	82	7	139						
15	I	3,7	402,8	3458,3	99	99	99	89	230	re-AVR	86	63	800	550	271/223
	II	5,0	151,9	2452,1	5	2	37	8	136						
	III	5,8	205,0	3096,2	16	61	82	11	149						
	IV	4,7	183,9	1820,5	17	56	89	4	188						
16	I	4,4	280,5	3790,3	99	90	99	99	301	Bental sec.	120	90	917	598	245/179
	II	5,2	145,0	3061,1	9	14	99	4	129						
	III	9,0	111,2	2683,6	27	77	98	56	134						
	IV	4,0	235,2	3127,6	68	88	99	44	145						
17	I	5,3	126,7	2070,3	99	81	99	86	183	AVR, MVP, TVP	220	160	800	550	256/160
	II	5,6	146,3	2509,7	5	1	99	6	98						
	III	7,0	131,9	1473,7	88	84	89	18	180						
	IV	5,2	110,1	1413,6	97	84	99	14	198						
18	I	4,0	316,6	3140,7	99	93	99	75	350	AVR, ACB, MAZE	121	91	700	500	245/125
	II	4,9	138,1	2326,8	1	6	99	7	100						
	III	5,7	186,8	2471,3	13	71	92	10	228						
	IV	2,3	460,8	2785,2	92	82	24	81	291						

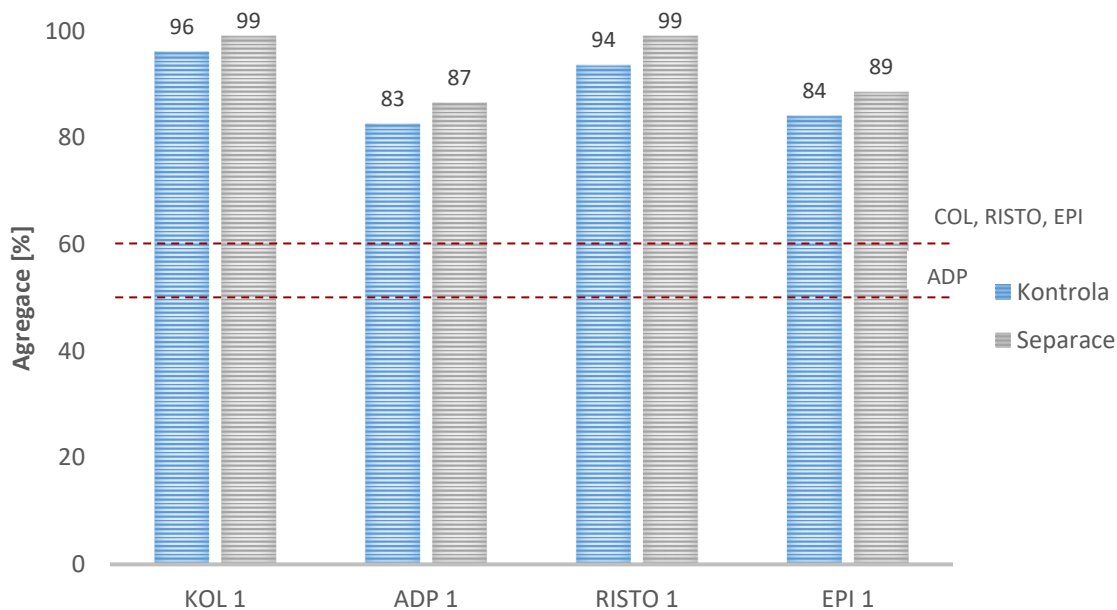
pacient	číslo vzorku	TGTt [min]	TGTm [nM]	TGTe [nM]	KOL	ADP	RISTO	EPI	PLT	Výkon	délka ECC	délka svorky	objem odběru	objem PRP	tr. před OP/po OP
19	I	5,3	184,8	2784,4	99	99	99	99	218	MVP, TVP, PFO, MAZE	126	90	600	490	209/121
	II	4,9	147,6	2911,5	8	4	99	19	78						
	III	7,5	133,6	2593,6	20	75	91	49	117						
	IV	5,2	175,7	2794,7	21	90	97	21	126						
20	I	3,8	274,6	2722,4	99	82	99	88	354	AVR+AA	85	65	N/A	N/A	214/159
	II	5,1	145,7	2719,2	4	3	99	7	121						
	III	8,0	147,3	2463,4	83	53	80	11	179						
	IV	5,3	152,4	2754,8	80	56	92	12	176						
21	I	2,1	577,4	2983,6	98	88	97	91	321	AVR, ACB	164	124	800	550	238/122
	II	3,2	220,2	2950,1	99	99	99	99	203						
	III	7,7	126,5	1978,2	60	85	90	94	138						
	IV	3,6	268,9	2540,4	25	84	99	63	129						
22	I	N/A	N/A	N/A	99	93	99	72	213	AVR redo	93	66	800	550	184/78
	II	N/A	N/A	N/A	8	7	88	9	78						
	III	7,5	134,6	2015,2	12	96	97	48	102						
	IV	4,1	186,3	1969,7	1,9	77	78	26,5	88						
23	I	3,7	496,6	3815,6	99	97	99	99	268	AA - Yacoub	260	180	600	420	260/145
	II	60	158,9	2945,9	59	7	99	51	125						
	III	3,3	359,6	3529,6	33	80	73	36	117						
	IV	7,2	58,9	1708,6	41	86	98	26	134						
24	I	4,1	321,6	2957,6	99	84	99	79	371	Aa Yacoub	151	118	800	550	295/212
	II	4,6	304,7	3588,5	1	2	98	3	168						
	III	4,2	298,5	2462,3	80	63	85	18	217						
	IV	2,6	454,2	3317,6	85	64	99	15	200						

