

**UNIVERZITET U BEOGRADU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Branko D. Mimić**

**ZNAČAJ PROTEKCIJE MIOKARDA  
ETAPNOM REPERFUZIJOM U TOKU  
OPERATIVNOG LEČENJA UROĐENIH  
SRČANIH MANA**

**doktorska disertacija**

Beograd, 2018

**UNIVERSITY OF BELGRADE**

**FACULTY OF MEDICINE**

**Branko D. Mimić**

**EFFECTS OF STAGE REPERFUSION ON  
MYOCARDIAL PROTECTION IN  
CONGENITAL CARDIAC SURGERY**

**doctoral dissertation**

**Belgrade, 2018**

**MENTOR : Prof. dr Slobodan Ilić**, dečki hirurg, kardiohirurg, profesor na Medicinskom Fakultetu Univerziteta u Beogradu

**KOMISIJA :**

1. **Prof. dr Vojislav Parezanović**, pedijatar, dečki kardiolog, profesor na Medicinskom Fakultetu Univerziteta u Beogradu
2. **Prof. dr Mila Stajević-Popović**, dečki hirurg, kardiohirurg, profesor na Medicinskom Fakultetu Univerziteta u Beogradu
3. **Prof. dr Petar Stojanov**, profesor na Medicinskom Fakultetu Univerziteta u Beogradu, u penziji

# ZNAČAJ PROTEKCIJE MIOKARDA ETAPNOM REPERFUZIJOM U TOKU OPERATIVNOG LEČENJA UROĐENIH SRČANIH MANA

## REZIME

**Cilj:** Studija ima za cilj da pokaže efekte etapne reperfuzije toplom krvnom kardioplegičnom reperfuzijom (hot shot postkondicioniranje) u odnosu na do sada korišćeni vid kardioprotekcije (hot shot).

**Metod:** Ispitanici su randomizirano razvrstani u dve grupe u zavisnosti da li su primili kontinuiranu krvnu kardioplegičnu reperfuziju (HS) ili krvnu kardioplegičnu reperfuziju sa algoritmom za postkondicioniranje (PostK). Procenjivana je brzina funkcionalnog i metaboličkog oporavka miokarda, intenzitet ishemijsko-reperfuzionog oštećenja miokarda i postoperativni klinički i ehokardiografski rezultati.

**Rezultati:** Sedamdesetjedan ispitanik je randomizirano podeljen u dve grupe: HS grupa (n=34) i PostK grupa (n=37). Dve grupe se nisu razlikovale u odnosu na demografske karakteristike, tipove mana i operativne varijable. Tip reperfuzije nije uticao na mortalitet, morbiditet i rane kliničke rezultate. Nije bilo razlike između grupa u odnosu na dužinu trajanja mehaničke ventilacije i vremena u jedinici intenzivnog lečenja. Izuzev nižih ukupnih prosečnih vrednosti serumskog laktata (p=0,02) u PostK grupi, nije registrovana značajna razlika u drugim ispitivanim postoperativnim hemodinamskim varijablama, kao i ehokardiografskim parametrima funkcije leve komore. Porast vrednosti cTnT nije zavisio od primenjene reperfuzione tehnike, ali je zavisio od dužine ishemije, sa postojanjem snažne pozitivne korelacije (p<0.001). Registrovana je značajno smanjena miokardna sekvestracija leukocita u PostK grupi (p=0,005). Nije ustanovljeno postojanje među-grupne razlike u vrednostima trans-kardijalnih vrednosti serumskih laktata, Ph krvi, glukoze i sadržaja kiseonika.

**Zaključak:** Postkondicioniranje u formi etapne reperfuzije toplom krvnom kardioplegijom nema značajan pozitivan efekat na rane kliničke rezultate, brzinu i stepen metaboličkog i funkcionalnog oporavka miokarda, kao i stepen ishemijskog oštećenja. Etapna reperfuzija dovodi do smanjene miokardne sekvestracije leukocita što potencijalno može da umani neutrofilima indukovano oštećenje vaskularnog endotela i miocita.

**Ključne reči:** postkondicioniranje, kardioprotekcija, etapna reperfuzija, urođene srčane mane, ishemijsko-reperfuziono oštećenje

**Naučna oblast:** Medicina

**Uža naučna oblast:** Dečja kardiohirurgija

# EFFECTS OF STAGE REPERFUSION ON MYOCARDIAL PROTECTION IN CONGENITAL CARDIAC SURGERY

## ABSTRACT

**Objective:** This study investigates the effects of postconditioning in the form of stage cardioplegic warm blood reperfusion on functional and metabolic myocardial recovery as well as early clinical results in patients undergoing congenital cardiac lesions repair.

**Methods:** Patients were randomly assigned to receive either continuous or intermittent warm blood hot shot. Early clinical results were assessed. Transcardiac difference in serum lactate, glucose, Ph and oxygen content were measured during the early reperfusion phase. Postoperative changes in the cardiac index, serum lactate levels, central venous saturation, cardiac Troponin T release were assessed during the first 24 hours following ishaemia.

**Results:** Patients were randomly divided into two groups: HS group (n=34) and PostK group (n=37). Two groups were similar in terms of patients' characteristics, lesions distribution and operative variables. There was no difference in mortality and postoperative complications rates between groups. There were no difference in inotropic requirements, duration of ventilation time and intensive care unit stay. The postoperative changes in central venous saturation, cardiac index, Troponin T release and left ventricle function assessed by transthoracic echocardiography were similar between two groups. However, there was significant difference in the level of serum lactate ( $p=0.02$ ) in favour of the PostK patients. An increase in the cTnT level was associated with prolonged ischemic time ( $p<0.001$ ). Although, there was significantly lower WBC myocardial sequestration ( $p=0.005$ ) in PostK group, myocardial release of lactate and acids, glucose intake and oxygen consumption were similar between two groups.

**Conclusion:** Postconditioning using intermittent cardioplegic warm blood reperfusion does not show significant advantage comparing with continuous hot shot in terms of clinical outcome, functional recovery and the degree of ischaemic injury in children undergoing congenital heart lesions repair. Stage reperfusion decreases myocardial WBC sequestration which might attenuate neutrophils-related vascular endothelium and myocytes injury.

**Keywords:** post-conditioning, cardio- protection, hot shot reperfusion, congenital heart surgery, ischaemic-reperfusion injury

**Naučna oblast:** Medicine

**Uža naučna oblast:** Paediatric cardiac surgery

## SADRŽAJ

1. UVOD	5
1.1. Istorijski razvoj protekcije miokarda u kardiohirurgiji	6
1.1.1. Kardioplegija	7
1.1.2. Ishemijsko prekondicioniranje	9
1.1.3. Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje	9
1.1.4. Ishemijsko postkondicioniranje	12
1.2. Protekcija miokarda od postishemijske disfunkcije	12
1.2.1. Oštećenje uzrokovano globalnom miokardnom ishemijom	13
1.3. Razlike između dečjeg i adultnog miokarda	16
1.3.1. Strukturalne razlike	16
1.3.2. Metabolizam miokarda	17
1.3.3. Metabolizam kalcijuma	17
1.3.4. Enzimska aktivnost	19
1.3.5. Senzitivnost na kateholamine	19
1.4. Klinički relevantne tehnike miokardne protekcije	20
1.4.1. Hipotermija	20
1.4.2. Protekcija miokarda kardioplegijom	21
1.4.2.1. Kristaloidna kardioplegija	22
1.4.2.2. Krvna kardioplegija	23
1.4.3. Topla krvna kardioplegična reperfuzija ( <i>hot shot</i> )	25
1.4.4. Putevi administracije kardioplegije	26
1.4.5. Uloga postkondicioniranja u kardioprotekciji	27
1.4.5.1. Fiziološki mehanizmi postkondicioniranja	27
1.4.5.2. Smanjenje zone infarkta miokarda	28
1.4.5.3. Redukcija aktivacije i disfunkcije endotela	29
1.4.5.4. Atenuacija apoptoze	29

1.4.5.5. Subcelularni mehanizmi postkondicioniranja	30
1.4.6. Trigeri uključeni u mehanizam postkondicioniranja	30
1.4.6.1. Generisanje slobodnih kiseoničnih radikala	30
1.4.6.2. Indukcija proinflamatornih citokina	32
1.4.6.3. Uloga endogenog adenzina	32
1.4.6.4. Uloga endogenih opioda	33
1.4.6.5. Uloga endogenog azot oksida (NO)	33
1.4.7. Medijatori postkondicioniranja	34
1.4.7.1. Aktivacija intraćelijske protein kinaze C	34
1.4.7.2. Aktivacija protein kinaza	35
1.4.7.3. Smanjenje akumulacije intraćelijskog Ca <sup>++</sup>	36
1.4.7.4. Otvaranje K <sub>ATP</sub> kanala	36
1.4.8. Efekti postkondicioniranja na krajnje efektore	37
1.4.8.1. Inhibicija otvaranja mPTP	37
1.4.9. Postkondicioniranje farmakološkim agensima	37
1.4.10. Postkondicioniranje ljudskog srca	38
2. CILJ RADA	41
3. MATERIJALI I METODE	42
3.1. Populacija ispitanika	42
3.2. Protokol ispitivanja	42
3.3. Anestezija i tehnika vođenja kardioplulmonalnog bajpas-a	43
3.4. Postoperativni tretman pacijenata	44
3.5. Ispitivane varijable	44
3.6. Algoritam za postkondicioniranje	47
3.7. Protokol za uzimanje uzoraka krvi	47
3.8. Instrumenti merenja	48
3.9. Statistička analiza	49

4. REZULTATI	51
4.1. Demografski i operativni rezultati	51
4.2. Postoperativni klinički rezultati	54
4.2.1. Rani mortalitet	54
4.2.2 Rani morbiditet	55
4.2.3 Električna aktivnost	56
4.2.4 Rani klinički rezultati	57
4.3. Hemodinamski parametri	58
4.3.1 Srednji arterijski pritisak	58
4.3.2 Centralni venski pritisak	59
4.3.3 Inotropni skor	60
4.3.4 Srčani indeks	62
4.3.5 Centralna venska saturacija	63
4.3.6 Laktati	64
4.4. Parametri metaboličkog oporavka miokarda	65
4.4.1 Step en sekvestracije leukocita	66
4.4.2 Transkardijalna razlika pH krvi	67
4.4.3 Transkardijalna razlika glukoze	68
4.4.4 Miokardna ekstrakcija kiseonika	70
4.4.5 Transkardijalna razlika koncentracije laktata	71
4.5. Troponin T	72
4.6. Ehokardiografski parametri	74
4.6.1 Vizuelna procena funkcije leve komore	74
4.6.2 MAPSE	75
4.6.3 Frakciono skraćenje	76
4.7 Biohemijski parametri	77
4.7.1 Glikemija	77



4.7.2 Hemoglobin	78
4.7.3 Hematokrit	80
4.7.4 Saturacija arterijske krvi kiseonikom	81
5. DISKUSIJA	82
6. ZAKLJUČAK	95
7. SKRAĆENICE	96
8. LITERATURA	98
9. BIOGRAFIJA AUTORA	126

## 1. UVOD

Cilj svake hirurške intervencije na otvorenom srcu je tehnički uspešna korekcija mane uz maksimalnu prevenciju jatrogene lezije izazvane globalnom ishemijom miokarda. Uprkos značajnom napretku hirurških tehnika, strategija protekcije miokarda u pedijatrijskoj kardiohirurgiji je ostala relativno nepromenjena<sup>1</sup>. Dugotrajna intraoperativna ishemija miokarda koja nije praćena adekvatnom protekcijom, dovodi do reverzibilnog i/ili ireverzibilnog oštećenja miokarda, što i dalje predstavlja značajan uzrok mortaliteta i morbiditeta nakon korekcije urođenih srčanih mana<sup>2</sup>. Takođe, nekontrolisano ponovno uspostavljanje koronarnog protoka nakon perioda ishemije, produbljuje postojeće i uzrokuje dodatno oštećenje miokarda, tzv. *reperfusiono oštećenje*<sup>3</sup>. Zbog toga protekcija miokarda u toku kardiohirurških operacija ima veliki značaj, i dva osnovna cilja. Prvi je smanjenje ishemijskog oštećenja miokarda primenom kardioplegije i hipotermije za vreme srčanog aresta, a drugi je redukcija reperfuzionog oštećenja korišćenjem različitih modaliteta reperfuzije<sup>4</sup>. Kardioplegija i hipotermija su za sada univerzalno prihvaćene metode intraoperativne protekcije miokarda.

Značajan broj dosadašnjih istraživanja koje imaju za cilj razumevanje osnovnih fizioloških mehanizama ishemijsko-perfuzionog oštećenja miokarda nakon operacija na otvorenom srcu, kao i kliničkih implikacija takvog oštećenja, izvođene su uglavnom na adultnim pacijentima<sup>5</sup>. Međutim, zbog poznatih strukturalnih, funkcionalnih i biohemijskih razlika između miokarda odraslih i dece, adultna kardioprotektivna strategija se ne može direktno primeniti u dečjoj kardiohirurgiji<sup>6,7</sup>. Kliničke, prospektivne i randomizirane studije koje porede različite modele kardioprotekcije kod dece su retke, a rezultati kontradiktorni<sup>8,9,10,11</sup>. Kristaloidnu kardioplegiju sve više zamenjuje krvna kardioplegija u adultnoj kardiohirurgiji<sup>12</sup>, a takav trend postoji i u dečjoj kardiohirurgiji u poslednjoj deceniji<sup>13</sup>. Krvna kardioplegija, zahvaljujući sposobnosti da transportuje kiseonik, boljim puferskim i osmotskim karakteristikama, većim sadržajem antioksidanata, kao i manjim stepenom hemodilucije, potencijalno može da utiče na bolji funkcionalni i metabolički oporavak miokarda, a time i bolje postoperativne rezultate. Sa druge strane, kristaloidna kardioplegija zbog lakoće primene, niže cene i manjeg uticaja na vidljivost operativnog polja, ali i nedovoljno čvrstih dokaza za njenu inferiornost u odnosu na krvnu kardioplegiju i dalje je strategija izbora u nekim kardiohirurškim centrima<sup>5</sup>. Međutim, primena kardioplegije ne isključuje u potpunosti kako ishemijsko, tako i posledično reperfuziono oštećenje, naročito kod pacijenata

mlađeg uzrasnog doba i pacijenata sa cijanogenom manom srca<sup>6</sup>. Iz tog razloga, savremene kardioprotektivne strategije su sve više usmerene ka modifikaciji sastava reperfuzione tečnosti (pH, koncentracija K<sup>+</sup>, dodatak aminokiselina i medikamenata), načina njene aplikacije (kontinuirana, etapna, retrogradna), kao i uslova pod kojima se reperfuzija izvodi (temperatura, pritisak)<sup>4</sup>.

Jedna od primenjivanih modifikacija reperfuzije miokarda je i etapna primena (postkondicioniranje) tople krvne kardioplegije (*hot shot*). *Hot shot* se odnosi na reperfuziju miokarda toplom krvnom kardioplegijom neposredno pre skidanja aortne klemme, a postkondicioniranje na ponavljane kratke periode reperfuzije miokarda koji se smenjuju kratkim periodima ishemije. Od ranije je poznato da *hot shot* dovodi do vazodilatacije koronarnih krvnih sudova, uklanja nakupljene produkte anaerobnog metabolizma i slobodne kiseonične radikale, što sve zajedno doprinosi boljem metaboličkom i funkcionalnom oporavku miokarda nakon kardiohirurških operacija<sup>14</sup>.

S druge strane, klinička primena postkondicioniranja u kardiohirurgiji započela je nedavno<sup>15</sup>. Tome su prethodile brojne eksperimentalne studije koje su pokazale da postkondicioniranje aktivira endogene protektivne mehanizme na različitim nivoima, koji potencijalno mogu da modifikuju i ublaže neželjene događaje indukovane ishemijom i reperfuzijom<sup>16 17</sup>. Takođe, primenom postkondicioniranja kod bolesnika sa akutnim infarktom miokarda nakon perkutanih kardioloških intervencija dokazano je značajno smanjenje veličine infarktne zone<sup>18</sup>. Dosadašnje kliničke studije koje su ispitivale efekat postkondicioniranja u formi ponavljanih klemovanja aorte, nagovestile su veliki značaj primene postkondicioniranja i u dečjoj kardiohirurgiji<sup>15, 19</sup>. Međutim, do sada nije u potpunosti jasno utvrđeno da li postkondicioniranje korišćenjem sistema za kardioplegiju (*hot shot* postkondicioniranje) potencira protektivni efekat same tople krvne kardioplegične reperfuzije<sup>20</sup>.

### **1.1. Istorijski razvoj protekcije miokarda u kardiohirurgiji**

Koncept zaštite miokarda od perioperativnog “*stresa*” potiče još iz 1950. godine istraživanjima Bigelow i sar<sup>21</sup>, koji su hipotermiju definisali kao oblik anestezije, koja se može koristiti da bi hirurgu omogućio da operiše na beskrvnom srcu, bez potrebe za ekstrakorporalnim pumpama. Rane tehnike koje su široko primenjivane za zaustavljanje i/ili protekciju srca su bile bazirane na jednoj ili više sledećih modaliteta:

- Hipotermija, sistemska i/ili lokalno hlađenje srca (Bigelow i sar. 1950).

- Globalna ishemija sa kontinuiranom ili intermitentnom okluzijom aorte (Cooley i sar. 1962.)<sup>22</sup> i
- Perfuzija aortnog korena ili intrakoronarna perfuzija krvlju (Kay i sar. 1958.)<sup>23</sup> uz dodatne elektivne indukcije ventrikularne fibrilacije (Senning 1952.)<sup>24</sup>.

Neki od ovih modaliteta protekcije miokarda koriste se i danas. Međutim, tokom 1970-ih godina primena kardioplegije postaje dominantni vid kardioprotekcije.

### 1.1.1. Kardioplegija

Melrose i sar.<sup>25</sup> su 1955. godine prvi objavili bezbedan način za zaustavljanje i ponovno pokretanje srca, aplikujući rastvor kalijum citrata u koren aorte, kako pri normotermiji, tako i pri sniženoj temperaturi tela. Međutim, radovi koji su se potom bavili istom problematikom su nedvosmisleno pokazali da srčani arrest izazvan kalijum citratom dovodi do oštećenja i nekroze miokarda. Zbog takvih stavova, Melrose-ova kardioprotektivna strategija bila je gotovo u potpunosti napuštena i na kratko zamenjena tehnikom miokardne ishemije u normotermiji bez korišćenja kardioplegije. Ta tehnika se sastojala iz intermitentnog klemovanja aorte, dok je pacijent bio na kardiopulmonalnom bajpas-u (CPB). Međutim, ubrzo su se pojavili eksperimentalni i klinički dokazi da je ishemija miokarda u normotermiji udružena sa acidozom, hipotenzijom i “*low cardiac output*” -om. Početkom ere izvođenja aorto–koronarnog bajpas grafting-a (CABG) 1970-ih godina, primećena je značajna učestalost perioperativnog transmuralnog infarkta miokarda kod operisanih pacijenata<sup>26,27</sup>. Iako, prvi publikovani radovi ovaj fenomen povezuju sa CABG procedurom, uskoro je pokazano da se razvoj transmuralnog infarkta miokarda javlja i kao komplikacija drugih kardiohirurških procedura. Kod pacijenata sa normalnim koronarnim arterijama koji su podvrgnuti različitim kardiohirurškim procedurama, Hultreg i sar.<sup>28</sup> su dokumentovali učestalost akutnog transmuralnog infarkta od 7%. Radovi tih autora su pokazali da postoji velika potreba za daljim usavršavanjem protekcije miokarda za vreme svih tipova kardiohirurških procedura. Različite studije na obdukcionim preparatima potvrdile su da akutni transmuralni infarkt miokarda, kao i nasumično razbacana polja nekroze i slivena polja subendokardne nekroze, se javljaju i nakon operacija na srcu sa normalnim koronarnim arterijama<sup>29</sup>. Takođe, retka pojava ekstremne manifestacije ishemijskog oštećenja miokarda opisana kao “stone heart”<sup>30</sup> je još tada prepoznata, a kasnije i potvrđena, kao posledica masivnog infarkta miokarda koji

se razvija za vreme reperfuzije<sup>31,32</sup>. Dalji razvoj znanja u ovoj oblasti je značajno ubrzan pronalaženjem pouzdanijih metoda za identifikaciju i kvantifikaciju stepena miokardne nekroze. Postavljeni su jasni elektrokardiografski kriterijumi za dijagnozu transmuralnog infarkta miokarda u postoperativnom periodu<sup>33</sup>. Pokazalo se da nivoi kardio-specifičnih enzima u plazmi koreliraju sa drugim pokazateljima miokardne nekroze, a da njihova koncentracija u plazmi direktno odgovara masi miokarda zahvaćenog nekrozom. Enzimske izoforme kardiospecifičnih enzima Troponin I i T su postali senzitivni i specifični serumski markeri oštećenja miokarda nakon CPB-a<sup>34,35</sup>. Koh i sar.<sup>36</sup> su dokumentovali da su serumski nivoi troponina direktno povezani sa dužinom trajanja ishemijske za vreme kardioplegije, i da povećane serumske koncentracije tih enzima koreliraju sa pojavom odloženog oporavka ventrikularne funkcije nakon operacija na srcu. Pokazano je da i nakon kratkotrajnih i jednostavnih kardiohirurških operacija, kao što je zatvaranje atrijalnog septalnog defekta, 12 (92%) od 13 adultnih pacijenata i svo šestoro dece razvilo miokardnu nekrozu koja je dokazana porastom nivoa kardiospecifičnih enzima u serumu. Takođe, miokardna nekroza je dokazana merenjem koncentracije izoenzima u serumu kod operacija velikog broja različitih urođenih srčanih mana<sup>37</sup>. Kao rezultat svih tih nalaza, pojavio se ponovo veliki interes za pronalaženje načina za bezbedno zaustavljenje srca. Bretschneider je publikovao radove u kojima je prikazao principe zaustavljenja srca rastvorima sa niskom koncentracijom natrijuma i bez kalcijuma<sup>38</sup>. Međutim, tek su Hearse i sar.<sup>39</sup> proučavali različite komponente rastvora za kardioplegiju, koja su dovela do razvoja i upotrebe "St. Thomas" rastvora. Osnovna komponenta tog kristaloidnog rastvora je bio Ringer-ov rastvor, sa njegovim originalnim koncentracijama natrijuma i kalcijuma, ali sa dodatkom kalijum-hlorida (16mmol/l) i magnezijum-hlorida (16mmol/l). Takav rastvor je gotovo momentalno po administraciji zaustavljao srce, a u kliničku praksu su ga uveli Braimbridge i sar. u St. Thomas bolnici 1975. godine<sup>40</sup>.

Tokom osamdesetih godina prošlog veka, okluzija aorte u normotermiji je u potpunosti zamenjana kardioplegijom, kao vodećom strategijom za protekciju miokarda u toku kardiohirurških procedura. Glavna kontroverza u to vreme, koja je ostala i do danas, nije da li kardioplegija treba da se koristi, nego koji bi to sastav rastvora za kardioplegiju bio idealan. Pored velikog broja kristaloidnih kardioplegičnih rastvora koja su se koristila u kliničkoj praksi poslednje tri decenije, 1980-ih godina je u upotrebu ušla i krvna kardioplegija obogaćena kalijumom. Autori koji su prednost davali krvnoj kardioplegiji, smatrali su da je krv bolji prenosni medijum zbog svoje osobine da transportuje kiseonik, kao i većih

puferskih kapaciteta<sup>41,42</sup>. Iako su do sada opisane brojne kardioprotektivne tehnike<sup>13</sup> idealni kardioplegični rastvor i način njegove administracije tek treba da se pronađu.

### **1.1.2. Ishemijsko prekondicioniranje (IPK)**

IPK je bila prva strategija "kondicioniranja" upotrebljena u kliničkoj praksi tokom CABG operacija. Pionirska studija Yellon i saradnika, izvedena 1993 godine<sup>43</sup> po prvi put je pokazala da IPK može da se postigne klemovanjem aorte tokom dva minuta, nakon čega je sledilo uklanjanje aortne kleme u trajanju od dva minuta, da bi se izazvale kratke epizode neletalne globalne miokardne ishemije i reperfuzije pre dugotrajne i neprekidane globalne ishemije miokarda izazvene klemovanjem aorte u sklopu CABG procedure. U studiji su prikazali da su kod pacijenta randomizovanih u grupu u kojoj je primenjeno IPK za vreme operacije, nivoi ATP-a u komorskim miocitima (ventrikularna biopsija) bili očuvani<sup>43</sup>. Takođe, bila je prisutna i manja perioperativna lezija miokarda, što je dokazano nižim serumskim koncentracijama Troponina T<sup>44</sup>. Posle ovog originalnog istraživanja, brojne kliničke studije su ispitivale IPK tokom CABG operacija. Rezultati ovih istraživanja sažeti u skoro objavljenom meta-analizi, koja je uključila 22 studije (933 pacijenta) i donela zaključak da je IPK udruženo sa manjom učestalošću ventrikularnih poremećaja ritma, sniženoj inotropnoj potpori i kraćim boravkom u Jedinici Intenzivnog Lečenja (JIL).<sup>45</sup>

Usled invazivne prirode protokola za IPK i prisutnog rizika za nastanak trombo-embolijskih komplikacija (posledica klemovanja i deklemovanja aorte), bilo je teško opravdati izvođenje veće, prospektivne studije, koja bi trebalo da dokaže da li je primena IPK udružena sa poboljšanjem ishoda kod pacijenata koji se podležu CABG operaciji. Zbog toga se fenomen udaljenog ishemijskog prekondicioniranja (*remote ischaemic preconditioning-RIC*) pokazao pogodniji za kliničku primenu, zbog otklanjanja potreba za direktnom intervencijom na srcu.

### **1.1.3. Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje (UIPK)**

Glavni nedostatak primene IPK kao kardioprotektivne strategije tokom CABG procedure je činjenica da se mora primeniti direktno na srce, što može da dovede do njegovog oštećenja. Otkriće da se "kondicionirajući stimulus" može primeniti na organ ili tkivo koje je udaljeno od srca (kao fenomen udaljenog ishemijskog kondicioniranja), olakšalo je primenu UIPK u kliničkim studijama.<sup>4</sup> Studija Kharbande i sar. je prikazala da se "kondicionirajući stimulus" može primeniti kao neinvazivna strategija, primenom standardne manžetne za ne-invazivno

merenje pritiska na gornjem ili donjem ekstremitetu<sup>46</sup>. Mehanizam udaljenog ishemijskog prekondicioniranja još uvek do kraja nije razjašnjen, ali se pretpostavlja da su udaljeni organi sa srcem povezani humoralnim ili neurohumoralnim putevima<sup>4, 47, 48, 49</sup>,

Prvi pokušaj da se ispita značaj UIPK u kliničkoj praksi tokom CABG operacije bila je mala pilot studija izvedena 2000. godine od strane Gunaydin-a i kolega<sup>50</sup>. U toj studiji osam pacijenata je bilo randomizovano u grupu gde se primenilo udaljeno ishemično prekondicioniranje, koje je podrazumevalo plasiranje manžetne za neinvazivno merenje pritiska na gonji deo ruke. Manžetna je zatim naduvana do 300 mmHg u trajanju od 3 minuta a zatim ispušana u trajanju od 2 minuta. Taj ciklus je ponovljen tri puta pre započinjanja CABG procedure. U studiji nije nađena razlika u nivou serumskog CK-MB pet minuta nakon uklanjanja aortne kleme, mada je u tom trenutku nivo laktatne-dehidrogenaze (LDH) bio viši u grupi pacijenata koja nije bila podvrgnuta UIPK. Međutim, obzirom na mali ispitivani uzorak i činjenicu da serumski nivo kardio-specifičnih enzima nije utvrđivan u periodu nakon prvih 5 minuta od aortne dekompresije, rezultati ovog istraživanja se mogu teško tumačiti.

Prva uspešna klinička primena UIPK bila je 2006. godine, kada je primenjena kod dece koja su bila operisana zbog urođenih srčanih mana, od strane Redingtonove grupe<sup>51</sup>. U ovoj maloj studiji, dizajniranoj da dokaže koncept udaljene ishemijske reperfuzije, 37 dece randomizovano je da primi ili UIPK (tri petominutna intervala napumpavanja/ispumpavanja manžetne za merenje pritiska, plasirane na butinu, do pritiska koji je za 15 mmHg iznad sistolnog) ili u kontrolnu grupu (ispumpavana manžetna za merenje pritiska plasirana na butinu u trajanju od 40 minuta) 5-10 minuta pre započinjenja by-pass-a. Ona deca koja su bila izložena UIPK imala su manju potrebu za postoperativnom inotropnom potporom, manji pritisak u disajnim putevima i manje perioperativno oštećenje mikorda (mereno kao 24-časovna površina ispod krivulje Troponina I ) u odnosu na decu iz kontrolne grupe.

Hausenloy i saradnici su prvi izveli uspešnu primenu UIPK u adultnoj populaciji kod pacijenata koji su podvrgnuti hirurškoj revaskularizaciji miokarda (CABG) sa ili bez zamene valvule<sup>52</sup>. U toj studiji 57 pacijenata je randomizovano ili da dobiju UIPK (tri petominutna intervala napumpavanja/ispumpavanja manžetne za merenje pritiska postavljene na nadlakticu, na 200 mmHg) ili u kontrolnu grupu (ispumpavana manžetna plasirana na nadlakticu u trajanju od 30 minuta) posle uvođenja u anesteziju, a pre započinjanja hirurške intervencije. Peri-operativna ishemija miokarda procenjivana je na osnovu 72-časovne površine ispod krivulje serumske koncentracije Troponina T. Serumska koncentracija Troponina T bila je

redukovana za 43% kod pacijenata kod kojih je bila primenjena UIPK u odnosu na kontrolnu grupu. Nakon toga brojne kliničke studije bile su izvedene od strane različitih istraživačkih grupa, međutim pozitivna ishod nije uvek bio zabeležen.<sup>53,54, 55</sup>

Razlozi ovih protivurečnosti nisu dovoljno jasni, mada mogu biti uzrokovani brojnim faktorima:

- a. Sam protokol izvodjejnja UIPK. Moguće je da je sam stimulus za UIPK submaksimalan ili nekorektno primenjen. Interesantno, da je u studiji sa negativnim rezultatom (Rahman i saradnici)<sup>54</sup>, UIPK stimulus bio primenjen posle incizije kože, dok je u većini drugih studija UIPK stimulus bio aplikovan nakon uvoda u anesteziju a pre incizije kože.
- b. Prateći lekovi- pacijentima su bili administrirani volatilni anestetici i/ili nitrati, za vreme operacije, a koji su poznati da štite miokard od ishemijsko-reperfuzionog oštećenja<sup>53, 54</sup><sup>55</sup>. U obe negativne studije, svi pacijenti su dobijali volatilne anestetike, za razliku od većine drugih studija, kod kojih je bila primenjena intravenska anestezija. Štaviše, u negativnoj studiji koju su izveli Karuppasamy i saradnici<sup>55</sup>, svim pacijentima je administriran i izofluran i propofol, anestetici koji imaju sinergistički kardioprotektivni efekat<sup>56</sup>. Konačno, skorašnja studija je pokazala da je UIPK imao efekta kod pacijenata koji su dobijali izofluran ali ne i propofol za vreme CABG intervencije<sup>57</sup>.
- c. Selekcija pacijenata- još uvek nije dovoljno jasno da li su visoko-rizični pacijenti zapravo pogodni za UIPK,
- d. Karakteristike same hirurške intervencije- pitanje, da li dužina aortne kleme ili trajanje ekstrakorporalne cirkulacije utiču na efikasnost UIPK-a i dalje je bez preciznog odgovora.
- e. Postoji i postulat da je ljudski miokard već prekondicioniran uspostavljanjem ekstrakorporalne cirkulacije, mada se takvo viđenje može nazvati spornim.

Najveća randomizovana multicentrična klinička studija (ERRICA) izvedena na 1612 adultnih pacijenata podvrgnutih “on-pump” CABG sa ili bez valvularne hirurgije u Velikoj Britaniji, objavljena 2015. godine, nije pokazala prednost UIPK u odnosu na klinički ishod. Druga multicentrična klinička studija koja je ispitivala značaj UIPK u adultnoj populaciji (RIPHeart) je prekinuta. Potrebna su dalja klinička istraživanja da bi se ispitalo koja je to populacija pacijenata koja će najverovatnije imati koristi od ove kardioprotektivne strategije.



#### **1.1.4. Ishemijsko postkondicioniranje (IPostK)**

Tokom 2003. godine, Zhao i kolege<sup>58</sup> su prvi pokazali da ishemično srce psa može biti "kondicionirano" na početku miokardne reperfuzije, tako što se koronarni protok prekida kratkim epizodama okluzije leve prednje descendentne koronarne arterije (LAD). Putevi primene ishemijskog postkondicioniranja (IPostK) u kardioprotekciji su slični onima kod IPK, i u poslednje vreme bili su tema nekoliko sistematskih pregleda literature<sup>59,60</sup>. Ishemijsko postkondicioniranje je u skorašnje vreme bilo primenjeno u sklopu CABG hirurgije, u vreme uklanjanja aortne kleme, u fazi odvajanja od CPB-a i kada je srce izloženo periodu globalne reperfuzije. Luo i saradnici<sup>15</sup> su bili prvi koji su prikazali prednosti IPostK u dečjoj kardiohirurgiji. Dvadeset četvoro dece, koja su bila operisana zbog Tetralogije Fallot, bila su randomizovana da dobiju IPostK, što je podrazumevalo uklanjanje aortne kleme u trajanju od 30 sekundi a zatim klemovanje aorte u istom trajanju, ciklus koji se ponovljao ukupno dva puta i rezultovao nižim nivoima CK-MB i Troponina T nakon 2 sata. Jasno je da rizik od klemovanja aorte kod mladih pacijenata, sa relativno arterosklerotski neizmenjenom aortom, nije veliki kao kod odraslih pacijenata koji se podvrgavaju CABG proceduri, sa ili bez zamene valvule. Naredne kliničke studije potvrdile su kardioprotektivne efekte IPostK kod operacija korekcije Tetralogije Fallot<sup>61</sup> i nakon zamene aortne valvule<sup>62</sup>. Opisani su pozitivni efekti na peri-operativno oštećenje miokarda, potrebu za inotropnom potporom miokarda, trajanje ventilatorne potpore i vreme boravka u JIL. Međutim, ostaje i dalje neutvrđeno, da li ove invazivne kardioprotektivne strategije mogu da poboljšaju ishod kod pacijenata koji se podvrgavaju kardiohirurškim intervencijama.

#### **1.2. Protekcija miokarda od postishemijske disfunkcije**

Miokardna protekcija se odnosi na mere i postupke koji se koriste za prevenciju ili smanjenje postishemijske miokardne disfunkcije, a koja se neizbežno dešava za vreme i nakon operacije na srcu. Postishemijska miokardna disfunkcija je posledica fenomena označenog kao oštećenje miokarda indukovano ishemijskom i reperfuzijom. Klinički se manifestuje hipotenzijom i LCO-om i može se podeliti u dve podgrupe: reverzibilno oštećenje i ireverzibilno oštećenje miokarda. Te dve tipične lezije miokarda se razlikuju u odnosu na prisustvo elektrokardiografskih abnormalnosti, povišenih vrednosti specifičnih proteina i enzima plazme (kreatin kinaza, troponin I ili T), i/ili prisustva ehokardiografskih znakova regionalnog ili globalnog poremećaja pokretljivosti zida miokarda.

### 1.2.1. Oštećenje uzrokovano globalnom miokardnom ishemijom

Operacije na srcu se mogu izvoditi ili na perfundovanom ili na mirujućem srcu, tj. u dijastolnom arestu. Perfundovano srce može biti u kucajućem stanju ili u stanju ventrikularne fibrilacije. Međutim, mogućnost izvođenja precizne i kompletne kardiohirurške procedure bez rizika od sistemske vazdušne embolije je najveća u beskrvnom operativnom polju i na mirujućem srcu. Takvi optimalni uslovi se mogu obezbediti samo primenom globalne ishemije srca. Promene na miokardu nastale tokom ishemije i reperfuzije su direktno povezane i međusobno uslovljene, zbog čega se označavaju kao ishemijsko-reperfuziona oštećenja. Nayler i Elz<sup>63</sup> su pokazali postojanje izražene heterogenosti u odnosu na nivo i brzinu progresije ishemijskog oštećenja miocita.

Takođe, ishemijsko-reperfuziono oštećenje miokarda ne obuhvata samo miocite, već i vaskularni endotel i ćelije sprovodnog sistema. Kao posledica globalne ishemije, nekontrolisane reperfuzije, intersticijskog edema i disrupcije kapilara, javlja se postoperativna ukočenost “*stiffness*” srčanog mišića, koja se hemodinamski manifestuje različitim stepenom i trajanjem sistolne i dijastolne disfunkcije miokarda<sup>64</sup>. Iako je etiologija takve postishemijske disfunkcije miokarda multifaktorijalna, smatra se da tri osnove vrste lezije uzrokuju njen nastanak: miokardna “ošamućenost” (*eng. myocardial stunning*), apoptoza i infarkt miokarda (nekroza). Miokardna “ošamućenost” može da nastane i nakon kratkotrajne ishemije, a karakteriše se prolongiranom postoperativnom sistolnom i dijastolnom disfunkcijom i pored uspostavljanja adekvatne miokardne perfuzije i odsustva miokardne nekroze<sup>65,66</sup>. Miokardna “ošamućenost” predstavlja reverzibilno oštećenje bez prisutnih ultrastrukturnih promena na ćelijama.

Apoptoza je programirana ćelijska smrt, koja se histološki karakteriše: intaktnom ćelijskom membranom, kondenzacijom i fragmentacijom hromatina, skupljanjem ćelije i fagocitozom uz odsustvo zapaljenskog odgovora. Iako se dešava pre značajnog gubitka ATP-a i narušenog integriteta ćelijske membrane, ipak neizbežno vodi u ćelijsku smrt. Iz tog razloga apoptoza uzrokovana ishemijsko-reperfuzionim oštećenjem značajno doprinosi razvoju i širenju infarkta, tj. gubitku ćelija u neposrednoj okolini infarktne zone<sup>67,68,69</sup>.

U slučaju prolongirane ishemije, miokard trpi ireverzibilne promene u vidu nekroze koje se manifestuju: destrukcijom ćelijske membrane, bubrenjem ćelije, degradacijom DNA, citolizom i masivnim inflamatornim odgovorom<sup>70</sup>. Neki autori navode da nekroza miokarda u subendokardnom sloju počinje da se razvija već nakon 20 minuta normotermične ishemije<sup>71</sup>. Drugi autori tvrde da je i šest sati ishemije u normotermiji kompatibilno sa preživljavanjem miocita<sup>37</sup>. Međutim, miokardna nekroza nakon kardiohirurških procedura predstavlja samo

krajnju fazu kompleksnog procesa, iniciranog globalnom ishemijom, održavanog i produbljanog kontinuiranom ishemijom i na kraju pogoršanog reperfuzijom. Delovanjem na fazu reperfuzije, koja predstavlja krajnju kariku u lancu niza događaja koji vode od reverzibilnog ka ireverzibilnom oštećenju, može se prevenirati nekroza miokarda<sup>72</sup>.

Bez obzira da li je konačni rezultat ishemijsko-reperfuzionog oštećenja reverzibilno ili ireverzibilno oštećenje miokarda, do sada su objavljeni značajni dokazi koji govore u prilog tvrdnji, da su primarni razlozi takvih lezija: 1. Narušena homeostaza i prekomerno intracelularno nakupljanje  $\text{Ca}^{2+}$  za vreme ishemije i reperfuzije i 2. Oksidativni stres indukovano nakupljanjem reaktivnih kiseoničnih radikala (*eng. Reactive oxygen species –ROS*) koji nastaju na samom početku reperfuzije<sup>73,74</sup> (Slika 1).

Zbog inhibicije procesa fosforilacije u toku ishemije i manjka slobodne energije koja se dobija hidrolizom ATP-a, narušen je rad ATP zavisnih pumpi ( $\text{Ca}^{2+}$  ATPaze u sarkoplazmatskom retikulumu i sarkolemi), a time i homeostaza  $\text{Ca}^{2+}$  u citosolu. Takođe, aktivacija različitih G-protein spregnutih transmembranskih receptora (alpha i beta adrenergički, angiotenzin, endotelin, itd...) pokreće intraćelijski signalni mehanizam preko stimulativnih Gs proteina i fosfolipaze C, koji takođe povećavaju koncentraciju  $\text{Ca}^{2+}$  u citosolu. Stvaranje inozitol trifosfata aktivira oslobađanje  $\text{Ca}^{2+}$  iz intracelularnih depoa, uključujući sarkoplazmatski retikulum, a diacilglicerol uzrokuje aktivaciju  $\text{Ca}^{2+}$  zavisne i nezavisne izoforme protein kinaze C. Fosforilacija različitih proteina preko protein kinaze C dalje utiče na koncentraciju, metabolizam i osetljivost kontraktilnih proteina na  $\text{Ca}^{2+}$ .

Takođe, za vreme ishemije dolazi do nakupljanja intracelularnog  $\text{Na}^+$  zbog smanjene aktivnosti  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ -aze i povećane produkcije  $\text{H}^+$  zbog anaerobne glikolize. Na samom početku reperfuzije natrijum-vodonična pumpa razmenjuje intracelularni  $\text{H}^+$  za ekstracelularni  $\text{Na}^+$  u cilju održavanja acido-bazne homeostaze i vraćanja intracelularne pH vrednosti na normalu. Razmena natrijuma i vodonika ima značajnu ulogu u regulaciji homeostaze miocita. Kao što je već napomenuto, jedan od primarnih mehanizama ishemijsko-reperfuzione povrede miokarda je štetan efekat prekomerne akumulacije intracelularnog kalcijuma<sup>75,76</sup>.  $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$  razmenjivač koristi normalni transmembranski gradijent natrijuma za izbacivanje kalcijuma iz ćelije u cilju održavanje normalne intracelularne homeostaze  $\text{Ca}^{2+}$ . U toku inicijalne faze reperfuzije,  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  pumpa je maksimalno aktivna u cilju vraćanja intracelularnog pH na normalnu vrednost. To rezultira u pojačanom intracelularnom nakupljanju  $\text{Na}^+$ . Kao posledica visoke intracelularne koncentracije natrijuma,  $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$  razmenjivač radi u obrnutom smeru, što rezultira u izraženom porastu intracelularne koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  (*Ca<sup>2+</sup> overloaded*). Svi ti mehanizmi zajedno su odgovorni za nagli skok

koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  u citosolu<sup>77,78</sup>. Ovakva promena u elektrolitnom sastavu intracelularne tečnosti dovodi do aktivacije različitih enzimskih sistema i prenosnih puteva koji vode u kontrakturu miocita, rupturu membrane, disfunkciju pukotinastih veza i ćelijske smrti.

