



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



dr Milan V. Lazarević

**Uticaj sistema za vantelesni krvotok na
sistemski inflamatorni odgovor i funkciju
trombocita kod pacijenata koji se podvrgavaju
revaskularizaciji miokarda**

– Doktorska disertacija –

Tekst ove doktorske disertacije dostupan je javnosti,
u skladu sa članom 30. stav 8. Zakona o visokom obrazovanju
("Službeni glasnik RS", br. 76/2005, 100/2007 - autentično tumačenje, 97/2008,
44/2010, 93/2012, 89/2013 i 99/2014)

NAPOMENA O AUTORSKIM PRAVIMA:

Ovaj tekst se smatra rukopisom i javnosti se saopštava samo (član 7 Zakona o
autorskom i srodnim pravima, "Službeni glasnik RS", br. 104/2009, 99/2011 i
119/2012).

**Nijedan deo ove doktorske disertacije ne može se koristiti u bilo koju svrhu,
osim upoznavanja sa njenim sadržajem pre odbrane disertacije.**

Niš, 2021.god.



UNIVERSITY IN NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



dr Milan V. Lazarević

**The Effect of Extracorporeal Circulation
System on Systemic Inflammatory Response
and Platelet Function in Patients Undergoing
Myocardial Revascularization**

– Doctoral dissertation –

Niš, 2021.god.

Podaci o doktorskoj disertaciji

Mentor:

Docent dr Miloš Kostić, Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu

Naslov:

Uticaj vantelesnog krvotoka na sindrom sistemskog inflamatornog odgovora i funkciju trombocita kod pacijenata koji se podvrgavaju revaskularizaciji miokarda.

Rezime:

Iako je hirurška revaskularizacija miokarda rutina i jedan od najizvođenijih zahvata u kardiohirurgiji, komplikacije koje se javljaju za vreme i nakon operacije, poput sistemske upale i sepse, kao i krvarenja koja su posledica oštećenja funkcije trombocita, imaju velik udeo u tako visokom mortalitetu. Posebnu ulogu u tim procesima ima sistema za vantelesni krvotok. Određivanje nivoa novog biomarkera za otkrivanje infektivnih komplikacija – presepsina, sa CRP-om i formulom leukocita, samo je jedna od ovih dijagnostičkih kombinacija testova koji omogućavaju procenu imunološkog statusa kardiohirušskog bolesnika i potreba za daljim ispitivanjem i / ili terapijom pacijenata koji mogu potencijalno razviti sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS) ili sepsu. S druge strane, primena agregatometrije daje precizne podatke o funkcionalnim promenama trombocita, što omogućava adekvatno zbrinjavanje komplikacija u smislu povećanog postoperativnog krvarenja ili tromboze. U istraživanje je uključeno 100 ispitanika oba pola, 22 žene (21,6%) i 78 muškaraca (76,5%), prosečne starosti $64,63 \pm 7,48$ godina. Pacijenti su podeljeni u dve grupe u odnosu na primenu uređaja za vantelesni krvotok. Postoperativno, došlo je do smanjenja broja eritrocita ($p < 0,001$), hemoglobina ($p < 0,001$), hematokrita ($p < 0,001$), broja trombocita ($p < 0,001$), ADPHS ($p < 0,001$) i ASPI ($p < 0,05$), a povećanja broja leukocita ($p < 0,001$) i koncentracija CRP ($p < 0,001$) i presepsina ($p < 0,001$ u grupi pacijenata sa EKK, sa statističkom značajnošću

od $p < 0,001$ za sve merene promenljive. Prosečan perioperativni gubitak krvi je iznosio 1250,0 (1100,0-1700,0)ml, i nije bilo statistički značajne razlike među pacijentima sa i bez EKK ($Z=1,653$, $p=0,098$). Ozbiljno krvarenje (>1800 ml), je bilo prisutno kod 15 pacijenata (15%). u grupi gde je aplikovan sistem za vantelesni krvotok 17.64% pacijenata (9/51) je ispunjavalo kliničke kriterijume za SIRS uz povišene vrenosti presepsina od 600 pg/ml i više, dok su u drugoj grupi pacijenata 2 od 49 (4.08%) ispunila kliničke i laboratorijske kriterijume za SIRS. EKK sistem značajno utiče na razvoj SIRS-a inhibiciju funkcije trombocita kod pacijenata gde je aplikovan tokom operacije.

Naučna oblast:

Medicinske nauke

Naučna
disciplina:

Klinička medicina

Ključne reči:

SIRS, sepsa, krvarenje, kardiohirurgija, citokini

UDK:

616.127-008-089.8:616.155.2(043.3)

CERIF
klasifikacija:

B 500

Tip licence
kreativne
zajednice:

CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral
Supervisor:

Assist.prof Miloš Kostić, MD, University in Niš, Faculty of medicine

Title:

The Effect of Extracorporeal Circulation System on Systemic Inflammatory Response and Platelet Function in Patients Undergoing Myocardial Revascularization

Abstract:

Although surgical revascularization of the myocardium is routine and one of the most performed procedures in cardiac surgery, complications that occur during and after surgery, such as systemic inflammation and sepsis, as well as bleeding due to impaired platelet function, have a high share in such high mortality. The extracorporeal bloodstream system has a special role in these processes. Determination of levels of new biomarker for detection infectious complications - presepsin, with CRP and leukocyte formula, is just one of these diagnostic combinations of tests that allow assessment of the immune status of a cardiac patient and the need for further examination and / or therapy of patients who may potentially develop systemic inflammatory response syndrome (SIRS) or sepsis. On the other hand, the application of aggregometry gives precise data on the functional changes of platelets, which enables adequate care of complications in terms of increased postoperative bleeding or thrombosis. The study included 100 patients of both sexes, 22 women (21.6%) and 78 men (76.5%), mean age 64.63 ± 7.48 years. Patients were divided into two groups in relation to the use of extracorporeal blood circulation device. Postoperatively, there was a decrease in the number of erythrocytes ($p < 0.001$), hemoglobin ($p < 0.001$), hematocrit ($p < 0.001$), platelet count ($p < 0.001$), ADP HS ($p < 0.001$) and ASPI ($p < 0.05$) test, and increases in the number of leukocytes ($p < 0.001$) and the concentration of CRP ($p < 0.001$) and presepsin ($p < 0.001$ in the group of patients with ECC, with statistical significance of $p < 0.001$ for all measured variables. The average

perioperative blood loss was 1250 (1100.0-1700.0) ml, and there was no statistically significant difference between patients with and without EKK ($Z = 1,653$, $p = 0,098$) Serious bleeding ($> 1800\text{ml}$) was present in 15 patients (15 in the group where the extracorporeal circulatory system was applied, 17.64% of patients (9/51) met the clinical criteria for SIRS with elevated presepsin values of 600 pg / ml and more, while in the second group of patients 2 of 49 (4.08%) met the clinical and laboratory criteria for SIRS. The ECC system significantly affects the development of SIRS and inhibition of platelet function in patients where it was applied during surgery.

Scientific
Field:

Medical sciences

Scientific
Discipline:

Clinical medicine

Key Words:

SIRS, Sepsis, Bleeding, Cardiac surgery, Cytokines

UDC:

616.127-008-089.8:616.155.2(043.3)

CERIF
Classification:

B 500

Creative
Commons
License Type:

CC BY-NC-ND

Mojoj supruzi Zorici i ćerki Lani

Za podršku u izradi doktorske disertacije zahvaljujem se:

Doc.dr Milošu Kostiću, mom mentoru,

Doc. dr Tanji Džopalić,

Prof.dr Danilu Vojvodiću,

Prof.dr Goranu Marjanoviću,

Prof.dr Draganu Miliću, mom Direktoru,

Prof.dr Zoranu Perišiću, Direktoru UKC Niš

Prof.dr Gordani Kocić, prodekanu za postdiplomske studije,

Prof.dr Dobrili Đorđević-Stanković, Dekanu Medicinskog fakulteta u Nišu,

Medicinskim tehničarima Odeljenja za kliničku hemostazu i vantelesni krvotok

Klinike za kardiohirurgiju UKC Niš.

Mojoj porodici.

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
2.	TEORETSKE OSNOVE ISTRAŽIVANJA.....	5
2.1.	Hirurška revaskularizacija miokarda.....	5
2.1.1.	“Of pump” hirurška revaskularizacija miokarda	6
2.1.2.	Kardiopulmonalni by pass	6
2.1.3.	Oštećenja organa kao posledica ekstrakorporalne cirkulacije u toku hirurške revaskularizacije miokarda	8
2.2.	Sistemska inflamatorni odgovor na ekstrakorporalnu cirkulaciju	10
2.2.1.	Inicijacija inflamatornog odgovora.....	13
2.2.2.	Mehanizam aktivacije leukocita	14
2.2.3.	Intraćelijski proinflamatorni signalni putevi.....	16
2.2.4.	Strategija za smanjivanje imunog odgovora pacijenata podvrgnutim kardiohirurškim operacijama.....	18
2.3.	Hemostaza	19
2.3.1.	Vaskularna faza.....	19
2.3.2.	Trombocitna faza	20
2.3.3.	Koagulacija krvi.....	20
2.3.4.	Poremećaji koagulacije tokom kardiopulmonalnog baj-pasa	23
2.3.5.	Point of care testiranje hemostaznog sistema	26
2.3.6.	Uticaj preoperativne antitrombocitne terapije na povećano perioperativno i postoperativno krvarenje	29
3.	CILJ RADA.....	33
4.	HIPOTEZE	35
5.	METODOLOGIJA	37
5.1.	Statistička obrada podataka.....	39

6.	REZULTATI	41
7.	DISKUSIJA	51
8.	ZAKLJUČAK.....	59
9.	LITERATURA	60
10.	BIOGRAFIJA AUTORA	75

Lista skraćenica

ADP – adenzin difosfat

ACT – activated clotting time (aktivirano vreme koagulacije)

APTT – activated partial thromboplastin time (aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme)

ARDS – akutni respiratorni distres sindrom

AT III – antitrombin tri

BSA – (Body surface area) – površina tela

CFT – clot formation time

CK – kreatin kinaza

CRP – C reaktivni protein

CT – clotting time (vreme koagulacije)

COX – ciklooksigenaza

DDAVP – dezmozopresin-acetat

DM – dijabetes mellitus

Ecc – ekstrakorporalna cirkulacija

EF – ejekciona frakcija

EKG – elektrokardiogram

F - faktor

GP – glikoprotein

Hgb – hemoglobin

Htc - hematokrit

HIT – heparinom indukovana trombocitopenia

INR – normalizovan internacionalni odnos (*eng. international normalized ratio*)

IL - interleukin

KPB – kardiopulmonalni by pass

KV – kardiovaskularne

LAD (left anterior descending artery) – leva prednja descendenta arterija

LIMA – leva interna mamarna arterija

NSAID – nesteroidni antiinflamatorni lekovi

NO – azot monoksid

OAT – oralna antikoagulantna terapija

PAI-1 – inhibitor aktivatora plazminogena

PC – protein C

PCI – perkutana koronarna intervencija

PS – protein S

PSEP - presepsin

PRRs – (pattern recognition receptors) - receptori za prepoznavanje paterna

PT – prothrombin time (protrombinsko vreme)

POC – point of care

PVC – polivinil-hlorid

RIMA – desna interna mamarna arterija

SAD – Sjedinjene Američke Države

SIRS – sindrom sistemskog imunog odgovora

SZO – svetska zdravstvena organizacija

TAFI – trombinom aktiviran inhibitor fibrinolize

TLR 4 – toll like receptors 4 (receptori slični Tollu 4)

TM – telesna masa

TNF α – tumor nekrosis faktor alfa

TP – trombocitopenia

Tr – broj trombocita

TxA 2 – tromboksan A 2

vWF – von Willebrand faktor

ZSP – zamrznuta sveža plazma

1. UVOD

Svake godine u svetu od bolesti srca i krvnih sudova umire preko 17 miliona ljudi, što je svaki treći stanovnik. Više od trećine umrlih usled kardiovaskularnih (KV) oboljenja pripadaju osobama srednjeg životnog doba. Zahvaljujući organizovanim preventivnim merama, došlo je do smanjenja stopa mortaliteta od KV bolesti u razvijenim zemljama. Kardiovaskularne bolesti, kao najčešći uzrok smrti u svetu danas, značajan su uzrok invaliditeta, smanjenja i/ili gubitka radne sposobnosti, prevremene smrtnosti (pre 65. godina života), sa direktnim uticajem na povećanje ukupnih troškova zdravstvene zaštite^{1,2}.

U strukturi umiranja od bolesti srca i krvnih sudova, prema procenama svetske zdravstvene organizacije (SZO), ishemijska bolest srca u proseku je zastupljena sa 41%, šlog sa 32% a druge bolesti srca sa 27%. U našoj zemlji situacija je skoro obrnuta: nešto više od polovine umrlih od KV oboljenja imali su dijagnozu jedne od bolesti srca, dok je učešće šloga iznosilo 29%, a koronarne bolesti svega 19%⁴. Različita struktura KV bolesti u našoj sredini i u svetu i pretpostavka da se značajan broj umrlih od ishemijske bolesti srca krije u grupi pacijenata sa komorbiditetima je razlog da se pored umiranja od koronarne bolesti srca analizira i umiranje od kardiovaskularnih bolesti u celini³⁻⁷.

Uloga hirurga u procesu lečenja KV bolesti, pronalazi svoje značajno mesto od trenutka kada se došlo do saznanja da su obstruktivne aterosklerotske lezije na koronarnim arterijama direktno odgovorne za nastanak koronarne bolesti. Aorto-koronarni bajpas je procedura koja se sprovodi na srcu u cilju prevazilaženja suženja na krvnim sudovima koji ishranjuju srce. Rezultati sprovedenih istraživanja govore da samo na teritoriji Sjedinjenih Američkih Država (SAD) godišnje od koronarne bolesti srca oboli 1500000 bolesnika, dok se hirurška revaskularizacija miokarda uradi kod skoro svakog četvrtog bolesnika. Sličan trend zabeležen je i u zemljama Zapadne Evrope (1000 revaskularizacija na million stanovnika), dok je u našoj zemlji taj broj značajno niži (330 revaskularizacija na million stanovnika)⁸.

Iako je hirurška revaskularizacija miokarda danas najčešća hirurška procedura, sa mortalitetom od oko 1% kod elektivnih slučajeva i dalje postoji veliki strah pri hitnim operacijama pacijenata sa akutnim koronarnim sindromom⁹. Dosadašnja istraživanja upućuju da hirurška revaskularizacija miokarda već više od 50 godina predstavlja metodu izbora u lečenju većine bolesnika sa koronarnom bolešću srca. Rezultati hirurškog lečenja superiorni

su u poređenju sa empirijskom medikamentoznom terapijom, u gotovo svim ispitivanim podgrupama bolesnika. Posle sprovođenja ove hirurške procedure postiže se: duže preživljavanje, duži period bez novog infarkta miokarda posle operacije, značajno poboljšanje kvaliteta života, dok je ponovna angina pectoris reda i/ili se kasnije javlja, a radna sposobnost kod najvećeg broja operisanih je odlična. Zato je neophodno napomenuti da postoji veliki broj prednosti ranih kardiohirurških revaskularizacija uključujući ograničavanje ekspanzije infarkta, izbegavanje disfunkcije leve komore i srčane insuficijencije. Osnovna opasnost leži u ishemijsko-reperfuzionim ozledama miokarda posle revaskularizacije što može dovesti do pojave hemoragijskog infarkta sa svim svojim komplikacijama^{10,11,12}.

Klasično aorto-koronarni bajpas izvodi se u uslovima ekstrakorporalne cirkulacije (Ecc), na mirnom srcu. Kardipulmonalni bajpas (KPB) predstavlja metodu kojom se za vreme kardiohirurške intervencije zamenjuje srčana akcija i plućna cirkulacija. Osnovna uloga ove tehnike je da u toku hirurške intervencije obezbedi oksigenaciju tkiva i termoregulaciju. U tu svrhu koristi se mašina za ekstrakorporalnu cirkulaciju^{13,14}.

Kardipulmonalni bajpas omogućava da pacijentovo srce i pluća privremeno budu izdvojeni iz cirkulacije i njihova aktivnost suspendovana da bi se kardiohirurška intervencija mogla izvoditi u kontrolisanim uslovima. Od materijala za izradu sistema za vantelesni krvotok najzastupljeniji je polivinil-hlorid (PVC), ali se koriste i silikon i lateks guma. Antikoagulacija je neophodna da bi pacijent bezbedno mogao biti povezan na aparat za vantelesni krvotok tokom kardiohirurške intervencije^{15,16}. Kontakt krvi i veštačkih nebioloških površina Sistema za vantelesni krvotok dovode do aktivacije koagulacionog Sistema i formiranja ugruška u cirkulaciji u roku od nekoliko minuta u odsustvu antikoagulantnih lekova. Neadekvatna antikoagulacija u svojoj najozbiljnijoj formi dovodi do letalnog ishoda, a u blažoj formi vodi u disfunkciju bubrega ili mozga. Najčešće korišćeni antikoagulans je visokomolekularni heparin (VMH).

Uz uvođenje hirurških revaskularizacija miokarda u hiruršku praksu došlo je i do brojnih problema i dilema vezanih za efekte operacija na imuni sistem i inflamatorni odgovor, posebno u uslovima ekstrakorporalne cirkulacije. Brojnim istraživanjima pokazan je generalizovan, sistemski inflamatorni odgovor udružen sa kardiohirurškim operacijama u uslovima ekstrakorporalne cirkulacije, što povećava morbiditet i mortalitet pacijenata^{17,18,19}. U osnovi inflamatorni odgovor nastaje uglavnom kao posledica izlaganja krvi veštačkim materijalima kao i sheer stresa tokom prolaska krvi- kroz mašinu za ekstrakorporalni krvotok.

Tada dolazi do poremećaja koagulacije aktivacije leukocita i sistema komplementa kao i oslobađanja inflamatornih i vazoaktivnih supstanci u krvotok^{20,21}.

Jačina inflamatornog odgovora zavisi od više faktora: biomaterijala koji se koriste, komponenti oksigenatora, faktora vezanih za pacijenta (starost, pol, komorbiditeti) i hirurških faktora u smislu dužine operacije i hirurške tehnike. Dodatno, efekti anestetičkih agenasa koji utiču na imuni odgovor, tehnike perioperativne zaštite miokarda i korišćenje farmakoloških kardiohirurških potpora svi imaju uticaj na karakteristike i propagaciju imunog odgovora^{22,23,24}.

KPB može izazvati aktivaciju cirkulišućih neutrofila već 15 minuta nakon početka njegovog izvođenja koja podrazumeva aktivaciju citokina, derivata arahidonske kiseline, kontaktnih proteina, heparina, histamina i molekularnih paterna vezanih za oštećenje (damage associated molecular patterns -DAMPs), a ishemija stimuliše aktivaciju ćelija endotela koje dovode do rapidne ekspresije adhezionih molekula čija je posledica ekstravazacija^{25,26}.

Krvarenje tokom i posle kardiopulmonalnog bajpasa je multifaktorijalno. Naime, produženi kontakt trombocita sa plastičnim crevima sistema za vantelesni krvotok remeti njihovu funkciju, dovodi do aktivacije trombocita i koagulacione kaskade, što za konačan ishod ima trombocitopeniju za više od 30%, kao i potrošnu koagulopatiju²⁷. Kontaktna aktivacija koagulacione kaskade se dešava prilikom kontakta veštačke površine creva sa krvlju, i to pre svega aktivacijom faktora XII. Trombociti pacijenata koji se podvrgavaju kardiohirurgiji su vrlo osetljivi, jer su pacijenti po pravilu preoperativno na mono ili dvojnoj antitrombocitnoj terapiji koja inhibira njihovu funkciju i dodatno remeti perioperativnu i postoperativnu hemostazu^{28,29}.

Različiti autori su pokazali da citokini imaju krucijalan patogenetski značaj pre svega u inicijaciji a kasnije i održavanju SIRS i sepse, te bi njihovo određivanje ujedno omogućilo ranu dijagnostiku ovih poremećaja^{30,31}. Međutim, nedovoljno je poznato kao upotreba sistema za vantelesni krvotok utiče na nivo citokina urođenog (IL-1 β ; IL-6 i TNF- α) i stečenog imuniteta u smislu polarizacije imunskog odgovora u pravcu Th1 (IL-12p70 i IFN- γ), Th2 (IL-4), Th17 (IL-17) i regulatornih T ćelija (IL-10) i kako se ove izmene odražavaju na postoperativni oporavak pacijenata. Posebna pažnja se danas pridaje IL-6, za koga je pokazano da uslovljava porast koncentracije c-reaktivnog proteina (CRP-a). Solubilna forma CD14 molekula (presepsina) je takođe jedan od novije definisanih, ranih parametara sistemske inflamacije. U predloženoj studiji, određivanjem nivoa spomenutih parametara kod

pacijenata koji se podvrgavaju kardiohirurškoj intervenciji sa ili bez upotrebe sistema za vantelesni krvotok kao i postoperativnim praćenjem istih, utvrdila bi se kombinacija dijagnostičkih testova koji bi omogućili ranu identifikaciju pacijenata koji mogu potencijalno razviti SIRS ili sepsu i tako blagovremeno ukazali na eventualnu potrebu za dodatnim terapijskim delovanjem³².

U upotrebi su brojni testovi i biloški markeri koji se koriste pre, tokom i nakon kardiohirurške operacije, kako bi se stekao uvid i procenio rizik od potencijalno letalnih komplikacija izazvanih preteranom aktivacijom imunog sistema pacijenta kao i poremećajem koagulacije. S tim u vezi, od neprocenjivog je značaja pravovremena primena tih testova i njihovo tumačenje u sklopu kliničke slike pacijenata, što omogućava precizno i promptno terapijsko delovanje^{33,34}. Određivanje nivoa novog biomarkera za detekciju infektivnih komplikacija-presepsina, uz c reaktivni protein (CRP) i leukocitarnu formulu, je upravo jedna od dijagnostičkih kombinacija testova koji omogućavaju procenu imunološkog statusa kardiohirurškog pacijenta i ukazuju na eventualnu potrebu za daljim dodatnim ispitivanjima i/ili terapijskom zbrinjavanju pacijenata, koji potencijalno mogu razviti sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (енгл. *Systemic Inflammatory Response Syndrome*, SIRS) ili sepsu³⁵.

Sa druge strane, primenom impedantne agregometrije dobijaju se precizni podaci o funkcionalnim izmenama trombocita, što omogućava adekvatno zbrinjavanje komplikacija u smislu postoperativnog krvarenja ili tromboze.

Iskustva u kardiohirurgiji pokazala su da je upotreba ekstrakorporalne cirkulacije relativno bezbedna. Ipak, postoji potreba za optimizacijom KPB obzirom da populacija pacijenata postaje kompleksnija, sa izraženijim komorbiditetima i sa smanjenom fiziološkom rezervom³⁶.