Vysvětlivky: KOL III – agregace kolagenu po ukončení MTO [%], KOL VI – agregace kolagenu po navrácení separovaných buněk z Cell saveru [%], ADP III – agregace adenosinu po ukončení MTO [%], ADP VI – agregace adenosinu po navrácení separovaných buněk z Cell saveru [%], RISTO III – agregace ristocetinu po ukončení MTO [%], RISTO VI – agregace ristocetinu po navrácení separovaných buněk z Cell saveru [%], EPI III – agregace epinefrinu po ukončení MTO [%], EPI VI – agregace epinefrinu po navrácení separovaných buněk z Cell saveru [%], TGTt III – Tlag po ukončení MTO [min], TGTt IV – Tlag po navrácení separovaných buněk z Cell saveru [min], TGTm III – peak po ukončení MTO [nM], TGTm IV – peak po navrácení separovaných buněk z Cell saveru [nM], TGTe III – AUC po ukončení MTO [nM], TGTe IV – AUC po navrácení separovaných buněk z Cell saveru [nM], objem odběr – objem odebrané krve před zahájením výkonu [ml], objem PRP – objem plazmy bohaté na krevní destičky [ml], trombocyty před OP / po OP – počet trombocytů před a po operaci [množství * 10⁻⁹ v litru krve], PLT - počet krevních destiček [množství * 10⁻⁹ v litru krve],

7.4.1 Statistické hodnocení vyšetřovaných skupin

Tabulka 17. Souhrnné statistické hodnocení souboru pacientů při měření agregace na začátku operace

	Medián	KONTROLA		Medián	SEPARACE	
		Minimum	Maximum		Minimum	Maximum
COL 1	96	4	99	99	9	99
ADP 1	83	15	99	87	2	99
RISTO 1	94	77	99	99	92	99
EPI 1	84	11	99	89	1	99



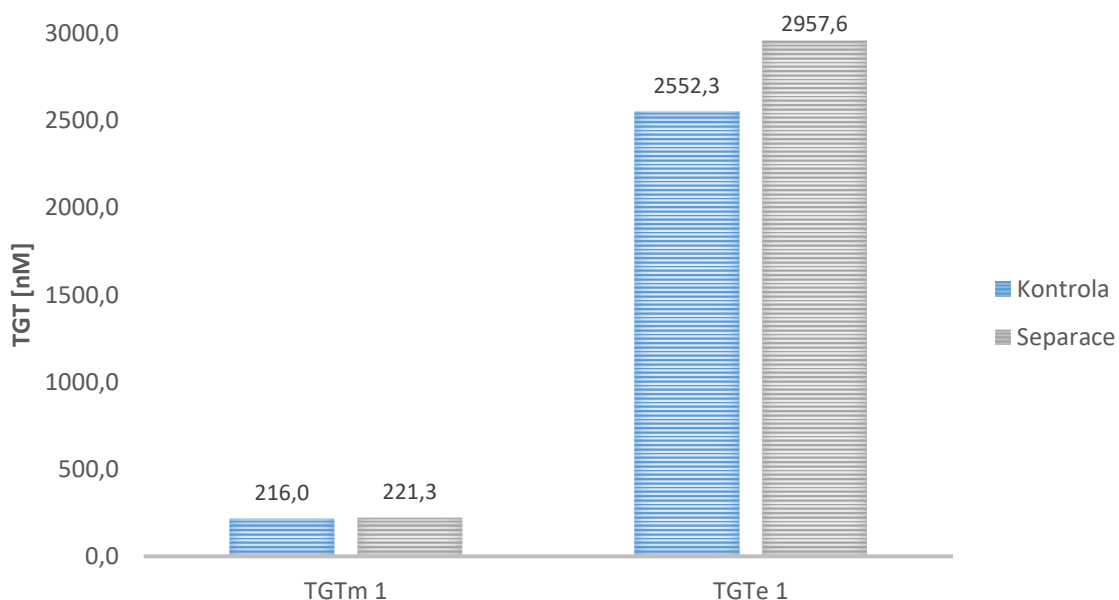
Obrázek 24. Medián hodnot agregace měřených při započatí operace u jednotlivých induktorů

Vysvětlivky: Porovnání kontrolní skupiny bez navrácení krve z Cell saveru oproti operované skupině s navrácením krve z Cell saveru. Přerušovaná čára COL, RISTO, EPI – ukazuje hraniční procento agregace normálního (> 60 %) a patologického stavu (< 60 %). Přerušovaná čára ADP – ukazuje hraniční procento agregace normálního (> 50 %) a patologického stavu (< 50 %).