Istovremeno, u fazi reperfuzije, stvaraju se reaktivne kiseonične vrste (superoksid anjon  $\text{O}^{2-}$ , hidroksil anjon  $\text{OH}^-$ , vodonik peroksid  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) koje dovode do oksidacije različitih proteina ( $\text{Ca}^{2+}$  pumpi,  $\text{Ca}^{2+}$  kanala u sarkoplatskom retikulumu, kontraktilnih proteina, itd.), a što doprinosi kako reverzibilnoj tako i ireverzibilnoj leziji miokarda. Superoksid može da reaguje i sa azot monoksidom (NO) dobijenim aktivacijom azot oksid sintetaze iz sarkoleme i moguće mitohondrijalne azot oksid sintetaze, gradeći peroksinitrite ( $\text{ONOO}^-$ ) i druge visoko reaktivne azotne grupe koje moduliraju ishemijsko-reperfuziono oštećenje miokarda. Preishemijska aktivacija nekih od inhibitornih G proteina spregnutih sa membranskim receptorima, kao što su adenzin A1 i opioidni receptori, smanjuje štetan efekat ishemije i reperfuzije. Takođe se pretpostavlja da protein kinaza C učestvuje u fosforilaciji ATP zavisnih  $\text{K}^+$  kanala u mitohondrijalnoj membrani i azot oksid sintetazi u membranski miocita što deluje protektivno na ćeliju.

Međutim, u novije vreme postoje čvrsti dokazi da ishemijsko-reperfuziono oštećenje nije fenomen po tipu "sve ili ništa", već se manifestuje kao kontinuirani proces, koji se odlikuje postepenim prelazom iz reverzibilnog u ireverzibilno oštećenje, sa postojanjem tranzitnih zona koje se mogu razvijati u povoljnom i nepovoljnom smeru<sup>41,42</sup>. Na primer, apoptoza može da progredira u nekrozu u slučaju kada mitohondrije nisu više u stanju da neutrališu ekcesivni "influx"  $\text{Ca}^{2+}$  i oksidativni stres indukovano produkcijom ROS-a, ali i kada proces oksidativne fosforilacije nije u stanju da drži korak sa energetskim potrebama, zbog čega ATP-zavisne jonske pumpe nisu u stanju da održavaju normalan transmembranski potencijal. To rezultira bubrenjem ćelije i posledičnim gubitkom integriteta membrane. Navedeni procesi su dodatno pojačani migracijom i aktivacijom makrofaga i leukocita, aktivacijom sistema komplementa, kao i mikrovaskularnim trombozama neutrofilima i trombocitima. Ako ćelijska smrt u toku ishemijsko-reperfuzione lezije miokarda nastaje progresijom iz apoptoze ka nekrozi i ako je najranija faza apoptoze zaista reverzibilna, onda jedna od terapijskih opcija za prevenciju ireverzibilnih ishemijsko-reperfuzionih oštećenja treba da bude usmerena na inicijalnu fazu apoptoze. Iz tih razloga aktuelne kardioprotektivne strategije su usmerene upravo ka redukovanju nastanka celularnog i subcelularnog ROS-a i oksidativnog stresa, na pojačanje endogenih antioksidativnih odbrambenih sistema, kao i prevenciju ekcesivnog influksa  $\text{Ca}^{2+}$

<sup>41,45</sup>

### 1.3. Razlike između dečjeg i adultnog miokarda

Postoje važne fiziološke razlike između miokarda novorođenčeta i odraslog čoveka, koje utiču na osetljivost miokarda na globalnu ishemiju (Tabela 1). Brojni dokazi ukazuju da je miokard novorođenčeta i odojčeta manje osetljiv na ishemiju u odnosu na srce odraslog čoveka. Međutim, do sada nisu jasno definisani kako mehanizmi kojima se takva razlika objašnjava, tako i uzrast kada se ta razlika gubi. Najverovatnije se to dešava u prvoj godini života, a moguće je i unutar prva tri meseca života

#### 1.3.1. Strukturalne razlike

U toku postnatalnog razvoja miokarda miociti postaju veći, miofibrili deblji i više uzdužno orjentisani. Povećava se broj mitohondrija, a zastupljenost sarkoplazmatskog retikuluma u ukupnom volumenu ćeliji raste<sup>79,80</sup>.

**Tabela 1. Fiziološke razlike između dečjeg i adultnog miokarda i potencijalni uticaj takvih razlika na toleranciju ishemije.**

	Dečji Miokard	Adultni miokard	Potencijalni uticaj na toleranciju ishemije kod dečjeg srca
Dominantni metabolički supstrat za produkciju ATP-a	Glukoza	Masne kiseline	Povećanje
Sadržaj glikogena u ćeliji	Visok	Nizak	Povećanje
Senzitivnost ćelije na insulin	Smanjena	Normalna	?
Sposobnost održavanja homeostaze Ca <sup>2+</sup>	Smanjena	Normalna	?
Senzitivnost ćelije na Ca <sup>2+</sup>	Povećana	Normalna	Smanjena?
Kapacitet antioksidantne odbrane	Mali	Veliki	Smanjena
Aktivnost 5'nekleotid-aze	Niska	Visoka	Smanjena
Senzitivnost ćelije na kateholamine	Niska	Normalna	?
Ishemijsko prekondicioniranje	Odsutno	Prisutno	?

?: *potencijalni uticaj nepoznat*

(Doenst et al. *Cardioplegia in pediatric cardiac surgery: do we believe in magic?* Ann Thorac Surg 2003; 75:1668-77)

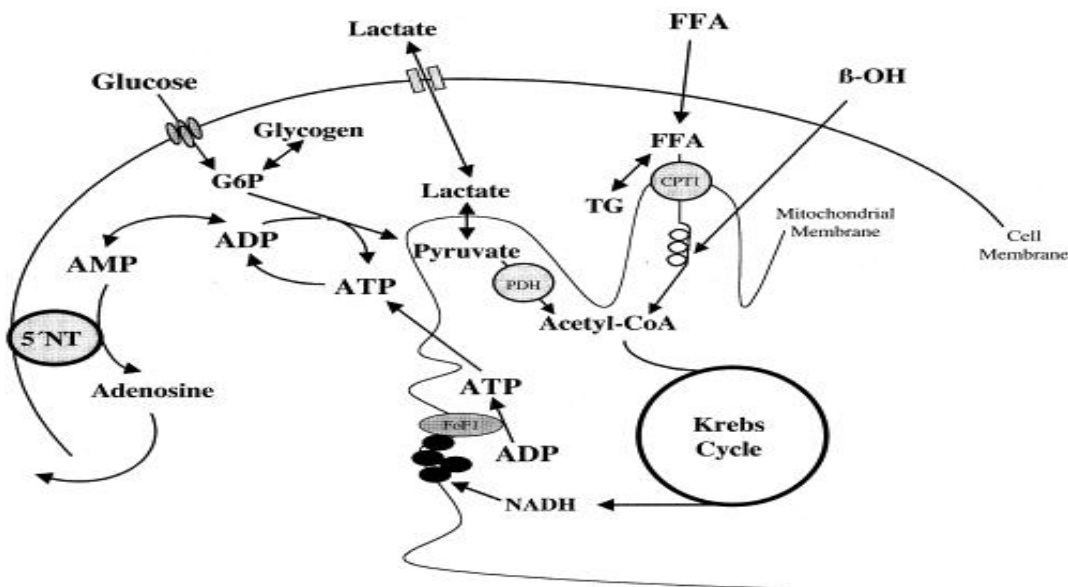
### 1.3.2. Metabolizam miokarda

Miokard je metabolički svaštojed<sup>81</sup>. Energija potrebna za sintezu adenozin trifosfata (ATP) dobija se oksidacijom masnih kiselina, glukoze, ketonskih tela, laktata, pa čak i amino kiselina (Slika 1). Srce je takođe sposobno da koristi i neke endogene supstrate, kao što su glikogen i trigliceridi. Oko 90% ATP-a srce odraslih osoba produkuje oksidacijom masnih kiselina dugačkih lanaca<sup>82</sup>. Za razliku od miokarda odrasle osobe, nezreli miokard koristi glukozu kao primarni energetske supstrat<sup>83</sup>, i pored činjenice da je osetljivost miokarda novorođenčeta na insulin značajno smanjena<sup>84</sup>. Ushodna regulacija 5'-AMP-aktivirane protein kinaze je odogovorna za postepeno povećanje udela oksidacije masnih kiselina u metabolizmu miokarda nakon rođenja<sup>85</sup>. Strukturalne promene na ćelijskom nivou koje koreliraju takvim funkcionalnim razlikama su slabija ekspresija insulin-zavisnog transportera glukoze (GLUT4) i nasuprot tome povećana ekspresija insulin-nezavisnog transportera glukoze (GLUT1) kod srca novorođenčeta<sup>86</sup>. Takođe, fetalno srce ima mnogo veći kapacitet za skladištenje glikogena, koji zauzima mnogo veći relativni prostor u ćeliji<sup>87</sup>. Fiziološki i klinički značaj navedenih metaboličkih specifičnosti nezrelog miokarda i dalje nije u potpunosti jasan, ali je poznato da postoji pozitivna korelacija između pojačanog preuzimanja glukoze od strane miocita i brzine oporavka kontraktilne funkcije miokarda nakon ishemije<sup>88</sup>. Takođe, stimulacija oksidacije glukoze za vreme i nakon ishemije ubrzava funkcionalni oporavak miokarda<sup>89</sup>. Postoji nekoliko mogućih objašnjenja za takvu opservaciju: 1. Glukoza je najefikasniji metabolički supstrat za produkciju ATP-a<sup>55</sup>, 2. Oksidacijom glukoze na putu oksidativne dekarboksilacije piruvata koriste se protoni generisani za vreme ishemije<sup>89</sup>, 3. ATP nastao u procesu glikolize podržava funkciju jonskih pumpi ključnih za održavanje homeostaze kalcijuma<sup>90</sup> i 4. Metabolizam glikogena može biti odgovoran za održavanje funkcije sarkoplazmatskog retikuluma<sup>91</sup>. Na osnovu navedenih činjenica, može se pretpostaviti da su neki ili svi ovi mehanizmi već prisutni u miocitu koji koristi glukozu kao primarni supstrat, kao što je slučaj kod dečjeg (naročito neonatalnog) srca, a što sve zajedno može da doprinosi većoj ukupnoj toleranciji miokarda na ishemiju. Srce novorođenčeta i odojčeta, ima takodje veću sposobnost da energiju dobija anaerobnim metabolizmom<sup>63</sup>.

### 1.3.3. Metabolizam kalcijuma

Poznato je da za razliku od adultnog miokarda kod koga najveći deo kalcijuma potrebnog za kontrakciju potiče iz sarkoplazmatskog retikuluma, nezreli miokard mnogo više zavisi od ekstracelularnog kalcijuma<sup>92, 93</sup>. Sarkoplazmatski retikulum je slabije razvijen u nezrelom miocitu i ima manji kapacitet za skladištenje kalcijuma<sup>94</sup>. Takođe, aktivnost sarkoplazmatske

kalcijum ATPaze (SERCA) koja je odgovorna za ponovno preuzimanje kalcijuma od strane sarkoplazmatskog retikuluma je relativno niska u odnosu na zreli miokard. Zbog toga je sposobnost nezrelog miokarda da oslobodi kalcijum po stimulaciji rijanodin receptora značajno manja, kao i njegovo ponovno preuzimanje od strane sarkoplazmatskog retikuluma. Veliki deo  $\text{Ca}^{2+}$  potrebnog za kontrakciju dečjeg srca je rezultat influksa iz ekstraćelijskog prostora. Uzimajući ovu činjenicu u obzir, razumljivo je zašto je dečje srce daleko osjetljivije na dejstvo blokatora kalcijumovih kanala. Nekoliko studija je prikazalo rezultate neželjenog dejstva normalne i visoke koncentracije kalcijuma u kardioplegičnom rastvoru na dečje srce, zbog čega se preporučuje upotreba rastvora sa niskom koncentracijom kalcijuma<sup>95,96</sup>. Iz tog razloga u sadašnjoj kliničkoj praksi, najveći broj kardioplegičnih rastvora sadrži koncentracije kalcijuma ispod fiziološkog nivoa<sup>97</sup>.



**Slika 1. Šematski prikaz glavnih aspekata metabolizma energetskih supstrata u miocitu.**

Glukoza i masne kiseline (FFA) po potrebi zamenjuju laktati i ketonska tela ( $\beta$ -OH). Oksidacijom FFA i  $\beta$ -OH proizvodi se relativno manja količina (NADH) u Krebsovom ciklusu za sintezu adozin trifosfata (ATP) u odnosu na metabolizam glukoze koja donosi dodatnu količinu ATP-a u toku glikolize. Za vreme ishemije, ATP i adozin difosfat (ADP) se razgrađuju do adozin monofosfata (AMP), koji se fosforiliše u adozin uz pomoć 5' nucleotidaze (5' NT) čime se adenin nukleotid "pool" (ATP + ADP + AMP) smanjuje. (CPT1 = karnitin palmitoil transferaza je limitirajući činilac u oksidaciji masnih kiselina; FoF1 = ATP sintetaza indukovana protonskim gradijentom u respiratornom lancu; G6P = glukoza 6-fosfat; PDH = piruvat dehidrogenaza, limitirajući korak za oksidaciju glukoze; TG = trigliceridi.)

(Doenst et al. *Cardioplegia in pediatric cardiac surgery: do we believe in magic?* *Ann Thorac Surg* 2003; 75:1668-77)

#### 1.3.4. Enzimaska aktivnost

Postoje najmanje dva enzimska sistema koja su značajna za toleranciju ishemije. Prvi je antioksidativni odbrambeni sistem koji uključuje enzime kao što su: superoksid dismutaza, katalaza i glutation reduktaza<sup>98</sup>. Ovi enzimski sistemi uklanjaju slobodne radikale i štite ćeliju od oštećenja. Zbog značajnog intenziviranja produkcije slobodnih radikala nakon dovoljnog vremena ishemije, a sa druge strane smanjene aktivnost antioksidativnih enzimskih sistema, postoji značajno veći rizik od oštećenja miokarda posredovanog slobodnim radikalima. Kliničke studije su pokazale da je kod dece sa tetralogijom Fallot aktivnost glutation reduktaze značajno smanjena<sup>99,100</sup>, što predstavlja mnogo veći rizik od oštećenja miokarda posredovanog slobodnim radikalima u toku izvođenja kompletne korekcije. U cilju smanjenja produkcije slobodnih radikala tokom i nakon ishemije, do sada je u kliničkoj praksi korišćena krv oslobođena leukocita, kao i leukocitni filteri inkorporirani u sistem za kardiopulmonalni bajpas. Međutim, do sada nisu dobijeni jasni dokazi o efikasnosti takvih postupaka<sup>101,102</sup>.

Drugi enzimski sistem koji je manje aktivan kod nezrelog srca je 5' nukleotid-aza (5'NT). Taj enzim katalizuje konverziju ATP-a u adenzin. Za razliku od AMP-a koji ne može da prođe ćelijsku membranu, adenzin lako prelazi u ekstraćelijski prostor kroz plazma membranu. Sa produkcijom adenzina, ukupna količina (pool) adenin nukleotida (suma ATP, ADP i AMP) se smanjuje, a njihova resinteza zahteva vreme. Iako sadržaj ATP u miocitima nije prediktivni faktor brzine i stepena oporavka miokarda nakon ishemije<sup>103</sup>, ukupna količina adenzin nukleotida je od velike važnosti<sup>104</sup>. Gubitak više od 50% adenzina u toku ishemije sprečava brz oporavak kontraktilne funkcije miokarda. Eksperimentalni radovi su pokazali da inhibicija 5'NT ili njena nedovoljna aktivnost značajno poboljšavaju toleranciju miokarda na ishemiju<sup>105, 106</sup>.

#### 1.3.5. Senzitivnost na kateholamine

Nezreli miokard je značajno manje senzitivna na cirkulišuće kateholamine u odnosu na miokard odraslih. In vitro studije su pokazale smanjenu uzajamnu povezanost (*engl. coupling*)  $\beta$  adrenergičkih receptora i adenilat ciklaze nakon rođenja, što se smatra glavnim razlogom za smanjenu osetljivost miokarda na kateholamine<sup>107</sup>. Isti autori su demonstrirali da brzina hidrolize cikličnog adenzin monofosfata i inhibitorni potencijal inhibitora fosfodiesteraze (Milrinon) ne zavisi od uzrasta. Iz tih razloga je razumljivo zbog čega je primena kateholaminske inotropne potpore kod dece još uvek nedovoljno jasna, ali i zbog čega su



inhibitori fosfodiesteraze u poslednjoj dekadi ušli u široku upotrebu u neonatalnim i pedijatrijskim intenzivnim negama.

#### **1.4. Klinički relevantne tehnike miokardne protekcije**

##### **1.4.1. Hipotermija**

Izolovana hipotermija može da obezbedi impresivan stepen protekcije miokarda naročito kod novorođenčadi<sup>5</sup>. Značajan broj studija sugerise da sama hipotermija bez kardioplegije pruža bolji ili bar podjednako dobar stepen protekcije miokarda kao i hipotermija kombinovana sa kardioplegijom<sup>108,109,110</sup>. Međutim, bitno je naglasiti da su te studije izvođene pri sistemske temperature jednako i nižoj od 15°C. Studije koje su rađene na višoj sistemske temperature su nedvosmisleno pokazale prednost upotrebe kardioplegije zajedno sa hipotermijom<sup>111,112</sup>. Osnovni mehanizam protektivnog delovanja hipotermije je smanjivanje energetskih potreba ćelije sa snižavanjem temperature. Snižavanje sistemske temperature na 32°C dovodi do smanjenja ukupne potrošnje kiseonika za 45%<sup>21</sup> dok se saturacija arterijske krvi kiseonikom povećava ili ostaje nepromenjena. Iako kiseonik ima veći afinitet za hemoglobin na nižoj temperature, rastvorljivost kiseonika u krvi se takođe povećava i transport kiseonika do tkiva uvek zadovoljava potrebe ciljnih tkiva. U odsustvu srčanog aresta, nisu zabeležena neželjena dejstva hipotermije na organizam<sup>113</sup>. Miokardna potrošnja kiseonika je ispod 1% normalne potrošnje na temperaturama ispod 12°C, a kontraktilna funkcija je u potpunosti obustavljena. Terapijski potencijal hipotermije je najbolje prikazan u studiji iz Novosibirska u kojoj je grupa hirurga radila korekcije različitih urođenih srčanih mana, u svim uzrastnim grupama, u hipotermijskom cirkulatornom arestu, bez upotrebe kardiopulmonalnog bajpasa<sup>114</sup>. Preko 400 pacijenata je sedirano sa morfinom i etrom, a pacijenti su hlađeni na temperature od 24-26°C isključivo primenom lokalnih pakovanja leda. Nakon uspostavljanja cirkulatornog aresta hirurška korekcija je završavana unutar 70 minuta. Povratak kontraktilne aktivnosti se dešavao nakon prosečno 7 minuta. Rezultati su bili impresivni za opisani vid protekcije miokarda, sa operativnom smrtnošću ispod 10% i učestalošću neurološkim komplikacijama od 13%.

Primena duboke hipotermije prema nekim studijama rezultira hladnom kontrakturom neonatalnog miokarda. Rebecka i sar.<sup>115</sup> su demonstrirali na nezrelom srcu zeca da duboka hipotermija pre započinjanja davanja kardioplegije dovodi do lošijeg funkcionalnog oporavka miokarda. Uspešniji oporavak miokarda je registrovan u slučajevima kada je srce držano toplo sve do momenta aplikacije hladne kardioplegije, koja je istovremeno ohladila i zaustavila miokard. Predpostavljeni mehanizam takve hladnoćom indukovane ishemijske lezije je

hipotermijom izazvana akumulacija  $\text{Ca}^{2+}$  u miocitima pre započinjanja ishemije. Williams i sar.<sup>116</sup> publikovali su slične kliničke podatke koji su podržali takvu hipotezu. Međutim, pošto drugi centri nisu opisali fenomen hladne kontrakture miokarda, može se pretpostaviti da je upotreba niže koncentracije jonizovanog  $\text{Ca}^{2+}$  u toku perfuzije i hlađenja pacijenta u tim centrima, faktor koji je uticao da se takva komplikacija nije dešavala<sup>117</sup>.

#### **1.4.2. Protekcija miokarda kardioplegijom**

Kardioplegija se definiše kao procedura koja podrazumeva jednokratno ili ponavljano davanje hipo ili normotermijskih infuzija ili perfuzija u aortni koren, ili koronarnu vaskulaturu, sa ciljem da zaustave srce i prezerviraju miokard u toku klemovanja aorte praćenog globalnom ishemijom<sup>118</sup>.

Kardioplegični rastvor sadrži različite hemijske agense koji dovode do brzog aresta miokarda u dijastoli u cilju obezbeđivanja mirnog operativnog polja za hirurški rad i prevencije značajne ishemijsko-reperfuzione lezije. Bez obzira na sastav kardioplegije, osnovni mehanizam delovanja svih kardioplegičnih rastvora je depolarizacija ili hiperpolarizacija membrane miocita i prekidanje mehaničke i električne aktivnosti. Na taj način se postiže značajna redukcija energetske potrebe miokarda i pri normalnoj temperaturi<sup>119</sup>. Postojanje velike raznovrsnosti u hemijskom sastavu kardioplegičnih rastvora, kao i načinu aplikacije, rezultat je stalne potrebe da se utiče i na druge mehanizme odgovorne za ishemijsko-reperfuziono oštećenje miokarda (Tabela 2). To obuhvata: povećanje osmotskog pritiska rastvora u cilju prevencije edema, dodavanje pufera radi neutralisanja acidoze, dodavanje agenasa koji vezuje slobodne kiseonične radikale, kontrolisanje oksigenacije za vreme CPB ili dodavanje hemijskih jedinjenja koja bi poboljšala produkciju energetki bogatih jedinjenja u fazi reperfuzije<sup>71,120,121</sup>. Iako je kardioplegija uz hipotermiju zlatni standard u protekciji miokarda i dalje ne postoji konsekus o optimalnoj vrsti i sastavu kardioplegije. Iznenadjuće malo randomiziranih kliničkih studija je do sada rađeno u cilju komparacije efekata različitih kardioplegičnih rastvora. Pri tome studije koje se bave temom protekcije miokarda u pedijatrijskoj populaciji daleko su malobrojnije nego one u adultnoj populaciji, a pri tome su podjednako kontradiktorne<sup>70,86,122,123</sup>. Nedostatak pouzdanih podataka vezano za optimalnu recepturu i način aplikacije kardioplegičnih rastvora najbolje je ilustrovan podatkom da se više od 150 kardioplegičnih rastvora koristi prilikom transplantacije srca u Sjedinjenim Američkim Državama<sup>124</sup>.

Međutim, i pored postojanja velikog broja različitih tipova kardioplegija, u savremenoj kliničkoj praksi najviše se primenjuju dve osnovne grupe rastvora: kristaloidna kardioplegija i

krvna kardioplegija. Oba kardioplegična rastvora se najčešće primenjuju u kombinaciji sa hipotermijom.

**Tabela 2. Elementi koji potencijalno preveniraju ishemijsko- perfuzijono oštećenje miokarda**

<b>Elektromehanički arest</b>	<b>Ispiranje metabolita</b>
Hiperpolarizacija (otvaranje Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> kanala)	Ponovljeno davanje
Depolarizacija (K <sup>+</sup> )(blokatori Ca <sup>2+</sup> kanala)	Kontinuirano davanje
<b>Hipotermija</b>	Kontrola influksa Ca <sup>2+</sup>
Hladna sistemska perfuzija	Krv sa CPD (citrat-fosfat-dekstroza)
Lokalno hlađenje	Niska koncentracija Ca <sup>2+</sup>
Hladna kardioplegija	<b>Antioksidansi</b>
<b>Dodatni supstrati</b>	Manitol
Oksigenirana krv	Alopurinol
Glukoza-insulin	<b>Puferi</b>
Glutamat-aspartat	HCO <sub>3</sub>
	THAM
	Histidin
	Krv

#### 1.4.2.1. Kristaloidna kardioplegija

Postoje dva osnovna tipa kristaloidnih kardioplegičnih rastvora: intracelularni i ekstracelularni tip. Intracelularni tip se karakteriše odsustvom ili niskom koncentracijom natrijuma i kalcijuma. Ekstracelularni tip sadži relativno visoke koncentracije natrijuma, kalcijuma i magnezijuma. Koncentracija kalijuma se kreće u rasponu od 10 do 40mmol/l kod oba tipa rastvora, pretežno sadrže bikarbonate kao pufere i osmolaritet im je približan osmolaritetu plazme. Primeri nekih od kristaloidnih kardioplegičnih rastvora koji su u upotrebu prikazani su u Tabeli 3. Osnovni mehanizam delovanja visoke koncentracija kalijuma je smanjenje membranskog mirujućeg potencijal kardiomiocita. Normalni potencijal u mirovanju miocita komore je oko -90mV. Kada ekstracelularna kardioplegija ispuni intersticijski prostor, ćelija se depolariše mnogo brže, pri manje negativnom membranskom potencijalu. Depolarizacija uzrokuje kontrakciju, intracelularni kalcijum zatim biva preuzet od strane sarkoplazmatkog retikuluma preko ATP-zavisnih Ca<sup>2+</sup> pumpi, i ćelija se relaksira (dijastola). Međutim visoka koncentracija kalijuma u kardioplegičnom rastvoru koji ispunjava ekstracelularni prostor ne dozvoljava repolarizaciju. Potencijal mirovanja miokarda komore je oko -84mV pri

ekstracelularnoj koncentraciji  $K^+$  od 5.4mmol/l. Sa rastom koncentracije  $K^+$  do 16.2mmol/l raste i potencijal mirovanja do -60mV, nivo pri kome su miociti rezistentni na normalne stimuluse. Kada potencijal mirovanja dostigne -50mV, natrijumski kanali se inaktiviraju, što rezultira dijastolnim arestom<sup>125</sup>. Membranske inaktivirajuće kapije, ili “h”  $Na^+$  kapije koji regulišu protok  $Na^+$  kroz ćelijsku membranu su zavisne od transmembranskog potencijala. Što je manja negativnost membranskog potencijala veći je procenat zatvorenih i neaktivnih “h” kapija. U slučaju parcijalne depolarizacije, koja se dešava pri postepenom povećanju nivoa ekstracelularnog  $K^+$ , kapije imaju dovoljno vremena da se zatvore i na taj način inaktiviraju  $Na^+$  kanale. Kada je ćelija parcijalno depolarizovana, mnogi  $Na^+$  kanali su već neaktivni i samo mala frakcija tih kanala je sposobna da sprovodi  $Na^+$  jonsku struju prema unutra, za vreme 0. faze depolarizacije<sup>126</sup>. Interesantno, ali upotreba i druga dva elektrolita,  $Na^+$  i  $Ca^{2+}$ , takođe se može koristiti za zaustavljanje srca. Kardioplegični rastvori koji sadrže nisku koncentraciju  $Na^+$  i zaustavljaju srce inhibicijom brze faze akcionog potencijala označeni su kao intracelularni. Sa uklanjanjem  $Na^+$  iz ekstracelularnog prostora srce se neće kontrahovati, pošto je akcioni potencijal zavistan od ekstracelularnog  $Na^+$ . Međutim, uklanjanje  $Na^+$  ne menja potencijal mirovanja membrane. Isto tako uklanjanje  $Ca^{2+}$  rezultira smanjenjem kontraktilne sile i eventualnom arestu miocita u dijastoli. Primer kardioplegičnog rastvora sa niskom koncentracijom  $K^+$  i  $Na^+$  je HTK (Histidine-triptofan-ketoglutarat). Međutim, nasuprot tome povećana koncentracija ekstracelularnog  $Ca^{2+}$ , pojačava kontraktilnu silu miocita. Povećanje koncentracije  $Ca^{2+}$  u kardioplegičnom rastvoru dovoljno visoko, može da rezultira arestom u sistoli, što vodi u ireverzibilni događaj označen kao “stone heart” ili rigor.

#### 1.4.2.2. Krvna kardioplegija

Krvna kardioplegija se sastoji iz kombinacije autologusne krvi dobijene iz sistema ekstrakorporalne cirkulacije dok je pacijent na kardiopulmonalnom bajpasu i kristaloidnog kardioplegičnog rastvora različitog sastava. Najčešći raspon koncentracija  $K^+$  koja se koristi za zaustavljanje srca je 20-30mmol/l. Pre administracije, krvna kardioplegija se hladi korišćenjem kalema za razmenu temperature (*eng.heat-exchanging coil*) na temperaturu između 4 i 12°C. Odnos krvi i kristaloidnog rastvora varira, ali najčešće primenjivani odnosi su 8:1, 4:1 i 2:1, što kao rezultat ima različit finalni hematokrit krvne kardioplegije pri administraciji.

Glavne “teorijske” prednosti korišćenja krvne kardioplegije su:

1. Poboljšani prenos kiseonika i intermitentna reoksigencija miokarda u toku aresta,

2. Smanjena hemodilucija u slučaju ponavljanih kardioplegija što je od prevashodnog značaja kod dece,
3. Odličan puferski kapacitet,
4. Odlične osmotske karakteristike,
5. Fiziološki elektrolitni sastav i pH vrednost,
6. Sadrži brojne endogene antioksidante i elemente za uklanjanje slobodnih radikala,
7. Manje kompleksna priprema u odnosu na neke druge rastvove.

**Tabela 3. Komponente različitih kardioplegičnih rastvora**

<i>Rastvor</i>	<i>Uobičajene komponente*</i>						<i>mOsm/l</i>	<i>Druge komponente</i>
	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{HCO}_3^-$	pH		
Brestschneider	12.0	10.0	2.0	-	-	5.5-7.0	320	Prokain;manitol
Ringer laktat	130.0	24.0	-	1.5	-	7.14	-	Laktat;hlorid
Tyer's	138.0	25.0	1.5	0.5	20.0	7.8	275	Acetat;glukonat,hlorid
St.Thomas 2 (Plegisol)	110.0	16.0	16.0	1.2	10.0	7.8	324	Lidokain
Roe's	27.0	20.0	1.5	-	-	7.6	347	Glukoza;"tris buffer"
Gay/Albert	38.5	40.0	-	-	10.0	7.8	365	Glukoza
Birmingham	100.0	30.0	-	0.7	28.0	7.5	300-385	Glukoza;hlorid;albumin;manitol
Craver's	154.0	25.0	-	-	11.0	-	391	Dekstroza
Custadiol	15.0	9.0	4.0	0.02	-	-	310	Histidin-triptofan-ketoglutarat;manitol
Del Nido		13.0			26.0			Lidokain;manitol
Lolley's	53		52	+1	4.4	7.78	350	Dekstroza;manitol; insulin

\*Vrednosti su izražene u milimolima na litar, osim ako nije drugačije naznačeno

### 1.4.3. Topla krvna kardioplegična reperfuzija (*hot shot*)

Krvna kardioplegija se može aplikovati kao topla (37°C), hladna (4-10°C) ili mlaka (oko 29°C).

Mnoge studije su izvođene tokom 1990-ih godina u cilju određivanja optimalne temperature krvne kardioplegije. Teoh i sar.<sup>127</sup> su 1986 godine prikazali svoju eksperimentalnu studiju u kojoj su demonstrirali da terminalna infuzija tople krvne kardioplegije pre uklanjanja aortne kleme (*“hot shot”*) ubrzava metabolički i funkcionalni oporavak miokarda. Studije na adultnim pacijentima pokazale su da pažljiva kontrola fizičkih karakteristika i sastava reperfuzione tečnosti utiče na odgovor miokarda na ishemijsko-reperfuziono oštećenje. Kao rezultat toga, terminalna *“hot shot”* se danas koristi u većini kardiohirurških procedura u adultnoj kardiohirurgiji. Podaci dobijeni kao rezultat biopsija kako leve tako i desne komore, pokazuju potpuni metabolički oporavak miokarda kada se primenila retrogradna *“hot shot”* reperfuzija nakon prosečnog trajanja srčanog aresta u trajanju od 70 minuta. To je dokazano kompletnim očuvanjem ATP-a i izostankom skoka koncentracije laktata. Međutim, ukoliko se koristila samo kardioplegija, podstojala je prividna protekcija ATP-a u levoj komori, ali je zapažen pad ATP-a u ćelijama desne komore. Ovaj pad ATP-a nije bio zabeležen kada je primenjena *“hot shot”* reperfuzija. Jedno od mogućih objašnjenja može biti i efekat uklanjanja vazduha retrogradnom primenom *“hot shot”* u desnu koronarnu arteriju, koja je zbog svoje anatomske pozicije u odnosu na prednji zid ascendentne aorte više izložena mikroembolizaciji. Razlog upotrebe *“hot shot”* reperfuzije je aktivno očuvanje miokarda oštećenog ishemijom maksimiziranjem kinetike reparacije sa jedne strane i minimiziranjem miokardnih zahteva za kiseonikom sa druge u toku aresta. Pozitivni efekat tople krvne kardioplegične reperfuzije posledica je boljeg dopremanja kisenika do miokarda u arestu nakon perioda relativne ishemije, koje je dodatno poboljšano vazodilatacijom koronarnih krvnih sudova toplom perfuzijom<sup>128, 129</sup>. Dodatno, topla krvna kardioplegična reperfuzija ispira produkte anaerobnog metabolizma, dok održavanje srčanog aresta čuva depoe ATP.

Nakon toga je sledio izveštaj Lichteinstein i sar.<sup>130</sup> da topla krvna kardioplegija koja se primenjuje kod ljudi predstavlja efektivan način protekcije miokarda. Međutim, i pored takvih ohrabrujućih studija i dalje postoje značajne nedoumice vezane za primenu tople krvne kardioplegije, naročito posle izveštaja Martin-a i sar.<sup>131</sup> koji je pokazao povećanu incidencu neuroloških komplikacija nakon njene primene. Hayashida i sar.<sup>132</sup> su među prvima ispitivali efikasnost mlake krvne kardioplegije. U njihovoj studiji, 72 pacijenta koja su imala CABG procedure su randomizirana da prime hladnu, anterogradnu i retrogradnu, mlaku anterogradnu i retrogradnu i toplu anterogradnu i retrogradnu krvnu kardioplegiju. Iako je protekcija bila

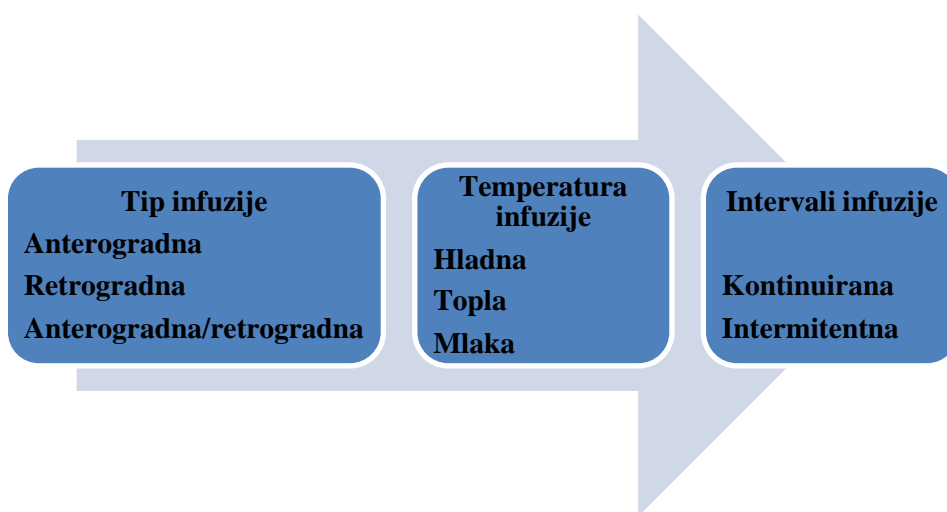
adekvatna u sve tri grupe, mlaka anterogradna krvna kardioplegija je bila najefikasnija u redukciji oslobađanja anaerobnih laktata u toku perioda aresta.

#### 1.4.4. Putevi administracije kardioplegije

Pored različitih temperatura kardioplegičnog rastvora postoje i različiti načini i putevi njihove administracije (Slika 2).

Retrogradna aplikacija kardioplegije preko koronarnog sinusa se najčešće koristi kao dodatak anterogradnoj kardioplegiji. Osnovna teorijska prednost retrogradnog davanja je u obezbeđivanju bolje distribuciji kardioplegičnog rastvor u regione srca koja imaju lošu kolateralnu cirkulaciju. Taj pristup se pokazao kao efikasan i u slučajevima aortne regurgitacije u valvularnoj hirurgiji, u redukciji rizika od embolizacije kod ponavljanih revaskularizacija miokarda i mogućnosti kontinuiranog davanja kardioplegije. Međutim, ovakav pristup nije bez ograničenja. Kardioplegija koja se daje preko koronarnog sinusa rezultira slabijom distribucijom u desnu komoru zbog anatomskih varijacija venske cirkulacije srca i heterogene distribucije kardioplegičnog rastvora.

Osnovna prednost intermitentnog davanja u odnosu na kontinuiranu infuziju kardioplegičnog rastvora je suvo i mirno operativno polje. Iako kontinuirana kardioplegija, posebno ako je u pitanju oksigenirana krvna kardioplegija ima teorijsku prednost zbog minimiziranja ishemije, sa praktičnog stanovišta je teško izvodljiva.



**Grafikon 1.** Metode aplikacije kardioplegičnih rastvora

### **1.4.5. Uloga postkondicioniranja u kardioprotekciji**

Reperfuziono oštećenje predstavlja integrisani odgovor na ponovno uspostavljanje protoka krvi nakon ishemije, započinje tokom najranijih momenata reperfuzije, a može trajati danima<sup>133,134</sup>. Pokazano je da farmakološko blokiranje ranih događaja u peri-reperfuzionom periodu, efektivno smanjuje veličinu infarkta, u danima i nedeljama nakon reperfuzije. Međutim, kliničari i dalje oklevaju sa rutinskom primenom kako farmakoloških tako i mehaničkih manevara zbog brojnih razloga. Postkondicioniranje je mehanički manevar koji se primenjuje u ranim fazama reperfuzije i utiče na smanjenje negativnih efekata reperfuzije, kao što je endotelna aktivacije i disfunkcija, infarkt i apoptoza. Mehanička procedura postkondicioniranja, međutim, dovodi do indukcije više događaja koji zajedno smanjuju reperfuziono oštećenje na ćelijskom i intraćelijskom nivou, nasuprot inhibiranju pojedinačnih biohemijskih i molekularnih targeta. Postkondicioniranje atenuira oksidaciju, kao i oksidacijom izazvano oštećenje, ali deluje na očuvanje signalne funkcije koju imaju oksidanti i NO. Pored toga, mehaničko postkondicioniranje uključuje konvencionalne endogene "trigere" protekcije, kao što su adozin i opiodi, koji deluju ne samo što prenose kardioprotektivne efekte preko signalnih transdukcionih puteva (PKC), nego i stimulišu protektivno dejstvo signalnih molekula (NO). Na kraju, zaštitom drugih anatomskih i ćelijskih struktura (npr. endotela), postkondicioniranje može pojačati endogene kardioprotektivne mehanizme samog miokarda. Stoga, pluripotentni mehanizmi postkondicioniranja predstavljaju odgovor na multiple mehanizme uključene u reperfuziono oštećenje.

#### **1.4.5.1. Fiziološki mehanizmi postkondicioniranja**

Postkondicioniranje se definiše kao naglo, povremeno prekidanje koronarnog protoka u najranijoj fazi reperfuzije. Trajanje pojedinačnih faza ishemije i reperfuzije koje se nadovezuju jedna na drugu u ciklusima se vremenom menjao, ali se generalno govoreći meri u sekundama i empirijski je kraći u eksperimentalnim studijama na manjim životinjama (npr. 10-15s kod miševa i pacova), duži u studijama na većim životinjama (npr. 30 sekundi kod pasa i zečeva) i 60 sekundi u kliničkim studijama na ljudima<sup>18</sup>.

Iako, inicijalne studije koriste termin „ishemijsko“ postkondicioniranje, „ishemijsko“ je vremenom izuzeto iz termina pošto još uvek nije potpuno jasno da li kratki periodi ponovne okluzije, ili periodi reperfuzije, ili njihova kombinacija rezultuju stimulacijom kardioprotekcije.



#### 1.4.5.2. Smanjenje zone infarkta miokarda

Prva eksperimentalna studija koja je potvrdila kardioprotektivni efekat postkondicioniranja je izvedena na psima i podrazumevala je 1 čas koronarne okluzije i 3 časa reperfuzije<sup>135</sup>. U ovoj studiji algoritam za postkondicioniranje je primenjen na početku reperfuzije, a sastojao se od ukupno tri ciklusa, pri čemu je svaki ciklus bio podeljen na 30 sekundi reperfuzije i 30 s koronarne okluzije. U odnosu na kontrolnu grupu, postkondicioniranje je značajno smanjilo veličinu infarkta miokarda. Iznenadujuće, smanjenje zone infarkta je bilo registrovano i u grupi koja je tretirana ishemijskim prekondicioniranjem, što se prema nekim studijama smatralo „zlatnim standardom“ kardioprotekcije<sup>136</sup>. Naredne eksperimentalne studije od iste grupe autora su potvrdile smanjenje zone infarkta i na drugim sličnim ishemijsko-reperfuzijskim modelima na psima<sup>137</sup> i miševima<sup>138, 139</sup>. Kin i sar.<sup>138</sup> su demonstrirali da je vreme kada se započinje sa postkondicioniranjem od krucijalnog značaja za kardioprotekciju. Ako se sa algoritmom za postkondicioniranje započne 1 minut nakon otpočinjanja reperfuzije efekat postkondicioniranja se gubi. Gibitak kardioprotektivnog efekta nakon odloženog započinjanja postkondicioniranja je takođe potvrđeno od strane Yang i sar.<sup>140</sup> i Philipp i sar.<sup>141</sup>.

Postoje mnogobrojni događaji na celularnom i molekularnom nivou koji su uključeni u patogenezu infarkta miokarda u najranijim fazama reperfuzije koji se mogu modulirati postkondicioniranjem.

Da bi se utvrdilo da li postkondicioniranje dodatno poboljšava kardioprotekciju nakon prekondicioniranja, protokoli za pre i postkondicioniranje su kombinovani u trećem modelu<sup>137</sup>. Kombinovana primena pre i postkondicioniranja nije pokazala dodatnu protekciju, koja je ispitivana veličinom infarkta, produkcijom superoksid anjona od strane post-ishemijskog miokarda ili disfunkcijom vaskularnog endotela. Slične rezultate dobio je i Tsang na izolovanom perfundovanom modelu srca pacova<sup>142</sup>. Međutim Yang i sar.<sup>140</sup> su demonstrirali na in vivo modelu zeca da 45 minuta okluzije i 3 časa reperfuzije u kombinaciji sa post i prekondicioniranjem smanjuju veličinu infarkta značajno više nego svaki od manevara pojedinačno. Razlike u vrstama eksperimentalnih životinja mogu biti razlog za nekonzistentnost rezultata različitih studija. Pitanje koje se nedvosmisleno postavlja nakon svih do sada objavljenih studija je da li protektivni efekat perzistira i u dužem vremenskom periodu ili postkondicioniranje samo odlaže uobičajene patogenetske mehanizame koji se javljaju kao posledica ishemijske i reperfuzijske. Ovo je ključno pitanje, zato što postkondicioniranje može da utiče na događaje odgovorne za rano reperfuziono oštećenje, ali ne i za one odgovorne za kasnije nastala oštećenja (6-12 časova nakon ishemijske). Međutim, pokazano je da postkondicioniranje utiče na redukciju infarktne zone i nakon 24 sata, što

potvrđuje dugotrajno protektivno dejstvo postkondicioniranja na miokard, a ne samo odlaganje neizbežnog oštećenja<sup>143,144</sup>.