2. TEORETSKE OSNOVE ISTRAŽIVANJA

2.1. Hirurška revaskularizacija miokarda

Hirurška revaskularizacija miokarda zauzela je tokom godina sve značajnije mesto u lečenju koronarnih bolesnika kroz dokazanu efikasnost kako na dužinu života tako i na poboljšanje kvaliteta života. Indikacije za koronarni bajpas mogu biti opšte i posebne. Opšte indikacije su poboljšanje preživljavanja i ukupno preživljavanje bez angine. Posebne indikacije su bolest tri koronarne arterije sa ili bez promenjene ejskione frakcije (EF). Pacijenti sa smanjenom EF udruženom sa bolešću koronarnih arterija imaju petogodišnje preživljavanje od 75% koje se uvećava do 90% ako su podvrgnuti koronarnom bajpasu ³⁷.

Kod bolesti dve koronarne arterije operacija koronarnog bajpasa povećava dugoročno preživljavanje u odnosu na konzervativni tretman. Bolest tri koronarna krvna suda može da se tretira i angioplastikom i medikamentoznom terapijom ³⁸.

Refraktorna angina rezistentna na trostruku terpaiju nitrata B blokatora i blokatora Ca kanala je još jedna indikacija za koronarni bajpas. Bolesti leve glavne koronarne arterije kod koje pacijenti imaju veliki rizik od iznenadne srčane smrti ³⁹.

Klasično aortokoronarni bajpas izvodi se u uslovima ekstrakorporalne cirkulacije, na mirnom srcu. Kao materijal za bajpas mogu da se koriste venski i arterijski graftovi. Kao venski graft najčešće se upotrebljava velika safenska vena, dok se mala safenska vena kao i vene gornjih ekstremiteta izbegavaju jer imaju dosta lošiju srednjoročnu i dugoročnu protočnost ⁴⁰. Od arterija najčešće se upotrebljava LIMA, nešto ređe desna unutrašnja mamarna arterija (RIMA) dok se arterije ruke (radijalna arterija) najređe koriste. LIMA i RIMA koriste se kao insitu konduiti sa samo jednom anastomozom dok se ostale arterije i venski graftovi koriste kao slobodni graftovi izmedju aorte i kornarnih arterija. Protočnost arterijskih graftova je bolja od venskih. Desetogodišnja protočnost LIMA ili RIMA grafta je oko 95% dok je protočnost safenskog grafta oko 50%. Vena umetnuta u arterijsku cirkulaciju gubi prohodnost usled hiperplazije i remodelovanja zida vene usled prilagođavanja na protok arterijske krvi, što se naziva arterijalizacija vene. Kasnije čak može da dodje do ateroskleroze venskog zida što može da rezultuje u krajnjem slučaju okluzijom grafta. LIMA I RIMA nisu podložne intimalnoj hiperplaziji i aterosklerozi ^{41.42}.

Studije su pokazale da kod čak 6% venskih graftova dolazi do okluzije prilikom otpuštanja iz bolnice posle hirurške revaskularizacije. Razlog za ovo leži u hiperkoagulabilnosti krvi najčešće zbog neadekvatne antiagregacione terapije ili u tehničkoj grešci kao što su savijanje grafta, torzija grafta, valvule na venskom graftu, nesrazmernost recipijentnog krvnog suda i grafta⁴³.

2.1.1. “Of pump” hirurška revaskularizacija miokarda

Upotreba mašine za Ecc nosi sa sobom brojne komplikacije, kao što su globalna miokardna ishemije, sistemski inflamatorni odgovor i problemi vezani za manipulaciju aortom. Ovi problemi posebno su izraženi kod teških bubrežnih bolesnika, sa lošom srčanom funkcijom, pa je razvijena tehnika operacija srca bez upotrebe Ecc mašine tzv of pump revaskularizacija. Postoje brojne prednosti ove metode kao što su: smanjena učestalost tromboembolija, manja cena, manji utrošak krvi, brži oporavak pacijenta, izostanak aktivacije imunološkog sistema i sistema komplemenata i fibrinolize⁴⁶.

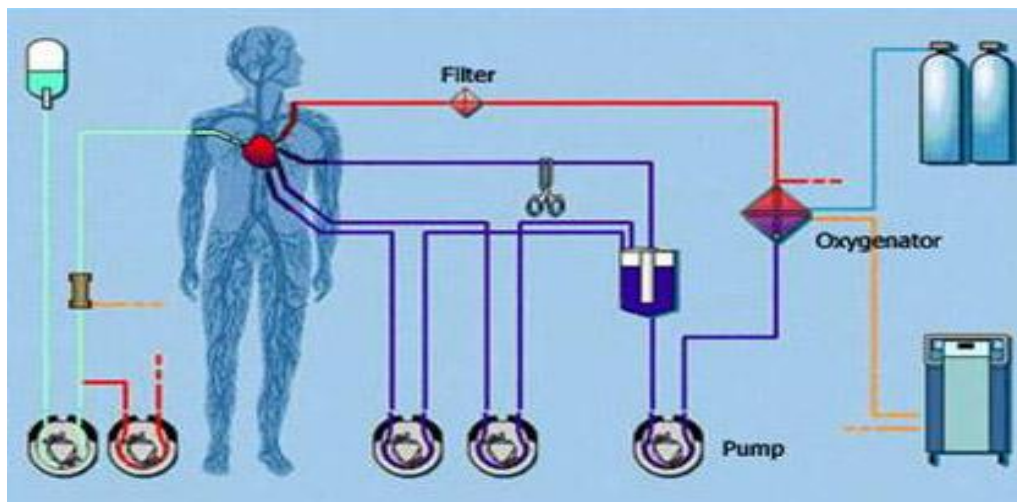
U svetu se oko 20% operacija na srcu uradi of pump tehnikom dok u nekim centrima ova metoda predstavlja vodeći način revaskularizacije miokarda. Of pump tehnika ima bolje neposredne rezultate operacije, iste srednjoročne i nešto lošije dugoročne u odnosu na on pump tehniku. Ukupna prohodnost graftova posle godinu dana iznosi 82% prema 87.8% sa on pump tehnikom. Zbog hemodinamske nestabilnosti postavlja se pitanje kompletnosti revaskularizacije i preciznosti kreiranja anastomoze. Ekspozicija koronarne arterije nije uvek moguća te se oko 11% off pump operacija konvertuje u on pump^{47.48}.

2.1.2. Kardiopulmonalni by pass

Kardiopulmonalni bajpas predstavlja metodu kojom se za vreme kardiohirurške intervencije zamenjuje srčana akcija i plućna cirkulacija. Osnovna uloga ove tehnike jeste održanje permanentnog protoka i oksigenacije krvi uz njenu hemodiluciju i termoregulaciju za vreme srčanog zastoja u toku kardiohirurške operacije. U tu svrhu koristi se mašina za ekstrakorporalnu cirkulaciju (Ecc)⁴⁹.

Kardiopulmonalni bajpas je jedna od najsloženijih medicinsko tehničkih procedura koje se vrše na čoveku. Zahvaljujući fenomenalnom razvoju medicinske tehnologije i nauke uopšte, ova ispočetka, visoko rizična procedura danas je prerasla u standardnu kliničku praksu i omogućila snažan napredak kardiohirurgije. Postoje četiri osnovna principa koja čine

ovu metodu: veštačka oksigenacija, održanje cirkulacije, regulacija temperature i postizanje hemodilucije⁵⁰. Osnovni elementi kardiopulmonalnog by pass-a prikazani su na slici 1.



Slika 1. Šematski prikaz kardiopulmonalnog by pass-a

Ova tehnika se izvodi tako što se preko kanila postavljenih u donju ili gornju šuplju venu krv, slobodnim padom sliva u rezervoar venske krvi. Iz tog rezervoara krv se dalje preko pumpe odvodi u oksigenator koji ima ulogu razmene gasova, oslobađanja viška CO₂ i oksigenacije krvi. Posle završene oksigenacije krvi sledeća faza jeste grejanje ili hlađenje krvi koje se obavlja u termoregulatoru a zatim kroz arterijski filter, arterijskom linijom krv se kroz aortu ili femoralnu arteriju vraća u organizam. Na mestu arterijske linije postoji detektor mehura koji služi kao prevencija vazdušne embolije. Za razliku od pulsatilnog kretanja krvi u fiziološkim uslovima, mašina za Ecc proizvodi kontinuirani protok. Iako postoje mogućnosti da pumpe rade slično fiziološkim uslovima, ovo je i dalje u fazi ispitivanja⁵¹.

Veštačka oksigenacija podrazumeva razmenu gasova na nivou eritrocita i dostavljanje kiseonika tkivima uz otklanjanje ugljen dioksida. Poželjan parcijalni pritisak kiseonika prema preporukama jeste 100-200 mm/Hg. Za CO₂ te vrednosti su 36-42mm/Hg. Potrebe organizma za kiseonikom se smanjuju sa telesnom temperaturom, tako da za svakih 7C° smanjene telesne temperature potrebe kiseonika se smanjuju za 50%⁵².

Održanje cirkulacije predstavlja obezbeđivanje određenog perfuzionog pritiska i protoka uz što manju traumu krvnih elemenata koja je obzirom na mehaniku rada pumpe neminovna. Potreban protok pumpe izračunava se kao formula iz BSA (Body surface area) i

cardiac indexa. Dobijena vrednost predstavlja protok pumpe koji se menja u raznim fazama operacije kako bi trenutne potrebe tkiva za kiseonikom bile obezbeđene⁵³.

Regulacija temperature potrebna je iz više razloga. Kao što je navedena smanjena telesna temperatura povlači za sobom manje potrebe tkiva za kiseonikom. Pored toga hipotermija prezervira vitalne organe i štedi energiju smanjivanjem metaboličkih procesa. Snižavanjem metaboličkih potreba tkiva smanjuje se i potreba za protokom a samim tim i oštećenje krvnih elemenata pri prolasku kroz pumpu. Pored ovih pozitivnih efekata hipotermija ima i negativne efekte u vidu redukcije imuniteta i nagomilavanju toksičnih elemenata⁵⁴.

Neke komplikovanije kardiohirurške procedure zahtevaju period cirkulatornog aresta. Uvođenje bolesnika u duboki hipotermijski cirkulatorni arest je taktički i tehnički među najkompleksnijim procedurama na čoveku uopšte. Telo bolesnika se hladi na 15-18°S i postavlja u Trendelemburgov položaj, a glava im se oblaže kesama sa ledom, već pri nazofaringealnoj temperaturi od 25°S. Nakon stajanja vantelesnog krvotoka, sv a krv se slobodnim padom preko venske linije drenira iz bolesnika u venski rezervoar^{52,55}.

Kada se zaustavi srčani rad, krv se venskim linijama sliva u rezervoar venske krvi. Kako bi se prilagodilo na vantelesnu cirkulaciju koristi se hemodilucija. Time se redukuje viskoznost i onkotski pritisak krvi. Kako bi se izbacio sav vazduh iz mašine za Ecc potrebno je da u mašini postoji osnovna količina tečnosti koja se naziva prajming. Količina prajminga određuje se iz formule 15ml/kg/TM. Kao tečnost koriste se nebalansirani i balansirani kristaloidi i koloidi⁵¹⁻⁵³.

Poželjne vrednosti hematokrita se kreću 20-25%. Ukoliko je potrebna, korekcija hematokrita vrši se transfuzijom eritrocita. Za sve vreme rada Ecc mašine potrebno je pratiti određene parametre na monitoru. To su: protok arterijske pumpe i sukcionih pumpi, praćenje O₂/HcT, gasne analize, aktivirano vreme koagulacije (ACT), diureza i cerebralna oksimetrija⁵²⁻⁵⁴.

2.1.3. Oštećenja organa kao posledica ekstrakorporalne cirkulacije u toku hirurške revaskularizacije miokarda

Hirurška revaskularizacija miokarda u uslovima ekstrakorporalne cirkulacije može biti paćena promenama i oštećenjima pojedinih organa i sistema u organizmu. Patogenetski faktori odgovorni za nastanak ovih poremećaja uključuju hemodinamske, inflamatorne i neposredne faktore⁵⁶.

Pluća predstavljaju organ koji je u uslovima Ecc možda i najviše sklon oštećenjima. Najčešća klinička manifestacija ovog poremećaja je plućna insuficijencija, dok je akutni respiratorni distress sindrom (ARDS) relativno redak. Postojeće atelektazije u plućima imaju otežanu normalizaciju ventilacije zbog postojeće sternotomije, pri čemu dolazi do smanjenog stvaranja surfaktanta i dodatnog poremećaja ventilacije. Ukoliko se javi ARDS stopa smrtonosti može biti i preko 50%⁵⁷.

Relativna ishemija pluća u uslovima Ecc može nastati usled činjenice da je snabdevanje bronhija jedini izvor arterijske krvi. Nasuprot tome, poboljšani parametri respiratornog snabdevanja povezani su sa smanjenjem koncentracija proinflamatornih medijatora interleukina 6 (IL-6) i interleukina 8 (IL-8). Takođe, istraživanja su pokazala da normalizacija bronhoalveolarne tečnosti zavisi od smanjenja broja neutrofila i proinflamatornih medijatora IL-6, IL-8, tumor nekrozis factor alfa (TNF α) i drugih⁵⁸.

Sprovedene kliničke studije pokazuju da do 30% pacijenata kod kojih je sprovedena hirurška revaskularizacija miokarda u uslovima Ecc može dobiti bubrežnu insuficijenciju, dok 1% zahteva i lečenje dijalizom. Razlog za ovakve rezultate je činjenica da mehanizmi Ecc mogu smanjiti perfuziju bubrega i više od 30%⁶⁰. Eksperimentalna istraživanja na životinjama, u okolnostima koja odgovaraju Ecc, pokazala su povezanost bubrežne insuficijencije i inflamatornih medijatora IL-18 i NF-kB kao i smanjenje oštećenja bubrega usled korišćenja antagonista endogenih vazokonstriktora⁶¹. U skladu sa ovim činjenicama porast inflamatornih parametara i medijatora inflamacije u uslovima Ecc predstavlja glavni mehanizam oštećenja bubrega⁶².

Perioperativni infarkt miokarda može biti značajan problem u uslovima Ecc i javlja se u oko 2-3% operisanih pacijenata sa hirurškom revaskularizacijom miokarda. Tokom hirurške revaskularizacije aorta je stenozirana, a srce posledično ishemično, što se smanjuje upotrebom kardioplegije. Kardio specifični protein CK-MB i troponin glavni su marker ishemičnog oštećenja srca^{63,64}.

Usled promena u hemodinamici arterija distalno od srca, kao i perifernim arterijama, upotreba Ecc može biti povezana sa poremećajem crevne perfuzije. Ovaj poremećaj pogoršava se upotrebom vazokonstriktornih agenasa i embologenog materijala, kao i postojećim ateromima u mezenterijalnim arterijama⁶⁵. Perfuzija creva može biti smanjena čak i kada su perfuzioni indeksi celog tela uredni zbog posledičnog oslobađanja vazopresina i kateholamina koji imaju negativan efekat na mezenterijalne arterije⁶⁶. Takođe, upotreba Ecc

ima negativan hipoperfuzioni efekat in a mukožu gastrointestinalnog trakta, koji zajedno sa porastim inflamacije i smanjenjem protektivne barijere može biti uzrok sindroma sistemskog imunog odgovora (SIRS). Povećana crevna propustljivost dovodi do lakšeg prodiranja bakterijskih endotoksina, dodatno povećava mogućnost nastanka SIRS-a i oštećenja ostalih organa. Oko 2-4% pacijenata ima gastrointestinalne operacije nakon uporebe Ecc, koje imaju izrazito visok mortalitet čak i od 30 %. Komplikacije oštećenja gastrointestinalnih organa mogu biti i krvarenja, peritonitisi ili crevne opstrukcije ⁶⁷.

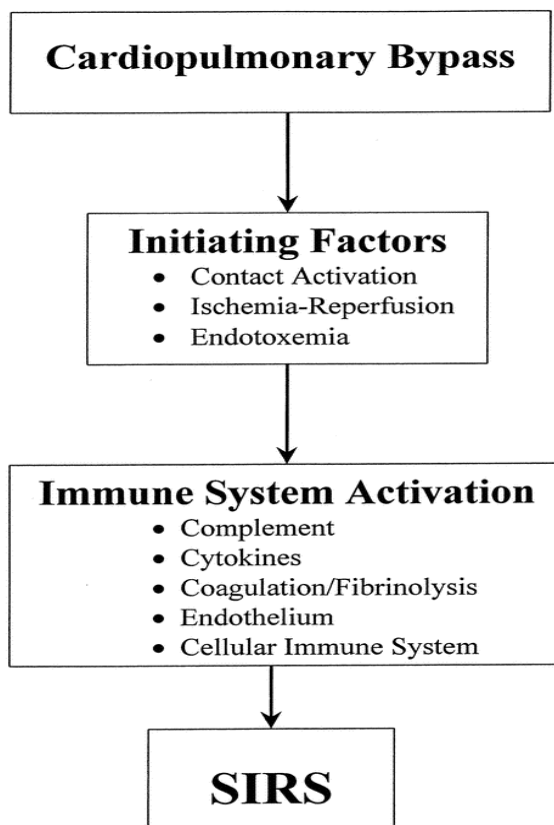
Stopa incidence moždanog udara su 2-3% kod pacijenata sa aortokoronarnim bypassom u uslovima Ecc sa povećanim rizikom kod strijih pacijenata. Mehanizam za oštećenje organa centralnog nernog sistema može biti u hipoperfuziji i povećanog trombogenog potencijala krvi tokom operacije. Porast sistemske inflamacije ne smatra se mehanizmom za nastanak oštećenja mozga ^{68,69}.

2.2. Sistemski inflamatorni odgovor na ekstrakorporalnu cirkulaciju

Inflamacija koja izvedena iz latinske reči *inflammare* znaci upaliti, podrazumeva inflamatorni odgovor organizma na infekciju ili oštećenje. Aktivacija inflamacije podrazumeva prepoznavanje iritirajućeg agensa, što je praćeno organizovanim i koordinisanim oslobađanjem pro-inflamatornih molekula i imunomodulatornih agenasa koji štite organizam od agensa. Ovi isti molekuli učestvuju u procesu zalečenja odnosno zarastanja jednom kad inflamatorni odgovor prođe ⁷⁰.

Tradicionalno postoji 5 znakova inflamacije od kojih su neki opisani još pre nove ere od strane Celzusa. To su crvenilo, otok, bol, povišena temperatura i funkcionalno oštećenje. Svi ovi simptomi inflamacije posledica su povećanog protoka krvi u regiji dejstva iritirajućeg agensa. Inflamatorni proces može da bude akutni i hronični u zavaisnosti od načina početka i trajanja. U inicijalnoj fazi inflamacije dolazi do migracije leukocia u regiju povrede i dolazi do neutralizacije inflamatornog stimulusa. Kada se to završi oštećeno tkivo počinje proces reparacije. Povratkom na fiziološke uslove dolazi do završetka procesa inflamacije. U nekim situacijama kada postoji perzistentni inflamatorni stimulus ili kada zbog nekog razloga inflamatorni odgovor nije adekvatan i spor dolazi do pojave hronične inflamacije. Primeri hronične inflamacije su inflamatorna bolest creva, artritis, vaskulitis, karcinom i ateroskleroza ⁷⁰.

Uz uvođenje hiruških revaskularizacija miokarda u hiruršku praksu došlo je i do brojnih problema i dilema vezanih za efekte operacija na imuni sistem i inflamatorni odgovor. Posebno u uslovima ekstrakorporalne cirkulacije⁵⁶. Brojnim istraživanjima pokazan je generalizovan, sistemski inflamatorni odgovor udružen sa kardiohirurškim operacijama u uslovima ekstrakorporalne cirkulacije, što povećava morbiditet i mortalitet pacijenata^{71,72}. U osnovi inflamatorni odgovor nastaje uglavnom kao posledica izlaganja krvi veštačkim materijalima kao i sheer stresa tokom prolaska krvi kroz mašinu za ekstrakorporalni krvotok. Tada dolazi do poremećaja koagulacije aktivacije leukocita i sistema komplementa kao i oslobađanja inflamatornih i vazoaktivnih supstanci u krvotok⁷³. Jačina inflamatornog odgovora zavisi od više faktora: biomaterijala koji se koriste, komponenti oksigenatora, faktora vezanih za pacijenta (starost, pol, komorbiditeti) i hirurških faktora u smislu dužine operacije i hirurške tehnike.



Slika 2. Shematski prikaz događaja koji tokom CPB mogu dovesti do SIRS-a

Nespecifični aktivatori procesa inflamacije uključuju hirurške traume, gubitak krvi ili transfuziju i hipotermiju. Uz to, CPB može specifično aktivirati upalni odgovor putem najmanje tri različita mehanizma (Slika 2). Jedan mehanizam uključuje direktnu „kontaktnu aktivaciju“ imunološkog sistema nakon izlaganja krvi stranim površinama sistema CPB.

Drugi mehanizam uključuje ishemiju - reperfuzijsku povredu mozga, srca, pluća, bubrega i jetre kao rezultat unakrsnog klemovanja aorte. Obnavljanje perfuzije po oslobađanju kleme aortne povezano je s aktivacijom ključnih činilaca upalnog odgovora.

Komplement se aktivira tokom vantelesne cirkulacije, reperfuzije tkiva i neutralizacije heparina protaminom. Izlaganje krvi stranoj površini vantelesne cirkulacije rezultira „kontaktnom“ aktivacijom kaskade komplementa, pretežno alternativnim puta. Kontakt krvi i gasova u krugu CPB takođe može igrati ulogu u aktivaciji komplementa. Nastanak kompleksa heparin-protamin aktivira kaskadu komplementa uglavnom klasičnim putem (C4a). U prvih 5 dana nakon kardiohirurgije, primećuje se drugi odloženi porast produkata aktivacije komplementa. Izgleda da ovu aktivaciju komplementa posreduje C reaktivni protein kao odgovor na heparin-protamin komplekse. Stepenn aktivacije komplementa kod pacijenata koji prolaze kroz CPB ima klinički značaj. Stepenn postoperativnog plućnog šanta korelira sa aktivacijom klasičnog puta kompleksima protamin-heparin. Postoperativni nivoi C4d – C-reaktivnog proteina, specifičnog markera za aktivaciju komplementa posredovanog C-reaktivnim proteinima, koreliraju sa incidencijom postoperativne aritmije nakon premošćenog koronarnog arterija (CABG). Postoperativne koncentracije C3a mogu predvideti verovatnoću srčane, plućne, bubrežne i hemostatske disfunkcije i verovatnoću razvoja MODS-a kod dece. Strategije koje poboljšavaju biokompatibilnost kruga CPB smanjuju indekse aktivacije komplementa i mogu smanjiti postoperativni morbiditet, posebno kod visoko rizičnih pacijenata. Anti-C5a antitelo, koje smanjuje stvaranje sC5b-9, značajno smanjuje povredu miokarda, gubitak krvi i postoperativni kognitivni deficit kod pacijenata koji prolaze kroz CPB⁷⁴.