Při zahájení operace nebylo měřením agregace prokázáno, že by se vyšetřované skupiny pacientů lišily.

Tabulka 18. Souhrnné statistické hodnocení souboru pacientů při měření TGT na začátku operace

	KONTROLA			SEPARACE		
	Medián	Minimum	Maximum	Medián	Minimum	Maximum
TGTt 1	4,0	2,2	47,0	4,1	2,1	13,5
TGTm 1	216	1,3	638,1	221,3	3,0	622,0
TGTe 1	2552,3	1,7	4542,3	2957,6	13,6	4213,9



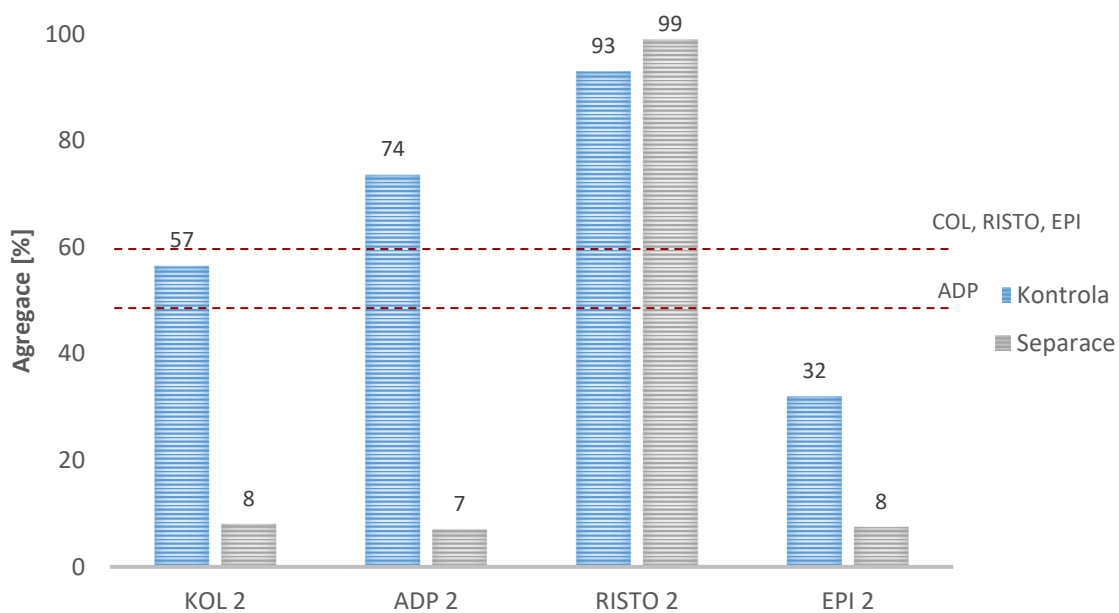
Obrázek 25. Medián hodnot trombin generačního testu naměřených při započatí operace

Vysvětlivky: Porovnání kontrolní skupiny bez navrácení krve z Cell saveru oproti operované skupině s navrácením krve z Cell saveru. Zobrazeny jsou parametry TGTm (peak) a TGTe (AUC) uváděné v nM.

Při zahájení operace nebylo provedením trombin generačního testu prokázáno, že by se vyšetřované skupiny pacientů lišily.

Tabulka 19. Souhrnné statistické hodnocení souboru pacientů při měření agregace po ukončení operace

	KONTROLA			SEPARACE		
	Medián	Minimum	Maximum	Medián	Minimum	Maximum
COL 2	57	3	99	8	1	99
ADP 2	74	11	99	7	1	99
RISTO 2	93	41	99	99	37	99
EPI 2	32	6	99	8	1	99