#### **1.4.5.3. Redukcija aktivacije i disfunkcije endotela**

Vaskularni endotel koronarnih krvnih sudova je oštećen ishemijom-reperfuzijom. Ovo oštećenje može biti izraženo kao:

- 1) Smanjenje u vazodilatatornom odgovoru na azot-oxid sintetazu stimulator acetylholina, za koju je pokazano da je povezana sa redukcijom bazalne produkcije azotoksida<sup>145</sup>,
- 2) Sklonost neutrofila da adheriraju za koronarni vaskularni endotel, kao posledica smanjenja bazalne sinteze azot-oksida<sup>146</sup>,
- 3) Povećana površinska ekspresija P-selektina<sup>147,148</sup>
- 4) Pojačano generisanje superoksidnih anjona.

Zhao i saradnici<sup>149</sup> su pokazali da se post-ishemijsko oštećenje endotela, procenjeno kao vazodilatatorni odgovor na postepeni porast koncentracije acetylholina poboljšava postkondicioniranjem. Pored toga, postkondicioniranje smanjuje površinsku ekspresiju P selectin-a, adheziju neutrofila za post-ishemični vaskularni endotel koronarnih krvnih sudova i nakupljanje neutrofila u rizičnim područjima (aktivacija mijeloperoksidaze). U skladu sa smanjenjem ozlede endotela (generacija superoksidnih anjona) primenom postkondicioniranja, Halkos i saradnici<sup>137</sup> su pokazali manje dihidroetidijum fluorescencije u perivaskularnim zonama unutar rizičnog područja kod postkondicioniranog srca. Ovi nalazi mogu da ukažu da postkondicioniranje smanjuje aktivaciju i disfunkciju vaskularnog endotela. Međutim, da li redukcija ćelijski posredovanog pro-inflamatornog stanja nastaje kao posledica drugih fizioloških ishoda, kao što je nekroza, mikrovaskularna lezija ili apoptoza, ili jednostavno predstavlja odgovor na povredu manjeg intenziteta, do sada nije razjašnjeno. Uzročno-posledični efekat uloge smanjenja aktivacije neutrofila i endotelinih ćelija je prikazan u naučnim radovima<sup>150</sup>, ali i dalje postoji kontroverzna interpretacija pošto postkondicioniranje dovodi do kardioprotekcije i u eksperimentalnim studijama rađenim i na sistemima bez neutrofila (neutrophile free system)<sup>151,152,153</sup>.

#### **1.4.5.4. Atenuacija apoptoze**

Pored nekroze, kardiomiociti takođe podležu i apoptozi, koja predstavlja genetski programiranu ćelijsku smrt, a fenotipski se razlikuje od nekroze. Neki naučni radovi pretpostavljaju da je apoptoza trigerovana reperfuzijom nakon prolazne okluzije koronarnih

arterija<sup>154,155</sup>. Postoji nekoliko studija koje su istraživale efekte postkondicioniranja na apoptozu. Zhao i saradnici<sup>156</sup> objavili su da "hipoksično postkondicioniranje" na izolovanim kardiomiocitima nakon prolongiranog perioda hipoksije smanjuje apoptozu, što je dokazano genetskim ispitivanjima.

#### **1.4.5.5. Subcelularni mehanizmi uključeni u postkondicioniranje**

U okviru literature posvećene prekondicioniranju, koncept postojanja trigera (okidača), medijatora i efektoru korišćen je da bi se opisalo na koji način prekondicioniranje ostvaruje svoje kardioprotektivne efekte. Određene studije takođe preporučuju da se ova terminologija može upotrebiti i u cilju objašnjavanja kardioprotektivnih efekata postkondicioniranja, pokazujući da slični putevi i signalni mehanizmi leže u osnovi oba ova fenomena. Na primer Penna i saradnici<sup>157</sup> objavili su da slobodni kiseonični radikali (reactive oxygen species) mogu biti trigeri protekcije u veoma ranoj fazi postkondicioniranja. Takođe klasični ligand trigeri su takođe uključeni u postkondicioniranje<sup>158,159</sup>. Pored toga,  $K_{ATP}$  kanali i putevi koji uključuju protein kinazu C mogu biti evocirani nakon dejstva postkondicionirajućeg trigera i prema tome mogu imati ulogu medijatora. Međutim, ako su slični putevi i medijatori uključeni kako u prekondicioniranje tako i u postkondicioniranje, oni evidentno imaju veoma različite uloge u odnosu na vremenski period i na kompartment u kome ispoljavaju svoje efekte. Pored toga, još uvek nije jasno da li redukcija određenih molekula sa citotoksičnog na citoprotektivni nivo, kao što je pretpostavljeno za slobodne kiseonične radikale, predstavlja mehanizam kardioprotekcije. U tom slučaju bilo bi teško takve molekularne modifikacije simplifikovano kategorizovati kao trigere ili medijatore.

#### **1.4.6. Trigeri koji stimulišu kardioprotekciju u postkondicioniranju**

##### **1.4.6.1. Generisanje slobodnih kiseoničnih radikala (SKR)**

Kao što je ranije opisano u literaturi<sup>160,161,162</sup>, smatra se da SKR imaju važnu ulogu u reperfuzionom oštećenju. SKR dovode do oksidacije proteina i membranskih lipida i aktiviraju redukcija-senzitivnu signalnu kaskadu. Nakon započinjanja reperfuzije postoji "respiratorni prasak" (eng. respiratory burst) koji traje nekoliko minuta i potiče od endotelnih ćelija<sup>163</sup>, kardiomiocita i aktiviranih neutrofila<sup>150,164</sup>. Nakon ovog oksidativnog "praska" sledi umerena ali stalna pojačana produkcija superoksidnih anjona. Međutim SKR takođe učestvuju u intracelularnim signaliziranju i endogenoj kardioprotekciji, te prema tome mogu imati dvostruku ulogu i u okolnostima postkondicioniranja. Zhao i saradnici<sup>149</sup>, kao i Kin i

saradnici<sup>139</sup>, primetili su povišeni nivo generisanja superoksidnih radikala u post-ishemičnom miokardu i ćelijama vaskularnog endotela u trajanju od 3 časa nakon reperfuzije. Međutim, da li postkondicioniranje specifično smanjuje rani "prask" SKR, još uvek nije dovoljno ispitano. Stvaranje SKR u post-ishemičnom miokardu je udruženo sa povišenim plazma nivoom malon-di-aldehida, (predpostavljenog) markera za peroksidaciju lipida uzrokovanu stvaranjem oksida. Osim toga, postkondicioniranje značajno redukuje stvaranje superoksidnog anjona u uslovima in vivo, nakon 1 časa<sup>149</sup>, kao i nakon 3 časa<sup>139</sup> od reperfuzije, što je udruženo sa produktima peroksidacije lipida (malon-di-aldehid aktivnost). U in vitro studiji<sup>165</sup> na neonatalnim kardiomiocitima, "hipoksično postkondicioniranje" redukovalo je stvaranje superoksidnih anjona, što je detektovano lucigenin-pojačanom hemiluminiscencijom, citohrom C redukcijom i dihidroetidijom fluorescencijom. Ovo, in vitro smanjenje u stvaranju SKR uzrokovano postkondicioniranjem, bilo je udruženo sa smanjenom aktivnošću laktatne dehidrogenaze (pretpostavljeni marker morfološkog oštećenja tj. nekroze) u ćelijskoj kulturi. Pored toga, Serviddio i kolege<sup>166</sup> objavili su da kratak period hipoksične reperfuzije, varijanta postkondicioniranja bez naizmeničnih perioda normalne oksigenacije, smanjuje produkciju peroksida tokom faze reoksidacije nakon hipoksije. Smanjenje generisanja SKR može biti postignuto povećanjem anti-oksidantnog odbrambenog potencijala miokarda, na primer očuvanjem nivoa glutaciona<sup>166</sup>. Međutim, da li smanjenje stvaranja SKR predstavlja aktivan mehanizam postkondicioniranja ili prigušeni odgovor na manju ozledu tkiva, još uvek nije potpuno jasno.

Nasuprot citotoksičnim efektima, SKR su takođe povezani sa kardioprotektivnim signalnim putevima tokom ishemičnog prekondicioniranja. Skorašnji rezultati koje su objavili Penna i saradnici<sup>157</sup> u kojoj je čistač slobodnih radikala (free radical scavenger) N-acetyl-cystein (NAC) aplikovan posle perioda postkondicioniranja (5 ciklusa od 10s naizmenične ishemije i reperfuzije na izolovanom srcu pacova) nije blokirao postkondicioniranje, dok je aplikovanje NAC neposredno pre postkondicioniranja ili samo tokom postkondicionirajućeg perioda blokiralo redukciju veličine infarkta usled postkondicioniranja, što govori u prilog da SKR mogu biti uključeni kao signalni molekuli koji trigeruju kardioprotekciju. Činjenica da ex vivo model isključuje neke značajne izvore SKR, kao što su neutrofil i aktivirane endotelne ćelije može da ograniči generisanje SKR ili da smanji njihov nivo u odnosu na dešavanja in vivo. Dilema, da li je redukcija ili stvaranje SKR aktivni mehanizam u postkondicioniranju, još uvek nije razrešena. Postoji mogućnost da su oba mehanizma moguća, prema podacima trenutnih studija, da je citotoksični "prask" atenuiran, čime se prevenira njegova nadmoć nad citoprotektivnom signalnom ulogom SKR.

### 1.4.6.2. Indukcija pro-inflamatornih citokina

Zhao i saradnici<sup>149</sup> zajedno sa Halkos-om i kolegama<sup>137</sup> predložili su da jedan od mehanizama kojim postkondicioniranje redukuje reperfuziono oštećenje, je upravo inhibicija inflamatornog odgovora na reperfuziju. Međutim, nasuprot tom konceptu postoji observacija da je kardioprotekcija sa postkondicioniranjem pokazana na in vitro ćelijskim kulturama<sup>165,156</sup> kao i na izolovanom preparatu srca<sup>151,152</sup>, što govori u prilog činjenici da postoji i komponenta protekcije koja je nezavisna od inflamatornih ćelija. Iako preliminarni rezultati ukazuju da su pro-inflamatorni citokini TNF $\alpha$  i interleukin-6 (IL-6) redukovani usled postkondicioniranja<sup>156</sup>, funkcionalna uloga citokina i inflamatornih ćelija još uvek nije demonstrirana. Pored toga, iako se zna da citokini stimulišu migraciju neutrofila za vreme ishemijsko-reperfuzionog oštećenja miokarda<sup>167</sup>, još uvek se ne zna da li postoji uzročno-posledična veza između redukcije aktivnosti citokina i kardioprotektivnog efekta usled postkondicioniranja.

### 1.4.6.3. Uloga endogenog adenzina

Kardioprotektivna uloga adenzina u ishemiji i reperfuziji peko receptorskih mehanizama detaljno je opisana je još ranije. Kin i saradnici<sup>138</sup> su postavili hipotezu da postkondicioniranje odlaže ispiranje endogeno oslobođenog adenzina i da je aktivacija adenzinskih receptora uključena u kardioprotektivne mehanizme postkondicioniranja. U eksperimentalnom modelu globalne ishemije-reperfuzije, izvedenom na miševima, Kin i saradnici<sup>138</sup> su prikazali da postkondicioniranje zaista odlaže ispiranje endogeno oslobođenog adenzina i drugih purinskih metabolita na samom početku reperfuzije<sup>138</sup>. Postkondicioniranjem uslovljeno smanjenje veličine infarkta blokirano je primenom ne-selektivnog adenzin receptorskog antagoniste, 8-U-sulfofenil teofilin-a, kao i selektivnih antagonista A<sub>2A</sub> i A<sub>3</sub> aplikovanih pre postkondicioniranja. Međutim, kada je u pitanju bio A<sub>1</sub> receptorski antagonista, efekat nije postignut. Prethodne studije su takođe pokazale da je aktivacija A<sub>2A</sub> i A<sub>3</sub> receptora dovodi do smanjenja veličine infarkta. Aktiviranje ovih receptorskih podtipova povezano je sa atenuacijom aktivacije endotelnih ćelija kao i smanjenjem adherencije i aktivacije neutrofila<sup>168,169,170,58</sup> što je pokazano i u in vivo promenama nakon postkondicioniranja. Značaj endogenog adenzina u protekciji tokom postkondicioniranja prikazan je u studiji na začevima, u in situ modelu ishemije i reperfuzije<sup>141</sup>.

Adenzin takođe ima ulogu u "udaljenom" postkondicioniranju<sup>171</sup>. Ova hipoteza je ispitivana reperfuzijom koronarnih arterija nakon miokardne ishemije kojom je prethodila okluzija renalne arterije u trajanju od 5 minuta. Renalna arterija je oslobođena okluzije 1 minut pre

reperfuzije koronarne arterije. Veličina infarkta značajno je smanjena ovim udaljenim postkondicioniranjem. Međutim, efekat smanjenja infarkta je prestao primenom ne-selektivnog blokatora adenozienskog receptora 8-U-sulfofenil-teofilina (8-SPT) aplikovanog pet minuta pre otpuštanja okluzije koronarnih arterija. Stalna okluzija renalne arterije nije dovela do redukcije veličine infarkta. Međutim, odlaganje okluzije-reperfuzije renalne arterije za 1 minut, nije dovela do smanjenja veličine infarkta. Stoga, moguće da je se rastvorljiva supstanca (faktor), kao što je adenzin, prenosi putem cirkulacije ili neuralnim putevima i da može da sačuva reperfundovani miokard od reperfuzione povrede.

#### **1.4.6.4. Uloga endogenih opioda**

Poznato je da su opiodi uključeni u trigerovanje protekcije prekondicioniranjem<sup>172,173</sup>. Kin i kolege<sup>159</sup> su objavili da inhibicija opiodnih receptora primenom ne-selektivnog antagoniste (naloxon) ili perifernog antagoniste (naloxon methiodin), 5 minuta pre započinjanja reperfuzije u odsustvu ili prisustvu postkondicioniranja, može da preokrene efekat postkondicioniranjem uslalovljeno smanjenje infarkta, u in vivo modelima na laboratorijskim pacovima. Šta više, specifična inhibicija  $\mu$  receptorskog podtipa ili  $\gamma$  podtipa neutrališe pozitivne efekte postkondicioniranja. Međutim, još uvek nije poznato, da li postkondicioniranje pojačava oslobađanje samih endogenih opioda, ili pojačava njihovo vezivanje za receptore.

#### **1.4.6.5. Uloga endogenog azot oksida**

Azotni oksid (NO) učestvuje u brojnim biohemijskim reakcijama relevantnim za reperfuziju<sup>174</sup>. NO neutrališe superoksidne anjone ograničenom brzinom, ali je produkt ove reakcije potencijalno citotoksični peroxynitrit. Vremensko poklapanje "respiratornog praska" superoksidnih anjona sa endogenom produkcijom NO od strane koronarnog endotela tokom rane faze reperfuzije, može dovesti do značajnog povećanja lokalne koncentracije peroxynitrata<sup>175</sup>. Za razliku od normalnog endotela koji uvek opušta NO, koronarni endotel oštećen reperfuzijom smanjeno produkuje NO<sup>176,177</sup>. Ozleda endotela, detektovana neposredno nakon ponovnog protoka krvi može delimično biti posledica oštećenog endogenog oslobađanja NO. Sa druge strane, NO smanjuje efekte neutrofila i pokazano je da smanjuje veličinu infarkta i post-ishemičnu ozledu koronarnog vaskularnog endotele, kada se primenjuje kod reperfuzije<sup>178,179</sup>. Zbog toga, kao i u slučaju SKR, izgleda da NO ima dualnu ulogu u ishemiji-reperfuziji.

Takođe, NO ima ulogu unutarćelijskog signalnog molekula koji ima ulogu u kardioprotektivnom efektu prekondicioniranja. Yang i saradnici<sup>140</sup> bili su prvi koji su pokazali da je NO uključen u kardioprotekciju postkondicioniranjem. U okviru in situ modela na srcu zeca koji se odnosio na okluziju-reperfuziju koronarnih arterija, inhibitor NO sintetaze N-nitro-l-arginin-methyl ester (L-NAME), kada je infundovan neposredno pre započinjanja reperfuzije, neutralisao je pozitivne efekte postkondicioniranja. Uloga NO preko cGMP puteva je opisana od strane Pagliaro i saradnika<sup>180</sup> kao i Yang-a i saradnika<sup>152</sup>. NO može prividno biti u funkciji na bilo kom nivou (signalna, anti-inflamatorna) i moguće je da njegova uloga u ishemiji-reperfuziji obuhvata sve opisane nivoe aktivnosti. Koja je tačno od ovih uloga najvažnija za postkondicioniranje, još uvek nije otkriveno. Šta više, studija Pagliaro i saradnika<sup>180</sup> pokazuje da anti-inflamatorni mehanizmi (inhibicija neutrofila) nisu jedini način na koji NO dovodi do protekcije i da prenošenje signala za aktivaciju K<sub>ATP</sub> kanala i inhibiciju otvaranja mitohondrijalnih permeabilnih tranzicionih pora (mPTP) takođe mogu biti neke od uloga NO u postkondicioniranju. Međutim, učešće NO u aktivaciji i zatvaranju mPTP još uvek nije utvrđeno.

#### **1.4.7. Medijatori uključeni u postkondicioniranje**

##### **1.4.7.1. Aktivacija intraćelijske protein kinaze C**

Protein kinaza C (PKC) predstavlja ključni enzim u prenošenju signala tokom prekondicioniranja. Za razliku od prekondicioniranja, još uvek se nedovoljno zna o ulozi ovog enzima i njegovim transformacijama tokom postkondicioniranja. Zatta i autori objavili su da PKC inhibitor chelerythrine, ukoliko se administrira 5 minuta pre reperfuzije in vivo na ishemijsko-reperfuzionom modelu na laboratorijskim pacovima blokiraju postkondicioniranjem redukovanu veličinu infarkta. Pored toga, blokada PKC $\epsilon$  neutrališe pozitivne efekte postkondicioniranja na veličinu infarkta. Western blot analiza PKC $\epsilon$  i PKC $\beta$  pokazuje da postkondicioniranje pojačava kardioprotektivnu<sup>181</sup> izoformu PKC $\epsilon$  a smanjuje PKC $\beta$  izoformu, za koju je pokazano da ima štetno dejstvo u ishemiji-reperfuziji<sup>182</sup>. Ove rezultate su takođe potvrdili Penna i saradnici<sup>157</sup> koji su pokazali da aplikovanje chelerythrine-a neposredno pre ili posle postkondicioniranja ukida postkondicioniranjem uslovljeno smanjenje zone infarkta.

#### **1.4.7.2. Aktivacija protein kinaza vezanih za preživljavanje i smrt (survival and death kinases)**

Uloga kinaza vezanih za preživljavanje i smrt u postkondicioniranju je bila tema istraživanja nekoliko naučnih grupa. U eksperimentima na izolovanom srcu laboratorijskih pacova<sup>142</sup> i zečeva<sup>152</sup>, smanjenje veličine infarkta uzrokovano postkondicioniranjem udruženo je sa aktivacijom puteva povezanih sa preživljavanjem (pro-survival pathways) PI3K-Akt<sup>141,152</sup>. Tsang i saradnici<sup>142</sup> objavili su da primena PI-3-K inhibitora LY294002 tokom prvih 15 minuta reperfuzije na izolovano perfundovanom srcu laboratorijskog pacova eliminiše postkondicioniranjem pojačanu ekspresiju phos-pho-Akt nivoa i aktivaciju e-NOS i p70s6K u području rizika, demonstrirajući protektivnu ulogu PI-3K-Akt. Studija Yang-a i saradnika<sup>152</sup> na izolovano perfundovanom srcu zeca potvrdila je značaj PI-3K-Akt puta. Međutim, u eksperimentu in situ na modelu zečjeg srca Yang i kolege<sup>140,140</sup> pokazali su da mitogen-aktivirana protein/ekstraćelijska signal regulatorna kinaza MEK/ERK 1/2 je takođe uključena u smanjenje veličine infarkta, pošto je redukcija veličine infarkta ukinuta inhibitorom MEK 1/2 PD98059. Sa druge strane Darling i saradnici<sup>151</sup> koji su koristili izolovano perfundovano srce zeca sa regionalnom ishemijom-reperfuzijom, nisu primetili nikakvo smanjenje protektivnih svojstava postkondicioniranja na veličinu infarkta kada se primenio PI3-kinaza inhibitor (LY294002). Međutim, oni su primetili kompletno ukidanje protektivnih dejstava na smanjenje veličine infarkta davanjem ERK1/2 antagoniste PD98059, primenjenog neposredno pre reperfuzije i postkondicioniranja. Ovi podaci su bili u skladu sa porastom p-ERK i bez promena u p-Akt u subperikardnom (pretpostavljeno ne-infarktnom) regionu pod rizikom u poređenju sa kontrolnom grupom kod koje je bila potpuna kontrola reperfuzije<sup>151</sup>. Uzrok ovih naizgled različitih rezultata još uvek nije dovoljno jasan. Jedna od mogućnosti je da se radi o razlikama u metodologiji i mestima uzorkovanja (transmuralni<sup>142</sup> u odnosu na subepikardni<sup>151</sup>). Bez obzira, uloga ERK 1/2 u postkondicioniranju, ali ne i u prekondicioniranju<sup>140</sup> može upravo biti mehanizam koji će u budućnosti praviti razliku između ove dve tehnike.

Dokazi iz in vitro i in vivo modela pokazali su da kinase vezane sa smrću (death kinases), kao što je p38 i c-jun amino-terminal kinaza (JNK-1 i 2)/stress-aktivirana protein kinaza (SAPK) povezane sa ishemijsko-reperfuzionim oštećenjem miokarda i takođe se aktiviraju kao odgovor na stimulus prisutan prilikom reperfuzije, kao što su inflamatorni citokini i oksidansi<sup>183,184,185</sup>. Još uvek je malo informacija o ulozi ovih kinaza u postkondicioniranju. Zhao i saradnici su pokazali, koristeći izolovane miocite srca laboratorijskih pacova da intermitentna reoksigenacija i hipoksija ("hipoksično postkondicioniranje") inhibira



ekspresiju p38 i JNK mitogen-aktivirajuću protein kinazu. Ova redukcija "death" kinaza je udružena sa smanjenjem produkcije TNF $\alpha$  u ćelijskim kulturama, mada funkcionalna povezanost nije pokazana. Navedeni podaci obezbeđuju dokaze da je modulacija "survival" i "death" kinaza za vreme ranog perioda reperfuzije može biti uključena u kardioprotekciju postkondicioniranjem. Ali na koji način postkondicioniranje utiče na stimulatory kinaza i koliko je balans između "death" i "survival" kinaza bitan u protekciji miokarda, ostaje da se razjasni.

#### **1.4.7.3. Smanjenje akumuliranja intraćelijskog Ca<sup>2+</sup>**

Dobro je poznato da je akumulacija intraćelijskog kalcijuma (Ca<sup>2+</sup>) letalna za kardiomiocite<sup>186,187</sup>. Posledice ekscesivne akumulacije intraćelijskog Ca<sup>2+</sup> za vreme rane faze reperfuzije dovode do brojnih sekundarnih efekata, uključujući stimulaciju kontraktilnog "rigor"-a<sup>74</sup>, mitohondrijalne disfunkcije, hiper-stimulacije (Ca<sup>2+</sup>)-zavisnih enzima, i otvaranje mitohondrijalnih permeabilnih tranzicionih pora<sup>188</sup>. Kada se neonatalni kardiomiociti laboratorijskih pacova, izlože hipoksiji u trajanju od 3h i reoksigenaciji u trajanju od 6h, odnosno "hipoksičom prekondicioniranju" sa naizmeničnim izlaganjem 3 ciklusa od po 5 minuta hipoksičnog i normo-oksičnog stanja pre faze re-oksigenacije, smanjuje se intraćelijsko i mitohondrijalno nakupljanje Ca<sup>2+</sup> u odnosu na kardiomiocite koji nisu bili izloženi postkondicioniranju. To je bilo udruženo sa redukcijom nekroze kardiomiocita procenjene određivanjem nivoa propionium jodida i laktatne dehidrogenaze u tkivu<sup>165</sup>. Međutim, putevi prenošenja signala i fiziološke posledice smanjenja koncentracije intraćelijskog Ca<sup>2+</sup> pod uticajem postkondicioniranja, za sada nije dovoljno poznato, posebno in vivo.

#### **1.4.7.4. Otvaranje K<sub>ATP</sub> kanala**

K<sub>ATP</sub> kanali, posebno mitohondrijalni, uključeni su u kardioprotekciju<sup>189,190,191,192</sup>, prevashodno u slučaju prekondicioniranja<sup>193,194</sup>. Moguća veza između aktiviranja K<sub>ATP</sub> kanala i mitohondrijalnih permeabilnih tranzicionih pora, govori u prilog činjenici da se mitohondrijalni K<sub>ATP</sub> kanali mogu smatrati više kao medijatori nego kao krajnji efektori. Yang i kolege<sup>140</sup> u modelu in situ na zečjem modelu arterijske okluzije i reperfuzije, prikazali su da je postkondicioniranjem uslovljeno smanjenje veličine infarkta zavisno od otvaranja K<sub>ATP</sub> kanala. Ne-selektivni blokator K<sub>ATP</sub> kanala glibenklamid ili selektivni mitohondrijalni inhibitor K<sub>ATP</sub> kanala, 5-HD, ukinuo je pozitivne efekte postkondicioniranja<sup>140</sup>. U preliminarnoj eksperimentalnoj studiji na modelu laboratorijskih pasa<sup>143</sup>, izvođena je okluzija

koronarnih arterija u trajanju od 60 minuta i reperfuzija u trajanju od 24h, postkondicioniranjem uslovljeno smanjenje infarkta bilo je blokirano sa 5-HD, ali ne i sa HMR1908, oba primenjena 5 minuta nakon započinjanja reperfuzije, što govori u prilog činjenici da je specifična aktivacija  $K_{ATP}$  kanala jedan od mehanizama protekcije.

#### **1.4.8. Efekti postkondicioniranja na krajnje efektore uključene u reperfuziono oštećenje**

##### **1.4.8.1. Inhibicija mitohondrijalnih permeabilnih tranzicionih pora (mPTP)**

Otvaranje mitohondrijalnih tranzicionih pora smatra se ključnim događajem u ćelijskoj smrti posle ishemije-reperfuzije<sup>195,196</sup>. Za vreme ishemije, mPTP su uglavnom zatvorene. Već za vreme rane reperfuzije snačajno raste broj otvorenih mPTP<sup>196</sup>, što se može povezati sa porastom produkata oksidacije i akumulacijom intraćelijskog  $Ca^{2+}$ , što se događa za vreme rane reperfuzije<sup>196</sup>. Argaud i saradnici<sup>144</sup> pokazali su da postkondicioniranje smanjuje  $Ca^{2+}$ -indukovano otvaranje mPTP u mitohondrijama izolovanim iz delova miokarda koji su pod rizikom. Postkondicioniranje je takođe udruženo sa smanjenjem veličine infarkta nakon kako akutne, tako i dugotrajne (72h) reperfuzije. Bopassa i saradnici<sup>197</sup> su prikazali, na izolovano perfundovanom srcu laboratorijskih pacova, da je zatvaranje mPTP udruženo sa aktivacijom PI3-K, što je u skladu sa gore pomenutom aktivacijom "survival" kinaza, mada funkcionalna uloga i regulacija mPTP in vivo, još uvek nije sa preciznošću determinisana.

##### **1.4.9. Postkondicioniranje farmakološkim agensima**

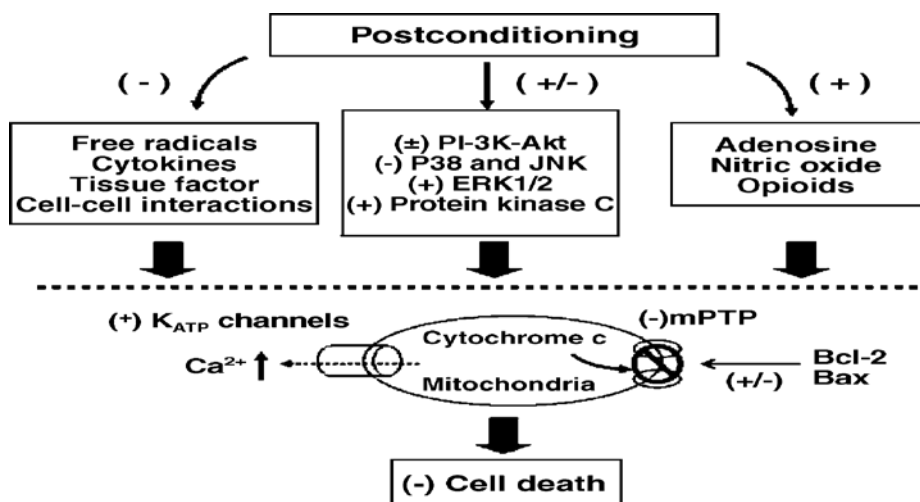
Jedan od ciljeva primene terapijske reperfuzije jeste da se farmakološki podražava (imitira) postkondicioniranje. Pored toga, ni jedno farmakološko sredstvo, niti manevar, ne može da ima efekta na sve mehanizme nastanka reperfuzione povrede. Međutim, kombinovanje farmakoloških agenata i mehaničkih manevara kao što je postkondicioniranje, može da dovede do šireg spektra uticaja na smanjenje reperfuzionog oštećenja. U širem smislu, prema nalazima studija u kojima je farmakološki agent bio aplikovan na početku reperfuzije, može zapravo doći do farmakološki indukovano "postkondicioniranja"<sup>198,199,200</sup>, sa veoma važnim ograničenjem, da se pulsatilno hidrodinamično stanje postkondicioniranja ne može reprodukovati farmakološkim sredstvima. Inhalacioni anestetici, kao što je izofluran<sup>201</sup> i sevofluran<sup>202</sup>, aplikovani neposredno pre započinjanja reperfuzije, smanjuju veličinu infarkta na način veoma sličan postkondicioniranju, te se ovaj mehanizam naziva "postkondicioniranje anestheticima". Izofluran, ukoliko se administrira neposredno pre započinjanja reperfuzije, smanjuje veličinu infarkta zajedno sa smanjenjem otvaranja mPTP i preko glikogen sintetaza

kinaze 3h (GSK3h)<sup>203</sup>. Sevofluran takođe dovodi do redukcije veličine infarkta<sup>202</sup>, pri čemu to dejstvo delimično ostvaruje preko otvaranja  $K_{ATP}$  kanala. U skorije vreme, Chiari i saradnici<sup>204</sup> u eksperimentalnoj *in vivo* studiji na srcu zeca, koje je bilo izloženo 30-minutnoj okluziji koronarnih arterija i reperfuziji koja ja trajala 3h, pokazali su da kada se primeni inhalacioni anestetik izofluran u koncentraciji 1 MAC (minimalna alveolarna koncentracija), u kratkotrajnim ciklusima (10 ili 20 s), podražavajući pulsatilnu prirodu postkondicioniranja, redukuje veličinu infarkta u istoj meri kao i 20-sekundni ciklusi mehaničkog postkondicioniranja. Smanjenje infarkta, bilo uz pomoć izoflurana ili mehaničkog postkondicioniranja, može biti ukinuto primenom blokatora PI-3-kinaze-Akt. Protekcija nije postignuta kada su primenjivani kraći intervali postkondicioniranja (10s) niti kada je primenjen izofluran u manjoj koncentraciji (0,5 MAC). Međutim, ukoliko su oba ova ne-efektivna tretmana primenjavana u kombinaciji, primećena je da dovode do redukcije veličine infarkta, govoreći u prilog činjenici da izofluran “snižava prag” za kardioprotekciju postkondicioniranjem<sup>204</sup>. U eksperimentalnoj studiji na *in vivo* modelu srca laboratorijskog pacova, primena inhibitora natrijum/vodonik izmenjivača, cariporid-a u dozi od 5mg/kg na početku reperfuzije, u isto vreme sa postkondicioniranjem, dovodi do smanjenja veličine infarkta više nego svaka pojedinačna procedura. Prema tome, postkondicioniranje može biti pojačano farmakološkim agentima, ili može da smanji efektivne doze kardioprotektivnih lekova.

#### **1.4.10. Postkondicioniranje ljudskog srca**

Ultimativna vrednost primene kardioprotektivne terapije je upravo njegoa upotreba u kliničkoj praksi, kod pacijenata koji imaju koronarnu bolest i pridružene faktore rizika i mogu biti različitih godina života, pola i različitih nivoa opšteg zdravstvenog stanja. Dve studije su u skorije vreme objavile da konvencionalno postkondicioniranje pretstavlja efektivni tretman u populaciji pacijenata sa koronarnom bolešću. U studiji koju su sprovedeli Laskey i kolege<sup>205</sup>, 17 pacijenta koji su bili izloženi perkutanoj koronarnoj intervenciji bili su podeljeni u dve grupe, ili da budu podvrgnuti standardnoj angioplastiji (balon dilataciji) koja uključuje 90s neprekidne inflacije balonom bez daljeg tretmana (n=7) ili u da budu izloženi ponavljenim inflacijama balona (“kondicioniranje”, n=10) u trajanju od 90 s, aplikovani 3-5 minuta posle naduvavanja balona. ”Kondicioniranje nakon angioplastike smanjuje veličinu ST elevacije u poređenju sa kontrolnom grupom i ubrzava vreme za koje se elevacija ST segmenta vraća na normalu, nakon reperfuzije. Staat i saradnici<sup>18</sup> izveli su multi-centričnu randomizovanu studiju na 37 pacijenata, kojima je dijagnostikovana totalna okluzija koronarnih arterija i kod

kojih je izvedena angioplastija/stentovanje, koronarnih krvnih sudova. Pacijenti kod kojih je postignut zadovoljavajući protok gradusa 2-3 na kraju procedure, bili su randomizovani ili da nastave sa standardnim tretmanom (bez dalje mehaničke intervencije) ili da im se primeni postkondicioniranje sa 4 ciklusa 1-minutnih napumpavanja i ispumpavanja balona za angioplastiku. Veličina infarkta (površina ispod krivulje za kreatin kinazu), bila je značajno manja dok je postignuti koronarni protok bio veći, kod pacijenata izloženih postkondicioniranju. Nije bilo zabeleženih neželjenih efekata u grupi koja je bila izložena postkondicioniranju. Obe navedene studije<sup>205</sup>, govore u prilog činjenici da postkondicioniranje predstavlja bezbednu i efektivnu kardioprotektivnu intervenciju, u cilju tretiranja reperfuzionog oštećenja kod pacijenata sa ishemijskom bolešću srca. Međutim, potrebno je ove rezultate potvrditi u drugim kliničkim kao i u studijama na većem broju pacijenata, posebno onih sa teškim formama koronarne bolesti i sa uključenim rizikofaktorima (hipertenzija, hiperholesterolemija, gojaznost, dijabetes). Pored toga, buduće studije bi trebalo da istraže ne samo uticaj postkondicioniranja na veličinu zone infarkta, nego i na srčanu insuficijenciju koja nastaje kao posledica infarkta miokarda.



**Slika 2.** Šematski prikaz pretpostavljenog mehanizma postkondicioniranja

Z.-Q. Zhao, J. Vinten-Johansen. *Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury. Cardiovascular Research* 70 (2006) 200–211

Protekcija postkondicioniranjem moguće je da uključuje paralelne, ushodne i nishodne efekte na inflamatorni odgovor, protein kinase,  $K_{ATP}$  kanale i mitohondrijske permeabilne tranzicione pore (mPTP). Očuvanje endogenih faktora, kao što je adozin, NO i opiodi pod uticajem postkondicioniranja, može dovesti do nishodne regulacije receptorskih mehanizama. Inhibicija stvaranja slobodnih kiseoničnih radikala, oslobađanja citokina i inhibicija drugih

pro-inflamatornih stimulus od strane postkondicioniranja može dovesti do umanjenja inflamatornog i oksidativnog odgovora koji može (ili ne) da uključi i interakciju između neutrofila i endotelnih ćelija. Dvostruki (stimulatorni i inhibitorni) efekti postkondicioniranja na aktivaciju određenih protein kinaza PI-3K/Akt, ERK 1 /2 i inhibicija p38 i JNK, koja može da dovede do inhibicije NF- $\kappa$ B translokacije u jedru, redukcija u oslobađanju pro-inflamatornih citokina (TNF $\alpha$ ) i atenuaciju apoptoze. Otvaranje K<sub>ATP</sub> kanala i zatvaranje mPTP postkondicioniranjem na kraju određuje sudbinu srca nakon ishemije i reperfuzije.

Potrebna su dalja istraživanja da bi se odredilo da li postkondicioniranje menja i druge aspekte post-ishemijskog oštećenja, kao što je kontraktilna disfunkcija u “nereaktivnom” miokardu. Pored toga, farmakološki agensi mogu biti primenjeni u cilju podražavanja ili pojačavanja efekata kardioprotekcije u strateški kombinovanom pristupu koji ima za cilj smanjenje postishemijskog oštećenja. Štaviše, nove vrste katetera, kao i uređaja za olakšano aplikovanje postkondicioniranja će biti razvijane u budućnosti. Na kraju, bilo konvencionalno ili farmakološko postkondicioniranje može se aplikovati direktno na druge organe, indirektno preko udaljenih organa (udaljeno postkondicioniranje) kao i u okviru drugih procedura kao što je transplantacija organa.

## 2. CILJ RADA

Glavni cilj našeg istraživanja je da pokaže da li je protekcija miokarda primenom etapne reperfuzije toplom krvnom kardioplegijom (krvna kardioplegija + hot shot postkondicioniranje) efikasnija u odnosu na do sada korišćeni vid kardioprotekcije (krvna kardioplegija + hot shot).

Uži ciljevi istraživanja uključuju sledeće:

1. Procena efekta postkondicioniranja u formi etapne kardioplegične reperfuzije na:
  - brzinu metaboličkog i funkcionalnog oporavka miokarda,
  - intenzitet ishemijsko-reperfuzionog oštećenja miokarda i
  - postoperativne kliničke i ehokardiografske rezultate.
2. Utvrđivanje uticaja etapne reperfuzije na transkardijalne razlike:
  - serumskih laktata,
  - Ph krvi,
  - koncentracije glukoze,
  - sadržaja (potrošnje) kiseonika i
  - sekvestraciju leukocita od strane miokarda u ranoj fazi reperfuzije

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. Populacija ispitanika

Istraživanje je dizajnirano po tipu prospektivne kohortne studije. Studija obuhvata 71-og pacijenta kod kojih je urađena korekcija urođene srčane mane uz primenu kardiopulmonalnog bajpasa (KPB) i srčanog aresta na Odeljenju kardiohirurgije Univerzitetske dečje klinike u periodu od 1. Januara 2015 do 30. Decembra 2015. godine. Kriterijumi za uključivanje u istraživanje bili su: uzrast do 18 godina i pisana saglasnost roditelja/staratelja za učešće u studiji. Kriterijumi za isključivanje iz studije bili su: hitne operacije unutar 24 sata po prijemu u bolnicu, uzrast na operaciji manji od mesec dana, pacijenti kod kojih je primenjivana duboka hipotermija sa cirkulatornim arestom, pacijenti sa fiziologijom jednokomorskog srca, kao i oni koji su imali prethodne kardiohirurške operacije.

Svi pacijenti su preoperativno bili bez respiratorne i inotropne potpore. Studija je odobrena od strane Etičkog komiteta Univerzitetske Dečje Klinike. Informisani pristanak je dobijen od roditelja svih ispitanika koji su ušli u studiju.

#### 3.2. Protokol ispitivanja

Ispitanici su prospektivno randomizirani u dve grupe. Pre započinjanja studije, koristeći program za blok randomizaciju (random allocation software; [www.sealedenvelope.com](http://www.sealedenvelope.com)) karte sa nazivima dve vrste reperfuzije (HS ili PostK) su raspodeljene u zatvorene, neprozirne i numerisane koverta (od 1 do 80, blokovi od deset ispitanika). U toku operacije, medicinski tehničar-perfuzer je po redosledu otvarao koverat i pripremao ostatak ekipe za aplikaciju tople krvne reperfuzije u zavisnosti od izvučene grupe. Jedna grupa ispitanika (kontrolna grupa) je pre uklanjanja aortne kleme dobila standardnu toplu (37°C) anterogradnu krvnu kardioplegičnu reperfuziju (*hot shot*), identičnog sastava kao i doze ponavljanja kardioplegije aplikovane u toku srčanog aresta, u trajanju od 3 minuta. Druga grupa ispitanika dobila je toplu krvnu kardioplegičnu reperfuziju identičnog sastava kao i kontrolna grupa, ali uz dodatnu primenu algoritma za postkondicioniranje (Grafikon 2). Algoritam za postkondicioniranje obuhvata tri ciklusa, ukupnog trajanja 6 minuta, a svaki ciklus se sastoji od jednog minuta reperfuzije i jednog minuta ishemije.

Randomizacija nije bila slepa za izvođače istraživanja zbog očiglednih razlika u načinu primene tople krvne reperfuzije između dve grupe ispitanika.

Krvna kardioplegija (*Buckberg* tip kardioplegije) dobija se mešanjem jednog dela kristaloidnog kardioplegičnog rastvora ( $\text{Na}^+$  164.4mmol/l;  $\text{K}^+$  104.mmol/l;  $\text{Ca}^+$  2.5mmol/l;

Cl<sup>-</sup> 255.6mmol/l; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 40mmol/l) i četiri dela oksigenirane autologusne krvi iz sistema za KPB (finalni K<sup>+</sup> ~20.8mmol/l). Doza ponavljanja kardioplegije sadrži dvostruko nižu koncentraciju kalijuma u odnosu na indukcionu dozu (K<sup>+</sup> ~ 10mmol/l). Set za kardioplegiju sastoji se iz creva (*tubing*) i izmenjivača toplote (MyothermXP Medtronic, Medtronic Inc.). Sistem za davanje kardioplegije na svom proksimalnom kraju ima dve linije sa silikonskim segmentima koji idu preko zasebnih roler pumpi i “Y” konekciju gde se odvija mešanje autologusne krvi i kristaloidne kardioplegije prema zadatom odnosu (4:1). Izbor seta linija za CPB, oksigenatora, kao i sistema za kardioplegiju, zavisio je od telesne površine (BSA) ispitanika i punog sistemskog protoka (F) izračunatog prema formuli (F=BSA×CI) za predviđeni srčani indeks (CI) od 3.0L/min/m<sup>2</sup>. Kardioplegija se aplikovala anterogradno u aortni koren preko pedijatrijskih aortnih kanila dijametra 4F ili 5F (Calmed, Minneapolis, MN) ili direktno u koronarne arterije korišćenjem specijalizovanih kanila za intrakoronarno davanje kardioplegije odgovarajućeg dijametra (2 ili 3mm). Tehnika aplikacije kardioplegije podrazumeva sledeće:

- temperaturu kardioplegičnog rastvora od 4-6°C,
- volumen indukciono doze od 30 ml/kg,
- vreme davanja indukciono doze od 4-5min,
- ponavljanje doza održavanja na 20 do 25min,
- volumen doze održavanja od 15ml/kg,
- vreme davanja doze održavanja od 2-3 minuta i
- maksimalno dozvoljeni pritisak u sistemu za kardioplegiju do 200mmHg i/ili aortnom korenu do 50mmHg.