Citokini su solubilni proteini i polipeptidi koji deluju kao parakrini glasnici imunološkog sistema, a proizvode ih veliki broj vrsta ćelija, uključujući aktivirane monocite, makrofage tkiva, limfocite i endotelne ćelije. Pojedinačni citokini mogu imati proupalni ili protivupalni efekat. Citokini su neophodni za imunološku i fiziološku homeostazu, obično su podložni strogoj homeostatskoj kontroli i stvaraju se kao odgovor na niz fizioloških i patoloških nadražaja. Proinflamatorni citokini igraju ključnu ulogu u stimulaciji upalnog procesa, s koncentracijom specifičnih citokina u plazmi, poput interleukin-1 β (IL-1 β) i interleukin-6 (IL-6), koji predviđaju ishod u određenim kritičnim grupama bolesnika. Faktor nekroze tumora α (TNF- α) i IL-1 β povišeni su rano nakon kardiohirurške intervencije, a IL-6 i IL-8 dostižu vrhunac kasnije. Iako nije dokazana direktna povezanost uzroka i posledice, povišenje proupalnih citokina snažno je povezano s nepovoljnim ishodom nakon

kardiohirurške intervencije. Pacijenti koji razviju SIRS pokazuju značajno povišenje koncentracije citokina u poređenju sa pacijentima sa nekomplikovanim tokom nakon kardiohirurške operacije⁷⁵.

Proinflamatorni odgovor citokina na kardiohirurgiju uravnotežen je faznim protivupalnim odgovorom citokina, s rastvorljivim receptorima citokina, antagonistima receptora citokina i protivupalnim citokinima koji se takođe proizvode u velikim količinama. Ključni antiinflamatorni citokini uključuju interleukin-10 (IL-10), antagonist receptora za interleukin-1 (IL-1ra), TNF solubilne receptore 1 i 2 (TNFsr 1 i 2) i transformišući faktor rasta β . IL-10 je snažni inhibitor proizvodnje TNF- α , IL-1 β , IL-6 i IL-8. Iako specifična uloga drugih antiinflamatornih medijatora ostaje nedefinisana, sugerise se da klinička prognoza nakon CPB-a može zavistiti od ravnoteže između pro i antiinflamatornih citokina.

2.2.1. Inicijacija inflamatornog odgovora

Ćelijska smrt i tkivno oštećenje su pokretači inflamacije. DAMPs imaju zajedničke karakteristike sa molekularnim paternima vezanim za patogene (pathogen associated molecular patterns - PAMPs) koji u svom sastavu imaju glikoproteine, RNK fragmente i bakterijski flagelin. DAMPs i PAMPs bivaju prepoznati od strane nekoliko porodica receptora za prepoznavanje paterna (pattern recognition receptors- PRRs) koji se nalaze u leukocitima, trombocitima, endotelnim i mezenhimalnim ćelijama^{77,78}.

Od velike važnosti su proteini udruženi sa oštećenjem (DAMP) koji se oslobađaju nakon oštećenja u kontekstu kardiohirurgije. Ovi proteini su rani promoteri imunog odgovora koji deluju preko određenih ćelijskih receptora (PRR). DAMP su molekuli proteina koji se oslobađaju prilikom neefektivnog oštećenja tkiva. Deluju na više receptora iz PRR familije kao što su: TLR, Nod like, FPR, AIM2 receptori. Ovi receptori nalaze se na cirkulišućim leukocitima i trombocitima kao i na endotelnim ćelijama. Detekcija DAMP molekula od strane receptora vodi dalje u aktivaciju intraćelijskog signalnog puta koji regulišu aktivaciju i propagaciju inflamatornog odgovora^{79, 80}.

Detekcija DAMP/PAMP molekula dovodi do aktivacije intracelularnih kaskada signalizacije koje otpočinju inflamatorni odgovor, povećavaju preživljavanje leukocita inhibicijom signala apoptoze i aktiviraju vaskularne endotelne ćelije⁸¹.

Pristup srcu kroz medijalnu sternotomiju, usled korišćenja vibracione testere i elektroauterizacije prouzrokuje oslobađanje fragmenata tkiva u cirkulaciju što dalje vodi do

inicijacije i pokretanja inflamatornog odgovora. Do odgovora dolazi kada DAMP pokrenu intraćelijski isignalni put koji u krajnjoj liniji dovodi do aktivacije Nf-kB i p38⁸².

Farmakokinetika ovih paterna u direktnoj je zavisnosti od načinja njihovog stvaranja i mehanizama njihove eliminacije iz cirkulacije. Studije pokazuju da trauma dovodi do oslobađanja mitohondrijskih DNK fragmenata u cirkulaciju što dovodi do aktivacije leukocita. Nivo cirkulišuće acelularne DNK u plazmi značajno je povećana kod teško povređenih pacijenata i visoki nivoi ovakve DNK povezuju se sa lošijim kliničkim ishodom kod ovih pacijenata⁸³.

Primeri za DAMPs su visoko mobilni protein B1 (HMGB1), čiji su nivoi u plazmi povećani više od 30 puta 1 sat nakon povrede, zatim S100 familija proteina kao i Heat Shock protein 70 (HSP70), koji se aktivira u miokardnoj ishemiji i vezuje se za PRRs. Studije pokazuju da oslobađanje ovih paterna promoviše sistemski inflamatorni odgovor nakon hirurškog zahvata⁸⁴.

DAMPs i njihovi receptori zajedno deluju unutar ćelije aktivacijom mehanizama signalizacije i upravljaju imunim odgovorom. Precizna uloga ovih paterna u kardiohirurgiji ostaje da bude detaljnije istražena. Ovi primeri ukazuju na povezanost ovih paterna sa signalnim kaskadama imunih receptora i aktivacijom transkripcionog faktora kB (NF-kB)⁸⁰.

2.2.2. Mehanizam aktivacije leukocita

Funkcija leukocita u akutnoj fazi inflamatornog odgovora je da neutrališe iritirajući agens kao što su bakterije, antigeni, ćelijski štetni produkti kako bi sprečili širenje povrede i napravili put za zarastanje. Leukociti su aktivirani lokalno i mobilisani iz kosne srži. Prvi koji odgovaraju na stimulus jesu neutrofili koji dolaze na mesto inflamacije u roku od nekoliko minuta⁸⁵. Dolaze na mesto inflamacije pod dejstvom hemotaksičnih medijatora kao što su C5a, IL 8, IFN γ i migriraju preko integrin zavisne adhezije. Neutrofili metodom opsonizacije uvlače agens i stvaraju fagocitne vakuole gde onda fagocitovan sadržaj izlažu lizozomalnim enzimima. Pored ovoga sposobni da stvore reaktivne forme molekula kiseonika kojima ubijaju infektivne ili oštećene ćelije. Nakon toga neutrofili pokreću programiranu autodestrukciju⁸⁶.

Ukupno 8% leukocitne populacije čine monociti, koji nastaju iz monoblasta kosne srži i po napuštanju cirkulacije diferenciraju u makrofage. Migriraju na mesto inflamacije unutar 8-12 sati, gde proizvode citokine, prezentuju antigene i vrše fagocitozu. Odgovorni su za stvaranje ožiljaka stvaranjem fibrinskih naslaga⁸⁷. Iz kostne srži se mobilisu i limfociti B i T

tipa. Nalaze se u cirkulaciji i perifernim limfnim organima, i u imunom odgovoru učestvuju produkujući B ćelije koje deluju kao antitela, T ćelije koje su citotoksične i pomoćne (helper) T ćelije koje imaju ulogu u signalizaciji. Limfociti igraju ključnu ulogu u stečenom imunom odgovoru oslobađanjem antitela ili direktnom celularnom citotoksičnošću. Trombociti su ćelijski fragmenti megakariocita sa životnim vekom od oko 5-9 dana. Imaju glavnu ulogu u hemostazi i inflamaciji gde uglavnom odgovaraju na oštećenje endotela. Jednom aktiviran trombocit ima važnu ulogu u inicijaciji i aktivaciji imunog odgovora sekrecijom brojnih faktora inflamacije i hemotakse⁸⁸.

Trombociti su ćelijski fragmenti prekursorskih megakariocita u kosnoj srži koji imaju životni opseg od 5-9 dana, imaju važne hemostatske i inflamatorne funkcije i predominantno reaguju na oštećenje endotela. Ima ih 10 puta više od svih drugih subpopulacija leukocita, za koje se vezuju i izazivaju proinflamatorno kotrljanje i aktivaciju⁸⁹.

Humani in-vivo modeli leukocitarne migracije izučavani su na koži. Drugi eksperimentalni životinjski modeli nisu se pokazali kao adekvatna zamena za ljudski subjekt. Koža je prirodna barijera koja čoveka štiti od štetnog uticaja okoline i sastoji se od jasno diferenciranih slojeva: površni epiderm sa membranom iznad derma sastoji se od nepropustljivog sloja mrtvih ćelija na površini (stratum corneum). Ostatak epiderma je relativno avaskularan a krvlju se snabdeva preko kapilara iz derma^{90,91}. Model „kožnog prozora“ korišćen je ispitivanje migracije leukocita: uklanjanjem spoljašnjeg sloja epiderma, ispituje se izlazak leukocita iz ovog sloja tkiva. U ranim studijama korišćen je skalpel za uklanjanje stratum corneuma, postavljano staklo na leziju na koži i kasnije je ispitivana adherencija leukocita za staklo. Druge tehnike uključuju korišćenje bušilice za stvaranje kožnih abrazija i lepljive trake koja izaziva superficijalne lezije. Ipak, bilo je teško standardizovati ove tehnike zbog reprodukcije veličine i dubine lezija kao i zbog komplikacija vezanih za krvarenje. Alternativne metode podrazumevale su formiranje kožnog mehura korišćenjem mehaničkih i farmakoloških sredstava koje izazivaju odvajanje epiderma od derma. Aplikacija naprava koje vrše sukciju negativnim pritiskom omogućavala je prikupljanje tečnosti iz mehura, ali je bila traumatična za tkivo i moguće je bilo sakupiti male količine tečnosti^{92,93}.

Eksperimentalno, može se koristiti kod ljudi a ispitivanje leukocitarne migracije i produkcije citokina u koži. Ova tehnika prethodno je verifikovna kao validna za analizu inflamatornog odgovora na standardni kardiopulmonalni bajpas i antiinflamatornih intervencija poređenjem kožnih mehurova kod pacijenata koji primaju aprotinin u odnosu na

pacijente kojima je administriran fiziološki rastvor kao i za definisanje promena u ekspresiji receptora na površini ćelija. Ovakav pristup koristan je u istraživanju, razvoju i validaciji alternativnih antiinflamatornih strategija vezanih za hirurgiju^{94,95}.

2.2.3. Intraćelijski proinflamatorni signalni putevi

Intraćelijski proinflamatorni signalni putevi predstavljaju sledeću kaskadu nakon veživanja DAMP fragmenata za receptore na ćelijama. Inflamacija je kontrolisana glavnim intracelularnim putevima kao što su, ROS, p38 MAP kinaze i NF-kB^{96,97}.

Reaktivne kiseonici supstance (ROS) nastaju kao nus produkt oksidativne fosforilacije i imaju važnu ulogu kao signalni medijatori za celularne puteve kontrole transkripcije, proliferacije i apoptoze. U visokim koncentracijama vode u proteinsku oksidaciju i oštećenje DNK, dok u niskim funkcionišu kao signalni molekuli. Poluživot ROS-a je kratak i inaju ograničen dometu uticaja u ćeliji^{98,99}. P38 MAP kinaze regulišu različite fiziološke procese. Tri glavne vrste učestvuju u intraćelijskoj signalizaciji, EPK, C-jun i p38. P38 MAP može da bude aktiviran različitim stimulusima uključujući i stress 100. Nf-kB je centralni regulator ekspresije inflamacije, ćelijske proliferacije i apoptoze. Postoje dva puta aktivacije Nf-kB, klasični i alternativni. Aktivacija Nf-kB može biti kako proinflamatorno tako i antiinflamatorno usmerena. Nf-kB poboljšava ekspresiju adhezivnih molekula preko E-selektina, VCAM 1 i VCAM 2 za vreme akutne inflamacije. Sinteza proinflamatornih citokina kao što su TNF α , IL 1, IL6, IL8 je takođe regulisana Nf-kB. Međutim ne postoje podaci u literaturi o aktivaciji Nf-kB za vreme kardiohirurške operacije^{101,102}. Ovi intraćelijski signalni putevi su kompleksni i međusobno se funkcionalno preklapaju i interaguju. ROS recimo, poboljšava aktivaciju Nf-kB i p38 MAP kinaze. Preživljavanje neutrofila je olakšano pomoću p38 MAP kroz Nf-kB. Nf-kB može da bude aktiviran putem p38 MAP kinaze preko RelA fosforilacije^{103,104}.

Uzimajući u obzir da većina ćelija imunskog sistema međusobno komunicira i ujedno ostvaruje svoje efektorske funkcije posredstvom solubilnih medijatora-citokina i hemokina, određivanje njihovih nivoa bi imalo potencijalni značaj u definisanju imunskog profila pacijenata sklonih razvoju postoperativnih komplikacija. Različiti autori su pokazali da citokini imaju krucijalni patogenetski značaj pre svega u inicijaciji, a kasnije i održavanju SIRS-a i sepse, te bi njihovo određivanje ujedno omogućilo ranu dijagnostiku ovih poremećaja.

Međutim, nedovoljno je poznato kako upotreba sistema za vantelesni krvotok utiče na nivo citokina urođenog (IL-1 β ; IL-6 i TNF- α) i stečenog imuniteta u smislu polarizacije imunskog odgovora u pravcu Th1(IL-12p70 i IFN- γ), Th2 (IL-4), Th17 (IL-17) i regulatornih T ćelija (IL-10) i kako se ove izmene odražavaju na postoperativni oporavak pacijenata.

Kardiohirurgija s kardiopulmonalnim bajpasom (CPB) izaziva sistemski inflamatorni odgovor izlučivanjem citokina. Promene u koncentraciji citokina u serumu imaju važan prognostički značaj. Perioperativno izlučivanje citokina rezultat je brojnih procesa koji se javljaju tokom kardiohirurške intervencije s CPB-om: imunomodulatorni efekti anestezije i perioperativno primenjeni lekovi, oštećenje tkiva, kontaktna aktivacija krvi s ne-endotelnim površinama vantelesne cirkulacije cevi, hipertermija tokom zagrevanja, razvoj srčane ishemije s naknadnom reperfuzijskom povredom itd. Pretpostavlja se da je upalni odgovor koji je i dalje prisutan nakon kardiohirurških operacija kumulativni efekat gore navedenih faktora na imunološki sistem. Tumačenje ovih promena može biti komplikovano promenama u ravnoteži tečnosti. Naime, kardiohirurški zahvati praćeni su velikim pomacima tečnosti perioperativno. Hemodilucija je standardna praksa tokom CPB-a. Izražena hemodilucija javlja se na početku CPB-a i rezultira umerenim (>25%) do ozbiljnim (<20%) smanjenjem vrednosti hematokrita kod pacijenata.

Izveštaji o oslobađanju citokina tokom operacije premošćenja koronarne arterije (CABG) sa CPB-om dali su oprečne rezultate. Opisana je varijabilna detekcija određenih citokina nakon operacije CABG, kao i o razlike u vremenskom toku za maksimalne nivoe izmerenih citokina. Brojni su razlozi za ove razlike: vreme uzorkovanja, osetljivost na analizu, cirkadijalne varijacije u otpuštanju citokina, kratki poluživot TNF- α i IL-1 β , pa svi mogu uticati na merenje željenih parametara tokom operacije CABG ^{105,106}.

Interferon (IFN) -gama igra glavnu ulogu u regulaciji imunološkog odgovora nakon hirurške traume. Sintetišu ga T-helper (TH 1) limfociti. Budući da IFN-gama stimuliše ekspresiju antigena leukocita-DR (HLA-DR) i proizvodnju interleukina-12 (IL-12) od strane monocita i makrofaga i inhibira TH2 limfocite da sintetišu IL-4 i IL-5, takođe pomaže u regulaciji ravnoteže između nespecifičnog imunoloških odgovora (monociti i makrofagi) i specifičnog imunološkog odgovora (TH limfociti). Smanjenje nivoa IFN-gama u serumu dokumentovano je kod pacijenata nakon kardiohirurške intervencije sa kardiopulmonalnim baj-pasem (CPB) kao i pacijenti sa sepsom. Smanjena sinteza IFN-gama se stoga predstavlja

kao uzrok promene imunološke funkcije (imunosupresija, disregulacija imunološkog sistema) nakon kardiohirurške intervencije koja predisponira postoperativne komplikacije.

Interleukin-12 stimuliše ne samo sintezu IFN-gama pomoću TH1 limfocita, ali i diferencijaciju naivnih TH limfocita u INF-gama produkujuće TH1 ćelije¹⁰⁷.

2.2.4. Strategija za smanjivanje imunog odgovora pacijenata podvrgnutim kardiohirurškim operacijama

Obzirom na mehanizam imunološkog odgovora, generalno postoje četiri ciljna mesta preko kojih se može uticati na imunološki odgovor za vreme kardiohirurške operacije u uslovima ekstrakorporalne cirkulacije: putem molekula koji se oslobađaju prilikom tkivnog oštećenja (DAMP), ciljanjem DAMP receptora preko TLR antagonista ili FPR-a, modulacijom intraćelijskih signalnih puteva i modulacijom leukocitne migracije.

Smanjenje tkivnog oštećenja i stvaranje DAMP molekula postiže se smanjenjem invazivnosti operacije, skraćivanjem vremena operacije, kao i favorizovanjem “off pump” hirurgije koja je u moderno doba olakšana poboljšanjem hirurške tehnike i primenom brojnih stabilizacijskih uređaja koji omogućavaju lakše kreiranje anastomoze. Međutim ova tehnika zahteva dobro obučeni i uigrani tim obzirom na hemodinamski nepovoljan položaj srca za vreme operacije. Isključivanje pluća iz cirkulacije za vreme operacije je još jedan od mehanizama nastanka molekula tkivnog oštećenja nastalog kao posledica odsustva ventilacije i relativne ishemije plućnog tkiva. Opisane se brojne tehnike koje umanjuju ovo plućno oštećenje, Drew-Adresonova tehnika kanulacije omogućava održanje perfuzije pluća tako da se ona ponašaju kao fiziološki oksigenator čime se umanjuje oslobađanje proinflammatoryh citokina. Kontinuirano ventilirani pacijenti imaju postoperativno bolje očuvanu plućnu komplijansu¹⁰⁸.

Još jedan koncept smanjivanja tkivnog oštećenja predstavlja minijaturizovani kardiopulmonalni bajpas. To je skup protokola o sprovođenju ekstrakorporalne cirkulacije. Taj koncept podrazumeva sledeće: poboljšana efikasnost uređaja sa gasnu razmeni sto redukuje površinu koja interaguje sa krvlju, cevi manjeg dijametra koje uslovljavaju redukciju prajming volumena, biokompatibilni slojevi dizajnirani da onemoguće kontaktnu aktivaciju koagulacije, mehanizam sa centrifugalnom pumpom koji smanjuje mehaničko oštećenje krvi u odnosu na roler pumpu^{109,110}.

Generalno ovaj koncept je udružen sa redukovanim postoperativnim gubitkom krvi i manjim transfuzijama eritrocita i trombocita. Pored ovoga pokazan je smanjen stepen

miokardnog oštećenja (nivo troponina i CK-MB je značajno manji u prvih 6, 12 i 24 sata nakon operacije)¹¹¹.

Ono što treba imati na umu je da su preporuke za ovu metodu dosta različite pa je teško procentiti prave benefite. Obzirom da se ROS, p38 MAP kinaza i NF-kB putevi aktiviraju prilikom eksperimentalne stres hirurgije, oni mogu biti mesta modulacije sistemske inflamacije¹¹². Aprotinin je prirodni proteolitički enzim izolovan iz goveđih pluća i pankreasa. Kao inhibitor serin proteaze širokog spektra aprotinin može da inhibira tripsin, hemotripsin plazmin i kalikrein i time limitira fibrinolizu. Aprotinin umanjuje neutrofilnu i makrofagnu aktivaciju, redukuje hemotaksu i smanjuje oksidativni stres. Pored toga on pomaže očuvanju celularnih spojeva u miokardu i sprečava pojavu edema. Utiče i na smanjene nivoe CPB-a i IL-8. Aspirin potpomaže fosforilaciju p38 MAP kinaze. Pored toga utiče na agregacionu funkciju trombocite. Imuno-modulatorne efekte pokazuju i statini, analgetici i ACE inhibitori. Antioksidansi su još jedna grupa supstanci udruženih sa smanjenom apoptozom miokarda i oksidativnog stresa. Sulfoparafan je jedan od najnovijih supstanci sa gore pomenutim dejstvom, čiji se efekti još uvek ispituju. Udružen je sa brojnim bioprotektivnim efektima koji uključuju anti kancerske, anti-mikrobne i anti-inflamatorne efekte. Prirodno se nalazi u karfiolastom povrću kao što su brokoli, karfiol i kupus. Upotreba ovog povrća obezbeđuje dnevne potrebe za ovom supstancom^{113,114,115}.

2.3. Hemostaza

Koagulacija krvi je složen proces koji se odvija kroz strogo regulisanu sekvencu reakcija u cilju sprečavanja gubitka krvi iz organizma. Funkcija normalne hemostaze je da spreči gubitak krvi iz nepovređenog krvnog suda i da zustavi prekomerno krvarenje iz oštećenog krvnog suda. Gubitak krvi iz nepovređenog krvnog suda sprečen je normalnom građom krvnog suda i normalnom funkcijom trombocita¹¹⁶. U slučaju povrede krvnog suda organizam se bori da zaustavi krvarenje pomoću tri glavna mehanizma, kroz tri faze: vaskularne, trombocitne i faze koagulacije krvi.

2.3.1. Vaskularna faza

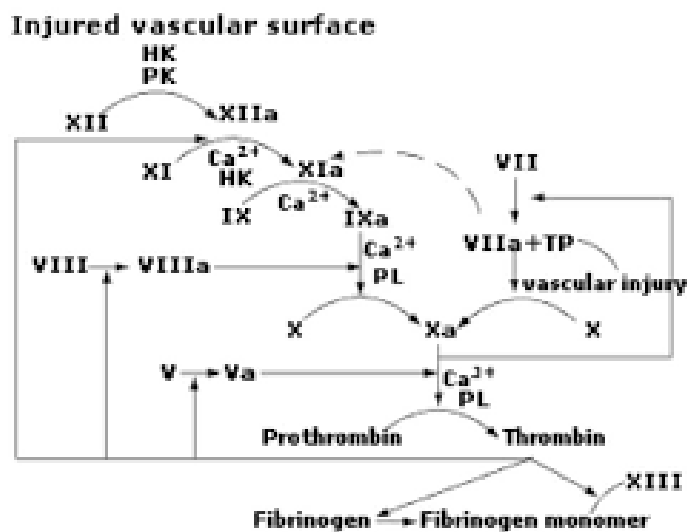
U okviru vaskularne faze dolazi do vazokonstrikcije krvnog suda koja nastaje refleksno i traje manje od jednog minuta, a produžava je serotonin iz trombocita i fibrinopeptid B koji nastaje delovanjem trombina na fibrinogen.