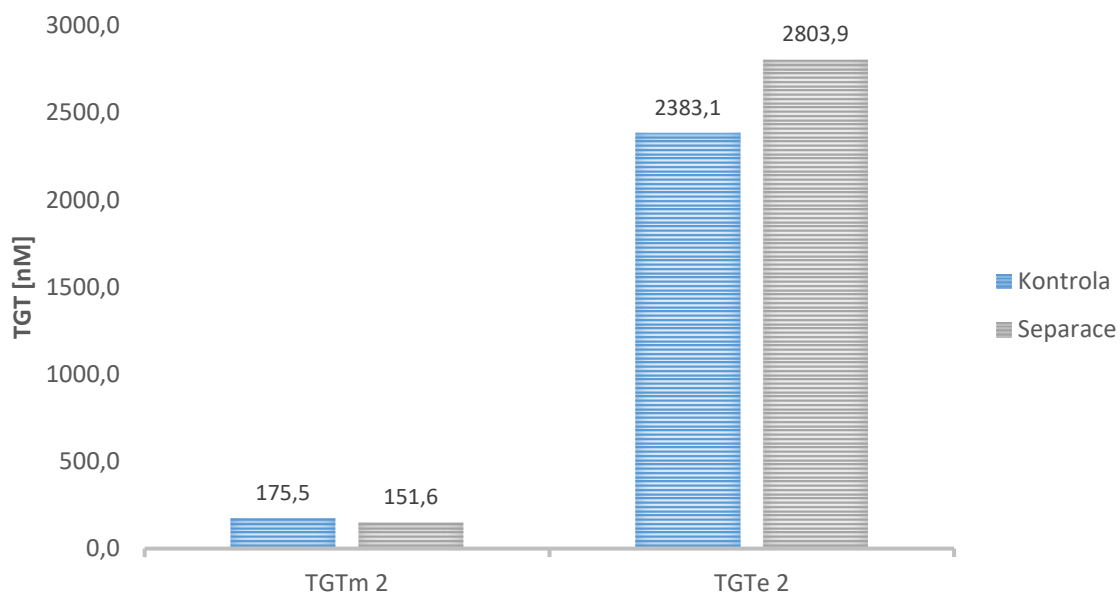


Obrázek 26. Medián hodnot agregace naměřených po ukončení operace

Po ukončení operace byl měřením agregace zjištěn rozdíl po všech induktorech.

Tabulka 20. Souhrnné statistické hodnocení souboru pacientů při měření TGT po ukončení operace

	KONTROLA			SEPARACE		
	Medián	Minimum	Maximum	Medián	Minimum	Maximum
TGTt 2	4,8	1,9	11,0	5,0	3,1	15,4
TGTm 2	175,5	79,6	494,0	151,6	1,8	357,8
TGTe 2	2383,1	1251,6	3179,3	2803,9	9,1	3693,6

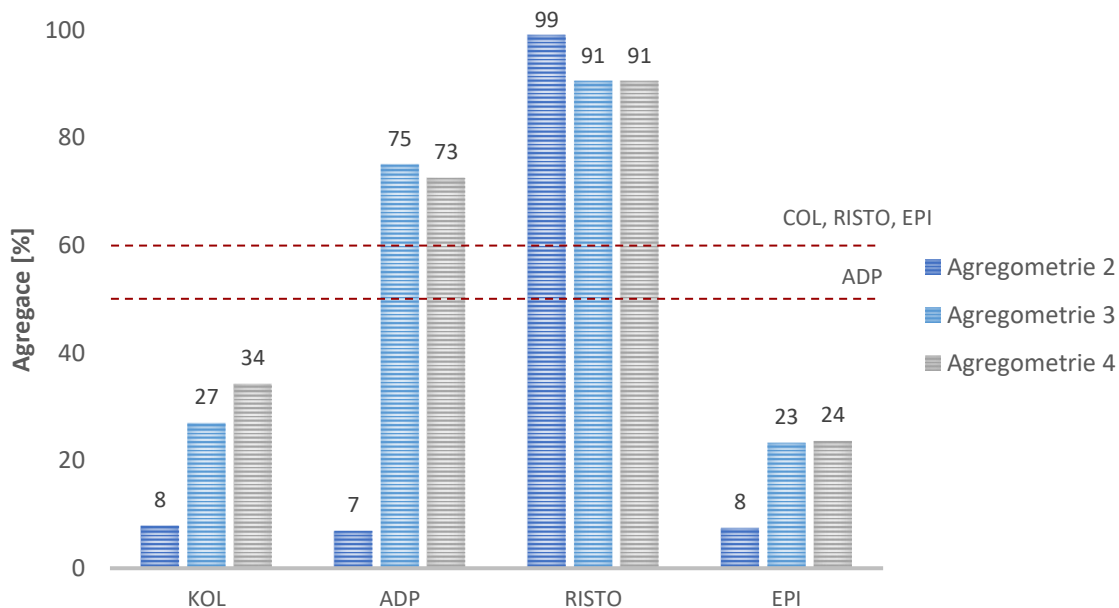


Obrázek 27. Medián hodnot trombin generačního testu naměřených po ukončení operace

Po ukončení operace nebylo provedením trombin generačního testu prokázáno, že by se vyšetřované skupiny pacientů lišily.