Brzina davanja kardioplegije koriguje se u zavisnosti od vrednosti pritiska u sistemu za kardioplegiju koji se meri neposredno pre membrane toplotnog izmenjivača ili direktno u aornom korenu.

Topla krvna kardioplegična reperfuzija (*hot shot*) bila je identičnog sastava kao i doza ponavljanja kardioplegije, ali se aplikovala pri temperaturi od 37°C. *Hot shot* se aplikovao anterogradno u aortni koren, neposredno pre puštanja aortne kleme, u trajanju od 3minuta, koristeći postojeći set za davanje kardioplegije.

### **3.3. Anestezija i tehnika vođenja kardioplulmonalnog bajpas-a**

Za indukciju anestezije koristio se natrijum tiopental i sevofluran, a za mišićnu relaksaciju vecuronium. Intraoperativna analgezija kontrolisala se fentanyl-om, dok je anestezija



održavana sevofluran-om u inspiratornoj gasnoj smeši i u gasnoj smeši “*sweep gas*” sistema za KPB. Kontinuirano su se pratili: elektrokardiogram, invazivni arterijski i centralni venski pritisak, rektalna i nazofaringealna temperatura, inspiratorna frakcija O<sub>2</sub> i ekspiratorna koncentracija CO<sub>2</sub>, transkutana pulsna oksimetrija. Cerebralna oksigenacija korišćenjem NIRS-a (*near-infrared spectroscopy*) primenjivana je ukoliko su postojale indikacije kao što su neonatalna hirurgija i cirkulatorni arest u dubokoj hipotermiji

Za ispunjavanje “*priming*” linija za CPB i oksigenatora koristi se Ringer-ov rastvor, uz dodatak humanog 20% albumina (50ml), 20% manitola (max 2.5ml/kg), metil-prednisolona (30mg/kg) i 4000U/l heparina. Koncentrovani eritrociti se dodaju pre započinjanja KPB-a do ciljanog hematokrita od 35%. Finalna korekcija hematokrita, kao i elektrolitnog i acido-baznog sastava “*priming*”-a se radi korišćenjem konvencionalne untrafiltracije, kao i dodavanjem 8,4% natrijum bikarbonat i injekcione vode po potrebi. Pre započinjanja KPB-a aplikuje se bolus heparina (400 U/kg<sup>-1</sup>), uz kontrolu ACT-a, sa minimalnom prihvatljivom vrednošću od 480s. KPB se vodi korišćenjem nepulsatilnog protoka, sa minimalnim protokom od 2.5L/min/m<sup>2</sup> u normotermiji. U toku vođenja KPB primenjuje se alfa-stat režim korekcije pH krvi i sprovodi se konvencionalna ultrafiltracija. KPB se prekida nakon dostizanja rektalne temperature od 36°C i korigovanja elektrolitnih poremećaja, uz inotropnu potporu prema potrebi. Nakon prekidanja KPB, kod ispitanika telesne mase ispod 10kg, rutinski se radi modifikovana ultrafiltracija, do postizanja ciljanog hematokrita od 40-45%.

### **3.4. Postoperativni tretman**

Nakon završetka kardiohirurške procedure ispitanici su prevodjeni u Jedinicu intenzivnog lečenja (JIL). Postoperativni monitoring u JIL podrazumeva kontinuirano praćenje: elektrokardiograma, sistemskog arterijskog pritiska, transkutane pulsne oksimetrije, centralnog venskog pritiska, kao i periferne i centralne temperature. Odluka o vrsti i intenzitetu inotropne potpore donosila na osnovu hemodinamskog statusu pacijenta (arterijski pritisak, pritisci punjenja komora, nivo laktata u arterijskoj krvi) i procenjene disfunkcije miokarda ehokardiografskim pregledom.

### **3.5. Ispitivane varijable**

#### **1) *Preoperativne karakteristike ispitanika:***

- a) Demografske i ostale karakteristike: pol, uzrast, tip urođene srčane mane, telesna visina i masa, telesna površina, prematuritet, prisustvo genetskih sindroma i udruženih nekardijalnih anomalija.

**2) *Intraoperativne varijable:***

- a) Tip hirurške korekcije
- b) Dužina trajanja ishemije (aortne klemme), vreme trajanja KPB, minimalna zadata temperatura, broj doza ponavljanja kardioplegije, pojava električne aktivnosti između doza ponavljanja kardioplegije, filtrirani volumen dobijen konvencionalnom i modifikovanom ultrafiltracijom (UF), ukupni bilans tečnosti nakon završetka KPB i modifikovane UF.
- c) Transkardijalna arterio-venska razlika: nivoa laktata, sadržaja kiseonika, koncentracije glukoze, pH vrednosti krvi i ukupnog broja leukocita (miokardna sekvestracija leukocita). Uzorci krvi za utvrđivanje transkardijalne arterijsko-venske razlike uzimani su simultano iz aornog korena i koronarnog sinusa 5., 10. i 20. minuta nakon uklanjanja aortne klemme.
- d) Parametri uspešnosti brzine reanimacije miokarda:
- vreme od završetka ishemije do pojave prve srčane kontrakcije,
  - potreba za kardioverzijom i broj primenjenih kardioverzija,
  - vreme do uspostavljanja sinusnog ritma (spontano ili nakon kardioverzije),
  - ukupno trajanje reperfuzije (vreme od uklanjanja aortne klemme do prekidanja KPB),
  - poremećaji ritma (AVB blok, JET), pre i nakon prekidanja KPB-a,
  - potreba za antiaritmicima i privremenim *pace-maker*-om, pre i nakon prekidanja KPB-a
  - jačina inotropne potpore (inotropni skor), srčani indeks (CI), vrednost arterijskog pritiska (sistolni, dijastolni, srednji), pritisak punjenja desne komore (centralni venski pritisak).
- Navedene hemodinamske varijable su beležene neposredno nakon prekidanja KPB-a, a potom nakon 30 minuta.

**3) *Postoperativne varijable***

- a) Klinički parametri:

- maksimalna jačina inotropne potpore u prvih 24 sata nakon operacije i ukupna dužina trajanja inotropne potpore. Jačina inotropne potpore je procenjivana inotropnim skorom,
- trajanje mehaničke ventilatorne potpore,
- dužina boravka u Jedinici intenzivnog lečenja,
- pojava postoperativnih komplikacija: akutna bubrežna insuficijencija (primena peritonealne dijalize), respiratorna insuficijencija (ponovna intubacija), značajno krvarenje

koje zahteva operativnu reviziju, srčani zastoj, aritmije koje zahtevaju privremeni *pace-maker* ili antiaritmijsku terapiju, rane reoperacije i rani mortalitet (unutar 30 dana od operacije),

- ukupni gubici krvi u prvih 24 sata nakon operacije,
- ukupna količina nadoknađene krvi transfuzijom koncentrovanih eritrocita u prvih 24 sata nakon operacije,

b) Parametri funkcionalnog oporavka miokarda

- Nivo laktata u arterijskoj krvi (preoperativno, 1., 4., 12., 24. sata po završetku ishemije)
- Vrednosti srčanog indeksa (preoperativno, 1., 4., 12., 24. sata po završetku ishemije).

c) Ehokardiografski parametri

- Frakciono skraćanje (FS)
- Vizuelna procena funkcije leve komore (*eng. eyebolling*)
- Anularni pokreti mitralne valvule tokom sistole (*eng. Mitral annular plane systolic excursion- MAPSE*)
- Stepen trikuspidne i/ili mitralne regurgitacije

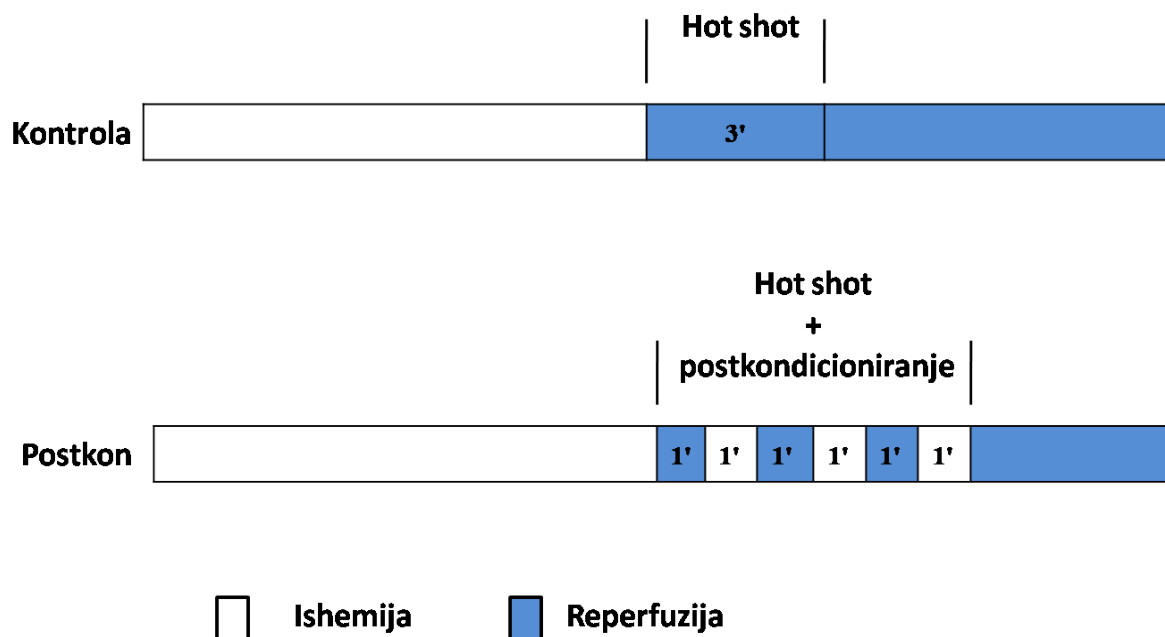
Ehokardiografski parametri određivani su preoperativno (bazične vrednosti), unutar sat vremena po prelasku pacijenta u JIL kao i prvog postoperativnog dana u jutarnjim časovima.

Postoperativna transtorakalna ehokardiografija je rađena primenom Acuson Cypress sonografskog sistema (Acuson Corp, Mountain View, CA), od strane istog kardiografiste, unutar sat vremena po prijemu u JIL i prvog postoperativnog dana.

d) Parametri ishemijsko-reperfuzionog oštećenja miokarda

- Koncentracija serumskog kardiospecifičnog Troponina T je određivana nakon uvoda u anesteziju (bazična vrednost), a zatim 1., 4., 12. i 24. sata nakon završetka ishemije.

### 3.6. Algoritam za postkondicioniranje (etapna reperfuzija)



Grafikon 2. Algoritam za postkondicioniranje

### 3.7 Protokol za uzimanje uzoraka krvi

Uzorci krvi za utvrđivanje transkardijalne arterijsko-venske razlike se uzimaju simultano iz aornog korena i koronarnog sinusa. Za uzimanje uzoraka krvi iz koronarnog sinusa koristi se poliuretanski kateter plasiran intraoperativno, 1-2cm u koronarni sinus pod kontrolom oka, a koji se uklanja pre zatvaranja grudnog koša. Za uzimanje uzoraka krvi iz aornog korena koristi se *in situ* kanila za kardioplegiju. Vrednosti laktata, glukoze, hemoglobina, pH, SatO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> se određuju iz istog uzorka arterijske krvi odmah po uzimanju uzorka, korišćenjem gasnog analizatora (GEM Premier 3000, Instrumentation Laboratory, MA). Za uzimanje uzoraka arterijske krvi koristi se *in situ* arterijska kanila.

Uzorci centralne venske krvi se se uzimali iz distalnog kraka dvolumenskog centralnog venskog katetera. Manji deo (0.2ml) se odvaja za određivanje centralne venske saturacije kiseonikom (ScvO<sub>2</sub>) korišćenjem gasnog analizatora, a ostatak centrifugira, a serum skladišti na temperaturi od -70°C. Koncentracije Troponina T se određuje iz odmrznutih seruma korišćenjem „Roche, high-sensitive Troponin T immunoassay” testa.

Uzimanje uzoraka krvi ne zahtava dodatne invazivne procedure. Dvolumenski centralni venski kateter, arterijska linija i kanila za kardioplegiju su nezaobilazni deo svake operacije na otvorenom srcu.

Uzorci krvi za određivanje gasnih analiza su zapremine oko 0.2ml (ukupno 22 uzorka). Uzorci krvi za određivanje kardiospecifičnih enzima su zapremine oko 2-3 ml (ukupno 5 uzoraka). Od ukupnog broja uzoraka najmanje polovina se inače rutinski uzima kod svih pacijenata bez obzira na učestvovanje u studiji. Ukupna dodatna količina krvi potrebna za biohemijske analize koje su se radile isključivo u svhu izvođenja naše studije nisu prelazile 10ml.

**Tabela 4.** Vremenska šema za uzimanje uzoraka krvi

Tip uzorka	Pre ishemije	Minuti nakon uklanjanja aortne klemme			Sati nakon prekidanja KPB-a				
		5	10	20	0	1	4	12	24
Koronarni sinus		x	x	x					
Aortni koren		x	x	x					
Centralni venski kateter	x				x	x	x	x	x
Arterijski kateter	x				x	x	x	x	x

### 3.8. Instrumenti merenja

- a. Transkardijalna arterio-venska razlika u nivou laktata (Lac) se izražava stepenom miokardne ekstrakcije Lac, a izračunava po formuli:

$$\text{Ekstrakcija Lac (\%)} = (\text{Lac}_{\text{aorta}} - \text{Lac}_{\text{koronarni sinus}}) \times 100 / \text{Lac}_{\text{aorta}}$$

- b. Sadržaj O<sub>2</sub> se izračunava po formuli:

$$\text{O}_2 \text{ sadržaj} = (\text{Hgb} \times 1.34 \times \text{SatO}_2) + (0.0031 \times \text{pO}_2)$$

- c. Transkardijalna arterio-venska razlika ukupnog broja leukocita (WBC) se izražava kao stepen miokardne sekvestracije WBC, a izračunava po formuli:

$$\text{WBC sekvestracija (\%)} = (\text{WBC}_{\text{aorta}} - \text{WBC}_{\text{koronarni sinus}}) \times 100 / \text{WBC}_{\text{aorta}}$$

- d. Vazoaktivni inotropni skor (VIS) se računa (modifikovan Wernovsky skor):  

$$[(\text{dopamin} + \text{dobutamin}) \times 1] + (\text{milrinone} \times 10) + [(\text{adrenalin} + \text{noradrenalin}) \times 100]$$

- e. Vrednost srčanog indeksa (CI) se izračunava po simplifikovanoj Fick-ov formuli:

a. 
$$\text{CI (L/m}^2\text{)} = 100 / \text{Hgb} \times 1 / (\text{SaO}_2 - \text{ScvO}_2).$$

- b. ScvO<sub>2</sub> - saturacija kiseonikom centralne venske krvi; SaO<sub>2</sub> - saturacija kiseonikom arterijske krvi
- f. Frakciono skraćenje (FS) se određuje iz poprečnog parasternalnog preseka koristeći *M-mode*, a izračunava po formuli:
  - a.  $FS (\%) = (LVEDD-LVEDS)/LVEDD \times 100$
  - b. LVEDD-dimenzija leve komore na kraju dijastole; LVEDS-dimenzija leve komore na kraju sistole
- g. *Mitral annular plane systolic excursion – MAPSE* se meri iz uzdužnog apikalnog preseka 4 srčane šupljine
- h. Semikvantitativna vizuelna procena funkcije leve komore (*eng. eyeballing*) se radi iz poprečnog parasternalnog preseka, gradiranjem funkcije na skali od 1 do 5:
  - a. 5-normalna funkcija; 4-laka disfunkcija; 3-umerena disfunkcija; 2-značajna disfunkcija; 1-izrazito značajna disfunkcija
- i. Semikvantitativna procena stepena trikuspidne i/ili mitralne regurgitacije se određuje iz apikalnog uzdužnog preseka 4 srčane šupljine korišćenjem kolor Dopler-a, gradiranjem regurgitacije na skali od 1-4:
  - a. 1-neznačajna; 2-umerena; 3-značajna; 4-izrazito značajna

### 3.9. Statistička analiza

Statistička analiza prikupljenog materijala obuhvata metode deskriptivne statistike (procentualna zastupljenost, prosečne vrednosti, medijana, vrednosti standardne devijacije, intervali poverenja). Kontinuirane varijable su se komparirale koristeći Student-ov T-test ili Mann-Whitney-ev U-test u zavisnosti od raspodele podataka. Kategorički podaci su se poredili Pirson-ovim  $\chi^2$  ili Fisher-ovim testom. Efekat dve kardioprotektivne strategije na brojne zavisne varijable koje su se merile u različitim vremenskim tačkama (transkardijalna razlika: laktata, O<sub>2</sub>, pH, glukoze; stepen sekvestracije leukocita; postoperativne vrednosti: laktata, Troponin-a T; kvantitativni ehokardiografski parametri; itd...) procenjivao se dvo-faktorskom analizom varijanse za ponavljana merenja (*eng. two-way ANOVA*). U ovoj analizi dužina trajanja ishemijske bila je kontrolisana kao potencijalni konfaundirajući faktor (analiza kovarijanse - ANCOVA). Za post hoc testiranje se koristio *Bonferroni* metod. Za utvrđivanje povezanosti varijabli korišćena je parametarska korelaciona analiza. Veličina uzorka od 71 ispitanika obezbeđuje snagu testa veću od 90% za nivo značajnosti od 0.05, za detekciju

20% prosečne međugrupne razlike najznačajnijih primarnih parametara praćenja: Troponin-T<sup>206</sup>. Za sve analize P vrednost <0.05 je smatrana statistički značajnom. Analiza podataka je rađena korišćenjem SPSS paketa (version 16.0; SPSS, Chicago, Illinois).

## 4. REZULTATI

### 4.1. Demografski i operativni rezultati

Studijom je obuhvaćen 71 ispitanik od čega je 36 bilo muškog pola (51%) i 35 ženskog pola (49%). Pacijenti su podeljeni u dve grupe u odnosu na primenu etapne reperfuzije. Grupa **HS** obuhvatala je 34 pacijenta (48%), dok je grupa **PostK** obuhvatala 37 pacijenata (52%). Medijana uzrasta na operaciji iznosila je 15,2 (1,6-124) meseca, dok je medijana telesne mase bila 8,8 (3.3-30.0) kg. Dve grupe ispitanike nisu se međusobno razlikovale u odnosu na prosečan uzrast na operaciji, sa podjednakim brojem ispitanika mlađih od godinu dana u obe grupe. U odnosu na demografske i preoperativne karakteristike nije postojala statistički značajna razlika između dve grupe ispitanika (Tabela 5).

**Tabela 5: Demografske i preoperativne karakteristike ispitanika sa međugrupnim poređenjem**

<b>Analizirane varijable</b>	<b>HS grupa (n=34)</b>	<b>PostK grupa (n=37)</b>	<b>Ukupno (n=71)</b>	<b>p vrednost</b>
Pol, m/ž	18/16	18/19	36/35	0.72 $\chi^2$
Down sindrom, n(%)	2(3)	3(4)	5(7)	1 F
Uzrast (meseci), mediana(opseg)	16,46(3,2-110,9)	13,9(1,6-124)	15,2(1,6-124)	0,546MW
Uzrast $\leq$ 1 godina, n(%)	12(35)	14(38)	26(37)	1.00 $\chi^2$
Telesna masa (kg),mediana (opseg)	8,8(4,1-29,6)	9,7(3,3-30)	8,8 (3,3-30,0)	0,48MW
Telesna površina (m <sup>2</sup> ), mediana (opseg)	0.42 (0.25-1.91)	0.43 (0.2-1.1)	0,43 (0,2-1,1)	0,454MW
Hgb preop (g/l), arit.sr. $\pm$ s.d.	10,4 $\pm$ 1,24	10,35 $\pm$ 1,31	10,4 $\pm$ 1,27	0.75T
Hct preop ishemijske(%), arit.sr. $\pm$ s.d.	33,7 $\pm$ 4,0	33,4 $\pm$ 4,2	33,5 $\pm$ 4,1	0.74T

*Hgb: Hemoglobin; Hct: Hematokrit; FS: Frakciono skraćenje;  
MW: Mann-Whitney U test;  $\chi^2$ : Pirsinov Chi-kvadrat Test; F: Fišer test; T: Student t-test  
HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje*

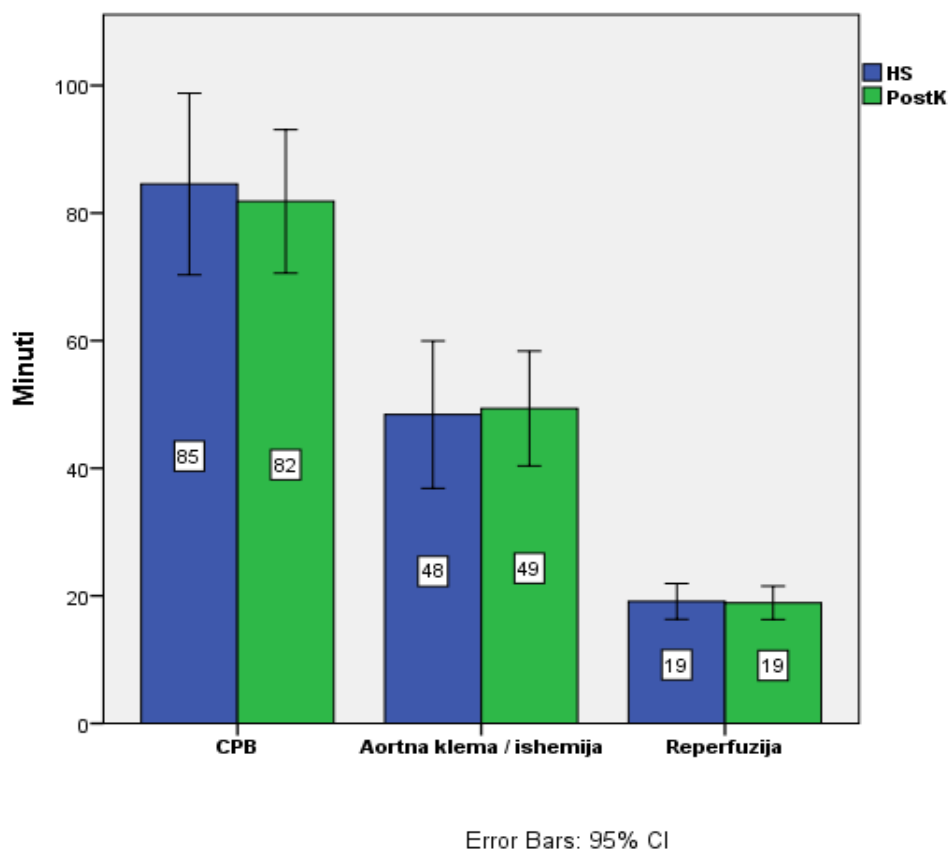


Različiti tipovi urođenih srčanih mana bili su podjednako distribuirani između dve grupe ispitanika. Najveći broj pacijenata (60/71, 84%) bio je podvrgnut korekciji urođene srčane mane sa levo-desnim šantom. Jedan pacijent sa ventrikularnim septalnim defektom imao je i parcijalni anomalni utok levih plućnih vena što je korigovano u istom aktu (Tabela 6).

<b>Tabela 6. Distribucija srčanih mana po grupama i načini korekcije</b>						
<b>Tip mane</b>	<b>Tip korekcije</b>	<b>HS n=34</b>	<b>PostK n=37</b>	<b>Ukupno n=71</b>	<b>Uzrast, meseci medijana (opseg)</b>	<b>Trajanje ishemije, min., medijana(opseg)</b>
<b>ASD</b>	Zatvaranje direktnom suturom ili pačem	12	11	23	29.5(8.1-124)	17(12-39)
<b>TOF</b>	Kompletna korekcija	5	6	11	13.6(8.3-28.9)	75(48-94)
<b>VSD</b>	Zatvaranje pačem	13	13	26	7.2(1.6-48.6)	46(34-82)
<b>AVSD</b>	Kompletna korekcija (tehnika sa dva ili jednim pačem)	3	6	9	30.5(5.9-68.1)	79(44-154)
<b>TAUPV</b>	Korekcija anomalnog utoka	0	1	1	4.5	56
<b>AP prozor</b>	Korekcija sendvič tehnikom	1	0	1	22	60

*ASD:atrijalni septalni defekt;TOF:Tetralogija Fallot; VSD:ventrikularni septalni defekt; AVSD: atrio-ventrikularni septalni defekt;TAUPC:totalni anomalni utok plućnih vena;APP:aorto-pulmonalni prozor HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje*

Dve grupe ispitanika su imale gotovo identično prosečno trajanje kardio-pulmonarnog bajpasa, aortne klemne (ishemije) i prosečno vreme reperfuzije (Grafikon 3).



**Grafikon 3.** Prosečno vreme trajanja kardiopulmonalnog bajpasa (CPB), ishemije i reperfuzije u HS i PostK grupi. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina (95% intervalom poverenja).

Gotovo isti broj ponavljanja kardioplegičnih doza održavanja zabeležen je kod obe grupe ispitanika, što odgovara prosečno sličnom vremenu ishemije registrovane u obe grupe pacijenata. Samo su četiri pacijenta imala pojavu električne aktivnosti između dve doze kardioplegije. Kod dva ispitanika rađena je električna konverzija ritma zbog pojave ventrikularne fibrilacije u fazi reperfuzije. Kod svih pacijenata rutinski je sprovedena konvencijalna ultrafiltracija. Prosečan volumen filtrata, dobijen konvencijalnom ultrafiltracijom nije se značajno razlikovao između dve grupe (ukupna medijana filtriranog volumena 47ml/kg). Modifikovana ultrafiltracija urađena je kod 58% ispitanika, sa gotovo identičnim volumenom filtrata po kilogramu telesne mase u dve grupe ispitanike. Ukupni bilans tečnosti na kraju kardiopulmonalnog bajpasa je bio neutralan u obe grupe ispitanika (Tabela 7).

**Tabela 7: Intraoperativne varijable i poredenje između grupa**

Analizirane varijable	HS (n=34)	PostK (n=37)	Ukupno (n=71)	P vrednost
Ishemija (min), arit.sr.±sd	48.4±33.1	49.4±27.0	48.9±29.8	0.89T
Minimalna T, mediana (opseg)	34,7 (32-37)	35,9 (32-37)	36 (32-37)	0.81T
CPB (min), arit.sr.±sd	84.5+40.8	81.8+33,7	83.1±37.1	0.76T
Reperfuzija (min), arit.sr.±sd	19,1±8.0	18.9±7.9	19.0±7.9	0.91T
Ishemija ≥ 40 min, n(%)	19 (56%)	22 (59%)	41 (58%)	0.76 $\chi^2$
Doza ponavljanja I, n(%)	25 (74)	20 (54)	45 (63)	0.08 $\chi^2$
Doza ponavljanja II, n(%)	7(21)	15(41)	22(31)	0.07 $\chi^2$
Doza ponavljanja III, n(%)	3(8)	1(3)	4(6)	0.34F
Električna aktivnost između doza kardioplegije, n(%)	2(6)	2 (6)	4 (6)	1.00F
VF-DC	0	2	2	0,49F
ST promene >1mm	1	3	4	0.62F
CUF (ml/kg), mediana (opseg)	46 (20-126)	50 (17-115)	47 (17-126)	0.49MW
MUF, n(%)	18 (53)	23 (62)	41 (58)	0.89 $\chi^2$
MUF (ml/kg), mediana (opseg)	35 (18-51)	33 (15-51)	35 (15-51)	0.70MW
Bilans tečnosti na kraju CBP, mediana (opseg)	-1,1((-19)-46)	1,6((-35)-15)	0,5((-35)-46)	0.62MW

*T: Temperatura; CPB: kardiopulmonalni bajpas; CUF: konvencionalna ultrafiltracija; VF-DC: ventrikularna fibrilacija-kardiokonverzija; MUF: modifikovana ultrafiltracija; MW: Mann-Whitney U test;  $\chi^2$ : Pirsonov Chi-kvadrat Test; F: Fišer test; T: Student t-test*

## 4.2. Postoperativni klinički rezultati

### 4.2.1 Rani mortalitet

Kod dva ispitanika došlo je do smrtnog ishoda, ukupni rani mortalitet iznosio je (2.8%). Jedan pacijent bio je iz PostK grupe, a jedan pacijent iz HS grupe. Pacijent iz PostK grupe je odojče sa ventrikularnim septalnim defektom i parcijalnim anomalnim utokom levih plućnih vena suprakardijalnog tipa (leve plućne vene se dreniraju preko vertikalne vene u venu inominatu). Preoperativno je odojče bilo hospitalizovano u jedinici intenzivne nege, zbog dijagnostikovane sepse sa pozitivnim hemokulturama. Tokom boravka u jedinici intenzivne

nege pacijent je bio na mehaničkoj ventilaciji zbog obostranih rekurentnih atelektaza. U 45-om danu života učinjena je kompletna korekcija urođene srčane mane, tj. zatvaranje ventrikularnog septalnog defekta i latero-lateralna anastomoza između levih plućnih vena (vertikalne vene) i aurikule levog atrijuma. Nakon incijalno zadovoljavajućeg postoperativnog oporavka sedmog postoperativnog dana došlo je do pogoršanja respiratornog statusa sa posledičnom reintubacijom i prolongiranom ventilatornom potporom. Postoperativni tok bio je komplikovan izraženim kapilarnim "leak" sindromom i znacima sistemske inflamacije uz povišene parametre infekcije. Smrt je nastupila 20. postoperativnog dana pod slikom maligne plućne hipertenzije i sepe.

Drugi pacijent kod koga je nastupio smrtni ishod bio je iz HS grupe sa preoperativno dijagnostikovanom hipopituitarizmom. Kod ovog pacijenta učinjeno je zatvranje atrijalnog septalnog defekta u uzrastu od 12 meseci. Smrtni ishod je nastupio 27. postoperativnog dana u opštoj pedijatrijskog intenzivnoj nezi kao posledica izraženih metaboličkih poremećaja i maligne hiponatremije uprkos substitucionoj hormonskoj terapiji.

#### **4.2.2 Rani morbiditet**

Tip reperfuzije nije uticao na rani morbiditet. Od pet pacijenata koji su ponovo intubirani, dvoje je imalo prolongiranu respiratornu potporu više od 48 sati. Kod pet pacijenata aplikovan je privremeni pejsmejker zbog bradiaritmije, a kod dvoje je primenjena terapija amjodaronom usled tahiaritmije. Ni kod jednog pacijenta nije detektovan AV blok koji bi zahtevao ugradnju trajnog pejsmekera. Takođe, ni kod jednog pacijenta nije učinjena eksploracija grudnog koša zbog post-operativnog krvarenja. Rezidualni ventrikularni septalni defekt veći od 2mm registrovan je kod 4 pacijenta, ali je samo jedan podvrgnut reoperaciji. Pacijent podvrgnut reoperaciji imao je pored značajnog rezidualnog VSD-a i signifikantnu trikuspidnu regurgitaciju (Tabela 8).

**Tabela 8: Rani mortalitet i morbiditet i poređenje između grupa**

Analizirane varijable	HS (n=34)	PostK (n=37)	Ukupno (n=71)	P vrednost
<b>Rani mortalitet, n(%)</b>	1(2.9)	1(2.7)	2(2.8)	1.00F
Reintubacija, n(%)	4(11.7)	1(2.7)	5(7.0)	0.19F
Prolongirana resp. potpora $\geq 48$ sati, n(%)	2(5.9)	2(5.4)	4(5.6)	1.00F
<b>Poremećaji ritma, n(%)</b>	6(17.1)	9(24.3)	15(21)	0.69 $\chi^2$
AV disocijacija/privremeni PM, n(%)	4(11.7)	7(18.9)	11(15.4)	0.51F
Tahiaritmije / JET, n(%)	2(5.9)	2(5.4)	4(5.6)	1.00F
Peritonealna dijaliza, n(%)	0	0		1.00F
Značajan rezidualni VSD > 2mm, n(%)	2(5.9)	2(5.4)	4(5.6)	1.00F
Mitralna regurgitacija $\geq +1.5/4$ , n(%)	2(5.9)	1(2.7)	3(4.2)	0.60F
Trikuspidna regurgitacija $\geq +1.5/4$ , n(%)	2(5.9)	1(2.7)	3(4.2)	0.60F
Značajno krvarenje, n(%)	1(2.9)	3(8.1)	4(5.6)	0.61F
Krvarenje ml/kg/24h	9(1-66)	11(2-60)	10(1-66)	0.30MW
Transfuzija krvi ml/kg/24h	0(0-22)	0(0-36)	0(0-36)	0.21MW
Reoperacije, n(%)	0	1(2.7)	1(1.4)	0.52F

AV: atrioventrikularni; PM: "pace maker"; L-D: levo-desni F: Fišer test; MW: Mann-Whitney U test

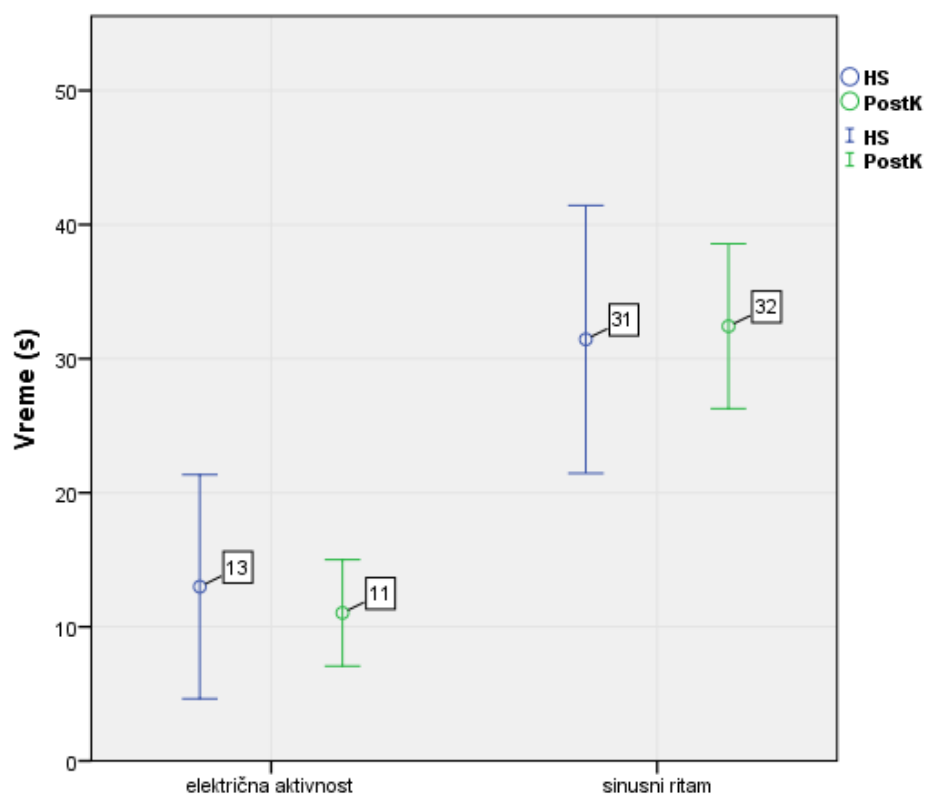
#### 4.2.3 Električna aktivnost

Razlika između ispitivanih grupa u odnosu na pojavu prve električne aktivnosti (T test,  $p=0.65$ ) i uspostavljanja sinusnog ritma (T test,  $p=0.86$ ) nije bila statistički značajna (Grafikon 4). Iz statističke analize isključeni su pacijenti koji su imali AV disocijaciju kao i pacijenti koji su zahtevali postoperativni privremeni pajsing (HS,  $n=4$ ; PostK,  $n=7$ ) (Tabela 9)

**Tabela 9.** Prosečno vreme od prve električne aktivnosti i uspostavljanja sinusnog ritma

	n	Grupa	Arit. sr.±sd
<b>Sinusni ritam (s)</b>	<b>30</b>	<b>HS</b>	31,44±25,24
	<b>30</b>	<b>PostK</b>	32,42±16,78
<b>Prva električna aktivnost (s)</b>	<b>30</b>	<b>HS</b>	13,00±21,11
	<b>30</b>	<b>PostK</b>	11,04±10,80

HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje; sd-standardna devijacija; s-sekunde; n-broj ispitanika



Error Bars: 95% CI

**Grafikon 4.** Efekat postkondicioniranja na pojavu električne aktivnosti i sinusnog ritma nakon uklanjanja aortne kleme. Podaci su predstavljani kao aritmetička sredina (95% interval poverenja).

#### 4.2.4. Rani klinički rezultati

Pacijenti iz grupe sa postkondicioniranjem imali su veći prosečni inotropni skor unutar prva 24 postoperativna sata, ali bez postojanja statistički značajne razlike ( $p=0,53$ ; T test). Nije zabeležena razlika između dve grupe ispitanika u dužini trajanja mehaničke ventilacije i boravka u Jedinici intenzivnog lečenja (Tabela 6). Dužina trajanja mehaničke ventilacije (MV) i vreme boravka u JIL snažno pozitivno korelira sa dužinom trajanja ishemije, (MV: $\rho=0.582$ ,  $p<0.001$ ; JIN: $\rho=0.697$ ,  $p<0.001$ ).

**Tabela 10: Rani klinički rezultati i poređenje između grupa**

Analizirane varijable	HS (n=34)	PostK (n=37)	Ukupno (n=71)	P vrednost
<i>Inotropna potpora</i>				
Bez potpore, n(%)	13(38.2)	13(35.1)	26 (36.6)	0.79 $\chi^2$
Minimalna, n(%)	19(55.9)	22(59.4)	41(57.7)	0.81 $\chi^2$
Značajna potpora, n(%)	2(5.9)	2(5.4)	4 (5.6)	1.00F
Inotropni skor, mean (95%CI)	4.1 (2.8-5.3)	4.6(3.4-5.8)	4.4(3.1-5.6)	0.53T
Trajanje MV (sati), mediana (opseg)	5.5 (2-655)	5(1-464)	5(1-655)	0.58MW
Vreme boravka u JIL (dani), mediana (opseg)	36(24-712)	38(1-464)	38 (24-712)	0.94MW

*MV: mehanička ventilacija; JIL: Jedinica intenzivnog lečenja; MW: Mann-Whitney U test;  $\chi^2$ : Pirsinov Chi-kvadrat Test; F: Fišer test*

### 4.3 Hemodinamski parametri i parametri funkcionalnog oporavka miokarda

#### 4.3.1. Srednji arterijski pritisak

Srednji arterijski pritisak pokazuje porast u odnosu na vreme od uklanjanja aortne kleme u obe grupe ispitanika. Srednje vrednosti izmerenog arterijskog pritiska u svim tačkama merenja predstavljene su u Tabeli 11.

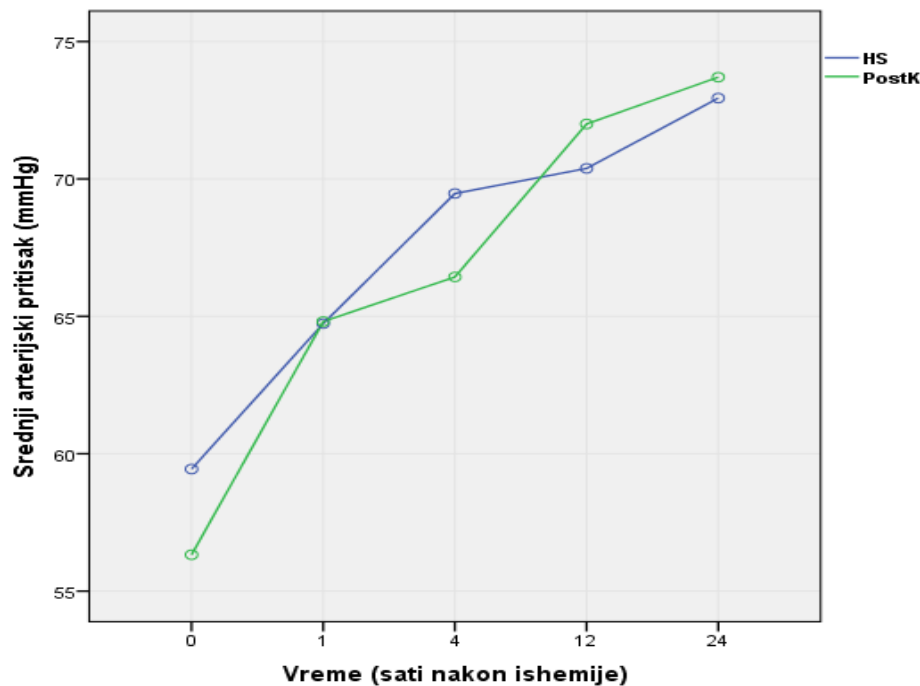
**Tabela 11.** Vrednosti srednjeg arterijskog pritiska

	0h	1h	4h	12h	24h
HS grupa (arit.sr. $\pm$ sd)	59,4 $\pm$ 9,7	64,7 $\pm$ 10,3	69,5 $\pm$ 8,4	70,4 $\pm$ 10,2	72,9 $\pm$ 11,4
PostK grupa (arit.sr. $\pm$ sd)	56,3 $\pm$ 10,1	64,8 $\pm$ 13,0	66,4 $\pm$ 11,5	72,0 $\pm$ 12,4	73,7 $\pm$ 12,1

*HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje; SD-standardna devijacija; MAP-srednji arterijski pritisak*

Primenjena dvo-faktorska ANOVA ponavljanih merenja pokazuje statističku značajnost uticaja vremena na porast srednjeg arterijskog pritiska u obe ispitivane grupe ( $F=35,97$ ;  $p < 0,001$ ).

Međutim, primenjena statistička metoda nije detektovala statistički značajnu razliku u vrednostima izmerenog srednjeg arterijskog pritiska poredeći obe grupe ( $F=1,19$ ;  $p=0,32$ ) tako da efekat postkondicioniranja na promenu srednjeg arterijskog pritiska nije pokazan (Grafikon 5).



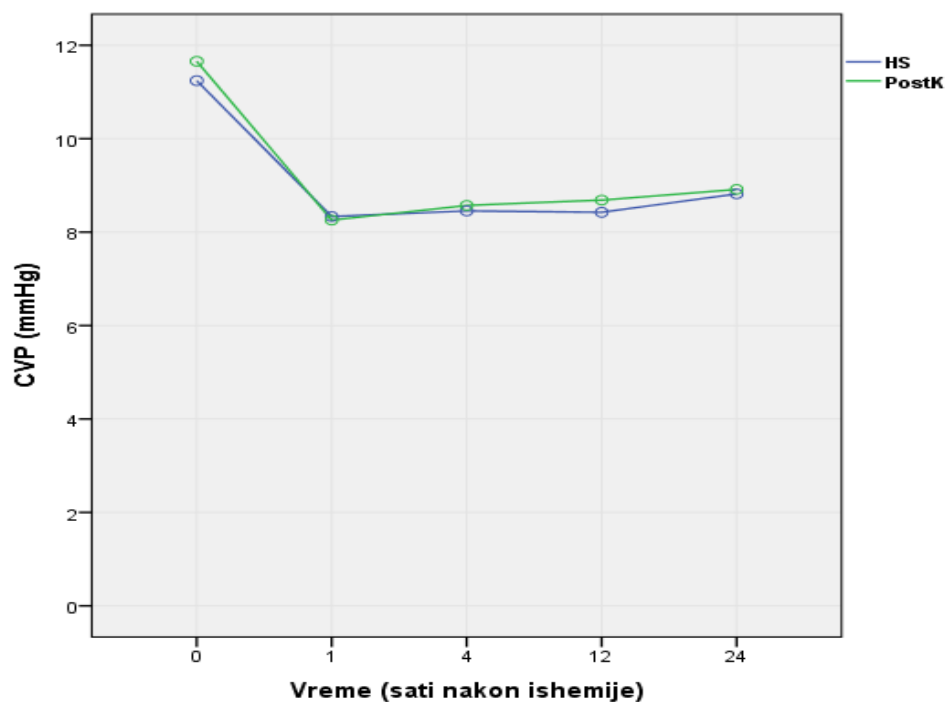
**Grafikon 5.** Uticaj postkondicioniranja na izmerene vrednosti srednjeg arterijskog pritiska u HS i PostK grupi. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina i određivane 0, 1, 4, 12 i 24 časa nakon prekidanja KPB.