2.3.2. Trombocitna faza

Tokom trombocitne faze dolazi do stvaranja trombocitnog čepa. U okviru ove faze dolazi do adhezije trombocita na mestu oštećenih krvnih sudova i agregacije trombocita međusobno. Agregacija trombocita posredovana je von Willebrandt-ovim faktorom, polimernim glikoproteinom plazme. Ovaj protein vezuje se za specifične receptore membrane trombocita i kolagen. Primarna agregacija pridošlih trombocita olakšana je dejstvom trombina. Agregirani trombociti zatim oslobađaju serotonin, tromboksan A₂ i adenoindifosfat (ADP) koji stimulišu vazokonstrikciju što je dodatni stimulus za agregaciju trombocita i predstavlja sekundarnu agregaciju¹¹⁷.

2.3.3. Koagulacija krvi

Faza koagulacije dovodi do formiranja trajnog koaguluma koji će sprečiti krvarenje dok se povređeno tkivo ne repariše. Krvni koagulum se stvara u okviru bifurkacione kaskade proteolitičkih reakcija koje uključuju blizu dvadeset različitih supstanci, od kojih su većina glikoproteini sintetisani u jetri¹¹⁸. Koagulaciona kaskada prikazana je na Slici 3.



Slika 3. Koagulaciona kaskada

Sistem koagulacije se sastoji od proteina, lipoproteina i kalcijumovih jona. Svi faktori koagulacije (sem faktora III) su normalno prisutni u plazmi.

Poznavanje osobina faktora koagulacije je od posebnog značaja. Stabilnost na konzervaciju in vitro, preživljavanje u organizmu primaoca i hemostatski nivo faktora koagulacije koji je dovoljan da bolesnik ne krvari su od suštinskog značaja.

Sedam faktora koagulacije prisutni su u vidu prekursora koji se proteolitički aktiviraju uz pomoć serin proteaza u procesu koagulacije. Faktori V i VIII nisu prekursori enzima već kofaktori koji cirkulišu kao "prekofaktori". Aktivisane forme prekursora i kofaktora obeležavaju se malim slovom "a". Fibrinogen (faktor I) se konvertuje u fibrin koji nema enzimskih i kofaktorskih aktivnosti i označava se kao fibrin (ne faktor Ia). Aktivna forma protrombina (faktor II) se češće označava kao trombin nego faktor IIa¹¹⁹. Koagulacija krvi se odvija kroz 4 faze:

- I faza - aktivisanje tkivnog faktora (tromboplastina)
- II faza - pretvaranje protrombina u trombin
- III faza - pretvaranje fibrinogena u fibrin
- IV faza - retrakcija koaguluma

2.3.3.1. Ćelijski model koagulacije

Saznanja o koagulaciji su se napretkom nauke menjala, a značajan doprinos je dao Rapaport kada je ukazao na činjenicu da kompleks tkivnog faktora i faktora VIIa aktivira faktor X i IX pa se tako istovremeno aktiviraju spoljašnji i unutrašnji put koagulacije¹²⁰. Danas postoji ćelijski model koagulacije zasnovan na ulozi trombocita, monocita i endotela u koagulaciji¹²¹. Prema ovom modelu koagulacija se odvija u četiri faze:

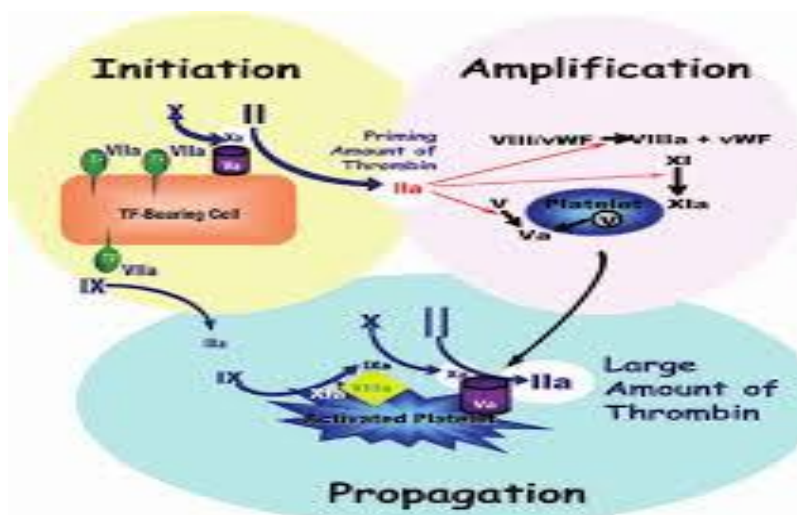
- faza inicijacije
- faza amplifikacije
- faza propagacije
- faza terminacije

Na mestu povrede krvnog suda dolazi do ekspresije tkivnog faktora (TF) koji stvara kompleks sa FVIIa koji pod normalnim okolnostima cirkuliše u malim količinama, ali u biološki neaktivnom stanju dok ne formira kompleks sa tkivnim faktorom koji dovodi do aktivacije X i IX faktora. Aktivirani faktor X aktivira faktor V na površini ćelija koje nose tkivni faktor i stvoreni kompleks pretvara malu količinu protrombina u trombin, što predstavlja fazu inicijacije (Slika 4).

U drugoj fazi stvoreni trombin dovodi do aktivacije trombocita, faktora V, VIII, XI i XIII.

U fazi propagacije aktivirani faktor IXa sa faktorom VIIIa gradi kompleks na površini trombocita koji snažno aktivira faktor X. Aktiviran faktor Xa sa faktorom Va na površini trombocita, stvara protrombinaza kompleks koji pretvara znatne količine protrombina u trombin¹²². Stvoreni trombin pretvara fibrinogen u fibrin koga stabilizuje FXIIIa i postaje nerastvorljiv fibrinski ugrušak.

Trombin, takodje aktivira trombinom aktivirani inhibitor fibrinolize (TAFI) i na taj način štiti ugrušak od lize. U isto vreme, trombin je inhibiran svojim potentnim inhibitorom, antitrombinom i još se dodatno veže za trombomodulin koji aktivira sistem proteina C koji neutrališe aktivirane faktore V i VIII¹²³. Aktivacija inhibitora tkivnog puta zaustavlja dalju aktivaciju koagulacije od strane kompleksa tkivni faktor/FVIIa – faza terminacije.



Slika 4. Ćelijski model koagulacije

Oštećeno tkivo oslobadja tkivni aktivator plazminogena i urokinazu, tako da se paralelno aktivira i fibrinolitički sistem, što je neophodno za održavanje fluidnih karakteristika krvi intravaskularno¹¹⁸. Fibrinolitički sistem je regulisan inhibitorom aktivnošću PAI-1 (plazminogen aktivator inhibitor) koji je povišen ubrzo posle traume, kao i alfa-2-antiplazminom. Disbalans u produkciji i eliminaciji aktivatora i inhibitora plazminogena može značajno promeniti njihovu uravnoteženu aktivnost u plazmi, što dovodi do poremećaja hemostaze u smislu tromboze - ako je inhibirana fibrinoliza, ili do krvavljenja u slučaju hiperfibrinolize¹²⁴.

2.3.4. Poremećaji koagulacije tokom kardiopulmonalnog baj-pasa

2.3.4.1. Vantelesni krvotok

Kardiopulmonalni bajpas omogućava da pacijentovo srce i pluća privremeno budu izdvojeni iz cirkulacije, a njihova aktivnost suspendovana, da bi se kardiohirurška intervencija mogla izvoditi u kontrolisanim uslovima¹²⁵. Od materijala je najzastupljeniji polivinil-hlorid (PVC) ali i silikon i lateks guma. Veličina creva zavisi od pritiska i brzine protoka koje moraju da se obezbede u različitim regionima cirkulacije. Polivinil-hlorid (PVC) je najjači ali i najrigidniji i najkorišćeniji. Mana mu je što nekada može otpustiti mikropartikule plastike u cirkulaciju¹²⁶. Silikon pravi manju hemolizu eritrocita ali i veće šanse za oslobađanje mikropartikula.

Antikoagulacija je neophodna da bi pacijent mogao bezbedno biti povezan na aparat za ekstrakorporalnu cirkulaciju tokom kardiohirurške intervencije. Kontak krvi i veštačkih nebioloških površina sistema za vantelesni krvotok dovode do aktivacije koagulacionog sistema i formiranje ugruška u cirkulaciji u roku od nekoliko minuta u odsustvu antikoagulacionih lekova.

Neadekvatna antikoagulacija u svojoj najozbiljnijoj formi dovodi do letalnog ishoda, a u blažoj formi vode u disfunkciju bubrega ili mozga¹²⁷. Takođe, pojava ugrušaka u sistemu za vantelesni krvotok mogu biti okidač za diseminovanu intravaskularnu koagulaciju sa veoma dramatičnim posledicama.

Najčešće korišćeni antikoagulans je visokomolekularni heparin, predstavljajući zlatni standard zbog nekoliko razloga: relativno je bezbedan, lak za upotrebu, poseduje brz i merljiv antikoagulacioni efekat koji je reverzibilan. Najčešća inicijalna doza za ekstrakorporalni krvotok je 300-400i.j./kg t.m. Monitoring se sprovodi pomoću aktiviranog vremena koagulacije (ACT-a), čija vrednost treba da iznosi između 400 i 480s. Hipotermija, hemodilucija, disfunkcija trombocita i niski nivoi fibrinogena mogu produžiti ACT¹²⁸.

Krvarenje u toku i posle kardiopulmonalnog baj-pasa je multifaktorijalno. Obično je u vezi sa dužinom trajanja procedure ekstrakorporalne cirkulacije (preko 90min), koja sa sobom povlači nekoliko mehanizama koji dovode do krvarenja.

Produženi kontakt trombocita sa plastičnim crevima sistema za vantelesni krvotok remeti njihovu funkciju. Plastična creva sistema za ekstrakorporalnu cirkulaciju dovode do aktivacije trombocita i koagulacione kaskade, što se konačno manifestuje u vidu trombocitopenije postoperativne za više od 30%, i potrošne koagulopatije. Takođe pumpe

sistema za Ecc vrše mehaničku destrukciju istih¹²⁹. Trombociti pacijenata koji se podvrgavaju kardiohirurškim intervencijama su vrlo osetljivi, jer pacijenti su po pravilu preoperativno na mono ili dvojnjoj antitrombocitnoj terapiji koja inhibira njihovu funkciju, i dodatno remeti postoperativnu hemostazu. Jedan broj pacijenata preoperativno koristi oralnu ili parenteralnu antikoagulacionu terapiju, koja preko inhibicije aktivnosti faktora II, VII, IX, X onemogućava uspešnu hemostazu.

Takođe, kontaktna aktivacija koagulacione kaskade se dešava prilikom kontakta veštačke površine creva sa krvlju, i to pre svega se aktivira faktor XII koji kaskadno aktivira faktor XI, a potom i X faktor, što sve na kraju vodi povećanoj generaciji trombina. Trombin je jako potentan aktivator trombocita, ali i fibrinogena i procesa polimerizacije ugruška dovodeći do potrošnje istih. Sa druge strane trombin aktivira i fibrinolizni sistem posredstvom plazmina, koji ne samo da razlaže fibrinske niti već i utiče na funkciju trombocita degradirajući im receptore na površini ćelijske membrane, bez kojih trombociti ne mogu ostvariti ulogu u primarnoj i sekundarnoj hemostazi.

Dilucija u sklopu prajminga i kasnije tokom operacije, dovodi do takozvane dilucione koagulopatije, kod koje faktori koagulacije ne mogu ostvariti svoj efekat i koja je jako rezistentna na primenu hemostazne terapije¹³⁰.

Hipotermija u koju se pacijent ciljano uvodi tokom operacije, zbog smanjenja bazalnog metabolizma ćelije i lakše perfuzije organa, negativno utiče na sistemsku hemostazu. U uslovima niže temperature reakcije koagulacione kaskade su otežane ili čak i onemogućene što u krajnjem slučaju rezultuje narušenom hemostazom. Hipotermija vodi u acidozu koja dalje remeti sistemsku hemostazu. Narušena je i agregabilnost trombocita i pojačna fibrinoliza usled čega može doći do povećanog krvarenja.

Povećani perioperativni gubitak krvi dovodi do pada koncentracije faktora koagulacije i broja trombocita, ali i do anemije, što sve u kombinaciji sa predhodno navedenim poremećajima remeti normalnu koagulaciju.

Upotreba protamina i heparina zajednički remeti funkciju trombocita i koagulacionu kaskadu, pre svega trombin i faktor deset. Smanjena koncentracija kalcijuma dovodi do poremećene koagulacije, jer je kalcijum neophodan za odvijanje reakcija koagulacije, kao i smanjenje onkotski najvažnijih albumina.

Preoperativna bubrežna insufijencija, bolesti jetre, godine starosti preko 70, ženski pol, urođena ili stečena koagulopatija, su nezavisni faktori rizika za povećano intraoperativno i postoperativno krvarenje.

Anemija sama po sebi je takođe faktor rizika za razvoj krvarenja, zbog hemostazne uloge eritrocita i smanjenja reoloških svojstava krvi. Pacijenti sa tako narušenom hemostazom često imaju ozbiljnu hemoragijsku dijatezu, koja zahteva primenu krvi i krvnih produkata kao i sintetskih prokoagulantnih agenasa.

Kontakt između krvi i plastičnih creva i sistema mašine za Ecc rezultuje sistemskim inflamatornim odgovorom (SIRS), koji karakteriše aktivacija kalikrein-bradikinin sistema, sistema komplementa, koagulacione kaskade i fibrinolize. Aktivirani trombociti oslobađaju citokine dok trombin aktivira monocite. Hemostaza aktivira inflamatorni sistem, ali i obrnuto. U pozadini vantelesne cirkulacije je nebalansirana povišena produkcija citokina IL-6, IL-8 i IL-10¹³². Sistemski inflamatorni odgovor može izazvati diseminovanu intravaskularnu koagulaciju, potrošnu koagulopatiju sa brutalnom kliničkom slikom kombinacije krvarenja i tromboze.

2.3.4.2. Heparinski rezidualni efekat

Ovaj fenomen se objašnjava redistribucijom određene koncentracije heparina, koja posle određenog vremena posle operacije može dovesti do antikoagulacije i krvarenja. Terapija obuhvata male doze protamina.

2.3.4.3. Fibrinoliza

Vantelesni krvotok se sastoji od velike površine trombogenog materijala, i pored adekvatnog doziranja heparina stalno se aktivira koagulacija i posledično hiperfibrinoliza dovodeći do potrošnje faktora koagulacije. Takođe, sternotomija i otvaranje perikarda su procedure koje su velike traume za organizam, gde dolazi do oslobađanja velikih količina tkivnog aktivatora plazminogena, koji pretvara plazminogen u plazmin i dovodi do lize ugruška i pojačanog krvarenja¹³³.

Zato je neophodno da se tokom i posle kardiohirurške operacije primenjuje antifibrinolitik (traneksamična kiselina), da bi se krvarenje preveniralo.

2.3.4.4. Heparinom indukovana trombocitopenia (HIT)

Kod 3-5% pacijenata koji primaju heparin razvija se HIT, sa dva podtipa trombocitopenia. Prvi podtip je prolazan, dok je drugi-imuni, ozbiljniji, trombocitopenija i

krvarenje su izraženiji i zahteva obustavu heparina i primenu druge vrste parenteralnog antikoagulansa (npr. direktni inhibitori trombina). Tokom razvoja HIT-a nastaje naglo smanjenje broja trombocita često za više od 50% uz profuzno, difuzno krvarenje kod pacijenta koji je pre toga bio najčešće na visokomolekularnom heparinu¹³⁴.

2.3.4.5. Reverzija heparina

Reverzija heparina postiže se protamin sulfatom gde 1-1.3 mg protamina neutrališe 100 i.j. visokomolekularnog heparina. Protamin se aplikuje sporo intravenski jer može izazvati hipotenziju. Pored toga rapidna aplikacija protamina može u najgorem slučaju dovesti do snažne vazokonstrikcije plućne cirkulacije sa posledičnom plućnom hipertenzijom i srčanom insuficijencijom. Reverziju heparina je neophodno potvrditi ACT-om nekoliko minuta nakon administracije protamin-sulfata.

2.3.5. Point of care testiranje hemostaznog sistema

Jedan od najtežih zadataka u kardiohirurgiji je uspostavljanje pravovremene, fiziološke hemostaze. Hemostaza kao izuzetno složen proces praćena je poremećajima koji se mogu klasifikovati kao akutni i hronični. Hronični poremećaji hemostaze najčešće su posledica poremećene funkcije jetre i bubrega, poremećene hematopoeze i naslednih hemostaznih poremećaja...

U hirurškoj praksi od posebnog su značaja akutna krvarenja nastala zbog akutnog traumatskog iskrvarenja, infuzije rastvora i dilucione koagulopatije, upotrebe heparina, antitrombotika, oralne antikoagulantne terapije... Krvarenje se obično javlja u toku i posle kardiohirurške intervencije. U toku takvog urgentnog stanja rutinsko laboratorijsko testiranje koagulacije pomoću PT, INR, APTT-a, broja trombocita je najčešće sporo i nedovoljno. Pravu ulogu u navedenim akutnim stanjima dobijaju upravo point of care (POC) uređaji za monitorisanje hemostaze¹³⁵. Konstruisan je veliki broj moćnih uređaja za detekciju koagulacionih poremećaja.

2.3.5.1. Impedantna agregometrija (MULTIPLATE)

Impedantna agregometrija je jedan od POC aparata, a predstavlja test agregacije trombocita u celoj krvi, što omogućava da se posmatra funkcija trombocita u prisustvu eritrocita i leukocita i prevenira arteficialna aktivacija trombocita koja nastaje zbog procesa separacije. Metoda određivanja u celoj krvi detektuje električnu impedancu između malih elektroda uronjenih u krv (Multiplate® - Multiplate Platelet Function Analyzer, Dynabyte,

Germany), a kinetika izmene impedance reflektuje agregaciju trombocita nakon dodavanja agonista. Kinetika izmene impedance reflektuje agregaciju trombocita na iglama posle dodavanja agonista.

Agregometrija se primenjuje za dijagnozu poremećaja funkcije trombocita, koja su retko urođena, najčešće stečenog karaktera. Stečena oštećenja trombocita su najčešće izazvana lekovima ili su posledica uremije. Široko primenjivana acetilsalicilna kiselina i mnogi drugi nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAID) inhibiraju trombocitni enzim ciklooksigenazu, koja konvertuje arahidonsku kiselinu u tromboksan A₂ (TXA₂). TXA₂ je trombocitni agonist kratkog poluživota. NSAID mogu reverzibilno oštetiti ciklooksigenazu ili se ponašati po drugim modelima oštećenja. Tu su i blokatori ADP receptora trombocita po tipu clopidogrela, tiklopidina itd. Od značaja je i monitorisanje IIb IIIa blokatora receptora poput abciksimaba ili tirofibana.

Iako je monitorisanje antitrombotika svakako jedna od najvažnijih uloga ovog uređaja ne smemo izostaviti i ulogu MULTIPLATE analizatora u pripremi pacijenata za hiruršku intervenciju, monitoring posle transfuzije trombocita¹³⁹. Kao što je već navedeno dodavanjem različitih snažnih agonista trombocita prati se odgovor trombocita na njih i određuje im se funkcija odnosno inhibicija funkcije (Tabela 1).

Tabela 1. Testovi za ispitivnje funkcije trombocita na uređaju MULTIPLATE

TEST	AKTIVACIJA	OSETLJIVOST
ASPI	Arahidonska kis. se konvertuje u TXA ₂ putem trombocitne COX.	Acetilsalicilna kis, abciximab, tirofiban
ADP	Vezuje se na ADP receptore trombocita.	Clopidogrel, abciximab, tirofiban, ticlopidin
ADP HS	Povećana senzitivnost na clopidogrel.	Clopidogrel, abciximab, tirofiban, ticagrelor
TRAP	Trombinom aktivirani receptori trombocita.	Abciximab, tirofiban

Što se tiče uloge impedantne agregometrije u pripremi pacijenata za hiruršku intervenciju, a bio je na antitrombocitnoj terapiji mono ili dvojnjoj od značaja su sledeće preporuke date u Tabeli 2.

Tabela 2. Obustavljanje antitrombocitne terapije pre operacije

ANTITROMBOCITNI LEK	MINIMALNO PRE OPERACIJE	IDEALNO PRE OPERACIJE
ACETILSALICILNA KIS. (ASPIRIN, ANDOL, CARDIOPIRIN)	2 dana	7 dana
NSAID (BRUFEN, DIKLOFEN)	24 sata	3 dana
CLOPIDOGREL (PLAVIX, ZYLLT, CLOPIGAL, ANTIAGREX)	5 dana	10 dana
TICAGRELOR (BRILIQUE)	2 dana	3-5 dana
TICLOPIDIN (TICLODIX)	7 dana	14 dana

❖ Odnosi se samo na pacijente gde lek ima terapijski učinak!!!

Na osnovu rezidualnog dejstva lekova na funkciju trombocita kliničari se izjašnjavaju o eventualnom prisustvu niskog, umerenog ili visokog rizika za povećano perioperativno mikrocirkulatorno krvarenje zavisno od funkcije trombocita. Ne reaguju svi pacijenti podjednako na primenu antitrombocitne terapije. Identifikovano je nekoliko mehanizama koji objašnjavaju pojavu rezistencije na aspirin i klopido-gel:

- Neadekvatna podnošljivost leka ili rani prestanak njegovog unošenja u organizam,
- Moguće interakcije lekova,
- Neadekvatna doza,
- Povećana fluktuacija trombocita,
- Genetski polimorfizam i
- Potencijalni bypass mehanizmi.

Krivulje koje se detektuju prilikom analize pokazuju brzinu agregacije trombocita i ukupnu aktivnost trombocita, pa na osnovu njihovog izgleda i prateći referentne vrednosti propisane za svaki test posebno procenjuje se funkcija trombocita.

Agregometrija može biti i postoperativni test i imati ulogu u detekciji krvarenja koje može biti posledica poremećene funkcije trombocita.

2.3.6. Uticaj preoperativne antitrombotične terapije na povećano perioperativno i postoperativno krvarenje

Krv je tečni organ koji omogućava transport ćelija, hemijskih supstanci, hranljivih materija i energije do svih delova tela. Trombociti koji cirkulišu duž krvnih sudova konstantno vrše monitoring krvnih sudova u cilju utvrđivanja defekta, dolazi do adhezije i agregacije trombocita kako bi se sprečilo krvarenje. Trombociti su nećelijski citoplazmatski fragmenti megakariocita koji se iz koštane srži oslobađaju u krvotok.