Tabulka 21. Souhrnné statistické hodnocení agregometrie u pacientů se separací měřené po ukončení MTO a navrácené buněk z přístroje Cell saver

	SEPARACE				SEPARACE		
	Medián	Minimum	Maximum		Medián	Minimum	Maximum
COL 3	96	4	99	COL 4	99	9	99
ADP 3	83	15	99	ADP 4	87	2	99
RISTO 3	94	77	99	RISTO 4	99	92	99
EPI 3	84	11	99	EPI 4	89	1	99

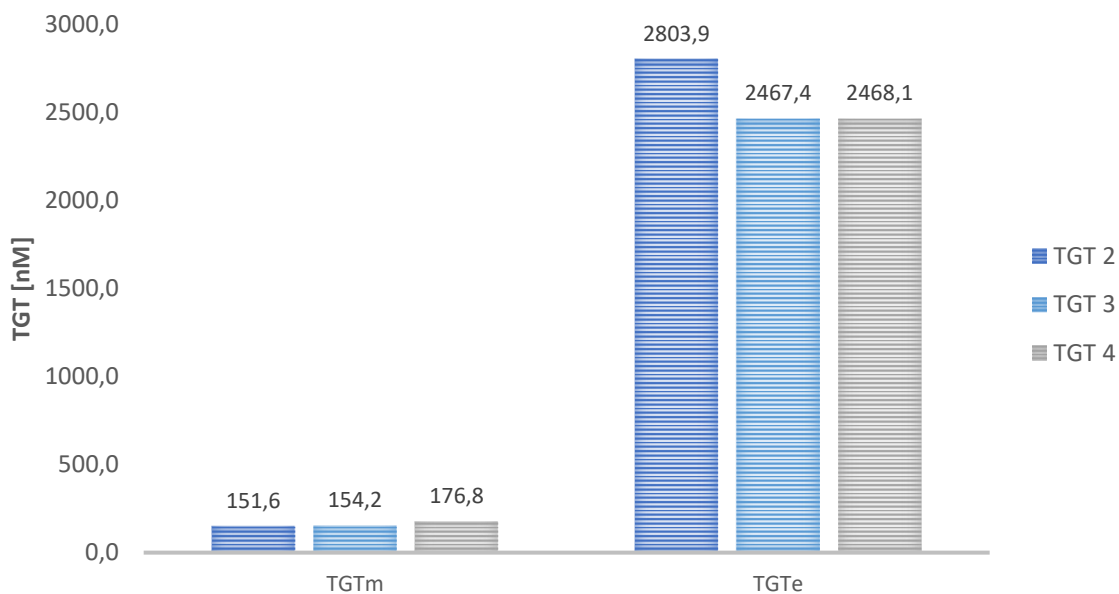


Obrázek 28. Medián hodnot agregace u skupiny pacientů se separací po ukončení operace, ukončení MTO a navrácení buněk z Cell saveru

Použití Cell saveru u skupiny pacientů se separací mělo pozitivní vliv na agregační parametry, jež byly měřeny po ukončení operace (agregometrie 2), ukončení MTO (agregometrie 3) a navrácení buněk z Cell saveru (agregometrie 4).

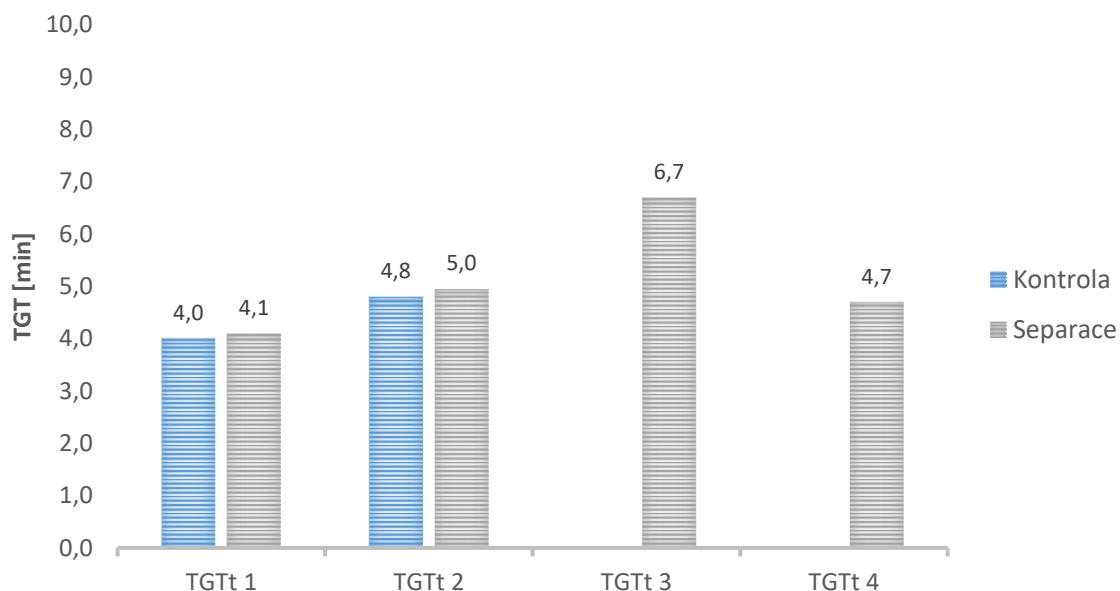
Tabulka 22. Souhrnné statistické hodnocení TGT u pacientů se separací měřené po ukončení MTO a navrácené buněk z přístroje Cell saver

	SEPARACE				SEPARACE		
	Median	Minimum	Maximum		Median	Minimum	Maximum
TGTt 3	6,7	3,5	9,5	TGTt 4	4,7	2,3	7,2
TGTm 3	154,2	75,5	384,1	TGTm 4	176,8	58,9	460,8
TGTe 3	2467,4	984,7	3529,6	TGTe 4	2468,1	1338,2	3317,6



Obrázek 29. Median hodnot trombin generačního testu u skupiny pacientů se separací po ukončení operace, ukončení MTO a navrácení buněk z Cell saveru

Použitím Cell saveru u skupiny pacientů se separací nemělo zásadní vliv na změny v koagulačním systému.