#### 4.3.2. Centralni venski pritisak (CVP)

Centralni venski pritisak (mmHg) bio je visok u obe grupe neposredno nakon prekidanja kardiopulmonalnog bajpas-a i iznosio je  $11,24 \pm 3,1$  mmHg u HS i  $11,66 \pm 2,9$  mmHg u PK grupi. Nakon toga dolazi do naglog pada vrednosti CVP-a u prvom satu nakon operacije na  $8,33 \pm 2,51$  u HS grupi i na  $8,26 \pm 2,63$  u PK grupi. U daljem vremenskom periodu (od 1 do 24 sata) vrednosti CVP-a nisu se značajno menjale (Grafikon 6).

Nakon primene dvo-faktorske ANOVA-e ponavljanih merenja detektovana je statistički značajna promena vrednosti CVP-a u ranom postoperativnom periodu (24 sata) u obe grupe ( $F=26,65$ ;  $p < 0,001$ ). Primenom iste statističke metode u cilju procene međugrupnog varijabiliteta, statistička značajnost nije detektovana ( $F=0,13$ ;  $p=0,94$ ).





**Grafikon 6.** Uticaj postkondicioniranja na izmerene vrednosti CVP-a u HS i PostK grupi. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina a određivane su neposredno nakon i 1,4,12 i 24 sata od prekidanja KPB.

#### 4.3.3. Inotropni skor

Vrednosti inotropnog skora više su u PostK grupi nego u HS grupi tokom celog ispitivanog perioda (Grafikon 7). Primena dvo-faktorske ANOVA-e pokazala je da ta razlika nije statistički značajna ( $F=0,83$ ;  $p=0,43$ ).

Prosečne vrednosti inotropnog skora prikazane su u Tabeli 12.

**Tabela 12.** Prosečne vrednosti inotropnog skora

	0h	1h	4h	12h	24h
HS (arit.sr.±sd)	4,28±3,67	4,28±3,67	4,28±3,67	4,07±3,54	3,60±3,43
PostK (arit.sr.±sd)	4,59±3,87	4,75±3,80	4,75±3,80	4,82±3,69	4,27±3,24

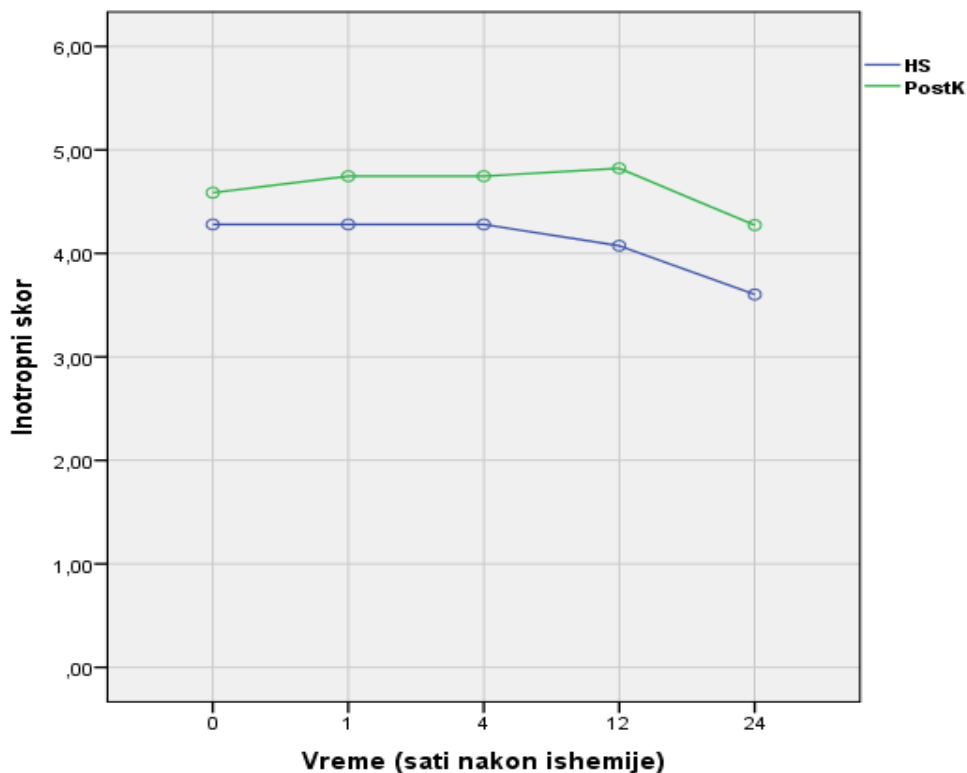
*HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje;sd-standardna devijacija*

U cilju određivanja statističke značajnosti razlike prosečnih vrednosti inotropnog skora između dve ispitivane grupe u svim tačkama merenja (0,1,4,12 i 24 sata nakon uklanjanja aortne kleme) primenjen je Studentov t test. Statistički značajna razlika u vrednostima inotropnog skora između dve grupe nije detektovana ni u jednoj tački merenja (Tabela 13).

**Tabela 13.** Vrednosti Studentovog t testa za procenu statistički značajne razlike između HS i PostK grupe

	0h	1h	4h	12h	24h
t vrednost	0,13	0,19	0,19	0,30	0,11
p vrednost	0,73	0,60	0,60	0,39	0,40

Sa druge strane uticaj faktora vremena pokazao je visoku statističku značajnost promene inotropnog skora u obe grupe ( $F=6,31$ ;  $p<0,001$ ; ANOVA ponavljanih merenja) (Grafikon 7).



**Grafikon 7.** Uticaj postkondicioniranja na vrednosti inotropnog skora u HS i PostK grupi. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina a određivane su neposredno nakon, kao i 1, 4, 12 i 24 sata od prekidanja KPB.

#### 4.3.4. Srčani indeks

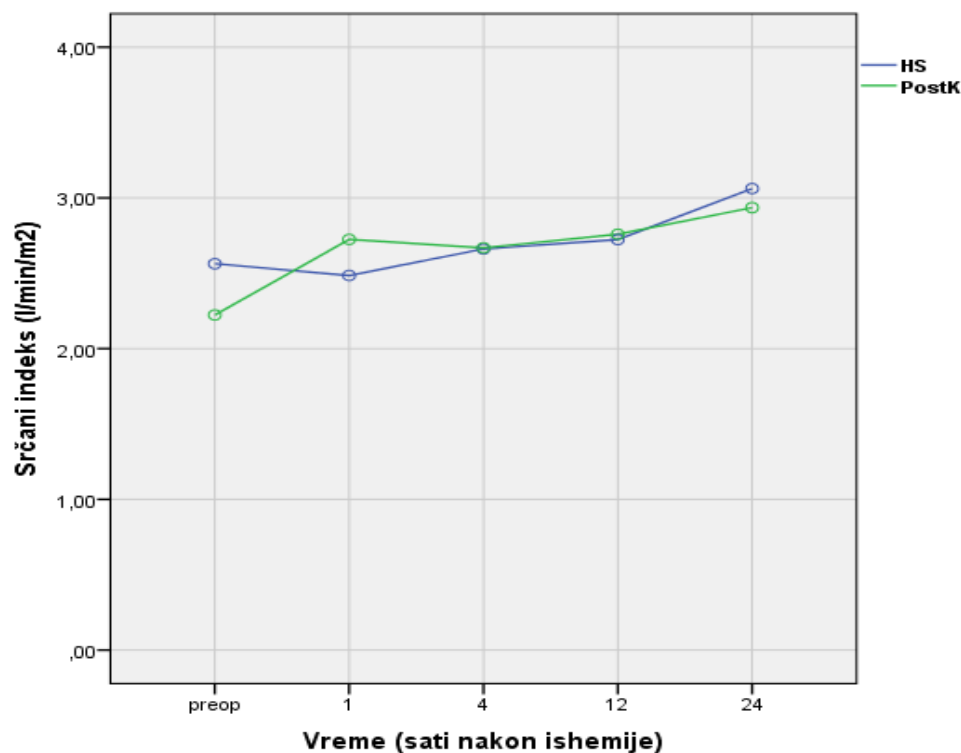
Srčani indeks predstavlja količnik "cardiac output-a (CO)" i telesne površine. Prosečne vrednosti srčanog indeksa u svih pet tačaka merenja prikazane su u Tabeli 14.

**Tabela 14.** Vrednosti srčanog indeksa ("Cardiac indeks-CI")

	0h	1h	4h	12h	24h
HS (arit.sr.±sd)	2,56±2,79	2,49±0,78	2,66±0,73	2,72±0,53	3,06±1,48
PostK (arit.sr.±sd)	2,22±3,47	2,72±0,96	2,67±0,90	2,76±0,95	2,94±1,35

HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje;sd-standardna devijacija;

Srčani indeks (CI) ne pokazuje značajne varijacije u periodu posle nastanka ishemije. Primena dvo-faktorske ANOVA-e ponavljanih merenja pokazuje da efekat vremena na promenu vrednosti CI statistički nije značajan ( $F=1,28$ ;  $p=0,28$ ). Takođe vrednosti CI u obe grupe približne su tokom celog perioda, tako da pomenuta analitička metoda nije pokazala statistički značajan uticaj postkondicioniranja na vrednosti srčanog indeksa ( $F=0,30$ ;  $p=0,68$ ; ANOVA ponavljanih merenja) (Grafikon 8).

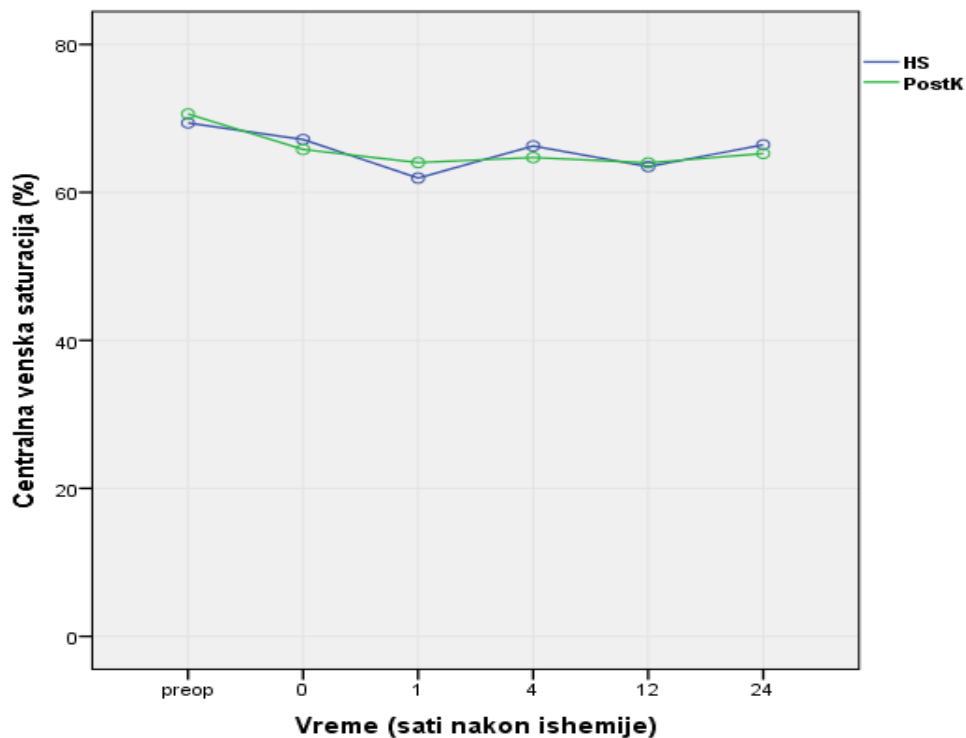


**Grafikon 8.** Uticaj postkondicioniranja na vrednosti srčanog indeksa u HS i PostK grupi. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina, a određivane su nakon uvođenja u anesteziju (bazična vrednost), kao i 1, 4, 12 i 24 sata nakon ishemije.

#### 4.3.5. Centralna venska saturacija

Uticao postkondicioniranja na saturaciju mešane venske krvi ( $ScvO_2$ ) prikazan je na Grafikonu 9. Efekat vremena nakon ishemije na  $ScvO_2$  statistički je značajan ( $F=4,21$ ;  $p=0,002$ ; ANOVA ponavljanih merenja). U obe grupe dolazi do pada saturacije mešane venske krvi sa najnižom izmerenom vrednošću nakon 1 sata od prekidanja KPB na vrednosti od  $61\pm 11$  u HS grupi i  $64\pm 11$  u PostK grupi.

Primena postkondicioniranja nije statistički značajno uticala na promene saturacije mešane venske krvi. Primenom dvo-faktorske ANOVA-e ponavljanih merenja nije detektovana međugrupna razlika ( $F=0,41$ ;  $p=0,81$ ) (Grafikon 9).



**Grafikon 9.** Uticaj postkondicioniranja na promene saturacije mešane venske krvi ( $SvO_2$ ) u odnosu na vreme nakon ishemije. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina a određivane su preoperativno, neposredno nakon prekidanja KPB (0), kao i 1,4,12 i 24 sata nakon prekidanja KPB.

Rezultati Pearson-ove parametarske korelacije pokazuju visoko statistički značajnu povezanost između vrednosti srčanog indeksa (CI) i centralne venske saturacije ( $ScvO_2$ ) u svakoj tački merenja. Veće vrednosti srčanog indeksa odgovaraju većim vrednostima  $ScvO_2$  (Tabela 15).

**Tabela 15.** Parametarska korelacija između srčanog indeksa i centralne venske saturacije

		SvO2_preop	SvO2_0	SvO2_1	SvO2_4	(SvO212)	SvO2_24
CI_preop	Pearson Correlation	,542	,078	,167	,178	,122	-,073
	Sig. (2-tailed)	,000	,520	,164	,138	,309	,543
		71	71	71	71	71	71
CI_0	Pearson Correlation		,534	-,012	,125	,087	,028
	Sig. (2-tailed)		,000	,919	,300	,472	,818
			71	71	71	71	71
CI_1	Pearson Correlation			,852	,480	,333	,114
	Sig. (2-tailed)			,000	,000	,005	,344
				71	71	71	71
CI_4	Pearson Correlation				,693	,541	,232
	Sig. (2-tailed)				,000	,000	,052
					71	71	71
CI_12	Pearson Correlation					,704	,294
	Sig. (2-tailed)					,000	,013
						71	71
CI_24	Pearson Correlation						,628
	Sig. (2-tailed)						,000
							71

CI-srčani indeks; SvO<sub>2</sub>-centralna venska saturacija; Sig-statistička značajnost korelacije

#### 4.3.6. Laktati

Izmerene vrednosti laktata (mmol/l) u arterijskoj krvi nakon uklanjanja arterijske kleme pokazuju sličan trend u obe studijske grupe (Grafikon 10). Od inicijalnih 1,01±0,30 u HS i 0,92±0,23 u PostK grupi registruje se skok vrednosti laktata arterijske krvi. Najviše izmerene vrednosti su nakon četiri sata od uklanjanja aortne kleme i iznose 2,4±1,0 u HS i 2,0±0,73 u HS grupi. Uticaj vremena nakon ishemije na promenu u koncentraciji laktata visoko je statistički značajan (F=83,17; p<0,001; ANOVA ponavljanih merenja).

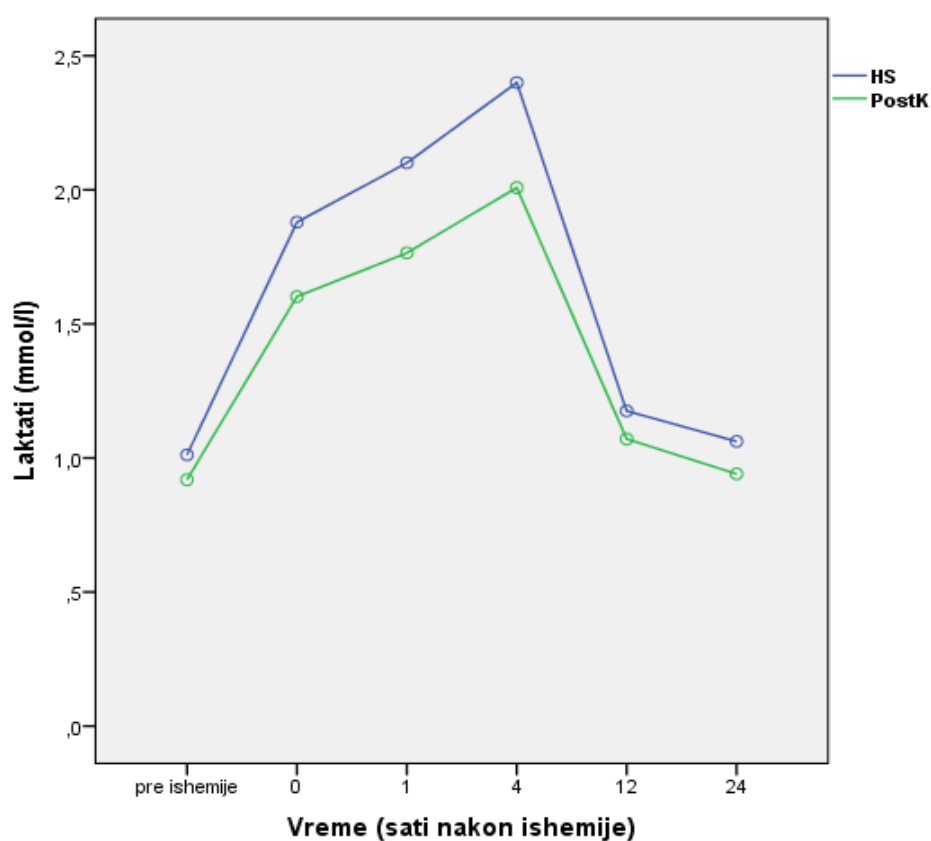
Srednje vrednosti laktata arterijske krvi izmerenih u svim tačkama merenja predstavljene su u Tabeli 16.

**Tabela 16.** Vrednosti laktata arterijske krvi (mmo/l)

	Pre-op	0h	1h	4h	12h	24h
HS (arit.sr±sd)	1,01±0,30	1,88±0,79	2,10±0,82	2,40±1,04	1,18±0,61	1,06±0,55
PostK (arit.sr±sd)	0,92±0,23	1,60±0,31	1,77±0,50	2,01±0,73	1,07±0,41	0,94±0,29

HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje; sd-standardna devijacija;

Vrednosti arterijskih laktata konstatno su bile više u HS nego u PostK grupi. Primenom post-hoc analize sa Bonferoni korekcijom, detektuje se visoko statistički značajna ukupna međugrupna razlika u koncentraciji laktata. Pacijenti u PostK grupi imali su statistički značajno niže vrednosti laktata arterijske krvi u odnosu na pacijente u HS grupi ( $F=5,65$ ;  $p=0,02$ ) (Grafikon 10).



**Grafikon 10.** Uticaj postkondicioniranja na promene vrednosti laktata u HS i PostK grupi. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina a određivane su pre ishemije, neposredno nakon (0), kao i 1,4,12 i 24 sata od ishemije.

#### 4.4. Parametri metaboličkog oporavka miokarda

Parametri metaboličkog oporavka miokarda kao što su: stepen miokardne sekvestracije leukocita, transkardijalna razlika u pH krvi, transkardijalna razlika u koncentraciji glukoze kao i miokardna ekstrakcija kiseonika, posredno ukazuju na ishemijsko-reperfuziono oštećenje vaskularnog endotela i miocita.

#### 4.4.1. Sekvestracija leukocita

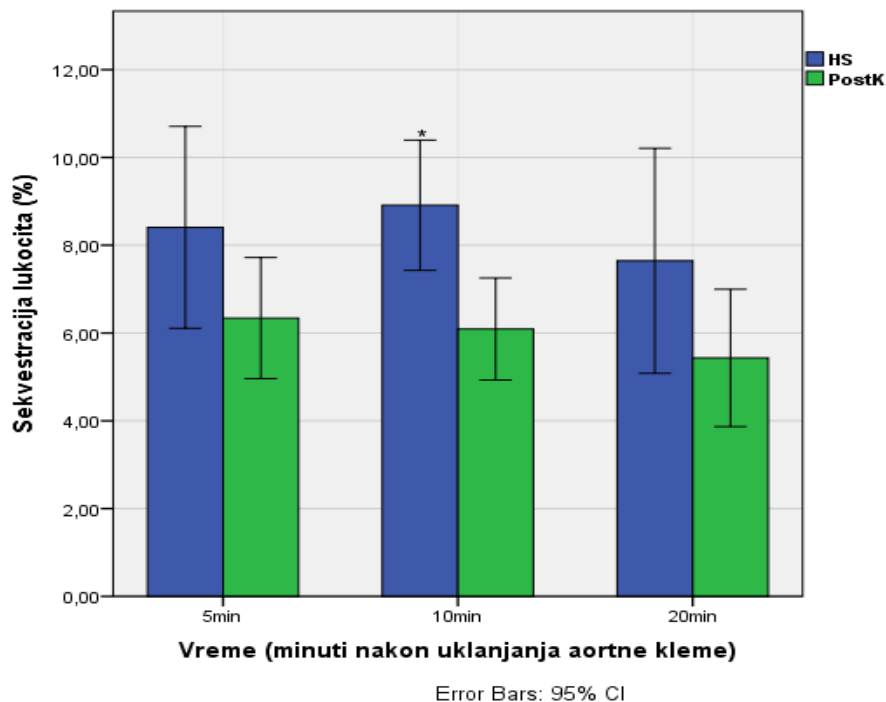
Procentualne vrednosti miokardne sekvestracije leukocita u sve tri tačke merenja predstavljene su u Tabeli 17.

**Tabela 17.** Miokardna sekvestracija leukocita (%) 5,10 i 20 minuta nakon uklanjanja aortne kleme

	5 minuta	10 minuta	20 minuta
HS (arit.sr±sd)	8,41±6,59	8,91±4,25	7,65±7,34
PostK (arit.sr±sd)	6,34±4,14	6,09±3,49	5,43±4,69

HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje;sd-standardna devijacija;

Vrednosti miokardne sekvestracije leukocita bile su konstantno niže u PostK grupi u odnosu na HS grupu u svim tačkama merenja (Grafikon 11).



**Grafikon 11.** Uticaj postkondicioniranja na miokardnu sekvestraciju leukocita (%) u HS i PostK grupi. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina (95% interval povrenja), a određivane su 5, 10 i 20 minuta nakon otpuštanja aortne kleme.

Na osnovu Studentovog t testa detektovana je visoko statistički značajna razlika u 10 minuta u korist PostK grupe (Tabela 18). Takođe primenom post-hoc analize sa Bonferoni korekcijom, detektuje se visoko statistički značajna ukupna međugrupne razlika u sekvestraciji leukocita ( $F=8,25$ ;  $p=0,005$ ).

**Tabela 18.** Studentov t test za procenu značajnosti razlike u vrednostima miokardne sekvestracije leukocita (%) u obe ispitivane grupe.

	5 minuta	10 minuta	20 minuta
t vrednost	1,60	3,06	1,52
p vrednost	0,12	<0,001**	0,14

\*\*visoko statistički značajna razlika

#### 4.4.2 Transkardijalna arterio-venska razlika pH krvi

Transkardijalna arterio-venska razlika pH krvi pretstavlja razliku u izmerenom aciditetu krvi iz aortnog korena u odnosu na krv iz koronarnog sinusa. Vrednosti transkardijalne arterio-venske razlika pH krvi u sve tri tačke merenja pretstavljene su u Tabeli 19.

**Tabela 19.** Transkardijalna arterio-venska razlika pH krvi 5, 10 i 20 minuta nakon uklanjanja aortne kleme.

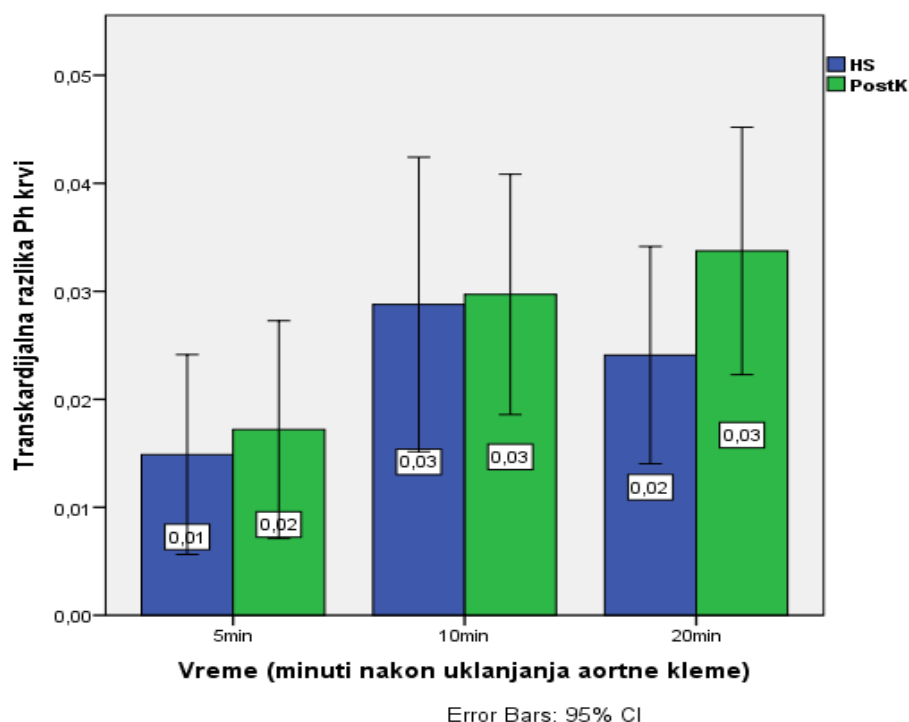
	5 minuta	10 minuta	20 minuta
HS grupa (arit.sr±sd)	0,015±0,027	0,003±0,040	0,024±0,029
PostK grupa(arit.sr±sd)	0,017±0,030	0,030±0,033	0,034±0,034

HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje;sd-standardna devijacija

Izmerene vrednosti su konstantno više u PostK grupi u odnosu na HS grupu (Grafikon 12).

Efekat vremena na arterio-vensku razliku pH krvi statistički je značajan ( $F=3,92$ ;  $p=0,02$ ; ANOVA ponavljanih merenja). U periodu od 5. do 10. minuta dolazi do porasta razlike u aciditetu. U poslednjoj tački merenja (20 minut) vrednosti transkardijalne razlike pH krvi veće su u PostK nego u HS grupi, ali bez statistički značajne razlike ( $t=1,38$ ;  $p=0,20$ ).





**Grafikon 12.** Uticaj postkondicioniranja na vrednosti transkardijalne razlike pH krvi u HS i PostK grupi. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina (95% interval poverenja) određivane 5,10 i 20 minuta nakon otpuštanja aortne kleme.

Nasuprot efektu vremena, efekat postkondicioniranja ostvario je statističko neznačajni efekat na transkardijalnu razliku pH krvi ( $F=0,38$ ;  $p=0,67$ ). Na osnovu vrednosti Studentovog t testa nisu pokazane statistički značajne promene u vrednostima razlike u aciditetu između uzoraka krvi iz aortnog korena i koronarnog sinusa ni u jednoj tački merenja (Tabela 20) .

**Tabela 20.** Studentov t test za procenu značajnosti razlike u vrednostima transkardijalne arterio-venska razlika pH krvi između dve grupe

	5 minuta	10 minuta	20 minuta
t vrednost	-0,34	-0,11	-1,28
p vrednost	0,74	0,91	0,21

#### 4.4.3. Transkardijalna razlika koncentracije glukoze

Transkardijalna razlika u koncentraciji glukoze predstavlja razliku u glikemiji između krvi iz aorte i koronarnog sinusa i određivana je 5, 10 i 20 minuta nakon uklanjanja aortne kleme. Razlika je pozitivna u 5. minutu dok u 10. minutu ima negativne vrednosti što govori u prilog

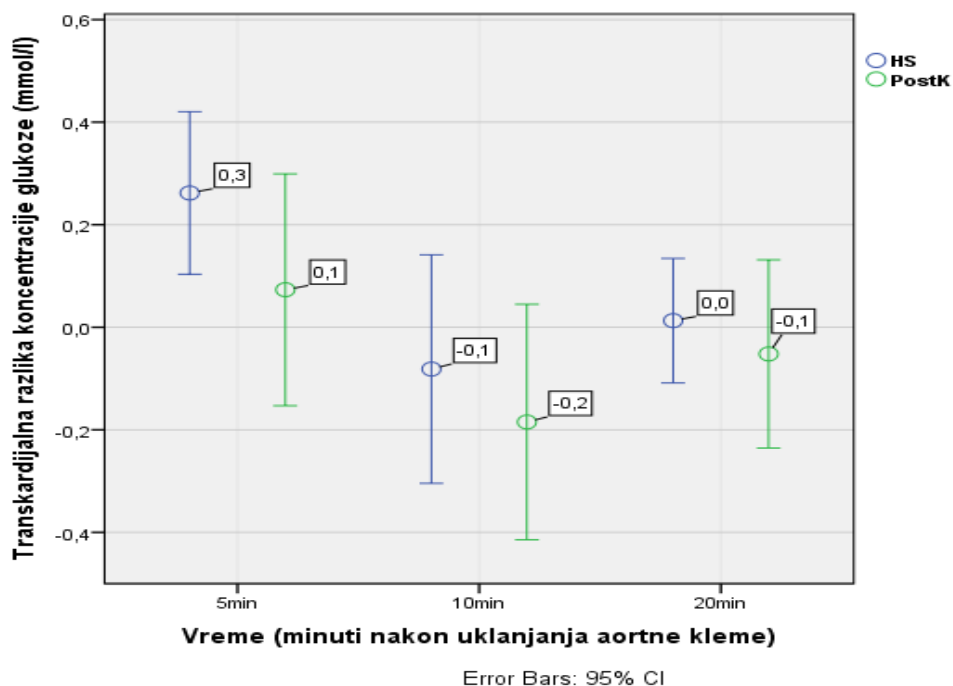
oslobađanju glukoze od strane miokarda. U poslednjoj tački merenja (20. minut) transkardijalna razlika u HS grupi ne postoji dok je u PostK grupi blago negativna (-0,1).

Nakon primene t testa nije detektovana statistički značajna razlika između dve studijske grupe u odnosu na transkardijalnu razliku koncentracije glukoze u bilo kojoj tački merenja (Tabela 21).

**Tabela 21.** Studentov t test za procenu značajnosti razlike u vrednostima transkardijalne arterio-venska razlike koncentracije glukoze između dve grupe ispitanika 5, 10 i 20 minuta nakon uklanjanja aortne kleme.

	5 minuta	10 minuta	20 minuta
t vrednost	0,15	0,01	1,79
p vrednost	0,09	0,52	0,55

Dvo-faktorska ANOVA ponavljanih merenja pokazuju da je efekat vremena na transkardijalnu koncentraciju glukoze u celoj kohorti statistički visoko značajan ( $F=7,29$ ;  $p<0,001$ ). Nasuprot tome ista analitička metoda nije detektovala statistički značajan efekat postkondicioniranja na transkardijalnu koncentraciju glukoze ( $F=0,15$ ;  $p=0,45$ ), (Grafikon 13).



**Grafikon 13.** Efekat postkondicioniranja na transkardijalnu razliku u koncentraciji glukoze. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina (95% interval poverenja), a određivane su 5, 10 i 20 minuta nakon uklanjanja aortne kleme.

#### 4.4.4. Miokardna ekstrakcija kiseonika

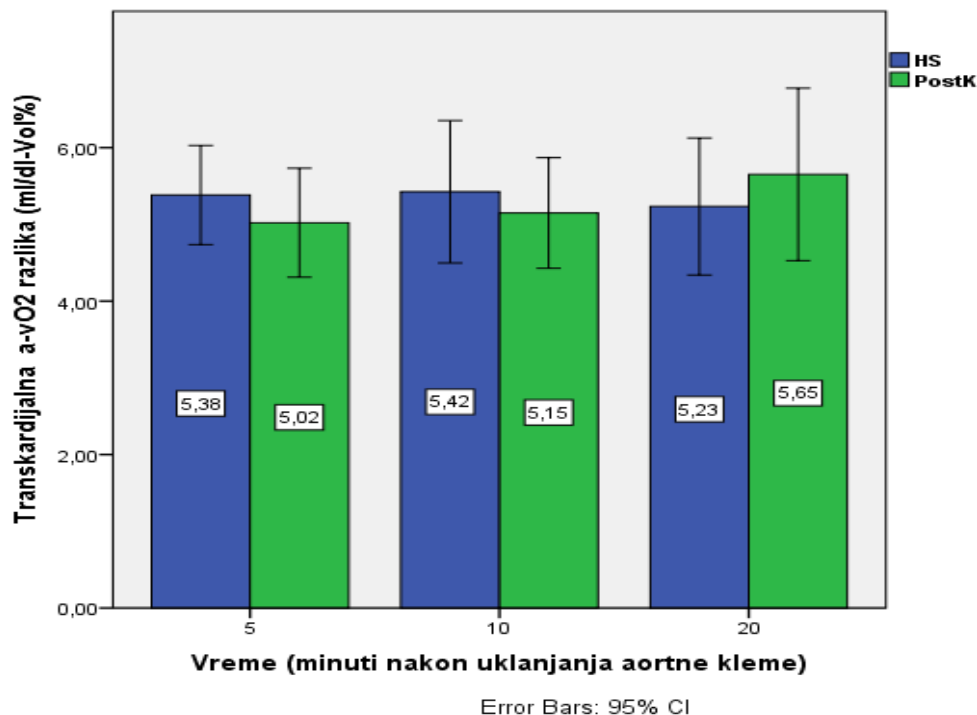
Ekstrakcija kiseonika predstavlja razliku u sadržaju kiseonika između uzoraka krvi iz aortnog korena i koronarnog sinusa (ml/dl) i reprezentuje potrošnju kiseonika (eng. oxygen consumption) od strane miokarda. Srednje vrednosti miokardne ekstrakcije kiseonika određivane su u tri tačke merenja (5, 10, 20 minuta nakon uklanjanja aortne kleme) predstavljene u Tabeli 22.

**Tabela 22.** Vrednosti miokardne ekstrakcije kiseonika (ml/dl)

	5 minuta	10 minuta	20 minuta
HS (arit.sr.±sd)	5,38±1,85	5,42±2,66	5,23±2,56
PostK (arit.sr.±sd)	5,02±2,13	5,15±2,16	5,65±3,37

HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje;sd-standardna devijacija

U 5. i 10. minutu transkardijalna razlika u sadržaju kiseonika bila je nešto veća u HS grupi dok je u 20 minutu pokazuje veće vrednosti u PostK grupi (Grafikon 14).



**Grafikon 14.** Efekat postkondicioniranja na ekstrakciju kiseonika. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina (95% interval poverenja), a određivane su 5, 10 i 20 minuta nakon uklanjanja aortne kleme.

Studentov t test primenjen je u cilju ispitivanja značajnosti razlike u vrednostima transkardijalne ekstrakcije kiseonika u svakoj tački merenja. Statistički značajna razlike nije zabeležena ni u jednoj tački merenja (Tabela 23).

**Tabela 23.** Studentov t test za procenu značajnosti razlike u vrednostima transkardijalne arterio-venska razlike u koncentraciji kiseonika (O<sub>2</sub>) između dve grupe ispitanika u sve tri tačke merenja

	5 minuta	10 minuta	20 minuta
t vrednost	0,76	0,48	-0,59
p vrednost	0,45	0,63	0,56

#### 4.4.5 Transkardijalna razlika koncentracije laktata

Transkardijalna razlika koncentracije laktata pokazuje negativne vrednosti u obe ispitivane grupe, što govori u prilog otpuštanja laktata od strane miokarda. Vrednosti razlike u koncentraciji laktata (mmol/l) između aortnog korena i koronarnog sinusa prikazane su u Tabeli 24.

**Tabela 24.** Transkardijalna razlika koncentracije laktata u sve tri tačke merenja

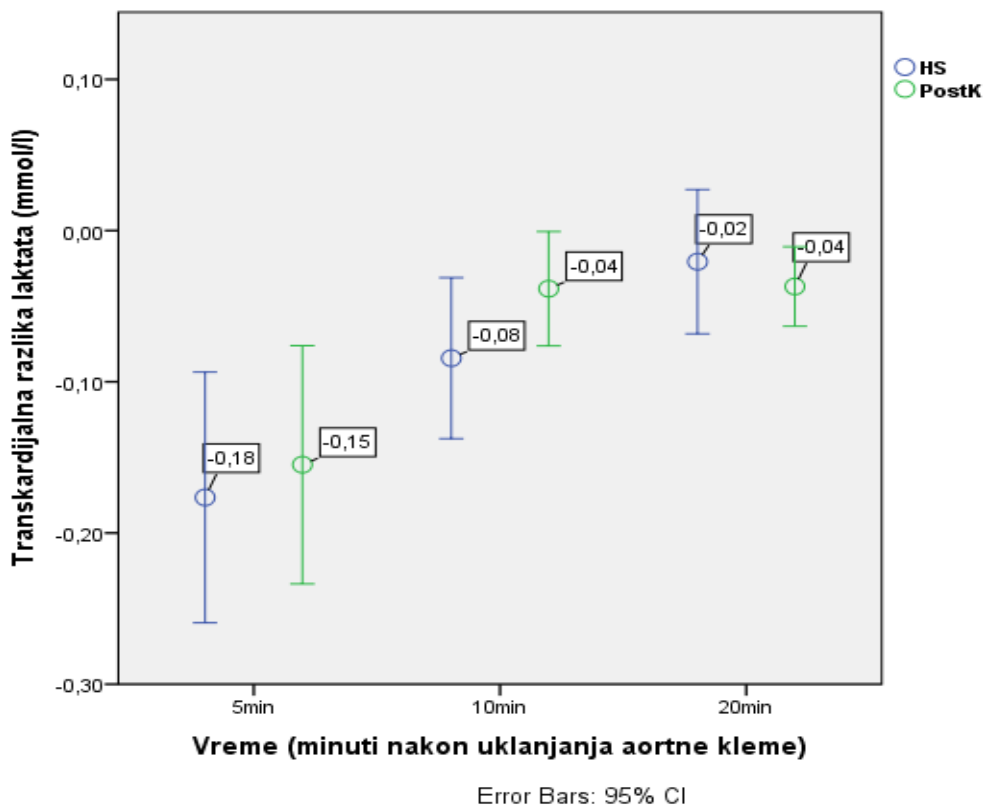
	5 minuta	10 minuta	20 minuta
HS grupa (arit.sr.±sd)	-0,177±0,238	-0,084±0,153	-0,021±0,137
PostK grupa(arit.sr.±sd)	-0,155±0,236	-0,113±0,019	-0,037±0,079

*HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje;sd-standardna devijacija*

Primena Studentovog t nije pokazala statistički značajnu razliku u vrednostima transkardijalne razlike laktata ni u jednoj tački merenja (Tabela 25). Izmerene vrednosti transkardijalne razlike laktata u 5 minutu beleže negativnije vrednosti nego u kasnijim tačkama merenja, ali sveukupno uticaj postkondicioniranja na vrednosti transkardijalne razlike laktata statistički nije bio značajan (F=0,68; p=0,48; ANOVA ponavljanih merenja). Nasuprot tome, efekat vremena na promene transkardijalne vrednosti laktata statistički je visoko značajan ( F=14,11; p<0,001; ANOVA ponavljanih merenja).

**Tabela 25.** Studentov t test za procenu značajnosti razlike u vrednostima transkardijalne arterio-venska razlike u koncentraciji laktata (mmol/l) između dve grupe ispitanika u sve tri tačke merenja

	5 minuta	10 minuta	20 minuta
t vrednost	-0,38	-1,44	0,63
p vrednost	0,70	0,15	0,53



**Grafikon 15.** Efekat postkondicioniranja na vrednosti transkardijalne razlike laktata. Podaci su predstavljani kao aritmetička sredina (95% interval poverenja), a određivani su 5, 10 i 20 minuta nakon uklanjanja aortne klemme.

#### 4.5. Troponin T

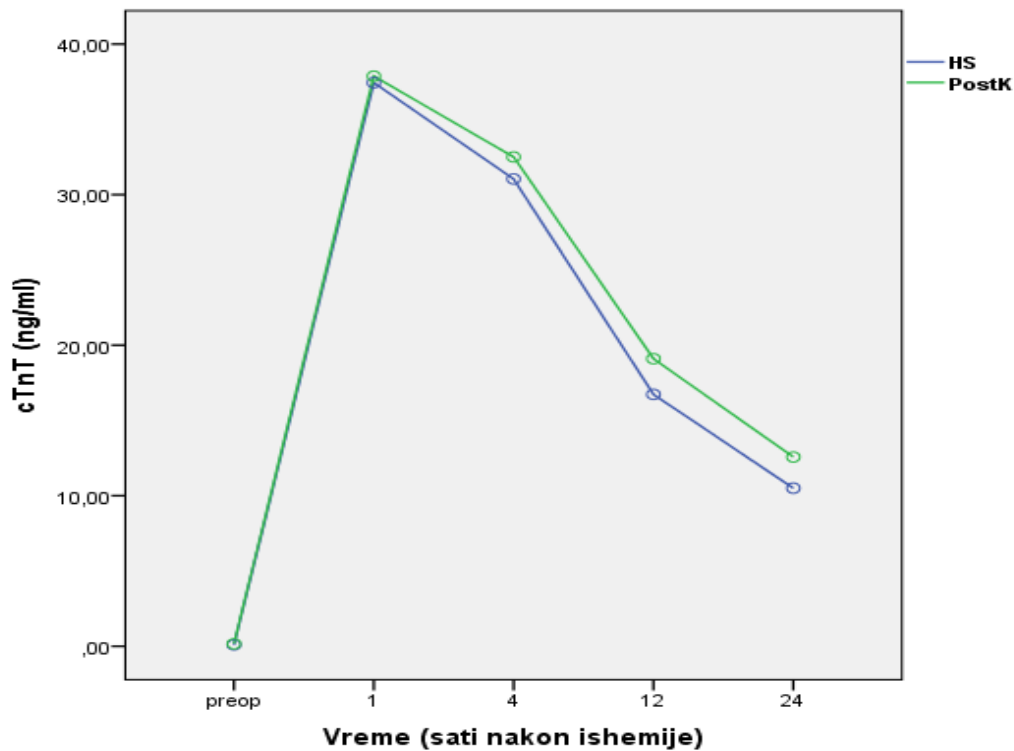
Preoperativne vrednosti kardiospecifičnog Troponina T (cTnT) bile su u granicama normale u celoj kohorti (Tabela 26). Nakon otpuštanja aortne klemme dolazi do očekivanog porasta vrednosti cTnT, koje dostižu svoj maksimum u prvom satu nakon ishemije. Zatim se beleži pad vrednosti u obe grupe. Vrednosti cTnT 24 časa nakon ishemije i dalje su statistički značajno više nego preoperativne bazične vrednosti (Grafikon 16).