U mehanizmu nastanka ateroskleroze trombociti imaju ključnu ulogu¹⁴². Trombociti ne mogu da razlikuju normalan i patološki izmenjeni krvni sud, te hronični degenerativni proces kao što je ateroskleroza sa ruptuiranim plakom može biti okidač za pokretanje fiziološkog mehanizma koji vodi fatalnoj ishemiji. Krvne pločice adheriraju na mestu aterosklerotičnog plaka preko glikoproteinskih receptora (GP) na svojoj površini i odgovarajućih adhezivnih proteina: GP VI-kolagen, GP kompleks Ib-V-IX-vWF, integrin $\alpha 2\beta 3$ -fibrinogen. Oblik trombocita se menja sa produkcijom tromboksana (TxA₂), koji izaziva vazokonstrikciju i proliferaciju glatkomišićnih ćelija endotela krvnih sudova i oslobađanjem sadržaja granula, u kojima se nalazi i ADP (adenozin difosfat). TxA₂ i ADP su solubilni agonisti koji dalje aktiviraju adherirane trombocite, te tako sekundarna aktivacija trombocita nastaje preko tri osnovna puta delovanja agonista: tromboksan (TxA₂), ADP i trombin, nezavisno jedan od drugog ili u kombinaciji jedan s drugim. Aktivacija trombocita rezultira u ukrštenoj mreži trombocita koji formiraju trombocitni čep tako što se fibrinske niti vezuju za $\alpha 2\beta 3$ GP receptore, čija aktivacija fiziološki menja njihovu konformaciju produkujući vezujuće mesto GPIIb/IIIa na površini trombocita za koje se vezuje fibrinogen sa velikim afinitetom. Aktivirani trombociti izlažu površinu membrane, koja je bogata u fosfatidilserinu, što ubrzava koagulaciju krvi. Aktivacija tkivnog faktora, faktora VII, kompleksa tenaze i protrombinaze su posledica aktivacije membrane, što vodi sekundarnoj hemostazi. Finalni ishod je fibrinski stabilni agregat trombocita koji zatvara oštećenje krvnog suda i prevenira ozbiljnija krvarenja.

Više od sto godina aspirin ostvaruje svoj pozitivan kardiovaskularni efekat inhibicijom produkcije tromboksana (TxA₂), i to delovanjem na enzime COX-1 i COX-2, koji vrše konverziju arahidonske kiseline u TxA₂. Aspirin vrši acetilaciju serina na položaju 529 u polipeptidnom lancu prostaglandin H-sintetaze (PGH-sintetaza), inhibira se stvaranje prostaglandina H₂, koji je direktni prekursor TxA₂, a pošto su trombociti ćelije bez jezgra one ne regenerišu proteine. Efekat aspirina na COX-1 je ireverzibilan i traje koliko i život

trombocita, zaviseći od produkcije novih trombocita koji će omogućiti oporavak ciklooksigenazne aktivnosti na približno 10% dnevno kod zdravih ljudi. Male doze aspirina su dovoljne da suprimiraju više od 95% sinteze tromboksana preko COX-1, a takva supresija dovodi do inhibicije agregacije trombocita. Ipak, trombociti na koje deluje aspirin mogu i dalje da agregiraju u prisustvu nekog potentnog agonista, kakav je kolagen ili trombin. COX-2 se nalazi u aterosklerotičnim plakovima i novostvorenim trombocitima. COX-2 je odgovoran za sintezu prostaciklina, koji neutrališe efekat TxA₂ prevencijom agregacije trombocita i stimulisanjem vazodilatacije. Veće doze aspirina mogu inhibirati COX-2 sintezu prostaciklina u endotelnim ćelijama vršeći konverziju PGH-sintetaze-2 u lipooksigenazu. Stvara se 15(R) hidroksi-eikosatetenoična kiselina i aktivira antiinflamatorni efekat udružen sa visokim dozama aspirina. Selektivna COX-2 inhibicija, dovoljna da suprimira stvaranje prostaciklina, može izazvati arterijsku trombozu. Ipak, COX-2 prisutan u endotelnim ćelijama zadržava sposobnost da se regeneriše produkcija prostaciklina nekoliko sati posle uzimanja aspirina zahvaljujući sposobnosti ćelija sa jedrom da sintetišu proteine¹⁴³.

Klopidogrel se, takođe, pokazao posebno efikasnim u prevenciji restenoze i stent tromboze u terapiji akutnog koronarnog sindroma. On spada u grupu tienopiridina koji deluju na purinske receptore na površini trombocita, ireverzibilno se vezuje za ADP receptor P₂Y₁₂ inhibirajući agregaciju trombocita, smanjujući prenos impulsa i posledičnu aktivaciju GPIIb/IIIa receptora, kao i smanjujući efekat amplifikacije aktivacije trombocita oslobađanjem ADP-a i drugog sadržaja iz gustih granula. Klopidogrel se oksiduje u jetri preko CYP3A4, jednog od citohrom P450 enzima, kako bi se stvorili aktivni metaboliti koji se ireverzibilno vezuju za trombocitni ADP receptor P₂Y₁₂ (P₂Y₁₂ i P₂Y₁ su GP parni receptori prisutni na membrani trombocita, čijom zajedničkom aktivnošću nastaje potpuni aktivacijski i agregacijski odgovor na stimulaciju ADP-om)¹⁴⁴.

Brojne kliničke studije podržavaju bezbednost i efikasnost pojedinačne ili dvojne antitrombocitne terapije, a napisani si u brojni vodiči u cilju promocije odluka o primeni antitrombocitne terapije u svakodnevnoj praksi^{145, 146, 147}.

GPIIb/IIIa inhibitori abciximab - Reopro, eptifibatide - Integrilin, tirofiban - Agrarstat) su agensi koji blokiraju završni put u agregaciji trombocita i tako štite pacijente koji su na perkutanoj intervenciji (PCI) od ishemičnih događaja. Tirofiban i tifibatide su ne-peptidni molekuli sa visokom specifičnošću za GPIIb/IIIa receptor. Abciximab je veliko monoklonsko antitelo koje se vezuje za GPIIb/IIIa receptor kao i za $\alpha_v\beta_3$ integrinski receptor endotelijalnih i glatko mišićnih ćelija, kao i $\alpha_m\beta_2$ integrin leukocita. Tako samo abciximab

ima sposobnost direktne inhibicije adhezije trombocita i endotelijalnih ćelija, kao i trombocita i leukocita, te kao konsekvencu inhibira ili potpuno limitira inflamatorni proces skoro uvek prisutan kod akutnog koronarnog sindroma i posle PCI¹⁴⁸.

S obzirom na činjenicu da su svi kardiohirurški pacijenti preoperativno na mono ili dvojnjoj antitrombocitnoj terapiji (najčešće acetilsalicilna kiselina i clopidogrel), neophodno je njihovo preoperativno ukidanje jer utiču na perioperativno i postoperativno povećano krvarenje¹⁴⁹. Mišljenje autora o preoperativnom prekidu terapije acetilsalicilnom kiselinom su oprečna, dok to nije slučaj sa ADP blokatorima trombocitne funkcije. Benefit neukidanja acetilsalicilata se manifestuje na postoperativnu prohodnost grafta, mortalitet, razvoj bubrežne insuficijencije, vreme boravka u intenzivnoj nezi, što je daleko značajnije u poređenju sa postoperativnim krvarenjem do koga ovi lekovi takođe dovode. Posebno ako se radi o preoperativnoj stenozu glavnog stabla koronarne cirkulacije. Smatra se da doza acetilsalicilata manja od 325 mg ne dovodi do ozbiljnijih perioperativnih i postoperativnih komplikacija u vezi sa krvarenjem. Jako malo radova u dostupnoj literaturi zaista potvrđuju povezanost rezidualnog antitrombocitnog efekta acetilsalicilata i povećanog krvarenja^{150, 151}.

Sa druge strane istraživanja su dokazala povezanost povećanog krvarenja i posledične primene krvi i produkata, kod kardiohirurških pacijenata koji su do same operacije bili na nekom ADP blokatoru (clopidogrel, ticlopidin, ticagrelor) ili dvojnjoj antitrombocitnoj terapiji acetilsalicilat + clopidogrel¹⁵². Dejstvo derivata tienopiridina je dugotrajnije. Potrebno je 5 do 7 dana po prestanku terapije da bi se agregacija trombocita vratila na normalu. Potrebno je istaći da 2-3% ukupne koncentracije leka se kovalentno vezuje za trombocite i ima dugo poluvreme eliminacije sve do 18 dana, što takođe može dovesti do krvarenja.

2.3.6.1. Urođene i stečene trombocitopenije i trombocitopatije

Mehanizam nastanka trombocitopenija može biti različit. U Tabeli 4. prikazana je podela trombocitopenija prema jasno definisanom mehanizmu nastanka.

Tabela 4. Podela trombocitopenija prema mehanizmu nastanka

Trombocitopenije usled smanjenog ili defektnog stvaranja trombocita

Urođene: Fankonijev sindrom, Thrombocytopenia absent radius sindrom (TP sa nedostatkom radiusa)

Stečene:

Stečena amagakariocitna trombocitopenija

- lekovi, virusi

Deo opšteg poremećaja koštane srži

- aplastična anemija
- infiltracija koštane srži malignim ćelijama (solidni tumori, limfomi) granulomatoznim procesom
- oštećenje koštane srži zračenjem, citostaticima

Nedostatak vitamina B12 i folne kiseline

Trombocitopenije usled ubrzane razgradnje i potrošnje trombocita

Imunološki posredovane:

- primarna imunološka trombocitopenija
- sekundarne imunološke trombocitopenije (sistemske autoimune bolesti, limfoproliferativne bolesti, izazvane lekom i infekcijom, solidni tumori)
- postransfuzijska purpura
- izoimuna neonatalna purpura
- aloimune trombocitopenije

Neimunološke:

- diseminovana intravaskularna koagulacija (DIK)
- trombotična trombocitopenijska purpura
- hemolitičkoureמיjski sindrom

Trombocitopenije nastale usled poremećaja raspodele trombocita u cirkulaciji-hipersplenizam

Postoji veliki broj podela trombocitopatija. Prema poreklu, trombocitopatije se dele na stečene i urođene (Tabela 5).

Tabela 5. Klasifikacija trombocitopatija

Stečene trombocitopatije	Urođene trombocitopatije
<ul style="list-style-type: none">• uremija, oboljenja jetre	<ul style="list-style-type: none">• poremećaj adhezije (Bernar-Sulijeov sindrom)
<ul style="list-style-type: none">• hronične mijeloproliferativne neoplazme,	<ul style="list-style-type: none">• poremećaj agregacije (Glanzmanova trombastenija)
<ul style="list-style-type: none">• akutne leukemije i mijelodisplatični sindromi	<ul style="list-style-type: none">• poremećaj signalnih puteva
<ul style="list-style-type: none">• disproteinemije (multipli mijelom; Valdenštemova bolest)	<ul style="list-style-type: none">• poremećaj trombocitnih granula i sekrecije
<ul style="list-style-type: none">• ekstrakorporalna perfuzija, lekovi	<ul style="list-style-type: none">• poremećaj regulacije citoskeleta

3. CILJ RADA

Cilj ovog rada je bio utvrditi da li upotreba sistema za vantelesni krvotok tokom hirurške revaskularizacije miokarda dovodi do pojačanog sistemskog inflamatornog odgovora organizma i poremećaja funkcije trombocita, što doprinosi razvoju postoperativnih komplikacija.

4. HIPOTEZE

1. Pacijenti kod kojih je tokom hirurške revaskularizacije miokarda korišćen sistem za vantelesni krvotok, postoperativno češće razvijaju sindrom sistemskog inflamatornog odgovora i sepsu, u odnosu na pacijente kod kojih ovaj sistem nije aplikovan.
2. Povećane vrednosti presepsina, CRP i leukocitarne formule, identifikuju pacijente sa povećanim rizikom za postoperativni razvoj SIRS i sepse nakon kardiohirurške revaskularizacije miokarda.
3. Snižene vrednosti parametara trombocitne funkcije (ADP, ASPI i TRAP testa), identifikuju pacijente sa povećanim rizikom od postoperativnog krvarenja nakon kardiohirurške revaskularizacije miokarda.

5. METODOLOGIJA

Ovo prospektivno istraživanje je obuhvatilo 100 bolesnika koji su bili podvrgnuti jednostrukoj, dvostrukoj i trostrukoj hirurškoj revaskularizaciji miokarda, u Klinici za kardiohirurgiju KC Niš, u periodu od 15.01.2020. do 15.01.2021.godine. U istraživanje je uključeno 100 ispitanika (22 osobe ženskog pola – 22,0% i 78 muških ispitanika – 78,0%). Prosečna starost ispitivane populacije je $64,63 \pm 7,48$ godina (od 43 do 80 godina).

Svi pacijenti uključeni u studiju su preoperativno bili na mono ili dvojnjoj antitrombotnoj terapiji (acetilsalicilna kiselina+clopidogrel/ticagrelor), koja je svima ukidana 5 dana pre hirurške intervencije.

Posle standardne kardiohirurške preoperativne pripreme pacijenata, pacijenti su operisani prema standardnim kardiohirurškim protokolima. Pacijenti su podeljeni u 2 grupe, grupa A kod kojih je tokom intervencije upotrebljavan uređaj za vantelesni krvotok (52 ispitanika), i grupa B, kod kojih ovaj sistem nije aplikovan intraoperativno (48 pacijenata).

Preoperativno kao i 8 sati postoperativno, svim ispitanicima određivani su sledeći parametri:

1. krvna slika (broj eritrocita-Rbc, hemoglobin-Hgb, hematokrit-Hct, broj leukocita-Wbc, broj trombocita-Plt) i CRP na Horiba CRP 200 France automatskom brojaču, iz 4ml pune krvi uzorkovane u epruveti sa EDTA antikogulansom.
2. parametri funkcije trombocita (aktivacija trombocita adenzin di-fosfatom (ADP test)-registruje rezidualni efekat clopidogrela/ticagrelora na funkciju trombocita; aktivacija trombocita arahidonskom kiselinom (ASPI test)-registruje rezidualni efekat acetilsalicilne kiseline, trombinom aktivirana funkcija trombocita (TRAP test)-predstavlja prirodni potencijal trombocita nezavistan od terapije, a izvode se na impedantnom agregometru MULTIPLATE Roch Germany. Krv uzorkovana u 4 ml epruvete sa antikoagulansom Litijum-heparinim, i u roku od 30min od uzorkovanja, analize su izvođene.
3. solubilni CD 14 molekul (sCD 14)-presepsin, iz 4 ml pune krvi pacijenta uzorkovane u EDTA epruvetu, metodom imunoflorescence, pomoću kertridza na uređaju Pathfast Mitsubishi Japan će se određivati koncentracija ovog markera.

4. upotreba krvi i produkata krvi, perioperativno i postoperativno, beležena je u medicinskoj dokumentaciji koja se vodi u operacionoj sali (operativna lista), kao i u jedinici- intenzivne nege (šok lista).

Za intraoperativno spašavanje krvi korišćen je uređaj cell saver Livanova model Xtra.

Vrednosti parametrara Multiplate testa koji ukazuju na povišen rizik od povećanog perioperativnog i postoperativnog krvarenja, koje može nastati kao posledica poremećene funkcije trombocita su na osnovu preporuka i vodiča sledeći: ADP test ≤ 310 (referentna vrednost 570-1130) agregacionih jedinica po minuti (AU/min), ASPI test ≤ 400 AU/min (ref.vrednosti 710-1490AU/min) i TRAP test ≤ 500 AU/min. (ref.vrednosti 923-1509AU/min).

Vrednosti presepsina koje su smatrane stanjem presepsa su iznad 600 pg/ml, a to je ujedno i cut-off vrednost za razlikovanje sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS), od septičnog stanja.

Praćene su rane postoperativne komplikacije u smislu SIRS-a, sepsa, septičkog šoka i krvarenja. SIRS se prema Američkom udruženju anesteziologa definiše ako postoje dva ili više parametara (temperatura ≥ 38 C⁰ ili ≤ 36 C⁰, tahikardija ≥ 90 /min, tahipnea ≥ 20 /min ili Pco₂ ≤ 32 mmHg, leukociti ≥ 12.000 ili ≤ 4000 /mm³), sepsa je SIRS sa dokazanom infekcijom, septični šok je sepsa sa hipotenzijom i izraženom hipoperfuzijom organa, dok smo ozbiljnim krvarenjem smatrali drenažu od 100 ml krvi na sat, 2 sata uzastopno.

5.1. Statistička obrada podataka

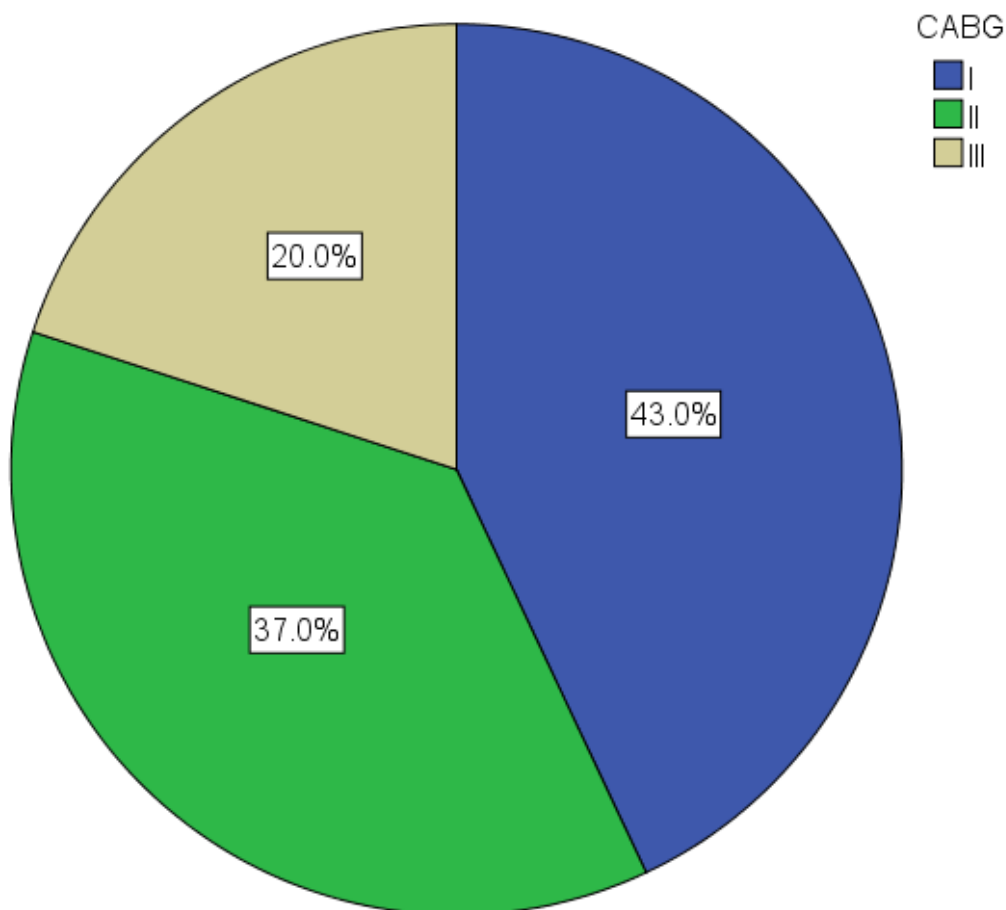
Podaci su prikazani u vidu aritmetičke sredine i standardne devijacije, minimalnih i maksimalnih vrednosti, kao i u vidu apsolutnih i relativnih brojeva.

Normalnost kontinuiranih varijabli je testirana Kolomogor-Smirnov testom. Ukoliko je distribucija podataka bila normalna poređenje vrednosti preoperativno, i postoperativno u dva trenutka (2h i 48h posle operacije) vršenom je ANOVA testom za ponovljena merenja. Ukoliko distribucija podataka nije normalna, za ovakvo poređenje je korišćen je Friedman-ov test. Ukoliko je distribucija podataka normalna poređenje između dve grupe vršeno je t testom, ukoliko distribucija podataka nije normalna ovo poređenje je vršeno Mann-Whitney testom.

Hipoteza je testirana sa pragom značajnosti $p < 0,05$. Analiza podataka vršena je u programskom paketu SPSS 16.0.

6. REZULTATI

Ovo prospektivno istraživanje je obuhvatilo 100 bolesnika koji su bili podvrgnuti jednostrukoj, dvostrukoj i trostrukoj hirurškoj revaskularizaciji miokarda, u Klinici za kardiohirurgiju KC Niš, u periodu od 15.01.2020. do 15.01.2021.godine. U istraživanje je uključeno 100 ispitanika oba pola, 22 žene (21,6%) i 78 muškaraca (76,5%), prosečne starosti $64,63 \pm 7,48$ godina (od 43 do 80 godina). Na Slici 5 je prikazana zastupljenost pojedinih vrsta hirurške revaskularizacije – jednostruki, dvostruki ili trostruki aortokoronarni bajpas (CABG I, II ili III). Najveći broj pacijenata (43,0%) je bio podvrgnut CABG I.



Slika 5. Zastupljenost jednostrukog, dvostrukog i trostrukog aortokoronarnog bajpasa u ispitivanoj grupi pacijenata

Pacijenti su podeljeni u dve grupe u odnosu na primenu uređaja za vantelesni krvotok. Ova metoda je primenjena kod 51 pacijenta (51,0%). U Tabeli 6 su prikazane razlike u

preoperativnim parametrima, u odnosu na korišćenje pumpe za vantelesnu cirkulaciju. Jedina utvrđena razlika između dve grupe je bila u vrsti hirurške intervencije – uređaj za vantelesni krvotok je češće korišćen kod pacijenata podvrgnutih ugradnji višestrukog aortokoronarnog bajpasa ($p < 0,001$). Svi pacijenti u obe grupe su preoperativno imali normalne vrednosti TRAP testa (≥ 500 AU/min.) i presepsina (≤ 600 pg/min.).

Tabela 6. Osnovne karakteristike pacijenata i preoperativni parametri kod pacijenata sa i bez upotrebe uređaja za vantelesni krvotok.