Obrázek 30. Medián hodnot TGTt naměřených před zahájením operace, ukončení CPB, ukončení MTO a navrácení buněk z Cell saveru

Vysvětlivky: Porovnání kontrolní skupiny bez navrácení krve z Cell saveru oproti operované skupině s navrácením krve z Cell saveru. Zobrazen je parametr TGTt (Tlag) vyjadřující dobu, za kterou je aktivovaný koagulační systém, uváděný v minutách.

Použití Cell saveru vykazovalo variabilitu v parametru Tlag u vyšetřovaných skupin pacientů.

DISKUZE

V rámci formulování teoretické části jsme popsali jednotlivé systémy, které se podílí na koagulačních změnách při kardiochirurgických výkonech. Jedná se o primární hemostázu, která je zajišťována trombocyty a jejich schopnosti agregace, a sekundární hemostázu, jež je zajišťována koagulačním systémem a jeho markery. Trombocyty a jejich schopnost agregace patří v poslední době mezi široce studovaná témata, což potvrzuje i řada publikací zaměřujících se na funkci jednotlivých receptorů krevních destiček (Rinder et al., 1991; Hellmann et al., 2018). Stejně tak jsou v poslední době diskutovány změny v plazmatickém systému, které mohou být popisovány řadou markerů nebo globálními testy, což z této problematiky dělá aktuální téma (Gronchi et al., 2014; Hellmann et al., 2018).

Z hlediska aplikace metodik a postupů vyšetření funkčního stavu trombocytů a plazmatického koagulačního systému jsme zvolili agregační vyšetření trombocytů a globální trombin generační test. Tyto testy jsou dostupné v řadě laboratoří, poskytují kvalitní výsledky v souladu s časovou a finanční dostupností. Kromě námi vybraných analýz funkce krevních destiček existuje řada metod, mezi které řadíme například platelet mapping sledující globální změny v hemostáze, který je finančně náročný a dostupný na omezeném počtu pracovišť (Aqarwal et al., 2015). Pro sledování koagulačního systému je možné také zvolit tromboelastografii, jež je založená na měření změn viskoelastických vlastností během tvorby krevního koagula, která méně citlivá a finančně poměrně náročná (Hájek et al., 2005; Gronchi et al., 2014). V plazmatickém systému můžeme mimo globálních testů volit i jednotlivé markery aktivace koagulace a monitorace antikoagulační léčby, ale jejich interpretace je enormně složitá.

Monitorace kardiochirurgického výkonu byla navržena tak, aby mapovala jednotlivé fáze výkonu. Měření agregace a TGT byly provedeny ve čtyřech fázích kardiochirurgického výkonu: 1. Po zahájení operace pro eliminaci pacientů, jež byli kontraindikováni v léčbě; 2. Po ukončení výkonu z důvodu porovnání působení mimotělního oběhu na funkci krevních destiček a koagulačního systému; 3. Po ukončení MTO a 4. Navrácení buněk z Cell saveru, pro sledování změn ve vybraných parametrech u skupiny pacientů se separací oproti hodnotám naměřených po ukončení operace u stejné skupiny.

Pro zhodnocení vlivu Cell saveru jsme využili porovnání 43 pacientů postupující kardiochirurgický výkon stávajícím postupem s 24 pacienty, kdy byl operační výkon doplněn použitím Cell saveru. Jelikož dosud nebyl příliš důkladně popsán vliv Cell saveru na funkci destiček a celkové koagulace, tak jsme navržený postup kontroly pomocí agregačních vyšetření a trombin generačního testu dle Ranucci & Baryshnikova (2019) ověřili na výše uvedené skupině pacientů.

Porovnáním jednotlivých parametrů agregačních testů bylo prokázáno výrazné snížení hodnot agregace u skupiny pacientů se separací po ukončení kardiochirurgického výkonu oproti kontrolní skupině (obrázek 26). Naopak bylo prokázáno výrazné zvýšení agregace trombocytů u skupiny pacientů se separací po navrácení buněk z Cell saveru zpět pacientovi oproti hodnotám po ukončení operace (obrázek 28), jež mělo pozitivní vliv na snížení krevních ztrát během a po ukončení operace (tabulka 14). Také byly porovnávány hodnoty trombin generačního testu – peak a AUC u jednotlivých skupiny pacientů (obrázek 25, 27 a 29), kde nebyl prokázán zásadní vliv na změny v koagulačním systému. Pouze byla prokázána variabilita v parametru Tlag u vyšetřovaných skupin pacientů (obrázek 30), kde došlo k prodloužení doby do aktivace koagulačního systému u skupiny pacientů se separací po ukončení kardiochirurgického výkonu po dobu navrácení buněk z přístroje Cell saver, v souladu s (Rinder et al., 1991; Ranucci & Baryshnikova, 2019).