**Tabela 26.** Vrednosti cTnT preoperativno i 1, 4, 12, 24 sata nakon prekidanja KPB

	Pre-op	1h	4h	12h	24h
HS (arit.sr.±sd)	0,09±0,10	37,44±29,02	31,04±26,87	16,73±12,48	10,50±6,53
PostK (arit.sr.±sd)	0,16±0,37	37,87±27,89	32,50±22,66	19,10±18,22	12,57±12,48

Promena vrednosti cTnT u odnosu na vreme nakon ishemije visoko je statistički značajna ( $F=90,36$ ;  $p<0,001$ ; ANOVA ponavljanih merenja).

Primena dvo-faktorske ANOVA-e ponavljanih merenja pokazala je da se grupe međusobno ne razlikuju u odnosu na nivo oslobođenog cTnT u prvih 24 sata nakon operacije ( $F=0,99$ ;  $p=0,87$ ), (Grafikon 16).



**Grafikon 16.** Efekat postkondicioniranja na vrednosti cTnT u HS i PostK grupi. Vrednosti su predstavljene kao aritmetička sredina, a određivane su pre nastanka ishemije (bazične vrednosti), a potom 1, 4, 12 i 24 časa nakon ishemije.

Pearson-ova korelacija pokazuje statistički značajnu povezanost između vremena trajanja kardio-pulmonalnog bajpas-a (CPB), trajanja aortne kleme, vrednosti inotropnog skora i vrednosti cTnT u svim tačkama merenja (Tabela 27).

**Tabela 27.** Parametrijska korelacija između vrednosti serumskog cTnT, trajanja aortne kleme, trajanja kardio-pulmonalnog bajpas-a i inotropnog skora

		Correlations										
		CPBTime	XclampTime	cTnT_1	cTnT_4	cTnT_12	cTnT_24	VIS_0	VIS_1	VIS_4	VIS_12	VIS_24
CPBTime	Pearson Correlation	1	,966**	,671**	,729**	,543**	,472**	,778**	,786**	,786**	,784**	,773**
	Sig. (2-tailed)		,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
XclampTime	Pearson Correlation	,966**	1	,652**	,698**	,494**	,432**	,764**	,770**	,770**	,765**	,758**
	Sig. (2-tailed)	,000		,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
cTnT_1	Pearson Correlation	,671**	,652**	1	,872**	,679**	,556**	,553**	,562**	,562**	,590**	,569**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000		,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
cTnT_4	Pearson Correlation	,729**	,698**	,872**	1	,840**	,701**	,646**	,642**	,642**	,682**	,674**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000		,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
cTnT_12	Pearson Correlation	,543**	,494**	,679**	,840**	1	,915**	,590**	,584**	,584**	,673**	,648**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000		,000	,000	,000	,000	,000	,000
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
cTnT_24	Pearson Correlation	,472**	,432**	,556**	,701**	,915**	1	,591**	,585**	,585**	,642**	,557**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000		,000	,000	,000	,000	,000
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
VIS_0	Pearson Correlation	,778**	,764**	,553**	,646**	,590**	,591**	1	,982**	,982**	,951**	,889**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000	,000		,000	,000	,000	,000
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
VIS_1	Pearson Correlation	,786**	,770**	,562**	,642**	,584**	,585**	,982**	1	1,000**	,968**	,911**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000		,000	,000
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
VIS_4	Pearson Correlation	,786**	,770**	,562**	,642**	,584**	,585**	,982**	1,000**	1	,968**	,911**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000		,000
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
VIS_12	Pearson Correlation	,784**	,765**	,590**	,682**	,673**	,642**	,951**	,968**	,968**	1	,939**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
VIS_24	Pearson Correlation	,773**	,758**	,569**	,674**	,648**	,557**	,889**	,911**	,911**	,939**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	
	N	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71

\*\* .Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

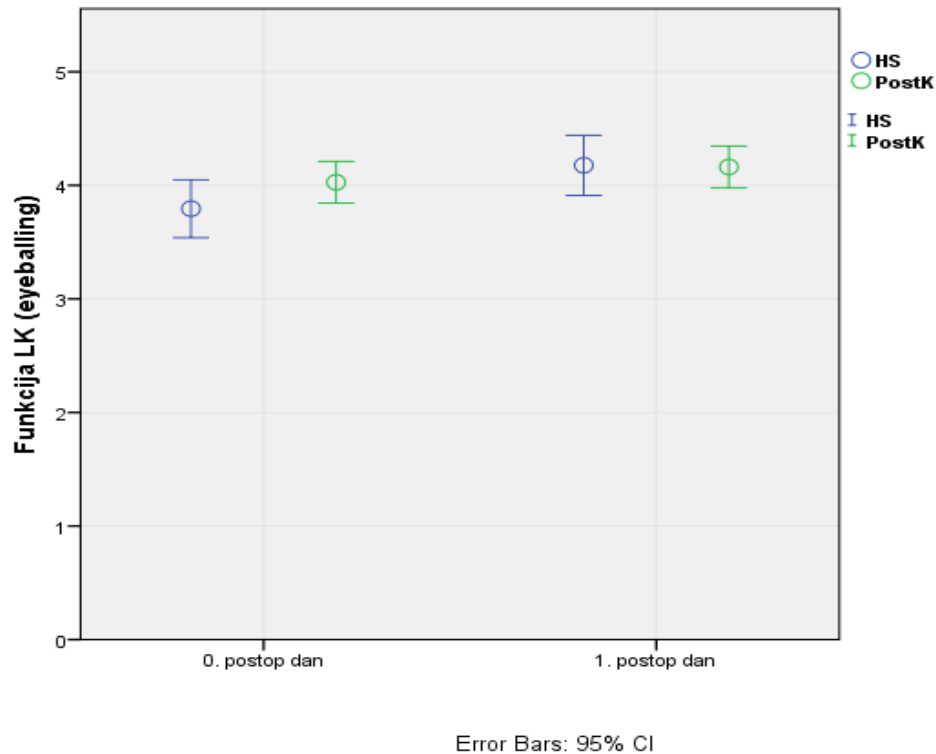
*CPB time-vreme trajanja kardio-pulmonalnog bajpas-a; Xclamp time-vreme trajanja aortne kleme, cTnT-vrednosti Troponina T; VIS-vazoaktivni inotropni skor; Sig-statistička značajnost; N-broj ispitanika*

## 4.6. Ehokardiografski parametri

### 4.6.1. Vizuelna procena funkcije leve komore „eyeballing“

Vizuelna procena funkcije leve komore bazira se na semikvantitativnoj proceni funkcije leve komore, a izražava se na skali od 1 do 5. Prosečne vrednosti neposredno nakon operacije bile su (HS=3,7±0,7 vs PostK=4,0±0,6), a prvog postoperativnog dana (HS=4,1±0,7 vs PostK=4,1±0,6) (Grafikon 17).

U našoj studiji, nakon primene Mann-Whitney U testa nije pokazana statistički značajna razlika ni u efektu vremena ni u efektu postkondicioniranja na funkciju leve komore u obe grupe ( $p=0,69$  i  $p=0,14$  respektivno).



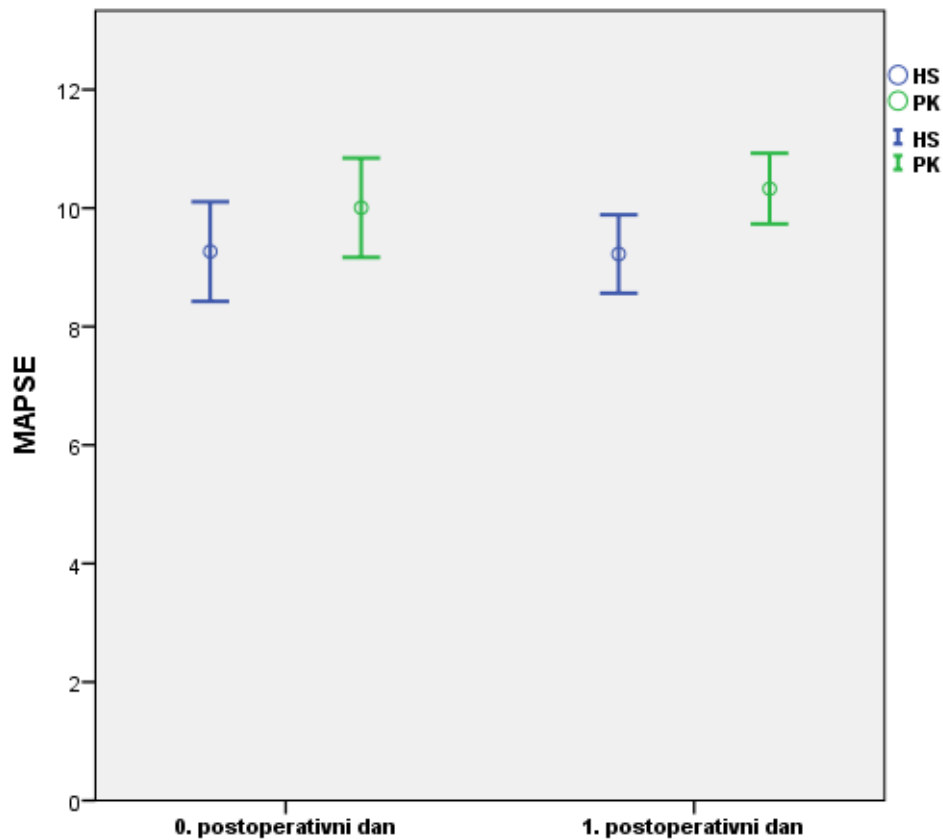
**Grafikon 17.** Efekat postkondicioniranja na funkciju leve komore u HS i PostK grupi određivani metodom vizuelne procene “eyeballing” na dan operacije kao i prvog postoperativnog dana. Podaci su predstavljani kao aritmetička sredina (95% interval poverenja).

#### 4.6.2 MAPSE (eng. *Mitral annular plane systolic excursion*)

Anularni pokreti mitralne valvule kao pokazatelj longitudinalne funkcije leve komore određivani su neposredno nakon operacije po prevođenju pacijenta u JIL i prvog postoperativnog dana (Grafikon 18).

Efekat prekondicioniranja nije pokazao statistički značajnu razliku u vrednostima MAPSE između dve ispitivane grupe ( $p=0,46$ ; MW test). Nije zabeležena statistički značajna promena MAPSE prvog postoperativnog dana u odnosu na dan operacije ( $p=0,98$ ; MW test).





Error Bars: 95% CI

**Grafikon 18.** Efekat postkondicioniranja na anularne pokrete mitralne valvule (MAPSE) u HS i PostK grupi određivani na dan operacije i prvog postoperativnog dana. Podaci su pretstavljeni kao aritmetička sredina (95% interval poverenja).

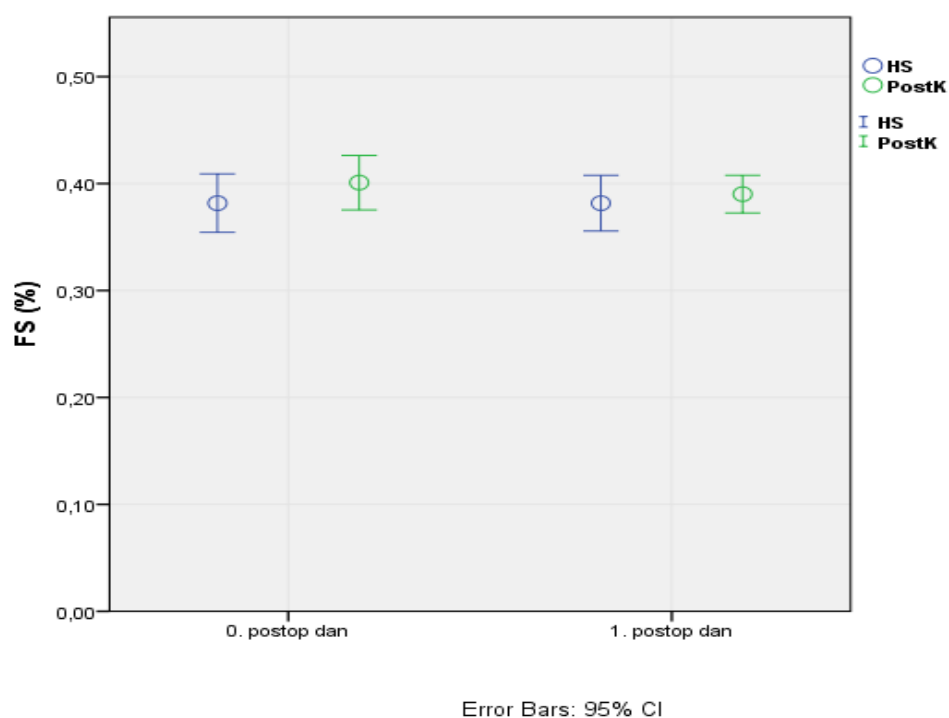
#### 4.6.3. Frakciono skraćenje

Vrednosti frakcionog skraćenja (FS) prikazane su na Grafikonu 19.

Primena t testa nije pokazala statističku razliku u vrednostima frakcionog skraćenja poredeći obe grupe na dan operacije kao i prvog postoperativnog dana (Tabela 28).

**Tabela 28.** Studentov t test za procenu značajnosti razlike u vrednostima frakcionog skraćenja između dve grupe ispitanika

	dan operacije	prvi post-operativni dan
t vrednost	0,16	1,62
p vrednost	0,30	0,58



**Grafikon 19.** Efekat postkondicioniranja na frakciono skraćenje (FS%) u HS i PostK grupi određivani na dan operacije kao i prvog postoperativnog dana. Podaci su pretstavljeni kao aritmetička sredina (95% interval poverenja).

## 4.7 Biohemijski parametri

### 4.7.1 Glikemija

Vrednosti serumske glikemije statistički značajno su se menjale u perioperativnom periodu (u prvih 24 sata) ( $F=62,47$ ;  $p<0,001$ ; ANOVA ponavljanih merenja). Nakon inicijalnih vrednosti koje su bile u granicama normale, vrednosti glikemije naglo rastu dostižući svoj maksimum 4 sata nakon prekidanja KPB (Grafikon 20). Izmerene vrednosti serumske glikemije predstavljene su u Tabeli 29.

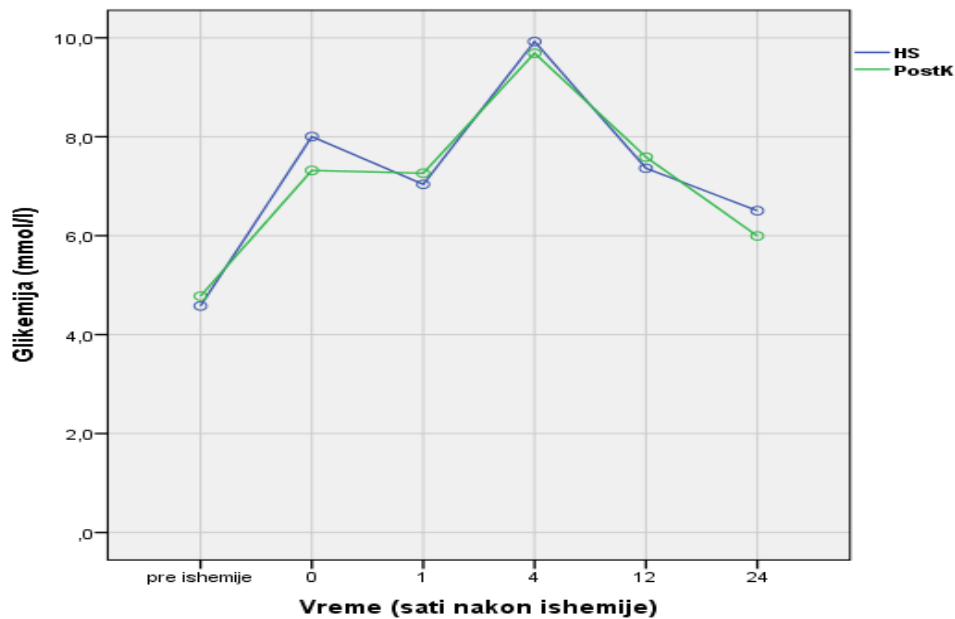
**Tabela 29.** Vrednosti serumske glikemije (mmol/l) određivane pre-operativno (bazične vrednosti), neposredno nakon (0h), kao i 1,4,12 i 24 časa nakon ishemije.

	Pre-op	0h	1h	4h	12h	24h
HS (arit.sr±sd)	4,6±0,6	8,0±2,2	7,0±2,1	9,9±2,8	7,4±1,8	6,5±1,3
PostK (arit.sr±sd)	4,8±1,1	7,3±1,7	7,3±3,5	9,7±2,9	7,6±1,8	6,0±1,2

HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje;sd-standardna devijacija

Promene vrednosti šećera u krvi u odnosu na vreme od nastanka ishemije statistički su visoko značajne ( $F=62,5$ ;  $p<0,001$ , ANOVA).

Sa druge strane, dvo-faktorska ANOVA ponavljanih merenja nije detektovala statistički značajnu intergrupnu razliku u efektu postkondicioniranja na izmerene vrednosti serumske glikemije ( $F=0,897$ ;  $p=0,46$ ).



**Grafikon 20.** Efekat postkondicioniranja na vrednosti serumske glikemije. Podaci su predstavljeni kao aritmetička sredina i određivani pre ishemije, naposredno nakon (0), kao i 1, 4, 12 i 24 sata posle ishemije.

#### 4.7.2 Hemoglobin

Efekat vremena na vrednosti serumskog hemoglobina (g/dl) visoko je statistički značajan ( $F=41,59$ ;  $p<0,001$ ; ANOVA ponavljanih merenja). Regstruje se porast vrednosti u obe ispitivane grupe sa maksimalnim zabeleženim vrednostima nakon 1. sata od prekidanja KPB (Grafikon 21). Izmerene vrednosti serumskog hemoglobina predstavljene su u Tabeli 30.

**Tabela 30.** Vrednosti serumskog hemoglobina (g/dl) određivane pre-operativno (bazične vrednosti), neposredno nakon i 1,4,12,24 sata nakon ishemije.

	Pre-op	0h	1h	4h	12h	24h
HS (arit.sr±sd)	10,5±1,2	10,8±1,3	12,6±1,3	12,2±1,4	11,3±1,2	10,9±1,1
PostK (arit.sr±sd)	10,4±1,3	10,9±1,3	12,1±1,4	12,3±1,4	11,8±1,2	11,4±1,3

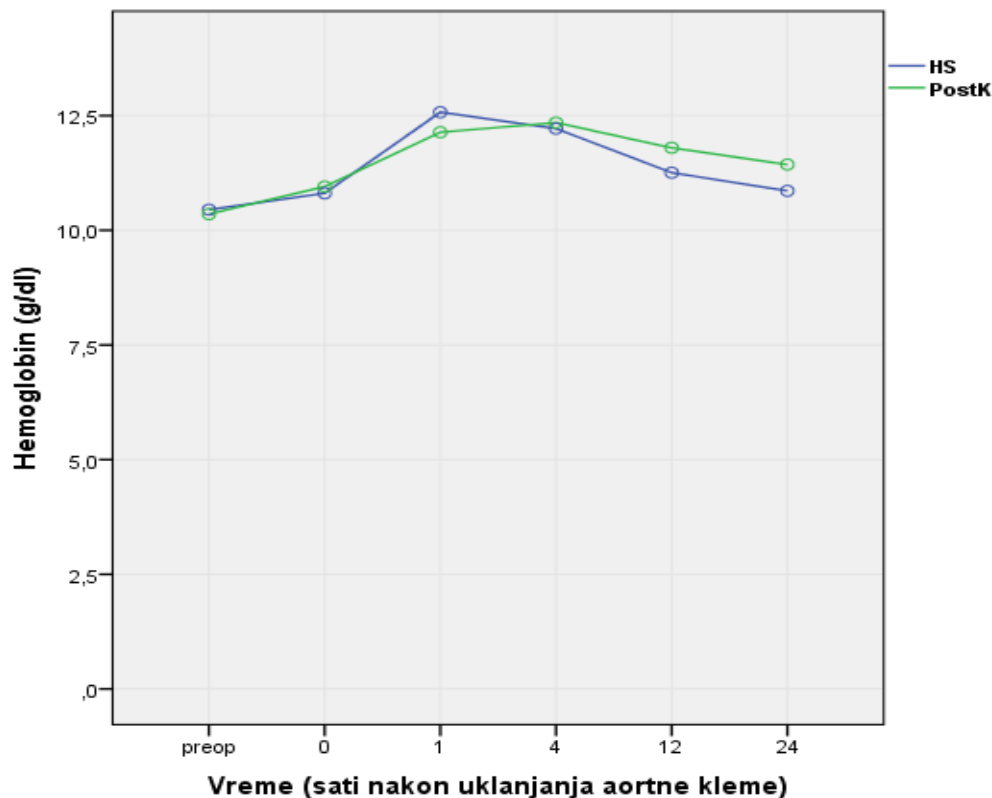
HS-hot shot; PostK-postkondicioniranje;sd-standardna devijacija

Statistički je značajan i ukupni intergrupni varijabilitet ( $F=2,53$ ;  $p=0,04$  ANOVA ponavljanih merenja). Nakon primene t testa u svakoj tački merenja prikazana je statistički značajna razlika u vrednostima hemoglobina u 24. satu sa zabeleženim višim vrednostima u PostK grupi na kraju ispitivanog perioda.

**Tabela 31.** Studentov t test za procenu značajnosti razlike u vrednostima hemoglobima između dve grupe ispitanika u svim tačkama merenja

	Hgb(p)	Hgb(0)	Hgb(1)	Hgb(4)	Hgb(12)	Hgb(24)
t vrednost	0,32	-0,48	1,36	-0,39	-1,89	-1,99
p vrednost	0,75	0,63	0,18	0,69	0,063	<b>0,048*</b>

\*statistički značajna razlika



**Grafikon 21.** Efekat postkondicioniranja na vrednosti serumskog hemoglobina. Podaci su predstavljani kao aritmetička sredina pre operacije (bazične vrednosti), neposredno nakon (0), kao i 1, 4, 12 i 24 sata posle ishemije.

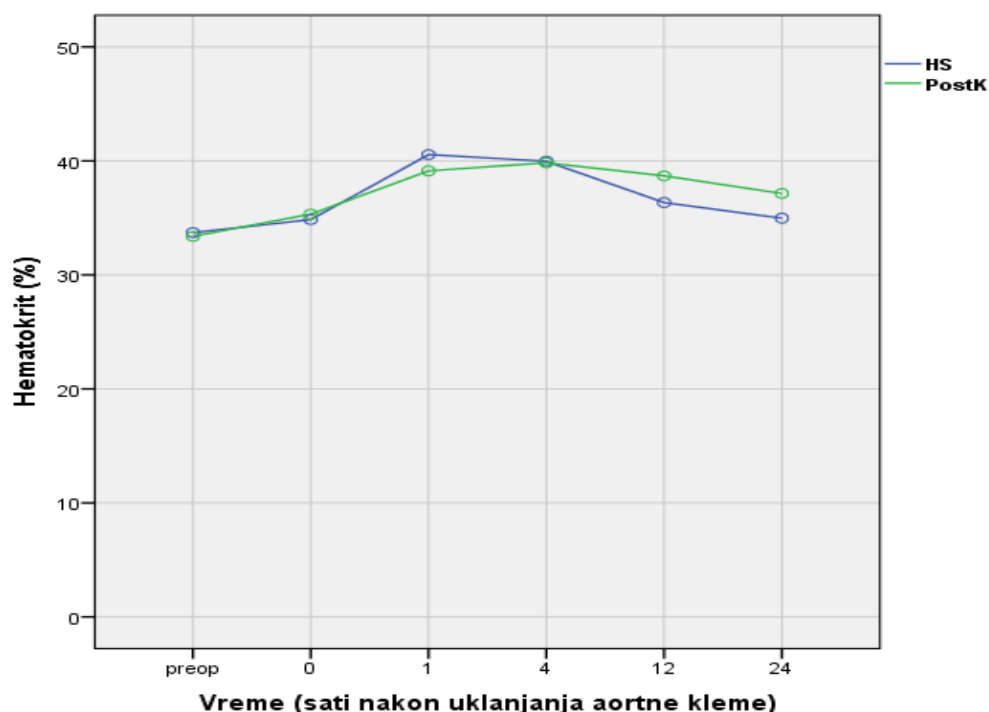
### 4.7.3 Hematokrit

Promena vrednosti hematokrita u odnosu na vreme nakon uklanjanja aortne kleme statistički je visoko značajna u celoj kohorti ( $F=41,36$ ;  $p < 0,001$ ; ANOVA ponavljanih merenja), (Grafikon 22). Efekat postkondicioniranja na vrednosti hematokrita pokazuje visoku statističku značajnost nakon primene dvo-faktorske ANOVA-e ponavljanih merenja ( $F=3,42$ ;  $p=0,01$ ). Iako su nakon prvog sata vrednosti hematokrita bile nešto veće u HS grupi (bez statističke značajnosti) razlika vrednosti hematokrita nakon 12 i 24 sata statistički je bila značajna sa većim vrednostima hematokrita u PostK grupi.

**Tabela 32.** Studentov t test za procenu značajnosti razlike u vrednostima hematokrita između dve grupe ispitanika u svim tačkama merenja

	preop	0h	1h	4h	12h	24h
t vrednost	0,23	0,00	0,05	0,47	0,49	0,16
p vrednost	0,74	0,62	0,17	0,89	<b>0,04*</b>	<b>0,02*</b>

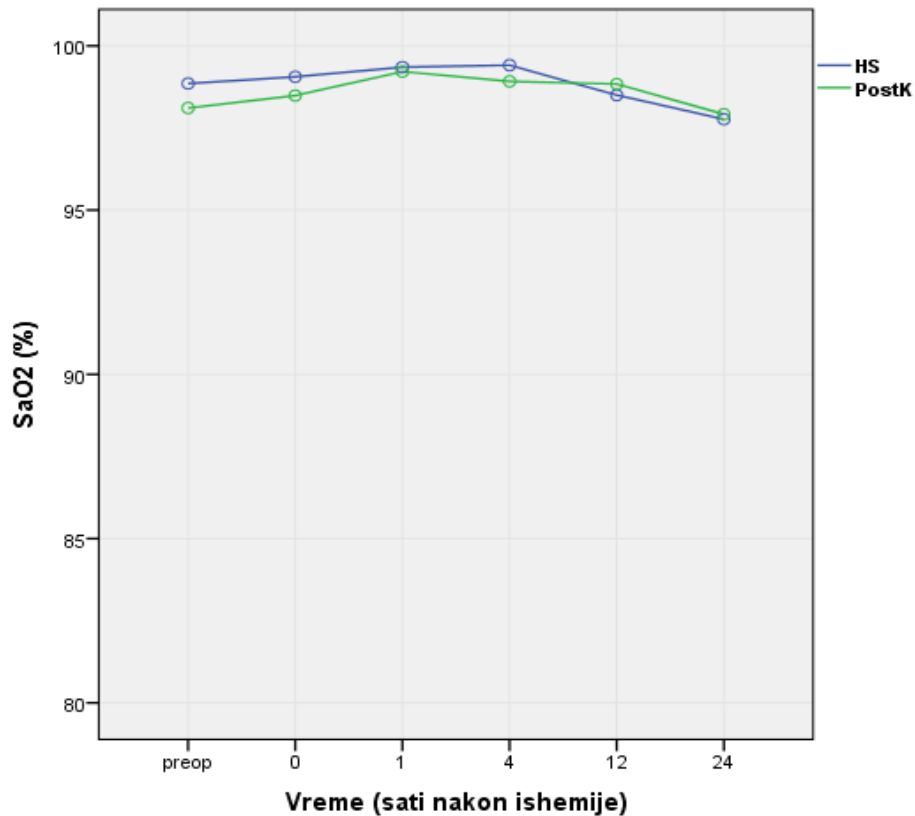
\*statistički značajna razlika



**Grafikon 22.** Efekat postkondicioniranja na vrednosti hematokrita u HS i PostK grupi. Podaci su predstavljeni kao aritmetička sredina, a određivani pre operacije, neposredno nakon (0), kao i 1, 4, 12 i 24 sata posle ishemije.

#### 4.7.4 Saturacija arterijske krvi kiseonikom (SaO<sub>2</sub>)

Saturacije arterijske krvi kiseonikom u toku prva 24 sata nakon operacije je značajno varirala dostižući najnižu vrednost 24 sata nakon operacije (HS=97,7±1,8; PK=97,9±1,8). Uticaj vremena na promenu SaO<sub>2</sub> bio je statistički visoko značajan (F=4,51; p<0,001; ANOVA ponavljanih merenja). Nasuprot tome poredeći dve grupe nije detektovana statistička značajna razlika primenom dvo-faktorske ANOVA-e ponavljanih merenja (F=0,78; p=0,52).



**Grafikon 23.** Efekat postkondicioniranja na vrednosti saturacije arterijske krvi kiseonikom u HS i PostK grupi. Podaci su predstavljani kao aritmetička sredina, a određivani pre operacije, neposredno nakon (0), kao i 1, 4, 12 i 24 sata posle ishemije.

## 5. DISKUSIJA

Uprkos od ranije poznatom značaju postkondicioniranja, njegovo ispitivanje u kliničkoj praksi u kordiohirurgiji započelo je tek u skorijoj prošlosti<sup>15,19</sup>. Kliničkom ispitivanju prethodile su brojne eksperimentalne studije, koje su pokazale da postkondicioniranje aktivira endogene protektivne mehanizme na različitim nivoima, koji potencijalno mogu da modifikuju i ublaže neželjene događaje indukovane ishemijom i reperfuzijom<sup>207</sup>. Takođe, primenom postkondicioniranja kod bolesnika sa akutnim infarktom miokarda nakon perkutanih kardioloških intervencija dokazano je značajno smanjenje veličine zone infarka<sup>18</sup>. Dosadašnje kliničke studije koje su ispitivale efekat postkondicioniranja u formi ponavljanih klemovanja aorte, nagovestile su da ovaj mehanizam može imati i veliki značaj u dečjoj kordiohirurgiji<sup>15,19</sup>. Međutim, do sada nije u potpunosti jasno utvrđeno da li postkondicioniranje korišćenjem sistema za kardioplegiju (*hot shot* postkondicioniranje) potencira protektivni efekat same tople krvne kardioplegične reperfuzije<sup>8</sup>.

Dve grupe pacijenta u našoj seriji nisu se razlikovale u odnosu na uzrast i telesnu masu na operaciji, distribuciju različitih tipova mana, kao i prisustvo genetskih sindroma. Takođe, ispitanici se nisu razlikovali ni u odnosu na vreme trajanja kardiopulmonalnog bajpasa i dužinu "index" ishemije tj. trajanja aortne klemme.

Novorođenčad sa urođenim srčanim manama nisu uključena u našu studiju zbog postojanja poznatih značajnih fizioloških specifičnosti koje utiču na osetljivost miokarda na globalnu ishemiju i regulaciju kontraktilne funkcije<sup>53,55</sup>. Takođe u studiju nisu uključeni ni pacijenti sa fiziologijom jednokomorskog srca pošto bi to u značajnoj meri otežalo tumačenje postoperativnih hemodinamskih i ehokardiografskih rezultata.

Pacijenti sa Tetralogijom Falo obuhvaćeni su našom studijom<sup>61,97</sup> iako rezultati mnogih istraživanja pokazuju značajno veću senzitivnost hipoksičnog miokarda na ishemijsko oštećenje.

U studiji Modi-a i saradnika<sup>8</sup> nedvosmisleno je pokazano da preoperativna cijanoza značajno menja protektivni potencijal kardioplegije. Međutim, za sada nema jasnih podataka u kojoj meri preoperativna hipoksija utiče na reperfuziono oštećenje, a samim tim ne može se zaključiti u kojoj meri različiti modaliteti reperfuzije mogu da moduliraju ovo oštećenje kod pacijenata sa Tetralogijom Falo. U studijama na odojčadima sa Tetralogijom Falo, pokazano je da je nivo ATP-a značajno snižen, a nivo laktata značajno povišen tokom reperfuzije<sup>66,208</sup>. Obe do sada objavljene kliničke studije koje su ispitivale značaj postkondicioniranja u dečjoj kordiohirurgiji takođe su uključile pacijente sa Tetralogijom Falo<sup>15,19</sup>. Šta više jedna od tih

studija bila je isključivo na ispitanicima kod kojih je dijagnostikovana Tetralogija Fallo<sup>15</sup>. Dodatan razlog zbog kojeg smo uključili pacijente sa cijanogenom manom (desno-levim šantom), bila je naša pretpostavka da upravo ovi pacijenti mogu da imaju dodatnu korist od postkondicioniranja u poređenju sa pacijentima sa levo-desnim šantom.

Protokol administracije kardioplegije, bio je strogo kontrolisan i identičan za sve ispitanike u našoj studiji. U našoj studiji kao i u svim drugim do sada objavljenim kliničkim studijama koje su ispitivale uticaj postkondicioniranja kako u pedijatrijskoj tako i adultnoj populaciji, korišćena je isključivo krvna anterogradna kardioplegija u odnosu 4:1 (krv: kristaloidna kardioplegija).

Uzimajući u obzir ispitivanja pojedinih autora koji su ukazali da sistemska temperatura pri kojoj se klemuje aorta ima uticaj na intezitet ishemijske lezije<sup>209,210,211</sup>, prosečna sistemska temperatura u dve grupe ispitanika u našoj seriji nije se razlikovala i nije bila niža od 32°C. "High flow" normotermijski kardiopulmonalni bajpas je tehnika se inače primenjuje na našem odeljenju od 2014. godine. Izuzetak su pacijenti koji zahtevaju duboku hipotermiju i cirkulatorni arest zbog rekonstrukcije luka aorte.

Prema dosadašnjem saznanju naša studija predstavlja prvu kliničku studiju u kojoj se aplikuje tehnika postkondicioniranja primenom tople krvne kardioplegične reperfuzije "hot shot". Do sada sprovedene kliničke studije u dečjoj kardiohirurgiji isključivo su koristile ponavljano klemovanje aorte<sup>19,61</sup>. Pored jasnih neželjenih mehaničkih efekata ponavljanog klemovanja na zid ascendentne aorte postoje i druge nedoumice u vezi sa efikasnošću ove tehnike. Postoji opravdana sumnja da ponavljano klemovanje aorte ne inicira sve poznate protektivne mehanizme postkondicioniranja. U nekoliko naučnih radova Jakob Vinten-Johansen i sar.<sup>207</sup>, jedan od pionira i vodećih istraživača iz oblasti pre i postkondicioniranja, naglasio je da ponavljano klemovanja aorte ne predstavlja najadekvatniji način da se iniciraju protektivni mehanizmi postkondicioniranja.

Ideja koja stoji iza načina aplikacije algoritma PostK primenom tople krvne reperfuzije koju smo mi koristili u našoj studiji ranije je predlagana u radovima Vinten-Johansen i saradnika. Tehnika postkondicioniranja koju smo mi primenili manje je invazivna, tehnički jednostavnija i najvažnije, odgovara eksperimentalnim modelima u kojima je potvrđen pozitivan efekat ishemijskog PostK.

Kardioplegični hot shot primenjivan u našoj studiji imao je pun sadržaj K<sup>+</sup> kao i kardioplegični rastvor, što predstavlja klasični "Buckbergian" tip reanimacije. Time je produžen reanimacioni proces tj. proces oporavka miokarda. Takođe, primenom



intermitentnih pulseva tople krvne reperfuzije stimulisali smo ishemično postkondicioniranje.

U dosadašnjim studijama postoje i dalje prilične kontraverze u vezi sa algoritmom za postkondicioniranje. Analiziranjem dosadašnjih studija na eksperimentalnim životinjama registruje se velika varijabilnost u trajanju alternirajućih faza ishemije i reperfuzije. U kliničkim studijama Luo i sar. algoritam se sastojao od tri ciklusa, a svaki ciklus od 30 sekundi reperfuzije i 30 sekundi ishemije<sup>15</sup>. U našoj studiji, odlučili smo se na algoritam koji se sastoji od tri ciklusa, a svaki ciklus se sastojao od jednog minuta reperfuzije i jednog minuta ishemije. Takav algoritam je primenjivan u studiji Saat i sar. koja je ispitivala uticaj postkondicioniranja u toku perkutanih koronarnih intervencija (PCI) kod tretmana akutnog infarkta miokarda. Jedina razlika je što je u pomenutoj studiji aplikovano 4 umesto 3 ciklusa<sup>18</sup>. Takođe u velikom broju studija koje su ispitivale uticaj udaljenog PostK korišćen je algoritam sa fazama ishemije od 1 minuta.

U dizajniranju studije rukovali smo se i brojnim eksperimentalnim studijama koje su pokazale da je kod manjih eksperimentalnih životinja (miševi i pacovi) vreme od 10s adekvatno, dok je kod većih životinja (pasa i zečeva) to vreme bilo 30s, na osnovu čega se može pretpostaviti da bi kod ljudi jedan minut bio najadekvatniji.

Postoje tri ključna faktora u algoritmu za postkondicioniranje i u svakom vreme igra ključnu ulogu. Prvi i najverovatnije najvažniji faktor je vreme započinjanja ishemije u toku faze reperfuzije. Drugi faktor predstavlja trajanje faza ishemije i reperfuzije, dok je treći broj ciklusa ishemije i reperfuzije do trenutka otpočinjanja definitivne kontinuirane reperfuzije. Generalno postoji konsenzus da odlaganje prve faze ishemije u fazi reperfuzije mora biti kratak, ali su dostupni podaci iz literature koji bi potkrepili pomenute činjenice za sada oskudni. Na primer u eksperimentalnim in vivo studijama na laboratorijskim pacovima redukcija veličine infarkta se gubi kada je vreme prve faze ishemije pomeren sa 10 sekundi na 60 sekundi reperfuzije<sup>139</sup>. U eksperimentalnim in vivo studijama na laboratorijskim zečevima pozitivan protektivni efekat PostK indukovano je kada je PostK manevar započeo nakon 30s reperfuzije ali ne i kada je PostK manevar primenjen nakon 60 sekundi reperfuzije

141

Objavljene kliničke studije pokazuju da kod pacijenata sa infarkt miokarda ishemijsko postkondicioniranje redukuje veličinu infarkta kad se vreme odlaganje prve ishemije kretalo u intervalu od 60 do 180 sekundi. Šta više, u većini studija, manevar postkondicioniranja je započeo unutar 60s reperfuzije, što odgovara vremenu započinjanja prvog ciklusa postkondicioniranja i u našoj studiji.

Upravo se pretpostavlja da je odlaganje započinjanja manevra PostK nakon 5 minuta reperfuzije najverovatnije bio glavni razlog za neuspeh prve kliničke studije o postkondicioniranju, 90-tih godina prošlog veka. Na osnovu zaključaka pomenute studije koncept postkondicioniranja postao je neatraktan za dalja klinička ispitivanja gotovo čitavu deceniju nakon toga<sup>207</sup>.

Sa druge strane, upravo je tokom tih deset godina pažnja bila usmerena prema bazičnim i eksperimentalnim studijama. Rezultati ovih studija jasno su identifikovale da se patološki mehanizmi reperfuzionog oštećenja pokreću još u najranijoj fazi reperfuzije.

Iz navedenih razloga odlučili smo se na algoritam postkondicioniranja, koji se na osnovu dostupnih eksperimentalnih i kliničkih studija činio najadekvatnijim. To je podrazumevalo započinjanje prve faze ishemije nakon jednog minuta inicijalne reperfuzije. Potom smo postkondicioniranje nastavili primenom tri identična ciklusa sa alternirajućim fazama ishemije i reperfuzije u trajanju od po jedan minut i ukupnim trajanjem algoritma PostK od 6 minuta. Naš algoritam je identičan algoritmu postkondicioniranja koji je primenio Staat i sar.<sup>18</sup> u svojoj randomiziranoj multicentričnoj studiji kod pacijenata podvrgnutih koronarnoj angioplastici zbog akutnog infarkta miokarda. U studiji Staat-a i saradnika, nakon reperfuzije koja je uspostavljena direktnim stentovanjem koronarne arterije, primenjen je algoritam postkondicioniranja. Algoritam je započinjao nakon jednog minuta reperfuzije, a sadržao je 4 ciklusa, pri čemu se svaki ciklus sastojao od po jednog minuta sa naduvanim balonom i jednog minuta sa ispumpanim balonom. To je ujedno i prva uspešna klinička studija koja je nedvosmisleno pokazala pozitivan efekat postkondicioniranja na smanjenje zone infarkta kod pacijenata sa akutnim infarktom miokarda. U drugim kliničkim studijama ciklusi su se sastojali od 30 sekundi reperfuzije i 30 sekundi ishemije. U tri studije na pedijatrijskim pacijentima<sup>15,19,212</sup> kao i u jednoj studiji na adultnim pacijentima Lao i sar.<sup>622</sup> su se odlučili na alternirajuće cikluse ishemije i reperfuzije u trajanju od 30 s. U pomenutoj studiji prva ishemija počinjala je nakon 30 sekundi od prvog uklanjanja aortne kleme. U studiji Durdu i sar.<sup>206</sup> koja je proučavala efekte reperfuzije kod pacijenata podvrgnutih hirurškoj revaskularizaciji miokarda, takođe su primenjena 3 ciklusa sa po 30 sekundi alternirajućim fazama ishemije i reperfuzije. U toj studiji je kao i u drugim studijama na hirurškim pacijentima korišćena mehanička modifikacija postkondicioniranja, koja se sastojala u aplikovanju "buldog kleme" na venski graft ili LIMA (left internal mammary artery) graft nakon završetka distalne anastomoze.

Veoma je bitno naglasiti da je u našoj studiji korišćena kardioplegična etapna topla krvna reperfuziju sa koncentracijom  $K^+$  od 10mmol/l (identično kardioplegičnim dozama

održavanja). Taj vid postkondicioniranja zasnovan je ne idejama i preporukama Vinten-Johansena i njegove grupe. Oni su taj vid postkondicioniranja sugerisali u svojim sistemskim prikazima literature i editorijalima kao vid postkondicioniranja u toku klasične “Buckberian style” reanimacije miokarda primenom tople krvne kardioplegične reperfuzije. Upravo smo na taj način pokušali da simuliramo klasično postkondicioniranje, a da sa druge strane preveniramo dodatnu toplu ishemiju miokarda u trajanju od 3 minuta. Dodatna topla ishemija je neizbežna u slučaju primene ponavljalog klemovanja aorte ili ukoliko se primeni etapna topla nekardioplegična krvna reperfuzija bez prisustva  $K^+$ . U svojoj osnovi postkondicioniranje primenom anterogradne tople krvne reperfuzije bez prisustva  $K^+$  ne bi se razlikovala od ponavljalog klemovanja aorte primenjene u prethodnim kliničkim studijama.