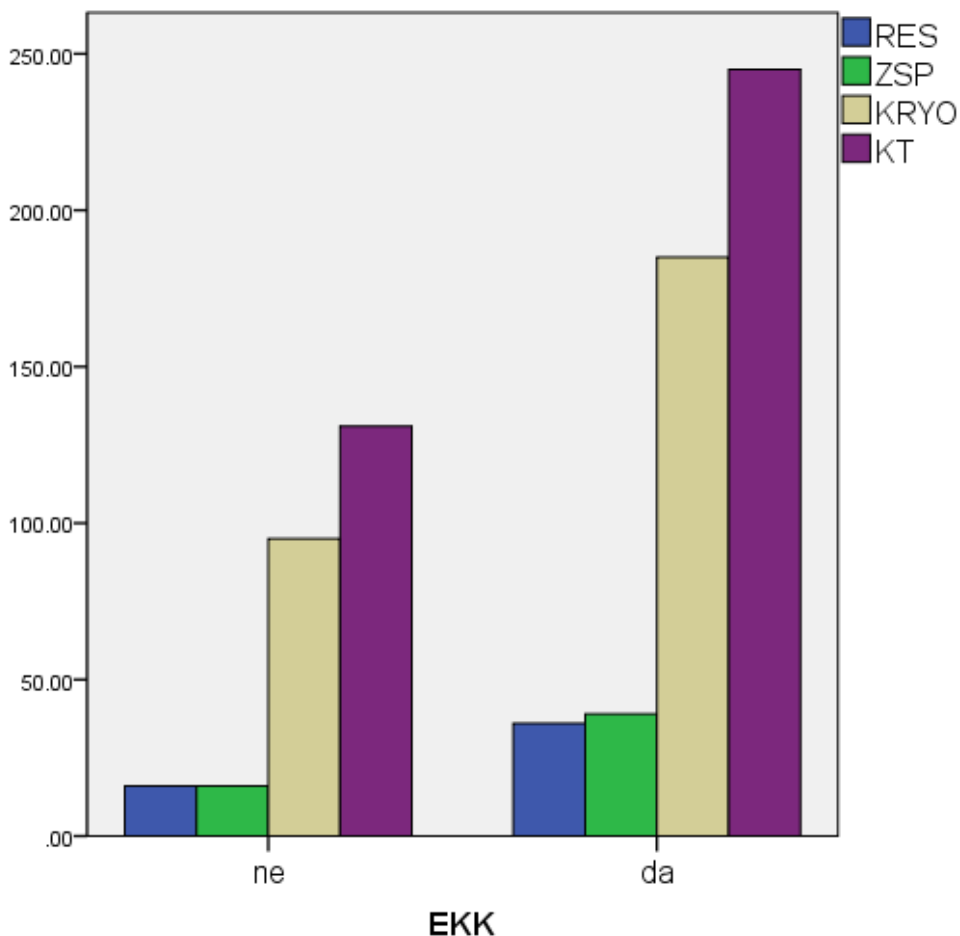
	Sa EKK (N=51)	Bez EKK (N=49)	t* ili χ^2 ** ili Z*** (p)
Starost (godine)	63,90±7,49	65,39±7,48	0,992 (0,323)*
Pol (muški)	39 (76,5%)	39 (79,6%)	0,018 (0,811)**
CABG	I	34 (69,4%)	35,834 (0,000)** 5,916 (0,000)***
	II	15 (30,6%)	
	III	0 (0,0%)	
RBC ($1 \times 10^{12}/l$)	4,45±0,46	4,49±0,49	0,376 (0,707)*
HGB (g/l)	136,80±11,68	138,80±10,25	0,905 (0,368)*
HCT (%)	38,78±4,48	39,58±3,80	0,965 (0,337)*
WBC ($1 \times 10^9/l$)	7,34±1,51	6,95±1,13	1,431 (0,156)*
PLT ($1 \times 10^9/l$)	241,72±70,05	232,51±56,70	0,721 (0,472)*
ADPHS (AU/min.)	483,0 (378,0-542,0)	422,0 (362,0-539,0)	0,800 (0,424)***
ADPHS (≤ 310 AU/min.)	7 (13,7%)	7 (14,3%)	0,000 (1,000)**
ASPI (AU/min.)	639,74±200,47	633,31±215,31	0,155 (0,877)*
ASPI (≤ 400 AU/min.)	6 (11,8%)	5 (10,2%)	0,000, (1,000)**
TRAP (AU/min.)	1009,24±198,12	1028,69±188,08	0,503 (0,616)*
TRAP (≤ 500 AU/min.)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
CRP (ng/ml)	9,0 (4,0-14,0)	10,0 (5,0-13,0)	0,252 (0,801)***
PSAP (pg/ml)	246,0 (167,0-366,0)	235,0 (166,0-337,0)	0,538 (0,591)***
PSAP (≥ 600 pg/ml)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	

* Studentov t-test; ** χ^2 -test; *** Man-Vitnjev U-test

Preoperativno, 2 pacijenta kod kojih je korišćena EKK, su primila resuspendovane eritrocite.

Tokom hirurške intervencije, ukupno 16 pacijenata (16%) je primilo resuspendovane eritrocite (najviše 4 jedinice (2%)), 10 pacijenata (10%) zamrznutu svežu plazmu (najviše 4 jedinice (9%)), 13 pacijenata (13%) krioprecipitat (najviše 20 jedinica (3%)) i 22 pacijenta (22%) koncentrat trombocita (najviše 20 jedinica (4%)). Svim pacijentima su spašavani i vraćani eritrociti, prosečno 565,0 (451,2-650,0)ml. Na Slici 6 je prikazan ukupan broj primljenih jedinica derivata krvi, s time što nije bilo statistički značajne razlike između dve

ipitivane grupe, kao ni u broju pacijenata koji su primili derivate krvi. Takođe, nije bilo razlike ni u broju mililitara spašenih i vraćenih eritrocita.



Slika 6. Ukupan broj primljenih jedinica derivata krvi u grupi pacijenata sa i bez primenjene metode vantelesnog krvotoka.

Osam sati nakon hirurške intervencije, izvršeno je ponovno merenje hematoloških parametara i koncentracije presepsina. Postoperativno, došlo je do smanjenja broja eritrocita ($p < 0,001$), hemoglobina ($p < 0,001$), hematokrita ($p < 0,001$), broja trombocita ($p < 0,001$), ADPHS ($p < 0,001$) i ASPI ($p < 0,05$), a povećanja broja leukocita ($p < 0,001$) i koncentracija CRP ($p < 0,001$) i presepsina ($p < 0,001$). Identična promena je utvrđena i u grupi pacijenata sa EKK, sa statističkom značajnošću od $p < 0,001$ za sve merene promenljive. U grupi pacijenata bez EKK, osim što nije bilo promene u vrednosti TRAP testa (kao ni u celoj studijskoj grupi ili podgrupi pacijenata sa EKK), nije bilo statistički značajne promene ni u vrednosti ASPI testa ($p = 0,173$).

Pacijenti kod kojih je primenjena metoda vantelesne cirkulacije su imali, postoperativno (Tabela 7), niže vrednosti hematokrita ($p < 0,01$), a niže vrednosti ADP HS

($p < 0,01$) i ASPI ($p < 0,001$) testa. Osim toga, među ovim pacijentima je bio veći broj onih sa niskim vrednostima, ispod graničnih, ADP HS ($p < 0,01$) i ASPI ($p < 0,001$). Koncentracija CRP je bila viša u ovoj grupi ($p < 0,001$), kao i koncentracija presepsina ($p < 0,05$) – veći broj pacijenata je imao koncentraciju presepsina iznad graničnih 600pg/ml ($p < 0,01$).

Tabela 7. Postoperativni parametri kod pacijenata sa i bez upotrebe uređaja za vantelesni krvotok

	Sa EKK (N=51)	Bez EKK (N=49)	t* ili χ^2 ** ili Z*** (p)
RBC ($1 \times 10^{12}/l$)	3,9 (3,6-4,3)	3,7 (3,5-4,0)	1,880 (0,060)***
HGB (g/l)	115,0 (110,0-119,0)	114,0 (108,5-116,0)	1,693 (0,090)***
HCT (%)	33,0 (32,0-35,4)	32,0 (30,2-33,2)	2,616 (0,009)***
WBC ($1 \times 10^9/l$)	10,76 \pm 3,69	9,34 \pm 3,56	1,960 (0,053)*
PLT ($1 \times 10^9/l$)	154,67 \pm 59,75	141,33 \pm 53,00	1,179 (0,241)*
ADPHS (AU/min.)	345,0 (246,0-399,0)	388,0 (337,0-423,5)	2,714 (0,007)***
ADPHS (≥ 310AU/min.)	21 (41,2%)	8 (16,3%)	6,337 (0,008)**
ASPI (AU/min.)	444,90 \pm 234,21	697,47 \pm 235,20	5,380 (0,000)*
ASPI (≥ 400AU/min.)	19 (37,3%)	1 (2,0%)	17,229 (0,000)**
TRAP (AU/min.)	1010,0 (852,0-1201,0)	938,0 (850,0-1163,0)	0,976 (0,329)***
TRAP (≥ 500AU/min.)	2 (3,9%)	2 (4,1%)	0,000 (1,000)**
CRP (ng/ml)	110,0 (90,0-132,0)	92,0 (76,5-104,5)	3,552 (0,000)***
PSEP (pg/ml)	419,0 (315,0-625,0)	343,0 (300,0-419,5)	2,552 (0,011)***
PSEP (≥ 600pg/ml)	14 (27,5%)	2 (4,1%)	8,490 (0,002)**

* Studentov t-test; ** χ^2 -test; *** Man-Vitnjev U-test

Kod pacijenata kod kojih je primenjena EKK, postoperativno (Tabela 8) je došlo do manjeg apsolutnog smanjenja vrednosti hemoglobina ($p < 0,05$) i hematokrita ($p < 0,01$), ali većeg apsolutnog porasta vrednosti ADP HS testa ($p < 0,01$) i ASPI testa ($p < 0,001$). Osim toga, utvrđen je veći porast apsolutnih koncentracija CRP ($p < 0,001$) i presepsina ($p < 0,001$).

U pogledu relativne promene merenih parametra, primena EKK je bila povezana (Tabela 9) sa manjim relativnim smanjenjem vrednosti broja eritrocita ($p < 0,05$), hemoglobina ($p < 0,05$) i hematokrita ($p < 0,01$), ali većim relativnim smanjenjem vrednosti ADP HS testa ($p < 0,001$) i ASPI testa ($p < 0,001$). Osim toga, utvrđen je veći relativni porast koncentracije presepsina ($p < 0,01$).

Tabela 8. Razlika između postoperativnih i preoperativnih parametara kod pacijenata sa i bez upotrebe uređaja za vantelesni krvotok

	Sa EKK (N=51)	Bez EKK (N=49)	t* ili Z** (p)
RBC ($1 \times 10^{12}/l$)	-0,6 (-0,8—0,2)	-0,6 (-1,0—0,3)	1,848 (0,065)**
HGB (g/l)	-20,0 (-27,0—14,0)	-27,0 (-31,5—17,0)	2,261 (0,024)**
HCT (%)	-4,97±3,99	-7,43±4,37	2,943 (0,004)*
WBC ($1 \times 10^9/l$)	3,8 (0,1-6,2)	2,2 (-0,2-5,2)	1,393 (0,164)**
PLT ($1 \times 10^9/l$)	-87,06±60,95	-91,18±73,62	0,306 (0,760)*
ADPHS (AU/min.)	-134,45±119,69	-52,11±144,70	3,106 (0,002)*
ASPI (AU/min.)	-194,84±304,27	64,14±324,96	4,116 (0,000)*
TRAP (AU/min.)	-36,0 (-161,0-197,0)	-21,0 (-225,0-173,0)	0,796 (0,426)**
CRP (ng/ml)	100,0 (89,0-119,0)	79,0 (68,0-98,0)	4,072 (0,000)**
PSAP (pg/ml)	200,0 (104,0-377,0)	109,0 (59,0-189,5)	3,427 (0,001)**

* Studentov t-test; ** Man-Vitnijev U-test

Tabela 9. Odnos postoperativnih i preoperativnih parametara kod pacijenata sa i bez upotrebe uređaja za vantelesni krvotok

	Sa EKK (N=51)	Bez EKK (N=49)	t* ili Z** (p)
RBC	0,9 (0,9-1,0)	0,8 (0,8-0,9)	2,010 (0,044)**
HGB	0,8 (0,8-0,9)	0,8 (0,8-0,9)	2,393 (0,017)**
HCT	0,88±0,09	0,82±0,10	3,007 (0,003)*
WBC	1,47±0,45	1,37±0,53	1,051 (0,296)*
PLT	0,7 (0,5-0,8)	0,6 (0,5-0,8)	1,300 (0,194)**
ADP HS	0,7 (0,5-0,9)	0,9 (0,7-1,1)	3,203 (0,001)**
ASPI	0,7 (0,3-1,0)	1,2 (0,7-1,5)	4,037 (0,000)**
TRAP	1,0 (0,9-1,2)	1,0 (0,8-1,2)	0,665 (0,506)**
CRP	11,6 (9,1-23,8)	9,9 (5,6-18,3)	1,486 (0,137)**
PSEP	1,9 (1,5-2,5)	1,5 (1,2-2,0)	2,748 (0,006)**

* Studentov t-test; ** Man-Vitnijev U-test

Četiri pacijenata od 51 (7.84%) u EKK grupi je imalo povišene vrednosti presepsina preko 1000 pg/ml i visok rizik prema kliničkim kriterijumima za razvoj sistemske bakterijske infekcije i sepse. U off pump grupi takvi pacijenti nisu zabeleženi. Takođe, u grupi gde je aplikovan sistem za vantelesni krvotok 17.64% pacijenata (9/51) je ispunjavalo kliničke kriterijume za SIRS uz povišene vrednosti presepsina od 600 pg/ml i više, dok su u drugoj grupi pacijenata 2 od 49 (4.08%) ispunila kliničke i laboratorijske kriterijume za SIRS.

Prosečan perioperativni gubitak krvi je iznosio 1250,0 (1100,0-1700,0)ml, i nije bilo statistički značajne razlike među pacijentima sa i bez EKK (Z=1,653, p=0,098). Ozbiljno krvarenje (>1800ml), je bilo prisutno kod 15 pacijenata (15%). U Tabeli 10 su prikazane osnovne karakteristike, kao i preoperativni parametri pacijenata sa i bez ozbiljnog krvarenja. Pacijenti sa ozbiljnim krvarenjem su češće bili podvrgnuti ugradnji dvostrukog

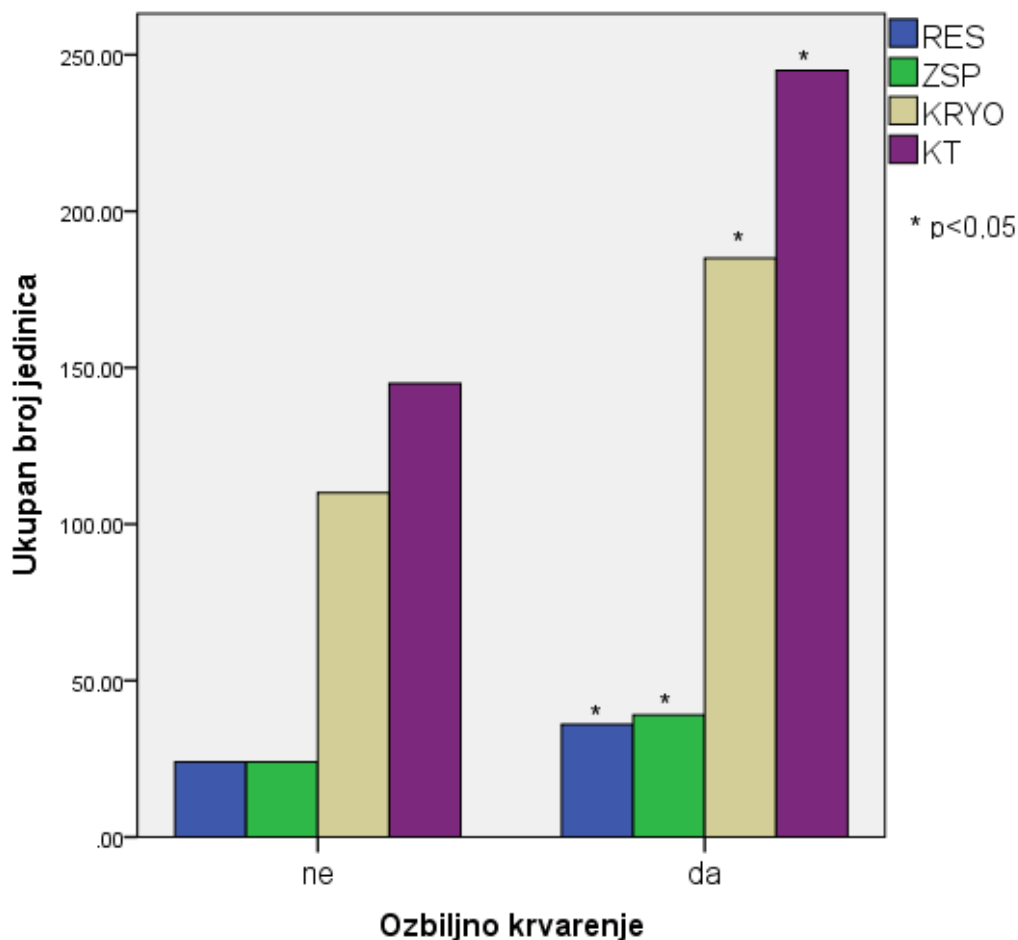
aortokoronarnog bajpasa, u odnosu na druge dve procedure ($p < 0,01$) i imali su preoperativno veći broj leukocita ($p < 0,05$).

Tabela 10. Osnovne karakteristike pacijenata i preoperativni parametri kod pacijenata sa i bez ozbiljnog krvarenja

	Sa ozbiljnim krvarenjem (N=15)	Bez ozbiljnog krvarenja (N=85)	t* ili χ^2 ** ili Z*** (p)
Starost (godine)	65,67±6,80	64,45±7,62	0,580 (0,563)*
Pol (muški)	11 (73,3%)	67 (78,8%)	0,018 (0,736)**
CABG	I	41 (48,2%)	10,300 (0,006)**
	II	26 (30,6%)	
	III	18 (21,2%)	
EKK (da)	11 (73,3%)	40 (47,1%)	2,549 (0,092)**
Perioperativno krvarenje (ml)	1850,0 (1800,0-4100,0)	1200,0 (1100,0-1650,0)	6,186 (0,000)***
RBC ($1 \times 10^{12}/l$)	4,57±0,50	4,45±0,47	0,941 (0,349)*
HGB (g/l)	139,27±15,58	137,52±10,07	0,420 (0,680)*
HCT (%)	39,33±4,88	39,14±4,05	0,164 (0,870)*
WBC ($1 \times 10^9/l$)	7,94±1,67	7,01±1,26	2,552 (0,012)*
PLT ($1 \times 10^9/l$)	235,20±39,37	237,57±67,26	0,189 (0,851)*
ADP HS (AU/min.)	423,0 (418,0-498,0)	448,0 (348,5-544,0)	0,299 (0,765)***
ADPHS (≥ 310 AU/min.)	1 (6,7%)	13 (15,3%)	0,235 (0,687)**
ASPI (AU/min.)	654,27±153,78	633,47±215,45	0,357 (0,722)*
ASPI (≥ 400 AU/min.)	0 (0,0%)	11 (12,9%)	1,060 (0,209)**
TRAP (AU/min.)	1035,47±122,26	1015,82±202,83	0,363 (0,718)*
TRAP (≥ 500 AU/min.)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
CRP (ng/ml)	10,0 (6,0-17,0)	9,0 (4,0-13,0)	0,764 (0,445)***
PSEP (pg/ml)	278,0 (122,0-411,0)	235,0 (176,0-38,5)	0,048 (0,962)***
PSEP (≥ 600 pg/ml)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	

* Studentov t-test; ** χ^2 -test; *** Man-Vitnijev U-test

Pacijenti sa ozbiljnim krvarenjem su primili veći broj jedinica derivata krvi (Slika 7): resuspendovanih eritrocita ($p < 0,05$), zamrznute sveže plazme ($p < 0,05$), krioprecipitata ($p < 0,05$) i koncentrata trombocita, kao i spašenih i vraćenih eritrocita ($p < 0,001$).



Slika 7. Ukupan broj jedinica derivate krvi dat pacijentima sa i bez ozbiljnog krvarenja

U obe grupe pacijenata, sa i bez ozbiljnog krvarenja, postoperativno je došlo do statistički značajnog pada broja eritrocita ($p < 0,01$, $p < 0,001$, redom), hemoglobina ($p < 0,001$, $p < 0,001$, redom), hematokrita ($p < 0,01$, $p < 0,001$, redom), broja trombocita ($p < 0,001$, $p < 0,001$, redom) i ADPHS ($p < 0,001$, $p < 0,001$, redom), a porasta koncentracija CRP ($p < 0,001$, $p < 0,001$, redom) i presepsina ($p < 0,05$, $p < 0,001$, redom).

Pacijenti sa ozbiljnim krvarenjem (Tabela 11) su imali, postoperativno, veći broj leukocita ($p < 0,001$), a veći broj pacijenata je imao niske vrednosti TRAP testa ($\leq 500 \text{ AU/min.}$) u odnosu na one bez ozbiljnog krvarenja ($p < 0,001$).

Tabela 11. Postoperativni parametri kod pacijenata sa i bez upotrebe ozbiljnog krvarenja

	Sa ozbiljnim krvarenjem (N=15)	Bez ozbiljnog krvarenja (N=85)	t* ili χ^2 ** ili Z*** (p)
RBC ($1 \times 10^{12}/l$)	3,9 (2,9-4,4)	3,8 (3,6-4,1)	0,150 (0,881)***
HGB (g/l)	110,0 (87,0-130,0)	114,0 (109,0-117,0)	0,464 (0,642)***
HCT (%)	21,0 (25,4-39,7)	32,5 (31,0-34,2)	0,227 (0,820)***
WBC ($1 \times 10^9/l$)	13,02 \pm 3,70	9,55 \pm 3,44	3,566 (0,001)*
PLT ($1 \times 10^9/l$)	141,6 \pm 64,80	149,28 \pm 55,44	0,482 (0,631)*
ADPHS (AU/min.)	326,0 (222,0-399,0)	364,0 (308,5-414,5)	1,554 (0,120)***
ADPHS (≥ 310 AU/min.)	6 (40,0%)	23 (27,1%)	0,504 (0,359)**
ASPI (AU/min.)	566,20 \pm 326,87	569,09 \pm 255,80	0,039 (0,969)*
ASPI (≥ 400 AU/min.)	5 (33,3%)	15 (17,6%)	1,103 (0,173)**
TRAP (AU/min.)	870,0 (180,0-1201,0)	1010,0 (859,5-1178,0)	1,250 (0,211)***
TRAP (≥ 500 AU/min.)	4 (26,7%)	0 (0,0%)	17,177 (0,000)**
CRP (ng/ml)	103,0 (87,0-132,0)	101,0 (88,0-119,5)	0,618 (0,537)***
PSEP (pg/ml)	345,0 (295,0-528,0)	366,0 (313,5-560,0)	0,685 (0,493)***
PSEP (≥ 600 pg/ml)	3 (20,0%)	13 (15,3%)	0,006 (0,704)**

* Studentov t-test; ** χ^2 -test; *** Man-Vitnijev U-test

Kod pacijenata sa ozbiljnim krvarenjem, postoperativno (Tabela 12) je došlo do većeg apsolutnog broja leukocita ($p < 0,01$). Međutim, nije bilo statistički značajne razlike u relativnoj promeni merenih hematoloških parametara, kao ni koncentracije CRP i presepsina (Tabela 13).