ZÁVĚR

Zvolené metodiky se jevily vhodné pro monitoraci primární i sekundární hemostázy a poskytly přesvědčivé výsledky.

Z hlediska časového se navržená monitorace jeví jako dostatečný kompromis mezi kontinuálním monitorováním složitých koagulačních změn při kardiochirurgických výkonech a následného hodnocení klinických parametrů jako je závažné krvácení či potřeba transfúzní intervence u pacienta.

Využití zařízení Cell saver se na základě našich výsledků jeví jako vhodný doplněk MTO při kardiochirurgických operacích, kdy nám zvyšuje funkčnost trombocytů mající pozitivní vliv na krevní ztráty.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AA	kyselina arachidonová
ACT	activated clotting time
ADP	adenosindifosfát
AT	antitrombin
ATP	adenosintrifosfát
C1INH	C1 inhibitor
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CPB	kardiopulmonární bypass
ECM	extracelulární matrix
EPI	epinefrin
Faktor I	fibrinogen
Faktor II	protrombin
Faktor III	tkáňový tromboplastin
Faktor IV	kalcium
Faktor IX	Christmas faktor
Faktor V	proakcelerín
Faktor VII	prokonvertin
Faktor VIII	antihemofilický faktor A
Faktor X	Stuartův-Prowerův faktor
Faktor XI	Plasma tromboplastin antecedent
Faktor XII	Hagemanův faktor
Faktor XIII	transglutamináza
GP	glykoprotein
Hb	hemoglobin
HCII	heparin kofaktor II
HMWK	vysokomolekulární kininogen
KOL	kolagen
LDL	lipoproteiny o nízké hmotnosti
MTO	mimotělní oběh
PAI	inhibitory aktivátoru plazminogenu
PC	protein C

PCI	inhibitor aktivovaného proteínu C
PL	fosfolipidy
PPP	plazma chudá na krevní destičky
PRP	plazma bohatá na krevní destičky
PS	protein S
PZ	protein Z
RISTO	ristocetin
TAFI	inhibitor fibrinolýzy aktivovaný trombinem
TF	tkáňový faktor
TFPI	inhibitor zevní koagulační cesty
TGT	trombin generační test
TGT _e	endogenní trombinový potenciál
TGT _m	peak trombin
TGT _t	iniciační fáze
TM	trombomodulin
tPA	tkáňový aktivátor plazminogenu
T _{peak}	time to peak
TXA ₂	aktivovaný tromboxan A ₂
uPA	urokinázový typ plazminogenu
VWF	Von Willebrandův faktor
ZPI	proteinázový inhibitor závislý na proteínu Z

SEZNAM LITERATURY

Achneck, H. E., Sileshi, B., Parikh, A., Milano, C. A., Welsby, I. J., & Lawson, J. H. (2010). Pathophysiology of bleeding and clotting in the cardiac surgery patient: from vascular endothelium to circulatory assist device surface. *Circulation*, 122(20), 2068–2077.

Agarwal S, Johnson RI, Kirmani BH (2015) Pre and Post-Bypass Platelet Function Testing with Multiple Electrode Aggregometry and TEG Platelet Mapping in Cardiac Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 29(5): 1272- 1276.

Bedáňová I., Večerek, V. (2007). *Základy statistiky pro studující veterinární medicíny a farmacie*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno.

Berendes, E., Schmidt C., Van Aken H. et al. (2003). Reversible cardiac sympathectomy by high thoracic epidural anaesthesia improves regional left ventricular function in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *A randomized trial. The Archives of Surgery* 138, 1283.

Clementson, K. J. (1998). Platelet collagen receptors: a new target for inhibition. *Haemostasis*, 28(2), 84.

Colman, R. W., Hirsh, K., Marder, V. J. et al. (2001). *Hemostasis and Thrombosis*, New York: Lipponcott Williams and Wilkins.

Dobrotová, M. (2006). *Hematológia a transfuziologie: učebnica*. Praha: Grada.

Gronchi F, Perret A, Ferrari E, Marcucci CM, Flèche J, et al. (2014) Validation of rotational thromboelastometry during cardiopulmonary bypass: A prospective, observational in-vivo study. *European Journal of Anaesthesiology* 31(2): 68-75.

Hájek R. a kol. Perioperační monitorování kardiokirurgických pacientů tromboelastografií, *Intervenční a akutní kardiologie*, 2005;4:211–217.