Za procenu efikasnosti i brzine oporavka miokarda određivali smo sledeće parametre

- vreme od završetka ishemije do pojave prve srčane kontrakcije tj. električne aktivnosti,
- potreba za kardioverzijom i broj primenjenih kardioverzija,
- vreme do uspostavljanja sinusnog ritma (spontano ili nakon kardioverzije),
- ukupno trajanje reperfuzije (vreme od uklanjanja aortne kleme do prekidanja KPB),
- prisustvo poremećaja srčanog ritma (AV blok, nodalna ektopična tahikardija),
- potreba za antiaritmikima i privremenim *pace-maker*-om,

U našoj studiji nije pokazana statistički značajna razlika između grupa ni za jedan od navedenih parametara. Prema našem saznanju, do sada objavljene kliničke studije nisu ispitivale značaj brzine pojave prve električne aktivnosti i sinusnog ritma kao mogućih pokazatelja brzine reanimacije miokarda.

Iako smo koristili kardioplegični “hot shot” sa punim sadržajem  $K^+$ , registrovali smo relativno ranu pojavu električne aktivnosti u obe ispitivane grupe već nakon nešto više od 10 sekundi. To govori u prilog da topla krvna kardioplegična reperfuzija dovodi do efektivne reanimacije miokarda što je i pokazano i u nekoliko eksperimentalnih studija<sup>213, 214</sup>. Terminalna topla krvna kardioplegična reperfuzija ili “hot shot” obezbeđuje uslove u kojima se regenerišu ćelijski energetske depoi i dolazi do njihovog preusmeravanja u reverzibilno oštećeni miokard za vreme elektromehaničke neaktivnosti<sup>215</sup>. Eksperimentalno je pokazano da kardioplegična topla krvna reperfuzija poboljšava metabolički i rani funkcionalni oporavak miokarda i smanjuje mortalitet u adultnoj kardiohirurgiji<sup>14</sup>. U studijama na nezrelom miokardu ova tehnika se pokazala kao efikasna kod hipoksičnog srca praseta<sup>216</sup> i nakon prolongirane ishemije (2 sata) kod neonatalnog srca jagnjeta<sup>217</sup>. Međutim, do sada je ova tehnika retko korišćena u pedijatrijskoj praksi<sup>8</sup>.

U našoj studiji tip reperfuzije i primena postkondicioniranja nije uticala kako na rani mortalitet, tako i na učestalost postoperativnih komplikacija kao što su:

- akutna bubrežna insuficijenciju koja je zahteva primenu peritonealne dijalize,
- respiratorna insuficijencija koja zahteva ponovnu intubaciju i/ili prolongiranu respiratornu potporu,
- značajno krvarenje koje je zahteva hiruršku reviziju
- srčani zastoj,
- aritmije koje su zahtevale upotrebu privremenog *pace-maker-a* ili antiaritmijsku terapiju,
- reoperacije u toku iste hospitalizacije

Takođe dve ispitivane grupe u našoj studiji nisu se razlikovale u odnosu na ukupne gubitke krvi, ni u odnosu na ukupnu količinu transfundovane krvi u prvih 24 sata nakon operacije indeksirane na jedinicu telesne mase.

Statistički značajna razlika nije registrovana između ispitivanih grupa u odnosu na trajanje mehaničke ventilacije i dužinu boravka u jedinici intenzivnog lečenja (JIL). Dobijeni rezultati u skladu su sa drugim objavljenim studijama<sup>15, 212</sup> koje su ispitivale efekat postkondicioniranja kod pacijenata operisanih od urođenih srčanih mana slične kompleksnosti kao u našoj seriji. Međutim, klinički rezultati imaju malu senzitivnost u identifikovanju subtilnih razlika u stepenu ishemijsko-reperfuzionog oštećenja miokarda. Zbog toga u našoj studiji klinički rezultati nisu ispitivani kao primarni ciljevi (primary end points) pošto bi ispitivanje tih varijabli zahtevalo izvođenje multicentrične studije sa velikim brojem ispitanika (nejčešće preko 1000).

Za razliku od naše studije u kojoj nije pokazan pozitivan uticaj postkondicioniranja na intenzitet inotropne potpore i inotropni skor meren u 5 vremenskih tačaka u prva 24 postoperativna sata, Luo i sar. u obe svoje studije na pedijatrijskim pacijentima registrovali su statistički značajno niži stepen inotropne potpore ( $3.5 \pm 1.7 \mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$  vs  $6.0 \pm 2.9 \mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $P = 0,017$ )<sup>15</sup> i inotropni skor ( $2.3 \pm 1.8$  vs  $4.1 \pm 2.2$  mg/min/kg,  $p = 0,03$ )<sup>212</sup>. Takođe, u studiji na odraslim pacijentima Luo i sar. izmerili su statistički značajno niži inotropni skor u PostK grupi pacijenata<sup>62</sup>. Iako inotropni skor ne predstavlja direktni pokazatelj srčane funkcije, upravo se ovaj parametar do sada najčešće koristio za kliničku procenu uspešnosti miokardne protekcije<sup>218</sup>. Značajno ograničenje upotrebe intenziteta inotropne potpore i inotropnog skora u našoj studiji predstavlja nepostajanje striktnog protokola koji bi jasno definisao sve kriterijume za upotrebu vazoaktivnih medikamentu na osnovu unapred definisanih vrednosti hemodinamskih parametara. U našoj studiji upotreba

vazoaktivnih lekova je rezultat diskrecione odluke odgovornog anesteziologa i hirurga u operacionoj sali, kao i intenziviste u jedinici intenzivnog lečenja, a samim tim je podložna subjektivnoj proceni.

Jedina operativna varijabla koja statistički značajno korelira sa vremenom trajanja mehaničke ventilacije i vremenom boravka u JIL u našoj studiji je dužina trajanja aortne kleme i kardiopulmonalnog bajpasa. Dužina ishemije je od ranije poznat snažan prediktivni faktor prolongirane mehaničke ventilacije i produženog boravka u JIL u dečjoj kardiohirurgiji<sup>219</sup> što je još jednom potvrđeno i u našoj studiji.

U našoj studiji određivana je transkardijalna razlika određenih parametara kao što su: transkardijalna razlika leukocita (%), Ph krvi, nivo glukoze, laktata i sadržaja kiseonika u 5. 10. i 20. minutu od uklanjanja aortne kleme. Ovi parametri predstavljaju neposredne ili posredne pokazatelje metabolizma miokarda kao i posredne pokazatelje funkcije endotela u najranijoj fazi reperfuzije.

Uloga neutrofila do sada je posebno isticana u patofiziologiji post-ishemijskog oštećenja u brojnim studijama<sup>220, 221</sup>. Neutrofili zajedno sa produktima neutrofila, smatraju se ključnim činiocima u oštećenju vaskularnog endotelijuma i u patogenezi nekroze. U mnogim studijama, redukcija postishemijske lezije miokarda dovođena je u vezu sa redukcijom akumulacije neutrofila i inhibicijom produkcije slobodnih kiseoničnih radikala<sup>200,222</sup>. U našoj studiji sekvestracija leukocita od strane miokarda niža je u postK grupi nego u kontrolnoj grupi u sve tri tačke merenja, sa postojanjem visoko statistički značajne razlike u 10. minutu. Dobijeni rezultati u skladu su sa brojnim studijama koje su ispitivale ishemijsko-reperfuziono oštećenje miokarda u kojima je redukcija lezije mikrocirkulacije i stepena nekroze miokarda u direktnoj vezi sa smanjenom akumulacijom i aktivacijom leukocita od strane miokarda<sup>200,198, 223</sup>.

Međutim, Sato i kolege, u eksperimentalnoj studiji na psima, procenjivali su akumulaciju neutrofila određivanjem nivoa mijeloperoksidaze (eng. myeloperoksidaza) u tkivu miokarda laboratorijskih pasa. U toj studiji pokazano je paradoksalno pojačana akumulacija neutrofila u zoni miokarda pod rizikom od nekroze (eng. *area under risk*) u grupi pasa kod kojih je primenjena etapna reperfuzija u odnosu na kontrolnu grupu kod koje je primenjena nagla reperfuzija nakon ishemije miokarda ligiranjem leve descendente koronarne arterije. Očiglednu diskrepancu u odnosu na rezultate drugih studija autor objašnjava primenjenom metodom merenja aktivnosti tkivne mijeloperoksidaze. Primenjena metoda ne može razlikovati aktivno adherirane neutrofile u odnosu na neutrofile koji se pasivno akumuliraju procesom mikroembilizacije. Ova akumulacija može da dovede do oštećenja endotela na

nivou mikrocirkulacije, ali bez istovremenog oštećenja većih krvnih sudova (conduit arteries), kao što je opisano u studiji Quillen i sar.<sup>224</sup> Iz tog razloga pored merenja apsolutnog broja akumuliranih neutrofila potrebna su i merenja aktivnosti enzima oksidativnog stresa koji posredno mogu da ukažu na stepen aktivacije akumuliranih neutrofila. To je ujedno i ograničenje naše studije.

Kardioprotektivna strategija koja se primenjuje u fazi reperfuzije mora da obezbedi protekciju protiv poznatih medijatora koji indukuju letalnu reperfuzionu leziju, kao što su: mitohondrijalni "overload" kalcijumom, aktivacija oksidativnog stresa, disfunkcija endotela i redukcija produkcije azot monoksida (NO). Brojne ekperimentalne studije pokazale su da rano otvaranje mitohondrijalnih permeabilnih tranzicionih pora (mPTP) u prvih nekoliko minuta reperfuzije kao odgovor na "Ca<sup>++</sup> overload" mitohondrija, oksidativni stres i depleciju ATP-a<sup>188</sup> leži u osnovi reperfuzionog oštećenja miokarda. Procesi prekondicioniranja<sup>225</sup> i postkondicioniranja<sup>144</sup> štite miokard inhibirajući naglo i rano otvaranje mPTP održavajući predominantno kiselu sredinu. Smatra se da etapna reperfuzija obezbeđuje postepeno ispiranje kiselih produkata metabolizma nakupljenih u fazi ishemije, a time se inhibira oksidativni stres i prevenira naglo otvaranje mPTP. Mereći razliku Ph krvi između aortnog korena i koronarnog sinusa u našoj studiji pokazali smo da se u PostK grupi acidoza duže održava i sporije opada (niže Ph vrednosti u krvi koronarnog sinusa, pozitivna razlika). Razlika ostaje značajno pozitivna i nakon 20 minuta u PostK grupi, nasuprot kontrolne grupe gde nakon 10. minuta postoji trend ka više alkalnoj sredini. Međutim, navedene razlike nisu pokazale statističku značajnost.

Porast laktata u koronarnom sinus u odnosu na aortu registrovan je u našoj studiji u obe ispitivane grupe i to u svim tačkama merenja. Detektovani porast laktata posledica je kako ispiranja nakupljenih laktata u toku ishemije tako i "de novo" produkcije laktata. Obzirom da je prvo merenje izvedeno 5 minuta nakon započinjanja reperfuzije, može se pretpostaviti da je porast koncentracije laktata u krvi koronarnog sinusa u najvećoj meri rezultat same produkcije laktata koja je direktni pokazatelj intenziteta anaerobnog metabolizma. Izuzev trenda smanjene produkcije laktata u PostK grupi između 5. i 10. minuta nismo registrovali značajni uticaj etapne reperfuzije na metabolizam laktata u ranoj fazi reperfuzije. Međutim taj trend se ne nastavlja i nakon 10. minuta. Na osnovu rezultata pojedinih studija na adultnim pacijentima brza restauracija aerobnog metabolizma može biti znak "ošamućenog" ("stunned") ali viabilnog miokarda, dok prolongirana produkcija laktata ukazuje na proces ireverzibilnog oštećenja<sup>226</sup>. Takođe studija Kaukoranta i sar.<sup>227</sup> koja je ispitivala uticaj prekondicioniranja na transkardijalnu razliku laktata nakon hirurške revaskularizacije

miokarda, nije pokazala postojanje značajne razlike između ispitivanih grupa. Jedan od nalaza pomenute studije bio je da je prekondicionirani miokard preuzimao laktate, dok je u kontrolnoj grupi zapažena produkcija laktata. Taj rezultat mogao je da bude posledica deplecije depoa glikogena u procesu prekondicioniranja, pošto je ukupni eflux laktata bio veći u ovoj grupi pacijenata. Drugo objašnjenje može biti brža restauracija oksidativnog metabolizma u grupi pacijenata izloženih prekondicioniranju. Takođe u istoj studiji nije pokazana razlika u potrošnji kiseonika od strane miokarda između dve grupe ispitanika.

Regulacija metabolizma glukoze u toku i nakon ishemije miokarda i dalje nije do kraja objašnjena<sup>228</sup>. Iako mnoge eksperimentalne studije ukazuju na promenu ćelijskog metabolizma koja se dešava u toku i nakon ishemije<sup>229, 230</sup> i dalje se nedovoljno zna o efektu ishemije na transport glukoze<sup>228</sup>. Već je dugi niz godina poznato da ishemija miokarda rezultira povećanjem glikolize i dovodi do smanjenja preuzimanja glukoze i veće produkcije laktata od strane miocita. Transkardijalna razlika glukoze u našoj studiji ukazuje na dominantno preuzimanje glukoze od strane miokarda u obe grupe ispitanika samo u ranoj fazi reperfuzije (prvih 5 minuta) bez postojanja statistički značajne razlike, nakon čega se metabolizam glukoze menja u pravcu predominantnog oslobađanja glukoze, tj. prema neutralnom bilansu. Takav nalaz je u skladu sa rezultatima eksperimentalne studije na srcima pasa u kojoj je pokazano da pored toga što ishemija uzrokuje pad u isporučivanju glukoze i smanjenje koncentracije glukoze u intersticijumu, stepen preuzimanja glukoze može da bude povećan u toku i neposredno nakon ishemije. Povećani stepen preuzimanja glukoze nastaje kao rezultat značajnog povećanja u translokaciji membranskih transportera glukoze GLUT-1 i GLUT-4 iz intracelularnih depoa prema membrani sarkoplazmatskog retikuluma.<sup>231, 232</sup> Opisani fenomen ukazuje na jasan mehanizam koji može da bude odgovoran za povećanu ekstrakciju glukoze u obe grupe ispitanika u našoj studiji u prvih pet minuta nakon ishemije.

Hemodinamski parametri koji su određivani u našoj studiji nisu pokazali značajan pozitivan efekat etapne reperfuzije. Jedini izuzetak su ukupne vrednosti serumskih laktata unutar prvih 24 časa nakon ishemije. Vrednosti laktata arterijske krvi značajno su niže u grupi pacijenata kod kojih je primenjeno postkondicioniranje u odnosu na kontrolnu grupu.

Vrednosti laktata u obe grupe ispitanika pokazale su trend značajnijeg rasta u prva četiri sata nakon ishemije, nakon čega dolazi do postepenog pada dostižući referentne vrednosti 12 sati nakon ishemije.

Veza između povišenih vrednosti serumskog laktata i loših kliničkih rezultata do sada je pokazana u mnogim stidijama kako na adultnim tako i na pedijatrijskim pacijentima<sup>233,234</sup>. Rezultati navedenih studija govore u prilog činjenici da su povišene vrednosti laktata

prediktor povišenog mortaliteta i morbiditeta<sup>235,236</sup>. U našoj studiji takva veza nije detektovana. Jedan od razloga kojim se može objasniti naš rezultat je i činjenica da maksimalne srednje vrednosti laktata u našoj studiji nisu prelazile 2,5mol/l. Dosadašnje studije koje su proučavale uticaj vrednosti laktata na postoperativni ishod pokazale su da su više vrednosti laktata, na primer koncentracije serumskog laktata između 2.0 and 4.4 mmol/L, povezane sa povišenim mortalitetom i morbiditetom<sup>237</sup>. U studiji Basaran i sar. pokazano je da koncentracije laktata preko 4,8mmol/l u najranijem postoperativnom periodu identifikuje grupu pedijatrijskih pacijenata sa povećanim rizikom od postoperativnog morbiditeta i mortaliteta<sup>238</sup>.

Durdu i saradnici<sup>206</sup> u svojoj studiji pokazali su veće vrednosti srčanog indeksa u prva dva sata nakon operacije u grupi pacijenta kod kojih je primenjeno postkondicioniranje. Međutim, u istoj studiji nije registrovana razlika u odnosu na druge hemodinamske parametre kao što su srednji pritisak u plućnoj arteriji, centralni venski pritisak i PCWP (plućni kapilarni “wedge” pritisak).

Za razliku od studije Durdu-a i sar. u našoj studiji nije pokazan statistički značajan uticaj postkondicioniranja na funkcionalni oporavak miokarda izražen preko srčanog indeks (CI) i centralne venske saturacije. U našoj studiji kao i u brojnim do sada objavljenim studijama identifikovana je snažna korelacija između promena vrednosti mešane venske saturacije i srčanog indeksa kao pokazatelja “cardiac output-a”. Na osnovu nalaza pomenutih studija centralna venska saturacija može da se tumači kao ekvivalent mešane venske saturacije<sup>239,240,241,242</sup>.

Najniže prosečne vrednosti centralne venske saturacije zabeležene između 4. i 12. postoperativnog sata u našoj seriji i ekvivalentne su nalazima drugih studija koje pokazuju najniže vrednosti srčanog indeksa upravo u toj postoperativnom fazi, sa vraćanjem srčanog indeksa na bazične vrednosti nakon 24 sata<sup>243</sup>. Takođe, i u našoj prethodnoj studiji koja je ispitala uticaj dve različite kardioprotektivne strategije registrovane su najniže prosečne vrednosti centralne venske saturacije u istom vremenskom periodu. Nagli porast vrednosti ScvO<sub>2</sub> u prvih sat vremena nakon puštanja aortne klemme zabeležen u našoj studiji u obe grupe ispitanika objašnjava se još uvek prisutnom cirkulatornom podrškom od strane ekstrakorporalne cirkulacije u fazi reperfuzije i visokim frakcijama kiseonika u gasnoj smeši oksigenatora “sweep gas”. Iz tog razloga vrednosti ScvO<sub>2</sub> u prvih sat vremena nakon ishemije nisu adekvatan pokazatelj “cardiac output”-a.

Ehokardiografski parametri koji su korišćeni u našoj studiji u cilju procene funkcije leve komore (frakciono skraćenje, vizuelna procena funkcije leve komore i MAPSE) nisu se



razlikovali u ispitivanim grupama. Međutim, ni jedna od dosadašnjih kliničkih studija koja se bavila uticajem postkondicioniranja na funkcionalni oporavak miokarda nije ni procenjivala ehokardiografske parametre. Moguće je takođe da navedeni ehokardiografski parametri nisu dovoljno senzitivni u detekciji subtilnijih promena koje su prouzrokovane postkondicioniranjem.

Posmatrajući sve ispitivane hemodinamske i ehokardiografske varijable funkcionalnog oporavka miokarda koje se odnose na funkcionalni oporavak miokarda (FS, nivo laktata, ScvO<sub>2</sub>) može se zaključiti da postkondicioniranje nije imalo značajan efekat ni na jednu od tih varijabli izuzev postoperativne koncentracije serumskog laktata. Minimalne razlike koje su registrovane u trendu promena vrednosti tih varijabli u postoperativnom periodu najverovatnije su posledica delovanja različitih “confounding” faktora, kao što su su tip urođene mane ili dužina trajanja aortne kleme.

Plazma koncentracija Troponin-a T predstavlja specifični i senzitivni marker oštećenja miokarda<sup>244</sup>. U našoj studiji potvrđena je snažna povezanost ukupnih prosečnih vrednosti oslobođenog cTnT u ranom postoperativnom periodu i inotropnog skora slično kao Froese i sar.<sup>245</sup>. Rezultati naše studije pokazali su postojanje snažne korelaciju između vrednosti cTnT i ranih kliničkih ishoda. Ti nalazi u skladu su sa rezultatima studije Imura-a i sar.<sup>218</sup>, gde je pokazana visoko statistički značajna povezanost između maksimalnih vrednosti oslobođenog cTnI u prvih 48 sati nakon operacije i trajanja inotropne, ventrilatorne potpore, kao i boravka u JIL. U našoj studiji pokazano je postojanje snažne pozitivne korelacije između trajanja aortne kleme i ukupne vrednosti oslobođenog cTnT. Naši nalazi u skladu su sa nalazima drugih studija koje su ispitivale povezanost trajanja ishemije i postoperativnih vrednosti kardiospecifičnih enzima<sup>246</sup>.

Immer i saradnici<sup>247</sup> utvrdili su da je postoperativna vrednosti cTnI preko 35ng/ml snažan prediktivni faktor pojave perioperativnih komplikacija. Takođe u studiji Bottio-a i sar.<sup>248</sup> pokazano je da maksimalno izmerene vrednosti cTnI preko 35ng/ml predstavljaju značajan prediktor ranog mortaliteta i morbiditeta, kao i izražene disfunkcije miokarda. U istoj studiji pokazano je da je kod dve trećine ispitanika sa izmerenim vrednostima cTnI preko 100 ng/ml, došlo do smrtnog ishoda u ranom postoperativnom toku.

Nivo oslobođenog kardiospecifičnog cTnT u našoj seriji nije zavisio od primenjene reperfuzije. Nasuprot tome, u svim dosadašnjim kliničkim studijama koje su ispitivale uticaj postkondicioniranja pokazano je smanjeno oslobađanje kardiospecifičnih enzima u postoperativnom periodu. U studiji Durdu i sar.<sup>206</sup> koja je sprovedena na adultnim pacijentima nakon hirurške revaskularizacije, pokazana je statistički značajna razlika u nivou

CK-MB kao i cTnI u korist pacijenata kod kojih je primenjeno postkondicioniranje u formi ponavljano klenovanja grafta. U studiji Staat i sar.<sup>18</sup> pokazano je značajno manje ukupno oslobađanje CK-MB u grupi pacijenata kod kojih je nakon perkutane angioplastike primenjeno ponavljeno naduvavanje balona u cilju trigerovanja procesa postkondicioniranja. Takođe, obe studije u pedijatrijskoj populaciji uzvedene od strane Luo i sar.<sup>212,15</sup> pokazale su značajno manje vrednosti CK-MB i cTnI u grupi pacijenata kod kojih je primenjeno ponavljano klemovanje aorte. Osnovna razlika između studija na odraslim u odnosu na studije na pedijatrijskim pacijentima bilo je vreme registrovanja međugrupne razlike u vrednostima kardio-specifičnih enzima. U pedijatrijskoj populacije te razlike bile su registrovane u prvih 4 sata nakon operacije, a u adultnoj populaciji nakon 4 sata od operacije.

Promene koncentracija cTnT u našoj studiji zavisne su od vremena, sa maksimalnim vrednostima zabeleženim 1 sat nakon ishemije. Vrednosti su se održavale na približno istom nivou i u naredna tri sata, da bi potom došlo do naglog pada. Sličan trend promena zabeležen je i u drugim studijama<sup>10,249</sup>, sa tom razlikom što u našoj studiji postoji izraženiji porast u prvih sat vremena nakon ishemije, ali i brži pad tih vrednosti nakon 4. sata. Potpuno identičan trend cTnI smo zabeležili i u našoj prethodnoj studiji koja je proučavala efekat vrste kardioplegije na oporavak miokarda u pedijatrijskoj populaciji<sup>250</sup>.

U našoj studiji nismo zabeležili statistički značajnu razliku između dve ispitivane grupe u odnosu na vrednosti glikemije. Poznato je da je incidencija hiperglikemije (>7mmol/l) nakon kardiohirurških procedura kod odojčadi i dece visoka i prema podacima različitih studija može ići čak do 90%<sup>251,252</sup>. Retrospektivne studije koje su proučavale povezanost hiperglikemije i perioperativnog morbiditeta pokazuju kontroverzne rezultate<sup>253,254,255</sup>. Naša služba prihvatila je protokol standardne kontrole glikemije, u skladu sa preporukama proisteklim iz velike randomizirane studije iz "Boston Childrens' Hospital"<sup>256</sup>. Pokazano je da precizna "tight" kontrola glikemije insulinom ne dovodi do smanjenja učestalosti postoperativnih infekcija, mortaliteta, morbiditeta i dužine boravka u JIL, ali sa druge strane povećava rizik od teške hipoglikemije (<2.2mmol/l). Međutim, postoji i značajan broj studija koje ukazuju da izražena hiperglikemija (>11mmol/l) može biti udružena sa većim postoperativnim morbiditetom i mortalitetom. Takodje, rezultati eksperimentalnih studija ukazuju da je visoka koncentracija glukoze u kardioplegičnom rastvoru udružena sa slabijom metaboličkom protekcijom miokarda<sup>257</sup>.

Izmerene vrednosti hemoglobina i hematokrita nisu se razlikovale u ispitivanim grupama u našoj seriji u prvih 12 sati nakon operacije. Međutim registrovana je statistički značajna razlika u 24. satu. Nema jasnog objašnjenja za takav fenomen pošto se dve grupe ne razlikuju

u odnosu na preoperativni hemoglobin, ukupni filtrirani volumen dobijen konvencionalnom i modifikovanom ultrafiltracijom, ukupnom drenažom i transfuzijom koncentrovanih eritrocita u prvih 24 sata nakon operacije.

## 6. ZAKLJUČAK

1. Rezultati naše studije pokazali su da etapna reperfuzija primenom tople kardioplegične reperfuzije nije superiorna u odnosu na standardnu kontinuiranu toplu krvnu kardioplegičnu reperfuziju kod odojčadi i dece nakon operacija nekompleksnih urođenih srčanih mana.
2. Brzina funkcionalnog i metaboličkog oporavka miokarda, kao i rani klinički rezultati nisu zavisili od primenjene reperfuzione tehnike.
3. Izuzev nižih prosečnih vrednosti serumskih laktata u grupi pacijenata kod kojih je primenjena etapna reperfuzija, pozitivan efekat postkondicioniranja nije registrovan u drugim parametrima korišćenim za procenu funkcije miokarda.
4. Postkondicioniranje je dovelo da smanjene sekvestracije leukocita od stane miokarda u prvih 20 minuta nakon reperfuzije što potencijalno može da umani neutrofilima indukovano oštećenje vaskularnog endotela i miocita. Značaj fenomena smanjene sekvestracije neutrofila od strane miokarda zahteva merenja transkardijalnih razlika enzima oksidativnog stresa, što može da predstavlja osnovu za dalja istraživanja.
5. Intenzitet ishemijsko-reperfuzionog oštećenja miokarda izraženog vrednostima serumskog kardiospecifičnog Troponina T u prvih 24 sata nakon ishemije nije zavisio od primenjene reperfuzijone tehnike.
6. Nivo oslobođenog kardiospecifičnog Troponina T (cTnT) zavisio je od dužine trajanja ishemije, a vrednosti cTnT ostale su značajno više u odnosu na bazične preoperativne vrednosti i 24 sata nakon ishemije.
7. Moguće je da bi značaj postkondicioniranja bio izraženiji da nismo koristili toplu krvnu kardioplegičnu reperfuziju (hot shot) koja sama po sebi predstavlja modifikaciju reperfuzije sa dokazanim smanjenjem reperfuzione povrede i boljim postoperativnim rezultatima.

## 7. SKRAĆENICE

1. <b>HS</b>	Hot shot
2. <b>PostK</b>	Postkondicioniranje
3. <b>UIPK</b>	Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje
4. <b>IPK</b>	Ishemijsko prekondicioniranje
5. <b>IPostK</b>	Ishemijsko postkondicioniranje
6. <b>CPB</b>	Kardiopulmonalni bajpas
7. <b>CABG</b>	Aorto-koronarni bajpas grafting
8. <b>LCO</b>	Low cardiac output
9. <b>MAP</b>	Srednji arterijski pritisak (eng. mean arterial pressure)
10. <b>CVP</b>	Centralni venski pritisak
11. <b>JIL</b>	Jedinica intenzivnog lečenja
12. <b>KKp</b>	Kristaloidna kardioplegija
13. <b>KrvKp</b>	Krvna kardioplegija
14. <b>Kp</b>	Kardioplegija
15. <b>ROS</b>	Reactive oxygen species
16. <b>SKR</b>	Slobodni kiseonični radikali
17. <b>NO</b>	Azot oksid (monoksid)
18. <b>PKC</b>	Protein kinaza C
19. <b>mPTP</b>	Mitohondrijalne permeabilne tranzicione pore
20. <b>FS</b>	Frakciono skraćenje
21. <b>cTnI</b>	Kardiospecifični Troponin I
22. <b>cTnT</b>	Kardiospecifični Troponin T
23. <b>ScvO<sub>2</sub></b>	Centralna venska saturacija kiseonikom
24. <b>SaO<sub>2</sub></b>	Arterijska saturacija kiseonikom
25. <b>VIS</b>	Vazoaktivni inotropni skor
26. <b>CI</b>	Srčani (cardiac) indeks
27. <b>ASD</b>	Atrijalni septalni defekt
28. <b>VSD</b>	Ventrikularni septalni defekt
29. <b>AVCP</b>	Parcijalni atrioventrikularni septalni defekt

<b>30. AVCC</b>	Kompletni atrioventrikularni septalni defekt
<b>31. CUF</b>	Konvencionalna ultrafiltracija
<b>32. MUF</b>	Modifikovana ultrafiltracija
<b>33. PM</b>	“Pace maker”
<b>34. L-D</b>	Levo-desni
<b>35. MW</b>	Mann Whitney U test
<b>36. <math>\chi^2</math></b>	Pirsinov Chi-kvadrat Test
<b>37. F</b>	Fišer test
<b>38. T</b>	Student t-test

## 8. LITERATURA

---

<sup>1</sup> Allen BS. Paediatrics myocardial protection: Where do we stand? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;128:11-13.

<sup>2</sup> Hammon JW Jr. Myocardial protection in the immature heart. *Ann Thorac Surg.* 1995;60:839-42.

<sup>3</sup> Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *Int J Cardiol* 2005;100:179-190.

<sup>4</sup> Hausenloy D, Boston-Griffiths E, Yellon D. Cardioprotection during cardiac surgery. *Cardiovasc Research* 2012; 94: 253-265

<sup>5</sup> Jacob S, Kallicourdis A, Sellke F, Dunning J. Is blood cardioplegia superior to crystalloid cardioplegia? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2008;7:491-499.

<sup>6</sup> Imura H, Caputo M, Parrz A, et al. Age-dependent and hypoxia related differences in myocardial protection during pediatric open heart surgery. *Circulation* 2001;103:1551-5.

<sup>7</sup> Doenst et al. Cardioplegia in pediatric cardiac surgery: do we believe in magic? *Ann Thorac Surg* 2003; 75:1668-77

<sup>8</sup> Modi P, Suleiman MS, Reeves B, Pawade A, Parry AJ et al. Myocardial metabolic changes during pediatric cardiac surgery: a randomized study of 3 cardioplegic technique. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;128:67-75.

<sup>9</sup> Amark K, Berggren H, Bjork K, Ekroth A, Ekroth R, et all. Blood cardioplegia provides superior protection in infant cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2005;80:989-994.

<sup>10</sup> Caputo M, Modi P, Imura H, Pawade A, Parry AJ, et all. Cold blood versus cold crystalloid cardioplegia for repair of ventricular septal defect in pediatric cardiac surgery: a randomized controlled trial. *Ann Thorac Surg* 2002;74:530-534.

- 
- <sup>11</sup> Young JN, Choy IO, Silva NK, Obayashi DY, Barkan HE. Antegrade cold blood cardioplegia is not demonstrably advantageous over cold crystalloid cardioplegia in surgery for congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;114:1002-1008.
- <sup>12</sup> Karthik S, Grayson AD, Oo AY, Fabri BM. A survey of current myocardial protection practices during coronary artery bypass grafting. *Ann R Coll Surg Engl* 2004;86:413–415
- <sup>13</sup> Kotani Y, Tweddell J, Gruber P, Pizarro C, Austin EH. Current cardioplegia practice in pediatric cardiac surgery: a North American multiinstitutional survey. *Ann Thorac Surg* 2013;96(3):923-9
- <sup>14</sup> Caputo M, Dihmis WC, Bryan AJ, Angelina GD et al. Warm blood hyperkalaemic reperfusion (hot shot) prevents myocardial substrate derangement in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardioth Surg* 1998; 13:559-64
- <sup>15</sup> Luo W, Bei L, Lin G et al. Postconditioning in cardiac surgery for tetralogy of Fallot. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;133:1373-4.
- <sup>16</sup> Skyschally A, Caster P, Iliodromatis E. Ischemic postconditioning: experimental models and protocol algorithms. *Basic Res Cardiol* 2009; 104:469-483.
- <sup>17</sup> Vinten-Johansen J. Postconditioning: a mechanical maneuver that triggers biological and molecular cardioprotective responses to reperfusion. *Heart Fail Rev* 2007;12:235-244.
- <sup>18</sup> Staat R, Rioufol G, Piot C, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005;112:2143-2148.
- <sup>19</sup> Luo W, Zhu M, Huang R et al. A comparison of cardiac post-conditioning and remote post-conditioning in paediatric cardiac surgery. *Cardiol Young* 2011; 21:266-270.
- <sup>20</sup> Granfeldt A, Lefer D, Vinten-Johansen J. Protective ischemia in patients: preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Research* 2009;83: 234-246.



- 
- <sup>21</sup> Bigelow WG, Lindsay WK, Greenwood WF: Hypothermia: Its possible role in cardiac surgery-An investigation of factors governing survival in dogs at low body temperatures. *Ann Surg* 1950;132:849.
- <sup>22</sup> Cooley DA, Beall AC, Grondin P. Open-heart operations with disposable oxygenators, 5 percent dextrose and normothermia. *Surgery* 1962; 52: 713–719.
- <sup>23</sup> Kay EB, Head LR, Nogueira C. Direct coronary artery perfusion for aortic valve surgery: Report of technique. *JAMA* 1958;168:159–164
- <sup>24</sup> Senning A. Ventricular fibrillation during extracorporeal circulation, used as a method to prevent air embolism and to facilitate intracardiac operations. *Acta Chir Scand* 1952;171: 1–79.
- <sup>25</sup> Melrose DG, Dreyer B, Bentall HH, et al: Elective cardiac arrest. *Lancet* 1955; 2:21.
- <sup>26</sup> Assad-Morell JL, Wallace RB, Elveback LR et al. Serum enzyme data in diagnosis of myocardial infarction during or early after aorta-coronary saphenous vein bypass graft operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 69:851.
- <sup>27</sup> Brewer DL, Bibbro RH, Bartel AG. Myocardial infarction as a complication of coronary bypass surgery. *Circulation* 1973;47:58.
- <sup>28</sup> Hultreg HN, Miyagawa M, Buch W et all. Ischemic myocardial injury during cardiopulmonary bypass surgery. *Am Heart J* 1973; 85:167.
- <sup>29</sup> Robert WC, Bulkley BH, Morrow AG. Pathologic anatomy of cardiac valve replacement: a study of 224 necropsy patients. *Prog Cardiovasc Dis* 1973; 15:539.
- <sup>30</sup> Cooley DA, Reul GJ, Wukasch DC. Ischemic contracture of the heart:“stone heart“. *Am J Cardiol* 1972; 29:575.

---

<sup>31</sup> Katz AM, Tada M. The “stone heart” and other challenges to the biochemist. *Am J Cardiol* 1977; 39:1073.

<sup>32</sup> Lie JT, Sun SC. Ultrastructure of ischemic contracture of the left ventricle („stone heart“). *Mayo Clin Proc* 1976; 51:785.

<sup>33</sup> Rose GA, Blackburn H. Cardiovascular survey methods. Geneva: World Health Organization, 1968, p.137.

<sup>34</sup> Caputo M, Dihmis W, birdi I et al. Cardiac troponin T and troponin I release during coronary artery surgery using cold crystalloid and cold blood cardioplegia. *Eur J Cardiothoracic Surg* 1997; 12:254.

<sup>35</sup> Mair P, Mair J, Seibt I et al. Cardiac troponin T a new marker of myocardial tissue damage in bypass surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1993; 7:674.

<sup>36</sup> Kohn TW, Hooper J, Kemp M. Intraoperative release of troponin T in coronary venous and arterial blood and its relation to recovery of left ventricle function and oxidative metabolism following coronary artery surgery. *Heart* 1998;80:341.

<sup>37</sup> Neutze JM, Drakelez MJ, Barratt-Sozes BG, Hubbert K. Serum enzymes after cardiac surgery using cardiopulmonary bypass. *Am Heart J* 1974; 88:425.

<sup>38</sup> Bretschneider HJ, Hubner G, Knoll D, et al. Myocardial resistance and tolerance to ischemia: Physiological and biochemical basis. *J Cardiovasc Surg* 1975; 16:241.

<sup>39</sup> Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV: Cellular protection during myocardial ischemia: The development and characterization of a procedure for the induction of reversible ischemic arrest. *Circulation* 1976; 54:193.

<sup>40</sup> Braimbridge MV, Chayen J, Bitensky L, et al: Cold cardioplegia or continuous coronary perfusion? *J Thorac Cardiovasc Surg* 1977; 74:900.

---

<sup>41</sup> Buckberg GD: A proposed “solution” to the cardioplegia controversy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979; 77:803.

<sup>42</sup> Follette DM, Mulder DG, Maloney JV, et al: Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion or intermittent ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1978; 76:604.

<sup>43</sup> Yellon DM, Alkhulaifi AM, Pugsley WB. Preconditioning the human myocardium. *Lancet* 1993;342:276 – 277.

<sup>44</sup> Jenkins DP, Pugsley WB, Alkhulaifi AM, Kemp M, Hooper J, Yellon DM. Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart* 1997;77:314 – 318.

<sup>45</sup> Walsh SR, Tang TY, Kullar P, Jenkins DP, Dutka DP, Gaunt ME. Ischaemic preconditioning during cardiac surgery: systematic review and meta-analysis of perioperative outcomes in randomised clinical trials. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;34:985 – 994.

<sup>46</sup> Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschtitzky JA et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002;106:2881 – 288

<sup>47</sup> Heusch G, Schulz R. Remote preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34:1279 – 1281

<sup>48</sup> Lim SY, Yellon DM, Hausenloy DJ. The neural and humoral pathways in remote limb ischemic preconditioning. *Basic Res Cardiol* 2010;105:651 – 655.

<sup>49</sup> Breivik L, Helgeland E, Aarnes EK, Mrdalj J, Jonassen AK. Remote postconditioning by humoral factors in effluent from ischemic preconditioned rat hearts is mediated via PI3K/Akt-dependent cell-survival signaling at reperfusion. *Basic Res Cardiol* 2011; 106:135 – 145

- 
- <sup>50</sup> Gunaydin B, Cakici I, Soncul H, Kalaycioglu S, Cevik C, Sancak B et al. Does remote organ ischaemia trigger cardiac preconditioning during coronary artery surgery? *Pharmacol Res* 2000;41:493 – 496. [L] [SEP]
- <sup>51</sup> Cheung MM, Kharbada RK, Konstantinov IE, Shimizu M, Frndova H, Li J et al. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:2277 – 2282.
- <sup>52</sup> Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, Harris J, Barnard M, Grundy E et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 370:575 – 579
- <sup>53</sup> Thielmann M, Kottenberg E, Boengler K, Raffelsieper C, Neuhaeuser M, Peters J et al. Remote ischemic preconditioning reduces myocardial injury after coronary artery bypass surgery with crystalloid cardioplegic arrest. *Basic Res Cardiol* 2010; 105:657 – 664.
- <sup>54</sup> Rahman IA, Mascaro JG, Steeds RP, Frenneaux MP, Nightingale P, Gosling P et al. Remote ischemic preconditioning in human coronary artery bypass surgery: from promise to disappointment? *Circulation* 2010;122:S53 – S59.
- <sup>55</sup> Karuppasamy P, Chaubey S, Dew T, Musto R, Sherwood R, Desai J et al. Remote intermittent ischemia before coronary artery bypass graft surgery: a strategy to reduce injury and inflammation? *Basic Res Cardiol* 2011;106:511 – 519.
- <sup>56</sup> Huang Z, Zhong X, Irwin MG, Ji S, Wong GT, Liu Y et al. Synergy of isoflurane preconditioning and propofol postconditioning reduces myocardial reperfusion injury in patients. *Clin Sci (Lond)* 2011;121:57 – 69
- <sup>57</sup> Kottenberg E, Thielmann M, Bergmann L, Heine T, Jakob H, Heusch G et al. Protection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass graft surgery with isoflurane but not propofol- a clinical trial. *Acta Anaesthesiol Scand* 2012;56: 30–38.

---

<sup>58</sup> Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H579–H588.

<sup>59</sup> Ovize M, Baxter GF, Di Lisa F, Ferdinandy P, Garcia-Dorado D, Hausenloy DJ et al. Postconditioning and protection from reperfusion injury: where do we stand? Position paper from the Working Group of Cellular Biology of the Heart of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 2010;87:406 – 423.

<sup>60</sup> Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Postconditioning: reduction of reperfusion-induced injury. *Cardiovasc Res* 2006;70:200 – 211

<sup>61</sup> Li B, Chen R, Huang R, Luo W. Clinical benefit of cardiac ischemic postconditioning in corrections of tetralogy of Fallot. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2009;8:17 – 21.

<sup>62</sup> Luo W, Li B, Chen R, Huang R, Lin G. Effect of ischemic postconditioning in adult valve replacement. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;33:203 – 208.

<sup>63</sup> Nayler WG, Elz JS. Reperfusion injury: laboratory artifact or clinical dilemma? *Circulation* 1986;74:215.

<sup>64</sup> Beyersdorf F, Okamoto F, Buckberg GD et al. Studies on prolonged aute regional ischemia. Implications of progression from dyskinesia to akinesia in the ischemic segment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989;80:III10.

<sup>65</sup> Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982; 66:1146.

<sup>66</sup> Patel B, Kloner RA, Przyklenk K, Braunwald E. Postischemic myocardial „stunning“: a clinically relevant phenomenon. *Ann Intern Med* 1988;108:626

<sup>67</sup> Anversa P, Cheng W, Liu Y. Apoptosis and myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* 1998;93:8.

- 
- <sup>68</sup> Gill C, Mestril R, Samali A: Losing heart. The role of apoptosis in heart disease—A novel therapeutic target? *Faseb J* 2002; 16:135.
- <sup>69</sup> Abbate A, De Falco M, Morales C, et al. Electron microscopy characterization of cardiomyocyte apoptosis in ischemic heart disease. *Int J Cardiol* 2007; 114:118.
- <sup>70</sup> Verma S, Fedak PWM, Weisel RD, et al. Fundamentals of reperfusion injury for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002; 105:2332.
- <sup>71</sup> Jennings RB, Sommers HM, Herdson PB, Kaltenbach JP. Ischemic injury of myocardium. *Ann N Y Acad Sci* 1969; 156:61.
- <sup>72</sup> Braunwald E. Myocardial reperfusion, limitation of infarct size, reduction of left ventricle dysfunction, and improved survival. Should the paradigm be expended? *Circulation* 1989; 79:441.
- <sup>73</sup> Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999; 68:1905.
- <sup>74</sup> Piper HM, Garcia-Dorado D. Prime causes of rapid cardiomyocyte death during reperfusion. *Ann Thorac Surg* 1999; 68:1913
- <sup>75</sup> Karmazyn M, Gan XT, Humphreys RA, et al. The myocardial Na(+)-H(+) exchange: Structure, regulation, and its role in heart disease. *Circ Res* 1999; 85:777.
- <sup>76</sup> Avkiran M, Marber MS. Na(+)/H(+) exchange inhibitors for cardioprotective therapy: Progress, problems and prospects. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39:747.
- <sup>77</sup> Lemasters JJ, Bond JM, Chacon E, et al. The pH paradox in ischemia-reperfusion injury to cardiac myocytes. *EXS* 1996; 76:99.