Tabela 12. Razlika između postoperativnih i preoperativnih parametara kod pacijenata sa i bez ozbiljnog krvarenja

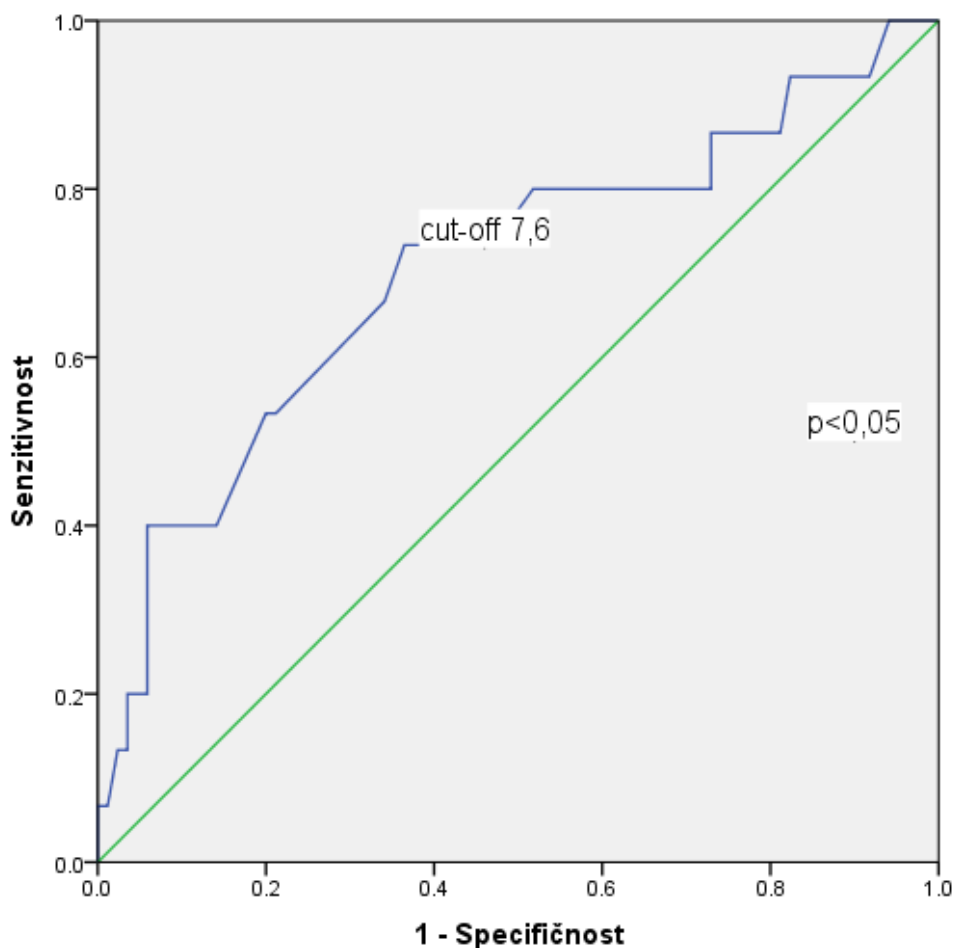
	Sa EKK (N=51)	Bez EKK (N=49)	t* ili Z** (p)
RBC ($1 \times 10^{12}/l$)	-0,4 (-1,5-0,1)	-0,6 (-0,8—0,3)	0,159 (0,873)**
HGB (g/l)	-26,0 (-38,0—9,0)	-23,0 (-29,0—16,0)	0,358 (0,721)**
HCT (%)	-5,87 \pm 6,03	-6,23 \pm 4,01	0,222 (0,827)*
WBC ($1 \times 10^9/l$)	6,0 (2,2-7,2)	2,2 (-0,2-5,2)	2,612 (0,009)**
PLT ($1 \times 10^9/l$)	-93,60 \pm 63,94	-88,28 \pm 68,03	0,281 (0,779)*
ADPHS (AU/min.)	-124,89 \pm 119,57	-8,67 \pm 141,16	0,254 (0,352)*
ASPI (AU/min.)	-88,07 \pm 396,63	-64,38 \pm 330,31	0,248 (0,804)*
TRAP (AU/min.)	-94,0 (-802,0-249,0)	-8,0 (-181,0-193,5)	1,284 (0,199)**
CRP (ng/ml)	93,0 (79,0-115,0)	91,0 (73,0-107,5)	0,739 (0,460)**
PSAP (pg/ml)	110,0 (49,0-268,0)	166,0 (89,0-228,0)	0,845 (0,399)**

* Studentov t-test; ** Man-Vitnijev U-test

Tabela 13. Odnos postoperativnih i preoperativnih parametara kod pacijenata sa i bez upotrebe ozbiljnog krvarenja

	Sa EKK (N=51)	Bez EKK (N=49)	t* ili Z** (p)
RBC ($1 \times 10^{12}/l$)	0,9 (0,7-1,0)	0,9 (0,8-0,9)	0,034 (0,973)**
HGB (g/l)	0,8 (0,7-0,9)	0,8 (0,8-0,9)	0,343 (0,732)**
HCT (%)	0,85 \pm 0,16	0,85 \pm 0,09	0,954 (0,059)*
WBC ($1 \times 10^9/l$)	1,64 \pm 0,45	1,38 \pm 0,49	1,932 (0,056)*
PLT ($1 \times 10^9/l$)	0,6 (0,3-0,8)	0,7 (0,5-0,7)	0,705 (0,481)**
ADPHS (AU/min.)	0,7 (0,5-0,8)	0,8 (0,6-1,1)	1,554 (0,120)**
ASPI (AU/min.)	0,8 (0,3-1,5)	0,8 (0,6-1,4)	0,280 (0,780)**
TRAP (AU/min.)	0,9 (0,2-1,3)	1,0 (0,8-1,2)	1,395 (0,163)**
CRP (ng/ml)	10,3 (7,8-14,4)	11,6 (7,7-22,4)	0,792 (0,429)**
PSAP (pg/ml)	1,6 (1,2+2,4)	1,6 (1,3-2,2)	0,468 (0,640)**

* Studentov t-test; ** Man-Vitnijev U-test



Slika 8. ROC kriva broja leukocita kao determinant pojave ozbiljnog krvarenja

Analizom ROC krive ispitivana je diskriminatorska sposobnost različitih promjenljivih (osobine pacijenata, vrsta intervencije, preoperativni laboratorijski parametri) u predviđanju pojave ozbiljnog krvarenja. Preoperativni broj leukocita ima dobru diskriminatorsku

sposobnost (AUC=0,704 (0,540-0,867), $p < 0,05$), sa graničnom vrednošću od $7,6 \times 10^9/l$ (senzitivnost 73,3%, specifičnost 63,5%) (Slika 8).

Standardnom univarijantnom linearnog regresionom analizom, utvrđeni su prediktori ukupnog perioperativnog gubitka krvi: veća starost bolesnika ($p < 0,05$), kao i veći broj leukocita preoperativno ($p < 0,05$), odnosno broj leukocita iznad prethodno određene granične vrednosti ($\geq 7,6 \times 10^9/l$) ($p < 0,01$) (Tabela 14).

Tabela 14. Standardna linearna regresiona analiza prediktora ukupnog perioperativnog gubitka krvi

	B (95% CI za B)	p
Starost (godine)	18,383 (1,850-34,915)	0,030
Preoperativno WBC ($1 \times 10^9/l$)	105,591 (13,703-197,479)	0,025
Preoperativno WBC ($\geq 7,6 \times 10^9/l$)	326,026 (78,961-573,091)	0,010

Istom metodom, identifikovani su prediktori ozbiljnog krvarenja: veći preoperativni broj leukocita ($p < 0,05$), odnosno njihov broj iznad $7,6 \times 10^9/l$ ($p < 0,05$) (Tabela 15).

Tabela 15. Binarna logistička regresiona analiza prediktora ozbiljnog krvarenja

	OR (95% CI za OR)	p
Preoperativno WBC ($1 \times 10^9/l$)	1,801 (1,115-2,909)	0,016
Preoperativno WBC ($\geq 7,6 \times 10^9/l$)	4,790 (1,405-16,334)	0,012

7. DISKUSIJA

Transfuzija je često neophodna tokom izvođenja kardiohirurških procedura kako bi se korigovala koagulopatija, gubitak krvi i hemodilucija zbog priming-a¹⁵³. Vrlo često, bolesnici koji se podvrgavaju kardiohirurškim procedurama imaju brojne komorbiditete kao što su na primer anemija ili raniji infarkti miokarda koji povećavaju rizik od nastanka komplikacija te je samim tim i potreba za transfuzijom krvi veća¹⁵⁴. U ovom istraživanju 2% pacijenata je preoperativno primilo po 1 jedinicu resuspendovanih eritrocita radi korekcije preoperativne anemije.

U Sjedinjenim Američkim Državama je, suprotno opštem trendu, došlo do povećanja transfuzije krvi i derivata krvi tokom izvođenja kardiohirurških intervencija u toku 2010-te godine kada je ukupno 34% operisanih pacijenata primilo transfuziju crvenih krvnih zrnaca ili drugih derivata krvi¹⁵⁵. Štaviše, kardiohirurgija je bila grana hirurgije koja je trošila najveće količine krvidok je na drugom mestu bila ortopedska hirurgija^{156,157}. Transfuzija je često neophodna tokom izvođenja kardiohirurških procedura kako bi se korigovala koagulopatija, gubitak krvi i hemodilucija zbog priming-a¹⁵⁸. Vrlo često, bolesnici koji se podvrgavaju kardiohirurškim procedurama imaju brojne komorbiditete kao što su na primer anemija ili raniji infarkti miokarda koji povećavaju rizik od nastanka komplikacija te je samim tim i potreba za transfuzijom krvi veća¹⁵⁹.

Važno je napomenuti da se kod većine bolesnika koji su se podvrgavali kardiohirurškim procedurama i koji su imali povećanu stopu morbiditeta i mortaliteta davala nadoknada u proseku jedna do dve jedinice krvi¹⁶⁰. Ovi pacijenti se uglavnom tretiraju zbog anemije ali su u principu bili hemodinamski stabilni^{161,162}.

U sprovedenom istraživanju tokom hirurške intervencije, ukupno 16% je primilo resuspendovane eritrocite, 10% zamrznutu svežu plazmu, 13 pacijenata krioprecipitat i 22 pacijenta (22%) koncentrat trombocita. Svim pacijentima su spašavani i vraćani autologni eritrociti. Dobijeni rezultati su u saglasju sa podacima prisutnim u literaturi koji prate ove medicinske podatke.

Kardiohirurška intervencija je sama po sebi mutilantna operacija bez obzira da li se izvodi u uslovima EKK ili bez pumpe. S tim u vezi literaturni podaci ukazuju na statistički značajno povišene vrednosti kako presepsina tako i CRP-a nakon kardiohirurgije, a ovi

biomarkeri su korišćeni i kao nezavisni prediktori SIRS-a i septičnog stanja u kardiohirurgiji¹⁶³. Vrednosti presepsina koje se u istraživanjima navode kao klinički značajne vrednosti za procenu razvoja infektivnih komplikacija se kreću od 600-700pg/ml¹⁶⁴. Podaci dobijeni u ovoj studiji takođe koreliraju sa rezultatima drugih istraživača.

Sistem za vantelesni krvotok dovodi do mehaničkog stresa i oštećenja crvenih krvnih zrnaca, akutno ili odloženo, ali svakako dovodi do značajnih promena u reologiji i mehaničkoj funkciji samih ćelija. Stoga, ali i zbog hemodilucije, perioperativnog krvarenja, neretko nakon primene EKK beleži se pad hemoglobina i hematokrita¹⁶⁵. Isti slučaj se beleži i u sprovedenoj studiji, sa detekcijom smanjenja vrednosti hemoglobin i hematokrita u poređenju sa grupom pacijenata gde sistem nije korišćen.

U cilju smanjenja količine gubitka krvi i transfuzija krvi koje su potrebne tokom i nakon operacije srca, važno je da se antitrombocitni lekovi kao što su acetilsalicilna kiselina i klopidogrel, propisani rutinski kod pacijenata pre operacije srca posebno kod onih koji se podvrgavaju hirurškoj revaskularizaciji miokarda, blagovremeno obustave pre operacije. Ne postoje precizni podaci kada i kog dana treba obustaviti davanje antitrombocitnih lekova kako bi se dobili najoptimalniji rezultati u smislu smanjenja postoperativne drenaže i potrebe za nadoknadom krvi i krvnih derivata. Ipak, podaci iz literature pokazuju da već prekid davanja antitrombocitnih lekova 2 dana pre izvođenja kardiohirurške procedure dovodi do značajnog smanjenja potrebe za nadoknadom trombocita¹⁶⁶.

Upotreba POC evaluacije može da pruži brži i potpuniji uvid u ovaj delikatan balans, stvarajući više individualizovan tretman orijentisan prema svakom pacijentu posebno. Velika varijacija u osetljivosti pacijenta na primenu klopidogrela, često daje jako različite individualne rezultate pre operacije, što iziskuje dalju upotrebu i određivanje POC pre, za vreme i posle kardiohirurgije. Uticaj kardiopulmonalnog baj-pas sistema na broj i funkciju trombocita je neosporan, što se najbolje detektuje testovima za ispitivanje funkcije trombocita (impedantna agregometrija). Individualni pristup orijentisan prema svakom pacijentu posebno može doprineti smanjenju perioperativnog i postoperativnog gubitka krvi i svesti potrebu za primenu transfuzije na minimum¹⁶⁷. Tako je tokom sprovedenog istraživanja zabeležen statistički značajan pad u testovima impedantne agregometrije u pacijenata podvrgnutim vantelesnom krvotoku u poređenju sa drugom grupom.

Nedavno su članovi Američkog koledža (ACCP /SCCM) predložili precizne definicije za pojmove sepsa, teška sepsa i septički šok. Izraz SIRS predložen je za opis bilo

kojeg upalnog procesa nezavisno od njegovog uzroka. SIRS se može smatrati produžetkom fizioloških mehanizama samoodbrane, a produženje SIRS-a podrazumeva pogoršanje kliničkog statusa pacijenta.

Kardiohirurgija sa sistemom EKK uzrokuje SIRS zbog hirurške traume, kontakta krvi sa stranim materijalima, abnormalnog naprezanja pri protoku, ishemije, reperfuzije, hipotermije, i nefiziološke situacije. Kaže se da je SIRS koji se javlja nakon kardiohirurške operacije povezan sa masivnom, neuravnoteženom indukcijom citokina. Konkretno, interakcija komponenata krvi sa površinama Sistema EKK i ishemija-reperfuzijska povreda nakon uklanjanja aorte uzrokuju značajno povišenje nivoa citokina u plazmi tokom i nakon kardiohirurške intervencije pod CPB-om. Ova studija je takođe pokazala da su najviši nivoi cirkulacije citokina zabeleženi par sati nakon uklanjanja kleme i da je trajanje SIRS-a povezano s produženim trajanjem EKK¹⁶⁸.

IL-6 proizvode monociti, limfociti i endotelne ćelije. Smatra se da IL-6 stimuliše adhezivnu interakciju neutrofila i miocita i indukuje oštećenje miokarda nakon CPB operacije. Ova studija pokazuje da je najviši nivo IL-6 u plazmi značajno u korelaciji s trajanjem SIRS-a i CPB-a. Dakle, pretpostavljalo se da će IL-6 biti jedan od ključnih posrednika odgovora akutne faze kod pacijenata koji su podvrgnuti kardiohirurškoj intervenciji pod CPB-om¹⁶⁹.

IL-8 proizvode monociti, polimorfonuklearni (PMN) leukociti, makrofagi, fibroblasti i vaskularne endotelne ćelije. Smatra se da IL-8 indukuje pojačavanje neutrofila i makrofaga¹⁷⁰. Ova studija je takođe pokazala da je najviši nivo IL-8 u plazmi u korelaciji sa najvišim nivoom broja leukocita. Nadalje, zabeleženo je da IL-8 reguliše neutrofilne transendotelne migracije i potencijalno za kontrolu neutrofilom posredovane ozlede tkiva. To rezultira lokalnom upalom, i pored migracije i akumulacije leukocita u vaskularne endotelne ćelije i time dovodi do kasnijeg razvoja postoperativnog oštećenja organa¹⁷¹⁻¹⁷³. Ova studija takođe ukazuje na pojačanu proizvodnju citokina IL-10, što može predstavljati pokušaj domaćina za suzbijanje prekomerne aktivnosti proinflamatornih citokina IL-6 i IL-8.

Oksidativni stres i inflamacija se dovode u vezu sa upotrebom ekstrakorporalnog krvotoka i baj-pas procedure. Oksidativni stres (meren lipidnom peroksidacijom) takođe je upoređen kod pacijenata koji su podvrgnuti operaciji koronarnih arterija sa ili bez sistema EKK, a pokazalo se da je manji u situaciji bez pumpe¹⁷⁴. Ovi rezultati nisu iznenađujući jer je

jasno da se očekuje da su ishemija i reperfuzija uključeni u operaciju na pumpi i da će izazvati oksidativni stress i posledično povećanu inflamaciju.

Citokini su značajni modulatori imunog sistema i inflamatornog odgovora, a posebnu ulogu imaju i u kardiohirurgiji i to prilikom intervencija uz upotrebu sistema za vantelesni krvotok. Smatra se da je ozbiljan inflamatorni odgovor na kardiohirurgiju podržan CPB-om posredovan citokinima koji su uključeni u regulaciju inflamacije, poput IL-6 ili TNF. Međutim, uloga i ekspresija citokina u visoko rizičnih pacijenata sa srčanim bolestima koji se podvrgavaju PCI podržanom od normotermičkog CPB-a nisu dobro razumljivi¹⁷⁵.

Podaci u vezi s TNF-om tokom kardiohirurške operacije su oprečni, gde se za TNF- α izveštava da je prisutan kod hronične srčane insuficijencije i kaheksije, kao i za vreme i nakon CPB-a, paralelno s povišenim nivoima endotoksina. Uloga IL-1 u kardiovaskularnim bolestima nije istražena detaljno. Međutim, IL-1 je prisutan u plazmi bolesnika s miokarditisom, ali ne i kod onih s infarktom miokarda ili hroničnim zatajenjem srca. IL-6 kao marker upalnog odgovora je dobar prognostički proinflamatorni marker kod srčane insuficijencije i nakon kardiohirurške operacije uz podršku EKK¹⁷⁶.

A. Diegeler et al. su u svom istraživanju ukazali da kardiopulmonalni bajpas (CPB) izaziva sistemsko oslobađanje inflamatornih citokina. Ova studija upoređuje humoralni imunološki odgovor kod pacijenata koji se podvrgavaju CABG-u sa standardnim, minimalno invazivnim i "off-pump" tehnikama¹⁷⁷. U prilog pojačanoj sistemskoj inflamaciji govore značajno povećano oslobađanje faktora aktiviranog komplementa C5a i C3d, IL-8 i IL-10. Uočili su posebno kod pacijenata koji su bili podvrgnuti EKK tokom početnog perioda i kratko vreme nakon perfuzije. TNF-alfa receptori p55 i p75 pokazali su produženo povišenje (do 48 sati) u CPB grupi u poređenju sa 2 grupe van pumpe. IL-6 nije pokazao različito otpuštanje među 3 hirurške grupe tokom čitavog perioda. Nije bilo značajne razlike ni u jednom parametru izmerenom u odnosu na tip operativnog pristupa.

M.M. Jemielity et al. navode da je upotreba sistema EKK takođe povezana s brojnim komplikacijama. Hirurška tehnika izbegavanja kardiopulmonalnog bajpasa trebala bi smanjiti učestalost takvih komplikacija i dovesti do poboljšanja ishoda pacijenta. Ova pretpostavka ponovila je značaj za izvođenje operacija bajpasa koronarne arterije bez pumpe, što je trenutno u fokusu naučnog ispitivanja, a pre svega zbog izbegavanja pojačanog sistemskog inflamatornog odgovora i rizika koje nosi¹⁷⁸. S druge strane u metaanalizi randomiziranih ispitivanja, pacijenti koji su podvrgnuti koronarnoj operaciji bez pumpe imali su nižu stopu

revaskularizacije i nižu prohodnost grafta nego pacijenti koji su podvrgnuti konvencionalnoj koronarnoj operaciji, tako da je ovaj naučni i klinički problem i dalje aktuelan u stručnoj javnosti¹⁷⁹.

Čini se da je priroda TNF-indukovanog oštećenja miokarda dvofazna. TNF- α može u ranoj fazi delovati na α - i β -adrenergičnu reakciju miocita na NO-nezavistan način. TNF- α takođe može izazvati disfunkciju miokarda kroz NO-zavisni mehanizam u odloženoj fazi. Nadalje, nedavno se sugerije da je TNF- α kritični faktor u pokretanju kaskade citokina odgovornih za indukciju molekula-1 unutarćelijske adhezije miocita i naknadne ozlede izazvane neutrofilima¹⁸⁰. Eksperimentalna ispitivanja pokazala su da inhibicija ili neutralizacija TNF- α adenozinom ili monoklonskim anti-TNF antitelom mogu smanjiti povredu ishemije i reperfuzije miokarda i time poboljšati oporavak srčane funkcije. Ipak, dokaze koji podržavaju primenu anti-TNF strategija tokom kliničkog CPB-a tek treba dati.

CPB je povezan s proizvodnjom IL-6. Primećeno je da je ishemični i reperfuzirani miokardi glavni izvor IL-6 tokom CPB. Sinteza mRNA IL-6 ubrzava se reperfuzijom i može biti uključena u indukciju molekula-1 unutarćelijske adhezije. Stoga su povišeni nivoi IL-6 povezani sa srčanom disfunkcijom nakon CPB-a¹⁸¹, iako su direktni hemodinamski efekti IL-6 sumnjivi. Opsežna nedavna istraživanja dala su uvid u ulogu IL-6 u patogenezi akutne upale. IL-6 može biti marker, a ne kritični posrednik povrede. U odsustvu transfuzije krvi ili krvnog produkta, pronađena je pozitivna korelacija između veličine oslobađanja IL-6 i trajanja CPB-a. Štaviše, IL-6 može imati protivupalni učinak direktnom supresijom, kao i indukcijom prirodnog antagonista TNF- α . Iako je slična proizvodnja IL-6 zabeležena kod pacijenata koji su podvrgnuti bajpas koronarnoj arteriji (CABG) kroz sternotomiju sa ili bez upotrebe CPB, značajno niže oslobađanje srčanog troponina-I (visoko specifični marker oštećenja miokarda) uočena je u grupi van pumpe. Ovi nalazi ukazuju na to da na proizvodnju IL-6 može uglavnom uticati stepen hirurške trauma. Ipak, malo je verovatno da će IL-6 biti presudni posrednik koji izaziva oštećenje miokarda¹⁸².

Kada je reč o IL-8, on je hemoatraktant za neutrofile. IL-8 može aktivirati neutrofile, kao i T limfocite i uzeti udeo u oštećenju pluća koje je povezano sa sekvestracijom plućnih leukocita nakon kardiohirurgije, a takođe može povećati oslobađanje histamina. Znatno broj studija je dokumentovao da je miokard glavni izvor IL-8 tokom reperfuzije nakon dužeg trajanja ishemije- infarkta miokarda. Aktivacija komplekta pospešuje ekspresiju IL-8¹⁸³.

Oslobađanje anti-inflamatornog citokina IL-10 može igrati zaštitnu ulogu suzbijajući proizvodnju drugih citokina. IL-10 vrši svoju kardioprotektivnu funkciju inhibirajući interakciju neutrofilnih granulocita i endotelnih ćelija. IL-10 može smanjiti stope smrtnosti i razvoj akutne povrede pluća, kako eksperimentalno tako i klinički. Pored toga, IL-10 može inhibirati proliferaciju vaskularnih glatkih mišića, predstavljajući endogeni izvor zaštite koji je potencijalno važan kod pacijenata nakon CABG. Prethodna primena steroida i upotreba aprotinina mogu značajno poboljšati produkciju IL-10 koja prvenstveno potiče iz jetre za vreme CPB¹⁸⁴.