Hellmann C, Schmutz A, Kalbhenn J (2018) Bleeding during veno-venous ECMO cannot reliably be predicted by rotational thrombelastometry (ROTEM™). *Perfusion* 33(4): 289-296.

Hu, Ch., Baglia, F. A., Mills, D. C. B., Konkle, B. A., Walsh, P. N. (1998). Time-specific expression of functional XI expression. *Blood*, 91, 3800–3807

Cheng, D. C. (1998). Fast-track cardiac surgery pathways: early extubation, process of care, and cost containment. *Anesthesiology*, 88, 1429.

- Kirklin JW, Barratt-Boyes BG. (1993). Hypothermia, circulatory arrest, and cardiopulmonary bypass. In: *Kirklin JW, Barratt-Boyes BG, eds. Cardiac Surgery*. 2nd ed. New York, NY: Churchill-Livingstone.
- Kittnar, O. (2011). *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada.
- Koltai, K.; Kesmarky, G.; Feher, G.; Tibold, A.; Toth, K. (2017). Platelet Aggregometry Testing: Molecular Mechanisms, Techniques and Clinical Implications. *International Journal of Molecular Sciencis*, 18, 1803.
- Kroll, M. H., Harris, T. S., Moake, J. L., et al. (1991). Von Willebrand factor binding to platelet Gp Ib initiates signal for platelet activation. *Journal of Clinical Investigation*, 88, 1568–1573.
- LaW, R. H. P., Zhang Q., McGowa S., et al. (2006). An overview of the serpin superfamily. *Genome Biology*, 7, 216.
- Matýšková, M., & Hrachovinová, I. (1999). *Hematologie pro zdravotní laboranty*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví.
- Mayo, K. H., Fan, F., Beavers, M. P., et al. (1996). RGD induces conformational transitions in purified platelet integrin GP IIb-IIIa-SDS systém yielding multiple binding states for fibrinogen gamma Chin C-terminal peptide. *FEBS Letters.*, 378, 79–82.
- Nieuwenhuis, H. K., Akkerman, J. W., Houdijk, W. P., Sixmax, J.J. (1985). Human blood of platelets showing no response to collagen fail to express surface glycoprotein Ia. *Nature*, 318, 470–472.
- Nosál, R., & Jančinová, V. (1990). *Krvné doštičky v biológii a medicíne*. Bratislava: Veda
- Pecka, M. (2004). *Laboratorní hematologie v přehledu* ([3. díl], Fyziologie a patologie hemostázy). Český Těšín: Finidr.
- Pecka, M. (2006). *Laboratorní hematologie v přehledu* ([2. díl], Fyziologie a patofyziologie krevní buňky). Český Těšín: Finidr.
- Pecka, M., & Bláha, M. (2010). *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Český Těšín: Infiniti art.
- Penka, M., & Slavíčková, E. (2011). *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Grada.
- Povýšil, C., & Šteiner, I. (c2007). *Speciální patologie* (2., dopl. a přeprac. vyd). Praha: Galén.
- Qin, C., Gu, J., Hu, J., Qian, H., Fei, X., Li, Y., et al. (2016). Platelets activation is associated with elevated plasma mitochondrial DNA during cardiopulmonary bypass. *Journal Cardiothoracic Surgery*, 11(1), 90.

- Ranucci, M., & Baryshnikova, E. (2019). Inflammation and coagulation following minimally invasive extracorporeal circulation technologies. *Journal Of Thoracic Disease*, 1(1), S1480-S1488. doi:10.21037/jtd.2019.01.27
- Rinder CS, Bohnert J, Rinder HM, Mitchell J, Ault K, et al. (1991) Platelet activation and aggregation during cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 75(3): 388-93
- Sarkar M, Prabhu V. (2017). Basics of cardiopulmonary bypass. *Indian Journal of Anaesthesia*, 61, 760–767.
- Schloesser, M., Zeerleder, S., Lutze, G., Halbmayer, W. M., Hofferbert, S., Hinney, B., et al. (1997). Mutations in the human factor XII gene. *Blood*, 90(10), 3967–3977.
- Slavik L, Hajek R, Chaloupkova P, Ulehlova J, Zuscich O, Lonsky V. Effect of Different Types of Extracorporeal Circulation on Hemostasis Activation and Methods for its Monitoring. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 17(4)-2019. BJSTR. MS.ID.003039.
- Vaněk, I. (2002). *Kardiovaskulární chirurgie*. Praha: Karolinum.
- Wagner, R. (2009). *Kardioanestezie a perioperační péče v kardiochirurgii*. Praha: Grada Publishing.
- Zapata, J. C., Cox, D., Salvato, M.S. (2014). The Role of Platelets in the Pathogenesis of Viral Hemorrhagic Fevers. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 8(6), 2858
- Zhou SF, Estrera AL, Loubser P, Ignacio C, Panthayi S, et al. (2015) Autologous platelet-rich plasma reduces transfusions during ascendent aortic arch repair: a prospective randomized controlled trial. *The Annals of Thoracic Surgery*, 99(4): 1282-1290.