---

<sup>78</sup> Eigel BN, Hadley RW. Antisense inhibition of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange during anoxia-reoxygenation in ventricular myocytes. *Am J Physiol* 2001; 281:H2184.

<sup>79</sup> Olivetti G, Anversa P, Loud AV. Morphometric study of early postnatal development in the left and right ventricular myocardium of the rat. *Circ Res* 1980; 46:503-512.

<sup>80</sup> Legato MJ. Cellular mechanisms of normal growth in the mammalian heart. II. A quantitative comparison between the right and left ventricular myocytes in the dog from birth to five months of age. *Circ Res* 1979; 44:263-79.

<sup>81</sup> Goodwin GW et al. Substrate metabolism as a determinant for postischemic functional recovery of the heart. *Am J Cardiol* 1997; 80:3A-10A.

<sup>82</sup> Goodwin GW, Ahmad F, Doenst T et al. Energy provision for glycogen, glucose and fatty acids upon adrenergic stimulation of isolated working heart. *Am J Physiol* 1998; 275:H1239-47.

<sup>83</sup> Lopaschuk GD, Spafford MA, Marsh DR. Glycolysis is predominant source of ATP production immediately after birth. *Am J Physiol* 1991; 261:H1698-705

<sup>84</sup> Clark CMJ. Characterization of glucose metabolism in the isolated rat heart during fetal and early neonatal development. *Diabetes* 1973; 22:41-9.

<sup>85</sup> Makinde AO, Gamble J, Lopaschuck GD. Upregulation of 5'AMP-activated protein kinase is responsible for the increase in myocardial fatty acid oxygenation rates following birth in the newborn rabbit. *Circ Res* 1997; 80:482-9.

<sup>86</sup> Depre C, Shipley G, Chen W, et al. Unloaded heart in vivo replicates fetal gene expression of cardiac hypertrophy. *Nat Med* 1998;4:1269-75.

<sup>87</sup> Johnson M, Everitt B. The high concentration of glycogen in fetal cardiac muscle probably explain why the heart can maintain its contractile activity in the face of severe hypoxia. *Essential reproduction, 3<sup>rd</sup> edit., Ed.Oxford: Blackwell Scientific Publ.1988:275.*

- 
- <sup>88</sup> Lopaschick GD, Warmbolt RB, Barr RL. An imbalance between glycolysis and glucose oxydation is a possible explanation for detrimental effects of high levels of fatty acids during aerobic reperfusion of ischemic heart. *J Pharmacol Experim Therap* 1993;264:135-44.
- <sup>89</sup> Mallet RT. Pyruvate: metabolic protector of cardiac performance . *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;223:136-48.
- <sup>90</sup> Weiss JN, Lamp ST. Glycolysis preferentially inhibits ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in isolated guinea pig cardiac myocytes. *Science* 1987;238:67-9.
- <sup>91</sup> Xu KY, Zweier JL, Becker LC. Functional coupling between glycolysis and sarcoplasmatic reticulum Ca<sup>2+</sup> transport. *Circ Res* 1995;77:88-97.
- <sup>92</sup> Klitzner TS. Maturation changes in excitation-contraction coupling in mammalian myocardium. *J Am Coll Cardiol* 1991;17:218-25.
- <sup>93</sup> Pieske B, Schlotthauer K, Schattmann J, et al. Ca(2+) dependent and Ca(2+) independent regulation of contractility in isolated human myocardium. *Basic Res Cardiol* 1997; 92:75-86.
- <sup>94</sup> Boland R, Martonosi A, Tillack TW. Developmental changes in the composition and function of sarcoplasmatic reticulum. *J Biol Chem* 1974; 249:612-23.
- <sup>95</sup> Allen BS, Barth MJ, Ilbawi MN. Pediatric myocardial protection: An overview. *Sem Thorac Cardiac Surg* 2001; 13:56-72.
- <sup>96</sup> Bolling K, Kronon M, Allen BS, et al. Myocardial protection in normal and hypoxially stressed hearts: The superiority of hypocalcemic versus normocalcemic blood cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112:1193-200.
- <sup>97</sup> Bilfinger TV, Moeller JT, Kurusz M, et al. Pediatric myocardial protection in the United States: a survey of current clinical practice. *Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 40:214-8.



- 
- <sup>98</sup> Teoh KH, Mickle DAG, Weisel RD, et al. Effect of oxygen tension and cardiovascular operation on the myocardial antioxidant enzyme activities in patients in tetralogy of Fallot and aorto-coronary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992. 104:159-64.
- <sup>99</sup> Del Nido PJ, Mickle DA, Wilson GJ, et al. Inadequate myocardial protection with cold cardioplegic arrest during repair of tetralogy of Fallot. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 95:223-9.
- <sup>100</sup> Del Nido PJ, Mickle DA, Wilson GJ, et al. Evidence of myocardial free radical injury during elective repair of tetralogy of Fallot. *Circulation* 1987;76:V174-9.
- <sup>101</sup> Englander R, Cardarelli MG. Efficacy of leucocyte filters in the bypass circuit for infants undergoing cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1995. 60:S533-5.
- <sup>102</sup> Hayashi Y, Sawa Y, Nishimura M et al. Clinical evaluation of leucocyte-depleted blood cardioplegia for pediatric open heart operation. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1914-49.
- <sup>103</sup> Taegtmeier H, Roberts AFC, Rayne AEG. Energy metabolism in reperfused rat heart: return of function before normalisation of ATP content. *J Am Coll Cardiol* 1985;6:864-70.
- <sup>104</sup> Taegtmeier H. Goodwin GW, Doenst T, et al. Substrate metabolism as a determinant for postischemic functional recovery of the heart. *Am J Cardiol* 1997; 80:3A-10A.
- <sup>105</sup> Bolling SF, Olszanski DA, Bove EL, et al. Enhanced myocardial protection during global ischemia in response with 5' nucleotidase inhibitors. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;103:73-7.
- <sup>106</sup> Pridjian AK, Bove EL, Bolling SF, et al. Developmental differences in myocardial protection in response to 5' nucleotidase inhibition. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;107:520-6.
- <sup>107</sup> Artman M, Kithas PA, Wike JS, et al. Inotropic responses change during postnatal maturation in rabbits. *Am J Physiol* 1988;255:H335-42.

- 
- <sup>108</sup> Magovern JA, Pae WEJ, Waldhausen JA. Protection of the immature myocardium. An experimental evaluation of topical cooling, single dose and multi-dose administration of St Thomas' cardioplegic solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 96:408–13.
- <sup>109</sup> Baker JE, Boerboom LE, Olinger GN. Cardioplegia induced damage to ischemic immature myocardium is independent of oxygen availability. *Ann Thorac Surg* 1990; 50:934–9
- <sup>110</sup> Hozzeinzadeh T, Tchervenkov CI, Quantz M, Chiu R. Adverse effect of pre-arrest hypothermia in immature hearts: rate versus duration of cooling. *Ann Thorac Surg* 1992; 53:464–71.
- <sup>111</sup> Julia P, Young HH, Buckberg GD et al. Studies of myocardial protection in the immature heart. Improved tolerance of immature myocardium to hypoxia and ischemia by intravenous metabolism support. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 101:23–32.
- <sup>112</sup> Bove EL, Stammers AH, Gallagher KP. Protection of the neonatal myocardium during hypothermic ischemia. Effect of cardioplegia on left ventricular function in the rabbit. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 94:115–23.
- <sup>113</sup> Bigelow WG, Mustard WT, Evans JW. Some physiologic concepts of hypothermia and their application to cardiac surgery. *J Thorac Surg* 1954;28:463-80.
- <sup>114</sup> Litasova EE, Lomivorotov VN. Hypothermic protection without perfusion cooling for surgery of congenital heart defects using prolonged occlusion. *Thorax* 1988;43:201-11.
- <sup>115</sup> Rebeyka IM, Hanan SA, Borges MR et al. Rapid cooling contracture of the myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100:240–9.
- <sup>116</sup> Williams WG, Rebeyka IM, Tibshirani RJ et al. Warm induction blood cardioplegia in the infant. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100:896–901.

- 
- <sup>117</sup> Castaneda AR, Jonas RA, Mayer JE, Hanley FL. Myocardial preservation in the immature heart, In cardiac surgery of the neonate and infant, Philadelphia, WB Saunders, 1994, pp 41–53.
- <sup>118</sup> Podesser BK, Chambers DJ. *New Solutions for the Heart*. Springer- Verlag Wien 2011.
- <sup>119</sup> Buckberg G. Update on current techniques of myocardial protection. *Ann Thorac Surg* 1995;60:805-14.
- <sup>120</sup> McGowan FXJ, Coa-Dahn H, Takeuchi K, et al. Prolonged neonatal myocardial preservation with a highly buffered low-calcium solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:772-9.
- <sup>121</sup> Pearl JM, Hiramto J, Laks H, et al. Fumarate-enriched blood cardioplegia results in complete functional recovery in immature myocardium. *Ann Thorac Surg* 1994;57:1636-41.
- <sup>122</sup> Bove EL, Stammers AH. Recovery of left ventricle function after hypothermic global ischemia. Age-related differences in the isolated working rabbit heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;91:115-22.
- <sup>123</sup> Karck M, Ziemer G, Haveroch A. Myocardial protection in chronic volume-overloaded hypertrophy of immature rat hearts *Eur J Cardiothorac Surg* 1996;10:690-8.
- <sup>124</sup> Demmy TL, Biddle JS, Bennet LE, Walls JT, et al. Organ preservation solutions in heart transplantation-patterns of usage and related survival. *Ann Thorac Surg* 1997;63:262-96.
- <sup>125</sup> Hensley F, Martin D. *A Practical Approach to Cardiac Anesthesia*. 2nd Edition. Little, Brown and Company. 1995.
- <sup>126</sup> Berne R, Levy M. *Physiology*. 3rd Edition. Mosby St. Louis 1993.
- <sup>127</sup> Teoh KH, Christakis GT, Weisel RD, et al: Accelerated myocardial metabolic recovery with terminal warm blood cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 91:888.

- 
- <sup>128</sup> Buckberg GD. Update on current techniques of myocardial protection. *Ann Thorac Surg* 1995;60:805–814.
- <sup>129</sup> Teoh KH, Christakis GT, Weisel RD, Fremes SE, Mickle DAG, Romaschin AD, Harding RS, Ivanov J, Madonik M, Ross IM, McLaughlin PR, Baird RJ. Accelerated myocardial metabolic recovery with terminal warm blood cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;91:888–895.
- <sup>130</sup> Lichtenstein SV, Ashe KA, El Dalati H, et al: Warm heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 101:269.
- <sup>131</sup> Martin TD, Craver JM, Gott JP, et al: Prospective, randomized trial of retrograde warm blood cardioplegia: Myocardial benefit and neurologic threat. *Ann Thorac Surg* 1994; 57:298.
- <sup>132</sup> Hayashida N, Ikonomides JS, Weisel RD, et al: The optimal cardioplegic temperature. *Ann Thorac Surg* 1994; 58:961.
- <sup>133</sup> Zhao Z-Q, Nakamura M, Wang N-P, Velez DA, Hewan-Lowe KO, Guyton RA, et al. Dynamic progression of contractile and endothelial dysfunction and infarct extension in the late phase of reperfusion. *J Surg Res* 2000;94:1 – 12.
- <sup>134</sup> Zhao Z-Q, Velez DA, Wang N-P, Hewan-Lowe KO, Nakamura M, Guyton RA, et al. Progressively developed myocardial apoptotic cell death during late phase of reperfusion. *Apoptosis* 2001;6:279 – 90 [SEP]
- <sup>135</sup> Zhao Z-Q, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang N-P, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2003;285:579–88.

- 
- <sup>136</sup> Gumina RJ, Gross GJ. If ischemic preconditioning is the gold standard, has a platinum standard of cardioprotection arrived? Comparison with NHE inhibition. *J Thromb Thrombolysis* 1999;8: 39– 44.
- <sup>137</sup> Halkos ME, Kerendi F, Corvera JS, Wang N-P, Kin H, Payne CS, et al. Myocardial protection with postconditioning is not enhanced by ischemic preconditioning. *Ann Thorac Surg* 2004;78:961– 9.
- <sup>138</sup> Kin H, Zatta AJ, Lofye MT, Amerson BS, Halkos ME, Kerendi F, et al. Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. *Cardiovasc Res* 2005;67:124– 33.
- <sup>139</sup> Kin H, Zhao Z-Q, Sun H-Y, Wang N-P, Corvera JS, Halkos ME, et al. Postconditioning attenuates myocardial ischemia–reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004;62:74 – 85.
- <sup>140</sup> Yang X-M, Proctor JB, Cui L, Krieg T, Downey JM, Cohen MV. Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1103–10.
- <sup>141</sup> Philipp SD, Downey JM, Cohen MV. Postconditioning must be initiated in less than 1 minute following reperfusion and is dependent on adenosine receptors and P13-kinase. *Circulation* 2004;110:III-168
- <sup>142</sup> Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, Yellon DM. Postconditioning: a form of ‘‘modified reperfusion’’ protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Circ Res* 2004;95:230–2.
- <sup>143</sup> Mykytenko J, Reeves JG, Kin H, Zatta AJ, Jiang R, Guyton RA, et al. Postconditioning reduces infarct size via mitochondrial KATP channel activation during 24 hours of reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2005;38:830
- <sup>144</sup> Argaud L, Gateau-Roesch O, Raisky O, Loufouat J, Robert D, Ovize M. Post-conditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation* 2005;111:194– 7

- 
- <sup>145</sup> Engelman DT, Watanabe M, Engleman RM, Rousou JA, Flack III JE, Deaton DW, et al. Constitutive nitric oxide release is impaired after ischemia and reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110: 1047 – 53
- <sup>146</sup> Ma X-L, Weyrich AS, Lefer DJ, Lefer AM. Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium. *Circ Res* 1993;72: 403 – 12
- <sup>147</sup> Palazzo AJ, Jones SP, Anderson DC, Granger DN, Lefer DJ. Coronary endothelial P-selectin in pathogenesis of myocardial ischemia – injury. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 1998;275:H1865 – 72.
- <sup>148</sup> Weyrich AS, Ma X-L, Lefer DJ, Albertine KH, Lefer AM. In vivo neutralization of P-selectin protects feline heart and endothelium in myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Clin Invest* 1993;91: 2620 – 9
- <sup>149</sup> Zhao Z-Q, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang N-P, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postcondition- ing during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2003;285:579 – 88.
- <sup>150</sup> Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004;61: 481 – 97
- <sup>151</sup> Darling CE, Jiang R, Maynard M, Whittaker P, Vinten-Johansen J, Przyklenk K. Postconditioning via stuttering reperfusion limits myocardial infarct size in rabbit hearts: role of ERK1/2. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2005;289:H1618 – 26.
- <sup>152</sup> Yang X-M, Philipp S, Downey JM, Cohen MV. Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation. *Bas Res Cardiol* 2005;100:57 – 63
- <sup>153</sup> Tsang A, Hausenloy DJ, Macanu MM, Yellon DM. Postcondition- ing—a form of “modified reperfusion” protects the myocardium by activating the P13K-Akt pathway. *Circulation* 2004;110:III167 [Abstract].

---

<sup>154</sup> Freude B, Master TN, Robicsek F, Fokin A, Kostin S, Zimmermann R, et al. Apoptosis is initiated by myocardial ischemia and executed during reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 2000;32:197 – 208

<sup>155</sup> Gottlieb RA, Burleson KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest* 1994;94:1621 – 8

<sup>156</sup> Zhao Z-Q, Sun H-Y, Wang N-P, Kin H, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Hypoxic postconditioning attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of jnk and p38 kinases pathway. *J Mol Cell Cardiol* 2005;38:870 [Abstract]

<sup>157</sup> Penna C, Rastaldo R, Mancardi D, Raimondo D, Cappello S, Gattullo D, et al. Post-conditioning induced cardioprotection requires signaling through a redox-sensitive mechanism, mitochondrial ATP- sensitive K<sup>+</sup>channel and protein kinase C activation. *Bas Res Cardiol* 2006; 101:180-189 .

<sup>158</sup> Kin H, Lofye MT, Amerson BS, Zatta AJ, Kerendi F, Halkos ME, et al. Cardioprotection by “postconditioning” is mediated by increased retention of endogenous intravascular adenosine and activation of A2a receptors during reperfusion. *Circulation* 2004;110:III-168 [Abstract].

<sup>159</sup> Kin H, Zatta AJ, Jiang R, Reeves JG, Mykytenko J, Sorescu G, et al. Activation of opioid receptors mediates the infarct size reduction by Postconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 2005;38:827 [Abstract]

<sup>160</sup> Jeroudi MO, Hartley CJ, Bolli R. Myocardial reperfusion injury: role of oxygen radicals and potential therapy with antioxidants. [Review]. *Am J Cardiol* 1994;73:2B–7B<sup>[1]</sup><sub>[SEP]</sub>

<sup>161</sup> Lucchesi BR. Complement, neutrophils and free radicals: mediators of reperfusion injury. [Review]. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 1994;44: 420 – 32.

---

<sup>162</sup> Bolli R. Oxygen-derived free radicals and myocardial reperfusion injury: an overview. [Review]. *Cardiovasc Drugs Ther* 1991;5(Suppl 2):249 – 68.

<sup>163</sup> Herkert O, Diebold I, Brandes RP, Hess J, Busse R, Gorchach A. NADPH oxidase mediates tissue factor-dependent surface procoagulant activity by thrombin in human vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2002;105:2030 – 6

<sup>164</sup> Duilio C, Ambrosio G, Kuppusamy P, DiPaula A, Becker LC, Zweier JL. Neutrophils are primary source of O<sub>2</sub> radicals during reperfusion after prolonged myocardial ischemia. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2001;280:H2649 – 57.

<sup>165</sup> Sun H-Y, Wang N-P, Kerendi F, Halkos ME, Kin H, Guyton RA, et al. Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and intracellular Ca<sup>2+</sup> overload. *Am J Physiol* 2005;288:H1900 – 8.

<sup>166</sup> Serviddio G, Di Venosa N, Federici A, D'Agostino D, Rollo T, Prigigallo F, et al. Brief hypoxia before normoxic reperfusion (postconditioning) protects the heart against ischemia – reperfusion injury by preventing mitochondria peroxide production and glutathione depletion. *FASEB J* 2005;19:354 – 61

<sup>167</sup> Dreyer WJ, Michael LH, West MW, Smith CW, Rothlein R, Rossen RD, et al. Neutrophil accumulation in ischemic canine myocardium: Insights into time course, distribution, and mechanism of localization during early reperfusion. *Circulation* 1991;84:400 – 11.

<sup>168</sup> Cronstein BN, Levin RI, Philips M, Hirschhorn R, Abramson SB, Weissmann G. Neutrophil adherence to endothelium is enhanced via adenosine A1 receptors and inhibited via adenosine A2 receptors. *J Immunol* 1992;148:2201 – 6.

<sup>169</sup> Nakamura M, Zhao Z-Q, Clark KL, Velez DA, Guyton RA, Vinten-Johansen J. A novel



---

adenosine analog, AMP579, inhibits neutrophil activation, adherence and neutrophil-mediated injury to coronary vascular endothelium. *Eur J Pharm* 2000;397:197 – 205.

<sup>170</sup> Nolte D, Lehr HA, Messmer K. Adenosine inhibits postischemic leukocyte-endothelium interaction in postcapillary venules of the hamster. *Am J Physiol* 1991;261:H651 – 5.

<sup>171</sup> Kerendi F, Kin H, Halkos ME, Jiang R, Zatta AJ, Zhao Z-Q, et al. Remote postconditioning: brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors. *Bas Res Cardiol* 2005;100:404 – 12.

<sup>172</sup> Gross GJ. Role of opioids in acute and delayed preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 2003;35:709 – 18.

<sup>173</sup> Schultz JE, Gross GJ. Opioids and cardioprotection. *Pharmacol Ther* 2001;89:123 – 37.

<sup>174</sup> Vinten-Johansen J, Zhao Z-Q, Nakamura M, Jordan JE, Ronson RS, Thourani VH, et al. Nitric oxide and the vascular endothelium in myocardial ischemia – reperfusion injury. In: *Das DKHeart in Stress*, vol. 874. New York, NY' Annals of the New York Academy of Sciences; 1999. p. 354 – 70.

<sup>175</sup> Wang P, Zweier JL. Measurement of nitric oxide and peroxynitrite generation in the postischemic heart. Evidence for peroxynitrite-mediated reperfusion injury. *J Biol Chem* 1996;271:29223 – 30.

<sup>176</sup> Lefer DJ, Nakanishi K, Vinten-Johansen J, Ma X-L, Lefer AM. Cardiac venous endothelial dysfunction after myocardial ischemia and reperfusion in dogs. *Am J Physiol* 1992;263:H850 – 6

---

<sup>177</sup> Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ, Johnson III G, Lefer AM. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation* 1990;82:1402 – 12.

<sup>178</sup> Johnson III G, Tsao PS, Lefer AM. Cardioprotective effects of authentic nitric oxide in myocardial ischemia with reperfusion. *Crit Care Med* 1991;19:244 – 52

<sup>179</sup> Lefer DJ, Nakanishi K, Johnston WE, Vinten-Johansen J. Anti- neutrophil and myocardial protecting action of SPM-5185, a novel nitric oxide (NO) donor, following acute myocardial ischemia and reperfusion in dogs. *Circulation* 1993;88:2337 – 50.

<sup>180</sup> Pagliaro PR, Rastaldo R, Penna C, Mancardi D, Cappello S, Losano GA. Nitric oxide (NO)-cyclic guanosine monophosphate (cGMP) pathway is involved in ischemic postconditioning in the isolated rat heart. *Circulation* 2004;110:III-136

<sup>181</sup> Inagaki K, Begley R, Ikeno F, Mochly-Rosen D. Cardioprotection by e-protein kinase C activation from ischemia continuous delivery and antiarrhythmic effect of an e-protein kinase C-activating peptide. *Circulation* 2005;111:44 – 50.

<sup>182</sup> Inagaki K, Hahn HS, Dorn II GW, Mochly-Rosen D. Additive protection of the ischemic heart ex vivo by combined treatment with δ-protein kinase C inhibitor and e-protein kinase C activator. *Circulation* 2003;108:869 – 7.

<sup>183</sup> Cicconi S, Ventura N, Pastore D, Bonini P, Di Nardo P, Lauro R, et al. Characterization of apoptosis signal transduction pathways in HL- 5 cardiomyocytes exposed to ischemia/reperfusion oxidative stress model. *J Cell Physiol* 2003;195:27 – 37

<sup>184</sup> Yue T-L, Wang C, Gu J-L, Kumar S, Lee JC, Feuerstein GZ. Inhibition of extracellular signal-regulated kinase enhances ischemia/reoxygenation-induced apoptosis in cultured cardiac myocytes and exaggerates reperfusion injury in isolated perfused heart. *Circ Res*

<sup>185</sup> Bogoyevitch MA, Gillespie-Brown J, Ketterman AJ, Fuller SJ, Ben-Levy R, Ashworth A, et al. Stimulation of the stress-activated mitogen-activated protein kinase subfamilies in perfused heart. p38/RK mitogen-activated protein kinases and c-Jun N-terminal kinases are activated by ischemia/reperfusion. *Circ Res* 1996;79: 162 – 73

<sup>186</sup> Herzog WR, Vogel RA, Schlossberg ML, Edenbaum LR, Scott HJ, Serebruany VL. Short-term low dose intracoronary diltiazem administered at the onset of reperfusion reduces myocardial infarct size. *Int J Cardiol* 1997;59:21 – 7.

<sup>187</sup> Mukherjee SB, Das M, Sudhandiran G, Shaha C. Increase in cytosolic Ca<sup>2+</sup> levels through the activation of non-selective cation channels induced by oxidative stress causes mitochondrial depolarization leading to apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. *J Biol Chem* 2002;277:24717 – 27.

<sup>188</sup> Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion—a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2004;61:372 – 85.

<sup>189</sup> Gross GJ, Peart JN. KATP channels and myocardial preconditioning: an update. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2003;285:H921 – 30.

<sup>190</sup> Yao Z, Gross GJ. The ATP-dependent potassium channel: an endogenous cardioprotective mechanism. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24(Suppl 4):S28 – 34<sup>[SEP]</sup>

<sup>191</sup> Simoes C, Svensjo E, Bouskela E. Effects of cromakalim and glibenclamide on arteriolar and venular diameters and macromolecular leakage in the microcirculation during ischemia/reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;39:340 – 6.

<sup>192</sup> Wakiyama H, Cowan DB, Toyoda Y, Federman M, Levitsky S, McCully JD. Selective opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels during surgically induced myocardial ischemia decreases necrosis and apoptosis. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002;21:424

- <sup>193</sup> Gross GJ, Fryer RM. Mitochondrial K<sub>ATP</sub> channels: Triggers or distal effectors of ischemic or pharmacological preconditioning? *Circ Res* 2000;87:431 – 3
- <sup>194</sup> Oldenburg O, Cohen MV, Yellon DM, Downey JM. Mitochondrial K-ATP channels: role in cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2002;55: 429 – 37
- <sup>195</sup> Di Lisa F, Menabo R, Canton M, Barile M, Bernardi P. Opening of the mitochondrial permeability transition pore causes depletion of mitochondrial and cytosolic NAD(+) and is a causative event in the death of myocytes in postischemic reperfusion of the heart. *J Biol Chem* 2001;276:2571 – 5.
- <sup>196</sup> Griffiths EJ, Halestrap AP. Protection by cyclosporin A of ischemia/reperfusion-induced damage in isolated rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1993;25:1461 – 9
- <sup>197</sup> Bopassa J-C, Ferrera R, Gateau-Roesch O, Couture-Lepetit E, Ovize M. PI 3-kinase regulates the mitochondrial transition pore in controlled reperfusion and postconditioning. *Cardiovas Res* 2006;69:178 – 85.
- <sup>198</sup> Jordan JE, Zhao Z-Q, Sato H, Taft S, Vinten-Johansen J. Adenosine A<sub>2</sub> receptor activation attenuates reperfusion injury by inhibiting neutrophil accumulation, superoxide generation and coronary endothelial adherence. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;280:301 – 9.
- <sup>199</sup> Budde JM, Velez DA, Zhao Z-Q, Clark KL, Morris CD, Muraki S, et al. Comparative study of AMP579 and adenosine in inhibition of neutrophil-mediated vascular and myocardial injury during 24 hours of reperfusion. *Cardiovas Res* 2000;47:294 – 305.
- <sup>200</sup> Nakanishi K, Vinten-Johansen J, Lefer DJ, Zhao Z-Q, Fowler III WC, McGee DS, et al. Intracoronary l-arginine during reperfusion improves endothelial function and reduces infarct size. *Am J Physiol* 1992;263:H1650 – 8.
- <sup>201</sup> Lucchinetti E, da Silva R, Pasch T, Schaub MC, Zaugg M. Anaesthetic preconditioning but not postconditioning prevents early activation of the deleterious cardiac remodelling programme: evidence of opposing genomic responses in cardioprotection by pre- and postconditioning. *Br J Anaesth* 2005;1 – 13

- 
- <sup>202</sup> Obal D, Dettwiler S, Favoccia C, Scharbatke H, Preckel B, Schlack W. The influence of mitochondrial KATP-channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo. *Anesth Analg* 2005;101:1252 – 60.
- <sup>203</sup> Feng J, Lucchinetti E, Ahuja P, Pasch T, Perriard J-C, Zaugg M. Isoflurane postconditioning prevents opening of the mitochondrial permeability transition pore through inhibition of glycogen synthase kinase 3 $\beta$ . *Anesthesiology* 2005;103:987 – 95.
- <sup>204</sup> Chiari PC, Bienengraeber MW, Pagel PS, Krolikowski JG, Kersten JR, Warltier DC. Isoflurane protects against myocardial infarction during early reperfusion by activation of phosphatidylinositol-3-kinase signal transduction: evidence for anesthetic-induced postconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 2005;102:102 – 9.
- <sup>205</sup> Laskey WK. Brief repetitive balloon occlusions enhance reperfusion during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv* 2005;65:361 – 7.
- <sup>206</sup> Durdu S, Sirlak M, et al. The efficacies of modified mechanical post conditioning on myocardial protection for patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J Cardiothorac Surg* 2012;7:73.
- <sup>207</sup> Vinten-Johansen J, Yellon DM, Opie LH (2005) Postconditioning. A simple, clinically applicable procedure to improve revascularization in acute myocardial infarction. *Circulation* 112:2085–2088
- <sup>208</sup> Silverman NA, Kohler J, Levitsky S, et al. Chronic hypoxemia depresses global ventricular function and predisposes to the depletion of high-energy phosphates during cardioplegic arrest-implication for surgical repair of cyanotic congenital heart defects. *Ann Thorac Surg* 1984;37(4):304-8.
- <sup>209</sup> Buckberg GD. Myocardial temperature management during aortic clamping for cardiac surgery: protection, preoccupation, and perspective. *J Thorac Cradiovasc Surg* 1991;102:895-903.

- 
- <sup>210</sup> Kempsford RD; Hearse DJ. Protection of the immature heart: temperature-dependent beneficial or detrimental effect of multidose crystalloid cardioplegia in the neonatal rabbit heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990;99:269-79.
- <sup>211</sup> Jonas RA. Normothermic cardiopulmonary bypass in pediatric surgery-reply. *J Thorac Cardiovascular Surg* 2002;123:194.
- <sup>212</sup> Wanjun Luo, Bei Li, Guoqiang Lin, Ri Chen, Rima Huang. Does cardioplegia leave room for postconditioning in paediatric cardiac surgery? *Cardiol Young* 2008; 18: 282–287-
- <sup>213</sup> Follette DM, Fey K, Buckberg GD, et al. Reducing postischemic damage by temporary modification of reperfusate calcium, potassium, pH and osmolarity. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1981;82:221-38.
- <sup>214</sup> Allen BS, Okamoto F, Buckberg GD, et al. Studies of controlled reperfusion after ischemia XV. Immediate functional recovery after 6 hours of regional ischemia by careful control of conditions of reperfusion and composition of reperfusate. *J Thorac Cardiovasc Surg*.
- <sup>215</sup> Follette DM, Steed DL, Foglia RP, Fey K, Buckberg GD. Reduction of postischemic myocardial damage by maintaining arrest during initial reperfusion. *Surg Forum*. 1977;28:281-3.
- <sup>216</sup> Kronon MT, Allen BS, Rahman S, et al. Reducing postischemic reperfusion damage in neonates using a terminal warm substrate-enriched blood cardioplegic reperfusate. *Ann Thorac Surg*. 2000;70: 765-70.
- <sup>217</sup> Nomura F, Forbess JM, Mayer EJ. Effects of hot shot on recovery after hypothermic ischemia in neonatal lamb heart. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 2001;42(1):1-7.
- <sup>218</sup> Imura H, Modi P, Pawade A, Parry AJ, Suleiman MS, et al. Cardiac troponin I in neonates undergoing the arterial switch operation. *Ann Thorac Surg* 2002;74:1998-2002.

- 
- <sup>219</sup> Brown KL, Ridout DA, Goldman AP, Hoskote A, Penny DJ. Risk factors for long intensive care unit stay after cardiopulmonary bypass in children. *Crit Care Med.* 2003 Jan;31(1):28-33.
- <sup>220</sup> Mehta JL, Nichols WW, Mehta P. Neutrophils as potential participants in acute myocardial ischemia: relevance to reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1988;11:1309–16.
- <sup>221</sup> Lefer AM, Tsao PS, Lefer DJ, Ma X. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of reperfusion injury after myocardial ischemia. *FASEB J* 1991;5:2029–34.
- <sup>222</sup> Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67:1016–23.
- <sup>223</sup> Sato H, Zhao Z-Q, Vinten-Johansen J. l-arginine inhibits neutrophil adherence and coronary artery dysfunction. *Cardiovas Res* 1996;31:63–72.
- <sup>224</sup> Quillen JE, Sellke FW, Brooks LA, Harrison DG. Ischemiareperfusion impairs endothelium-dependent relaxation of coronary microvessels but does not affect large arteries. *Circulation* 1990;82:586–94.
- <sup>225</sup> Hausenloy D, Wynne A, Duchon M, Yellon D. Transient mitochondrial permeability transition pore opening mediates preconditioning-induced protection. *Circulation.* 2004;109:1714 –1717.
- <sup>226</sup> Mishima M, Kodama K, Nanto S, Hirayama A, Asada S. Serial transcardiac lactate metabolism in post-reperfused stunned myocardium in evolving myocardial infarction. *Jpn Circ J.* 1991 Sep;55(9):930-5
- <sup>227</sup> Kaukoranta P, Lepojairvi M. Normothermic Retrograde Blood Cardioplegia With or Without Preceding Ischemic Preconditioning. *Ann Thorac Surg* 1997;63:1268-74.
- <sup>228</sup> Gary D. Lopaschuk, William C. Stanley Glucose Metabolism in the Ischemic Heart. *Circulation.* 1997;95:313-315.

- 
- <sup>229</sup> Lopaschuk GD, Belke DD, Gamble J, Itoi T, Schoenke BO. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease. *Biochim Biophys Acta*. 1994;1213:263-276.
- <sup>230</sup> Neely JR, Morgan HE. Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of heart muscle. *Annu Rev Physiol*. 1974;36:413-459.
- <sup>231</sup> Young LH, Renfu Y, Russell R, Hu X, Caplan M, Ren J, Shulman GI, Sinusas AJ. Low-flow ischemia leads to translocation of canine heart GLUT-4 and GLUT-1 glucose transporters to the sarcolemma in vivo. *Circulation*. 1997;95:415-422.
- <sup>232</sup> Stanley WC, Hall JL, Stone CK, Hacker TA. Acute myocardial ischemia causes a transmural gradient in glucose extraction but not glucose uptake. *Am J Physiol*. 1992;262:H91-H96.
- <sup>233</sup> Okorie ON, Dellinger P. Lactate: biomarker and potential therapeutic target. *Crit Care Clin*. 2011;27.
- <sup>234</sup> McNelis J, Marini CP, Jurkiewicz A, Szomstein S, Simms HH, Ritter G, et al. Prolonged lactate clearance is associated with increased mortality in the surgical intensive care unit. *Am J Surg*. 2001;182(5):481-5.
- <sup>235</sup> Maillet JM. Frequency, risk factors, and outcome of hyperlactatemia after cardiac surgery. *Chest*. 2003;123(5):1361-6.
- <sup>236</sup> Zante B, Kubik M, Reichenspurner H. Lactate level as prognostic factor of mortality in patients after cardiac surgery. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2010.
- <sup>237</sup> Mak N, Iqbal S, Varennes B. Outcomes of post-cardiac surgery patients with persistent hyperlactatemia in the intensive care unit: a matched cohort study. *J Cardiothorac Surg*. 2016; 11: 33.
- <sup>238</sup> Basaran M, Sever K, Kafali E. Serum Lactate Level Has Prognostic Significance After Pediatric Cardiac Surgery. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 2006;20:43-47.



- 
- <sup>239</sup> Berridge JC. Influence of cardiac output on the correlation between mixed venous and central venous oxygen saturation. *Br J Anaesth.* 1992;69(4):409-10.
- <sup>240</sup> Samadi M, Malaki M, Ghaffari S, et al. Correlation Between Pediatric Open Heart Surgery Outcomes and Arterial-mixed Venous Oxygen Saturation Differences. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*, 2012, 4(2), 41-44.
- <sup>241</sup> Teboul J, Hamzaoui O, Xavier Monnet X. SvO<sub>2</sub> to monitor resuscitation of septic patients: let's just understand the basic physiology. *Critical Care* 2011, 15:1005.
- <sup>242</sup> Walley KR. Use of central venous oxygen saturation to guide therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184(5):514-20.
- <sup>243</sup> Wernovsky G, Wypij D, Jonas R, et al. Postoperative course and hemodynamic profile after arterial switch operation in neonates and infants. *Circulation* 1995;92:2226-35.
- <sup>244</sup> The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology committee. Myocardial infarction redefined: a consensus document of the Joint European Society/American College of Cardiology for the redefinition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2000;21:1502-13.
- <sup>245</sup> Froese NR, Sett SS, Mock T, Krahn GE. Does troponin-I measurement predict low cardiac output syndrome following cardiac surgery in children? *Crit Care Resusc* 2009;11(2):116-21.
- <sup>246</sup> Hirsch R, Dent CL, Wood MK, Huddleston CB, et al. Patterns and potential value of cardiac troponin I elevations after pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1998;65(5):1394-9.
- <sup>247</sup> Immer FF, Stocker F, Seiler AM, et al. Troponin-I for prediction of early postoperative course after pediatric cardiac surgery. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:1719-23.
- <sup>248</sup> Bottio T, Vida V, Padalino M, Gerosa G, Stellin G. Early and long-term prognostic value of Troponin-I after cardiac surgery in newborns and children. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;30:250-255.

---

<sup>249</sup> Poncelet A, Mathieu S, Moniotte S, Detaille T, et al. Cardiac and neurological assessment of normothermia/warm blood cardioplegia vs hypothermia/cold crystalloid cardioplegia in pediatric cardiac surgery: insight from a prospective randomized trial. *Eur J Cardiothorac Surg* 2011;40:1384-1391.

<sup>250</sup> Mimic B, Ilić S, Vuličević I, Milovanović V. Comparison of high glucose concentration blood and crystalloid cardioplegia in paediatric cardiac surgery: a randomized clinical trial. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 0 (2016) 1–8

<sup>251</sup> Ballweg JA, Wernovsky G, Ittenbach RF, et al. Hyperglycemia after infant cardiac surgery does not adversely impact neurodevelopmental outcome. *Ann Thorac Surg* 2007;84:2052-8.

<sup>252</sup> Polito A, Thiagarajan RR, Lausse PC, et al. Association between intraoperative and early postoperative glucose levels and adverse outcomes after complex congenital heart surgery. *Circulation* 2008;118:2235-42.

<sup>253</sup> DeCampi WM, Olsen MC, Munro HM, Felix DE. Perioperative hyperglycemia: effect on outcome after infant congenital heart surgery. *Ann Thorac Surg* 2010;89:181-5.

<sup>254</sup> Yates AR, Dyke PC II, Taeed R, et al. Hyperglycemia is a marker for poor outcome in the postoperative pediatric cardiac patient. *Pediatr Crit Care Med* 2006;7:351-5.

<sup>255</sup> Rossano JW, Taylor MD, Smith EO, et al. Glycemic profile in infants who have undergone the arterial switch operation: hyperglycemia is not associated with adverse events. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;135:739-45.

<sup>256</sup> Agus M, Steil G, Wypij D, Costello J et al. Tight Glycemic control versus standard care after Pediatric cardiac surgery. *N Engl J Med* 2012;37:1208-1219.

<sup>257</sup> Owen O, du Toit EF, Opie LH. The optimal glucose concentration for intermittent cardioplegia in isolated rat heart when added to St. Thomas Hospital cardioplegic solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;105(6):995-1006.

---

## 8. BIOGRAFIJA AUTORA

Branko Mimić rođen je u Beogradu 10. Januara 1975. godine. Završio je osnovnu školu "Veselin Masleša" i IX beogradsku gimnaziju "Mihailo Petrović-Alas" u Beogradu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je 1993. godine, a završio juna 2000. godine sa srednjom ocenom 9,89. U toku studija više puta je nagrađivan kao jedan od najboljih studenata generacije. Školske 1994/95 godine bio je stipendista fonda "Madlena Janković" zbog postignutih rezultata tokom studiranja. Od školske 1995/96 pa do kraja studija bio je stipendista fonda za "mlade talente" Ministarstva nauke Republike Srbije.

Osnovni lekarski staž obavio je na Medicinskom Fakultetu Univerziteta u Beogradu i na Univerzitetској Dečјој Klinici.

Stalni radni odnos započeo je Septembra 2001. godine na Univerzitetској Dečјој Klinici gde je radio do Novembra 2015. godine. Specijalizirao je dečju hirurgiju od 2002. godine do 2007. godine i položio specijalsitički ispit sa najvišom ocenom.

Subspecijalizaciju iz kardio-hirurgije upisao je 2010. godine na Medicinskom Fakultetu Univerziteta u Beogradu. Marta 2014. godine promovisan je u zvanje subspecijaliste kardio-hirurgije nakon odbrane rada uže specijalizacije "Uticaj uzrasta i operativne strategije na lečenje dece sa Tetralogijom Falo".

Marta 2014. godine odbranio je magistarsku tezu pod nazivom „Značaj izbora kardioplegije za metabolički i funkcionalni oporavak miokarda nakon operacija urođenih srčanih mana kod dece“ na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu.

Veće naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu održanoj 16.12.2014. godine, donelo je odluku o davanju saglasnosti na predlog teme doktorske disertacije „Značaj protekcije miokarda etapnom reperfuzijom u toku operativnog lečenja urođenih srčanih mana“. Za mentora imenovan je Prof. dr Slobodan Ilić.

Branko Mimić se usavršavao iz oblasti dečje kardio-torakalne hirurgije, transplantacije srca i ekstra-korporalne membranske oksigenacije (ECMO) u "Great Ormond Street Hospital", London, Velika Britanija, u ukupnom trajanju od dve i po godine (2009., 2011. i 2015 godina).

Od Novembra 2015.godine radi kao "Consultant paediatric and adult congenital cardiac surgeon and ECMO" u "East Midlands Congenital Heart Centre, University Hospitals of Leicester", Leicester, United Kingdom. Septembra 2017. godine je promovisan u šefa odeljenja dečje kardiohirurgije u toj bolnici.

---

Oblasti od posebnog interesovanja su mu neonatalna kardio-hirurgija, protekcija miokarda i hirurgija aorte.

U toku svoje hirurške karijere predvodio je humanitarne misije u Keniji (2016) i Indiji (2017).

Branko Mimić uspešno je prezentovao radove na brojnim domaćim i inostranim skupovima. Objavio je 14 publikacija (3 kao prvi autor i 11 kao ko-autor) u inostranim i domaćim časopisima.

Član je Srpskog Lekarskog Društva, Lekarske Komore Srbije, Evropskog udruženja kardio-torakalnih hirurga i Lekarske Komore Velike Britanije.

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a dr BRANKO Mimic

broj upisa \_\_\_\_\_

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

ZNAČAJ PROTEKCIJE MIOKARDA ETAPONOM REPERFUZIJOM  
U TOKU OPERATIVNOG LEČENJA UROĐENIH SRČANIH MANA

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 11.07.2018



Prilog 2.

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Dr BRANKO MIMIC

Broj upisa \_\_\_\_\_

Studijski program DOKTORSKE STUDIJE

Naslov rada ZNAČAJ PROTOKUDE MIDARDA ETAPNOM REPERFUZIJOM  
U TOKU OPERATIVNOG LEČENJA UROBENIH SRČANIH MANA

Mentor PROF. DR SLOBODAN LIĆ

Potpisani BRANKO MIMIC

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 11.07.2018.



## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

ZNACAJ PROTOKUJE MIOKARDA ETAPNOM REPERFUZIJOM  
U OKU OPERATIVNOG LEČENJA UPOBENJA SRČANIH MANA

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 11.07.2018