Song Wan et al. predlažu u svojoj studiji i terapijske modalitete za smanjenje imunog odgovora. Naime, ističu farmakološke strategije poput primene kortikosteroida, aprotinina, antioksidanata i drugih sredstava. Ove intervencije uglavnom su usmerene na upalne reakcije zbog hirurške traume, ishemije-reperfuzije na organima, promene temperature itd. Modifikacija creva presvučenih heparinom zbog veštačkog materijala tokom CPB-a, može biti od značaja. Hirurška tehnika, kao što je off pump, takođe doprinosi manjoj imunološkoj stimulaciji pacijenta¹⁸⁵.

Praćenje gubitka krvi u grudnom košu sa satnom drenažom unutar prvih postoperativnih sati čini se vrlo relevantnim za identifikaciju aktivnog krvarenja posle operacije na srcu. Potrebne su dalje studije kako bi se ocenilo može li kinetička dimenzija merenja krvarenja eventualno poboljšati strategiju očuvanja krvi¹⁸⁸. Koliko nam je poznato, ovo multicentrično istraživanje je prvi pokušaj da se posle dinamičke operacije srca identifikuje aktivno krvarenje. Koristeći definiciju gubitka krvi od 1,5 ml / kg / sat tokom perioda od 6 sati ili rane reoperacije, ukupna incidenca je 2,6%. U našem istraživanju krvarenje u prvih 24h postoperativno veće od 1.5l je registrovano kod 9% pacijenata.

Veoma je važno obezbediti adekvatnu drenažu i uklanjanje krvi iz perikarda i pleure (ima visoku fibrinolitičku aktivnost i tkivni faktor koagulacije). Uklanjanje ove krvi i ugruška verovatno ne samo da smanjuje šansu da dođe do prevelikog gubitka krvi sprečavajući sistemsku koagulopatiju, ali verovatno je da ima blagotvorne efekte i na nekoliko drugih faktora koji su povezani sa operacijom kao, npr. zapaljenje, atrijalna fibrilacija, perikardni izlivi (tamponade), i razvoj priraslica¹⁸⁶. U ovoj studiji 15% pacijenata je imalo krvarenje veće od 1800ml na dren tokom prvih 24h nakon intervencije, i to prevashodno u grupi pacijenata gde je korišćen sistem za vantelesni krvotok.

Što se transfuzija zamrznute sveže plazme tiče, kao i transfuzije koncentrata trombocita, u ovom istraživanju sprovedena je isključivo na osnovu algoritama hemostazne terapije vođenih uređajima Clot Pro i Multiplate. Koncentrat donorskih trombocita rano posle operacije, dobijali su pacijenti takođe na osnovu analiziranja point of care (POC) testova hemostaze-Multiplate analizatoru (ADP, ASPI, TRAP test). Fibrinogen je jedan od najvažnijih faktora koagulacije i moguće je da proces zgrušavanja padne ispod kritičnog nivoa tokom hemodilucije te stoga treba voditi računa i po potrebi krenuti sa davanjem fibrinogen koncentrata. S obzirom da nismo posedovali koncentrat fibrinogena, prateći vrednosti koagulacije na Clot Pro uređaju, pacijenti su u slučaju deficita fibrinogena transfundovani krioprecipitatom nakon operacije.

8. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata izvedeni su sledeći zaključci:

1. Nakon hirurške revaskularizacije miokarda, utvrđen je veći relativni porast koncentracije presepsina, broja leukocita i CRP u EKK grupi pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu, što dokazuje značajan uticaj EKK sistema na imunski status pacijenata.
2. U postoperativnom periodu, zabeležena je veća stopa učestalosti SIRS kod pacijenata kod kojih je korišćen sistem za EKK, što takođe ukazuje na njegov značaj u razvoju sistemske inflamacije i imunske disregulacije.
3. U grupi pacijenata kod kojih je korišćen sistem za EKK tokom kardiohirurške intervencije, zabeležene su znatno veće potrebe za jedinicama krvi i produkata od krvi, što ukazuje na evidentan uticaj EKK sistema na krvne elemente i činioce koagulacionog sistema.
4. Dokazana je da EKK sistem remeti funkcionalnost trombocita, imajući u vidu da su u EKK grupi pacijenata, vrednosti ADP HS i ASPI testa bile statistički značajno snižene.
5. Pacijenti sa ozbiljnim krvarenjem su češće bili podvrgnuti ugradnji dvostrukog aorto-koronarnog bajpasa, u odnosu na druge dve procedure i imali su preoperativno veći broj leukocita, što se objašnjava složenošću hirurške procedure i dužinom trajanja EKK procedure.
6. Ozbiljno krvarenje (>1800 mL/24h), je detektovano isključivo u grupi pacijenata kod kojih je korišćen EKK sistema, što takođe govori u prilog uticaja ovog sistema na hemostazu.
7. Primena EKK je povezana sa smanjenjem vrednosti broja eritrocita, hemoglobina i hematokrita.

9. LITERATURA

1. De Backer G. Epidemiology and prevention of cardiovascular disease: Quo vadis? *Eur J Prev Cardiol.* 2017; 2047487317691875.
2. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, et al. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *Eur Heart J.* 2014; 35(42): 2929.
3. Härtel U. [Gender issues in the epidemiology of cardiovascular diseases]. *Ther Umsch.* 2007;64(6): 297-304.
4. Incidencija i mortalitet od akutnog koronarnog sindroma u 2006, 2007, 2008, 2009, Srbija. Institut za javno zdravlje republike Srbije „Dr Milan Jovanović Batut”; Available from: <http://www.batut.org.rs>.
5. Cowie MR. The heart failure epidemic: a UK perspective. *Echo Res Pract.* 2017; 4(1): R15-R20.
6. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, et al. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update. *Eur Heart J.* 2013; 34(39): 3028-34.
7. King DE, Xiang J. Retirement and Healthy Lifestyle: A National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) Data Report. *J Am Board Fam Med.* 2017; 30(2): 213-9.
8. Fuster V, Kelly BB, editors. Promoting Cardiovascular Health in the Developing World: A Critical Challenge to Achieve Global Health. Washington (DC): National Academies Press (US); 2010.
9. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation.* 2005; 111(25):3481-8.
10. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: full text. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007; 14 Suppl 2:S1-113.
11. Matsuo Y, Akasaka T. Mechanisms of coronary plaque formation and disruption. *Nihon Rinsho.* 2006; 64(4): 633-41.
12. Wijns W, Kolh P, Danchin N, et al. Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the

- European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *EurHeart J.* 2010; 31(20): 2501-55.
13. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Comparative survival of dialysis patients in the United States after coronary angioplasty, coronary artery stenting, and coronary artery bypass surgery and impact of diabetes. *Circulation.* 2002; 106(17): 2207-11.
 14. Fox K, Garcia MA, Ardissino D, et al. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary: The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2006; 27(11): 1341-81.
 15. Trullàs JC, González-Franco Á. Major developments in the 2016 european guidelines for heart failure. *Rev Clin Esp.* 2017; pii: S0014-2565(17)30052-8.
 16. Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, et al. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(6): 937-54.
 17. Zárate A, Manuel-Apolinar L, Basurto L, et al. Cholesterol and atherosclerosis. Historical considerations and treatment. *Arch Cardiol Mex.* 2016 ; 86(2):163-9.
 18. Zabalza M, Subirana I, Lluís-Ganella C, et al. Association Between Coronary Artery Disease Genetic Variants and Subclinical Atherosclerosis: An Association Study and Meta-analysis. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2015; 68(10): 869-77.
 19. Cichoń N, Lach D, Dziedzic A, et al. The inflammatory processes in atherogenesis. *Pol Merkur Lekarski.* 2017; 42(249): 125-8.
 20. Zárate A, Manuel-Apolinar L, Saucedo R, et al. Hypercholesterolemia As a Risk Factor for Cardiovascular Disease: Current Controversial Therapeutic Management. *Arch Med Res.* 2016; 47(7):491-5
 21. Bergheanu SC, Bodde MC, Jukema JW. Pathophysiology and treatment of atherosclerosis : Current view and future perspective on lipoprotein modification treatment. *Neth Heart J.* 2017; 25(4):231-42.
 22. Mitu O, Roca M, Floria M, et al. Subclinical cardiovascular disease assessment and its relationship with cardiovascular risk SCORE in a healthy adult population: A cross-sectional community-based study. *Clin Investig Arterioscler.* 2017; pii: S0214-9168(16): 30175-9.
 23. Haverich A. A Surgeon's View on the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circulation.* 2017; 135(3):205-7.
 24. Poredos P, Poredos P, Jezovnik MK. Structure of atherosclerotic plaques in different vascular territories: clinical relevance. *Curr Vasc Pharmacol.* 2017 .
 25. Petrovič D, Tibaut M, Mekiš D. Pathophysiology of Myocardial Infarction and Acute Management Strategies. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2016.

26. Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, et al. Platelet glycoprotein IIIa Pl(a) polymorphism, fibrinogen and platelet aggregability: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2001; 104(2): 140-4.
27. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2016; 69(12): 1167.
28. Oeing CU, Tschöpe C, Pieske B. [The new ESC Guidelines for acute and chronic heart failure 2016]. *Herz*. 2016; 41(8): 655-63.
29. Andrieu S, Jouve B, Pansieri M. Optimization of the management of acute heart failure. New concept of fast-track. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. 2016; 65(5): 330-3.
30. Chew DP, Scott IA, Cullen L, et al. National Heart Foundation of Australia & Cardiac Society of Australia and New Zealand: Australian Clinical Guidelines for the Management of Acute Coronary Syndromes 2016. *Heart Lung Circ*. 2016; 25(9): 895-951.
31. Heil B, Tang WH. Biomarkers: Their potential in the diagnosis and treatment of heart failure. *Cleve Clin J Med*. 2015; 82(12 Suppl 2): S28-35.
32. Ural D, Çavuşoğlu Y, Eren M, et al. Diagnosis and management of acute heart failure. *Anatol J Cardiol*. 2015; 15(11): 860-89.
33. Alame AJ, Karatasakis A, Karacsonyi J, et al. Comparison of the American College of Cardiology/American Heart Association and the European Society of Cardiology guidelines for the management of patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Coron Artery Dis*. 2017.
34. Chapman AR, Adamson PD, Mills NL. Assessment and classification of patients with myocardial injury and infarction in clinical practice. *Heart*. 2017; 103(1): 10-8.
35. Ong P, Sechtem U. Coronary microvascular dysfunction : Clinical aspects, diagnosis and therapy. *Herz*. 2016 ; 41(4): 351-60.
36. Olearchyk AS, Vasiliu I, Kolesov. A pioneer of coronary revascularization by internal mammarycoronary artery grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1988; 96(1): 13-8.
37. Rastan AJ. Treatment of Coronary Artery Disease: Randomized Trials on Myocardial Revascularization and Complete Arterial Bypass Grafting. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2017; 65(S 03):S167-S173.
38. Levine GN, Bates ER, Bittl JA, et al. 2016 ACC/AHA Guideline Focused Update on Duration of Dual Antiplatelet Therapy in Patients With Coronary Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines: An Update of the 2011 ACCF/AHA/SCAIGuideline for Percutaneous

- Coronary Intervention, 2011 ACCF/AHA Guideline for Coronary Artery Bypass Graft Surgery, 2012 ACC/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/STS Guideline for the Diagnosis and Management of Patients With Stable Ischemic Heart Disease, 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of ST-Elevation Myocardial Infarction, 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Non-STElevation Acute Coronary Syndromes, and 2014 ACC/AHA Guideline on Perioperative Cardiovascular Evaluation and Management of Patients Undergoing Noncardiac Surgery. *Circulation*. 2016; 134(10): e123-55.
39. Aldea GS, Bakaeen FG, Pal J, et al. The Society of Thoracic Surgeons Clinical Practice Guidelines on Arterial Conduits for Coronary Artery Bypass Grafting. *Ann Thorac Surg*. 2016 ;101(2): 801-9.
 40. Favaloro RG. Landmarks in the development of coronary artery bypass surgery. *Circulation*. 1998; 98(5): 466-78.
 41. Loop FD, Lytle BW, Cosgrove DM, et al. Influence of the internal-mammary-artery graft on 10-year survival and other cardiac events. *N Engl J Med*. 1986; 314(1): 1-6.
 42. Cameron A, Davis KB, Green G, et al. Coronary bypass surgery with internal-thoracic-artery grafts--effects on survival over a 15-year period. *N Engl J Med*. 1996; 334(4): 216-9.
 43. Gaudino M, Taggart D, Suma H, et al. The Choice of Conduits in Coronary Artery Bypass Surgery. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 66(15): 1729-3797
 44. Farooq V, Serruys PW. Bypass Grafting Versus Percutaneous Intervention-Which Is Better in Multivessel Coronary Disease: Lessons From SYNTAX and Beyond. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015; 58(3):316-4.
 45. Agarwal S, Tuzcu EM, Kapadia SR. Choice and Selection of Treatment Modalities for Cardiac Patients: An Interventional Cardiology Perspective. *J Am Heart Assoc*. 2015; 4(10): e002353.
 46. Pepper J. Controversies in off-pump coronary artery surgery. *Clin Med Res*. 2005; 3(1): 27-33.
 47. Al-Ruzzeh S, George S, Bustami M, et al. Effect of off-pump coronary artery bypass surgery on clinical, angiographic, neurocognitive, and quality of life outcomes: randomised controlled trial. *BMJ*. 2006; 332(7554): 1365.
 48. Shroyer AL, Grover FL, Hattler B, et al. On-pump versus off-pump coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med*. 2009; 361(19): 1827-37.
 49. Edmunds LH. Cardiopulmonary bypass after 50 years. *N Engl J Med*. 2004; 351(16): 1603-6.
 50. Ghosh S, Falter F, Cook D. *Cardiopulmonary bypass*: Cambridge University Press; 2009.

51. Stoney WS. Evolution of cardiopulmonary bypass. *Circulation*. 2009;119(21): 2844-53.
52. Walpoth BH, Walpoth-Aslan BN, Mattle HP, et al. Outcome of survivors of accidental deep hypothermia and circulatory arrest treated with extracorporeal blood warming. *N Engl J Med*. 1997; 337(21): 1500-5.
53. Cohn LH. Fifty years of open-heart surgery. *Circulation*. 2003; 107(17): 2168-70.
54. Engelman R, Baker RA, Likosky DS, et al. The Society of Thoracic Surgeons, The Society of Cardiovascular Anesthesiologists, and The American Society of ExtraCorporeal Technology: Clinical Practice Guidelines for Cardiopulmonary Bypass--Temperature Management during Cardiopulmonary Bypass. *J Extra Corpor Technol*. 2015; 47(3):145-54.
55. Barry AE, Chaney MA, London MJ. Anesthetic management during cardiopulmonary bypass: a systematic review. *Anesth Analg*. 2015; 120(4): 749-69.
56. Welsby IJ, Bennett-Guerrero E, Atwell D, et al. The association of complication type with mortality and prolonged stay after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg*. 2002;94(5): 1072-8.
57. Taggart DP. Respiratory dysfunction after cardiac surgery: effects of avoiding cardiopulmonary bypass and the use of bilateral internal mammary arteries. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2000; 18(1): 31-7.
58. Richter JA, Meisner H, Tassani P, et al. Drew-Anderson technique attenuates systemic inflammatory response syndrome and improves respiratory function after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg*. 2000; 69(1): 77-83.
59. Wasowicz M, Sobczynski P, Biczysko W, et al. Ultrastructural changes in the lung alveoli after cardiac surgical operations with the use of cardiopulmonary bypass (CPB). *Pol J Pathol*. 1999; 50(3):189-96.
60. Rosner MH, Okusa MD. Acute kidney injury associated with cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006; 1(1): 19-32.
61. Donnahoo KK, Meldrum DR, Shenkar R, et al. Early renal ischemia, with or without reperfusion, activates NFkappaB and increases TNF-alpha bioactivity in the kidney. *J Urol*. 2000; 163(4): 1328-32.
62. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*. 2005; 365(9466): 1231-8.
63. Nalysnyk L, Fahrbach K, Reynolds MW, et al. Adverse events in coronary artery bypass graft (CABG) trials: a systematic review and analysis. *Heart*. 2003; 89(7): 767-72.

64. Malik V, Kale SC, Chowdhury UK, et al. Myocardial injury in coronary artery bypass grafting: On-pump versus off-pump comparison by measuring heart-type fatty-acid-binding protein release. *Tex Heart Inst J.* 2006; 33(3): 321-7.
65. Bomberg H, Bierbach B, Flache S, et al. Endothelin and vasopressin influence splanchnic blood flow distribution during and after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2013; 145(2): 539-47.
66. Ohri SK, Bowles CW, Mathie RT, et al. Effect of cardiopulmonary bypass perfusion protocols on gut tissue oxygenation and blood flow. *Ann Thorac Surg.* 1997; 64(1): 163-70.
67. Byhahn C, Strouhal U, Martens S, et al.. Incidence of gastrointestinal complications in cardiopulmonary bypass patients. *World J Surg.* 2001; 25(9): 1140-4.
68. Taylor KM. Brain damage during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1998; 65(4 Suppl): S20-26; discussion S27-28.
69. Nussmeier NA, Searles BE. Inflammatory brain injury after cardiopulmonary bypass: is it real? *Anesth Analg.* 2010; 110(2): 288-90.
70. Medzhitov R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell.* 2010; 140(6): 771-6.
71. Rubens FD, Mesana T. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: a therapeutic overview. *Perfusion.* 2004; 19 (1): S5-12.
72. Raja SG, Dreyfus GD. Modulation of systemic inflammatory response after cardiac surgery. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2005; 13(4): 382-95.
73. Day JR, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Int J Surg.* 2005; 3(2): 129-40.
74. Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard CD, Dewar M, Elefteriades J, Hines R, Kopf G, Kraker P, Li L, O'Hara R, Rinder C, Rinder H, Shaw R, Smith B, Stahl G, Shernan SK: Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999; 100: 2499–506.
75. Sablotzki A, Mann V, Simm A, Czeslick E: Changes in the cytokine network through escalating SIRS after heart surgery. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2001; 36: 552–9.
76. el Habbal MH, Smith LJ, Elliott MJ, et al. Cardiopulmonary bypass tubes and prime solutions stimulate neutrophil adhesion molecules. *Cardiovasc Res.* 1997; 33(1): 209-15.
77. Piccinini AM, Midwood KS. DAMPening inflammation by modulating TLR signalling. *Mediators Inflamm.* 2010; 2010.

78. Tang D, Kang R, Coyne CB, et al. PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev.* 2012; 249(1): 158-75.
79. Leventhal JS, Schroppe B. Toll-like receptors in transplantation: sensing and reacting to injury. *Kidney Int.* Feb 2012.
80. Inohara N, Nunez G. NODs: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3(5): 371-82.
81. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, et al. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature.* 2010; 464(7285): 104-7.
82. Lam NY, Rainer TH, Chan LY, et al. Time course of early and late changes in plasma DNA in trauma patients. *Clin Chem.* 2003; 49(8): 1286-91.
83. Stoecklein VM, Osuka A, Lederer JA. Trauma equals danger--damage control by the immune system. *J Leukoc Biol.* 2012; 92(3): 539-51.
84. Haque A, Kunimoto F, Narahara H, et al. High mobility group box 1 levels in on and off-pump cardiac surgery patients. *Int Heart J.* 2011; 52(3): 170-4.
85. Furze RC, Rankin SM. Neutrophil mobilization and clearance in the bone marrow. *Immunology.* 2008; 125(3): 281-8.
86. Chello M, Mastroberto P, Quirino A, et al. Inhibition of neutrophil apoptosis after coronary bypass operation with cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 2002; 73(1): 123-9.
87. Dahlgren C, Karlsson A. Respiratory burst in human neutrophils. *J Immunol Methods.* 1999; 232(1-2): 3-14.
88. Shi C, Pamer EG. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11(11): 762-74.
89. Semple JW, Freedman J. Platelets and innate immunity. *Cell Mol Life Sci.* 2010; 67(4): 499-511.
90. Werr J, Johansson J, Eriksson EE, et al. Integrin alpha(2)beta(1) (VLA-2) is a principal receptor used by neutrophils for locomotion in extravascular tissue. *Blood.* 2000; 95(5): 1804-9.
91. Wang S, Voisin MB, Larbi KY, et al. Venular basement membranes contain specific matrix protein low expression regions that act as exit points for emigrating neutrophils. *J Exp Med.* 2006; 203(6): 1519-32.
92. Rebeck JW, Crowley JH. A method of studying leukocytic functions in vivo. *Ann N Y Acad Sci.* 1955; 59(5): 757-805.

93. Kiistala U, Mustakallio KK. In-Vivo Separation of Epidermis by Production of Suction Blisters. *Lancet*. 1964; 1(7348): 1444-5.
94. Day RM, Harbord M, Forbes A, et al. Cantharidin blisters: a technique for investigating leukocyte trafficking and cytokine production at sites of inflammation in humans. *J Immunol Methods*. 2001; 257(1-2): 213-20.
95. Philippidis P, Mason JC, Evans BJ, et al. Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis: antiinflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery. *Circ Res*. 2004; 94(1): 119-26.
96. Bubici C, Papa S, Dean K, et al. Mutual cross-talk between reactive oxygen species and nuclear factor-kappa B: molecular basis and biological significance. *Oncogene*. 2006; 25(51): 6731-48.
97. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*. 2012; 24(5): 981-90.
98. Marchi S, Giorgi C, Suski JM, et al. Mitochondria-ros crosstalk in the control of cell death and aging. *J Signal Transduct*. 2012; 2012: 329635.
99. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, et al. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*. 2003; 17(10): 1195-214.
100. Dang PM, Stensballe A, Boussetta T, et al. A specific p47phox -serine phosphorylated by convergent MAPKs mediates neutrophil NADPH oxidase priming at inflammatory sites. *J Clin Invest*. 2006; 116(7): 2033-43.
101. Van der Heiden K, Cuhlmann S, Luong le A, et al. Role of nuclear factor kappaB in cardiovascular health and disease. *Clin Sci (Lond)*. 2010; 118(10): 593-605.
102. Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell*. 2008; 132(3): 344-62.
103. Kamata H, Honda S, Maeda S, et al. Reactive oxygen species promote TNFalpha-induced death and sustained JNK activation by inhibiting MAP kinase phosphatases. *Cell*. 2005; 120(5): 649-61.
104. Enesa K, Ito K, Luong le A, et al. Hydrogen peroxide prolongs nuclear localization of NFkappaB in activated cells by suppressing negative regulatory mechanisms. *J Biol Chem*. 2008; 283(27):18582-90.
105. *Clin Exp Immunol*. 1999 Nov; 118(2): 242-246.doi: 10.1046/j.1365-2249.1999.01050.x.
106. Perioperative serum levels of tumour-necrosis-factor alpha (TNF- α), IL-1 β , IL-6, IL-10 and soluble IL-2 receptor in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass

without and with correction for haemodilution A Roth-Isigkeit, T V Borstel, M Seyfarth, and P Schmucker.

107. Is Interferon Gamma Suppression After Cardiac Surgery Caused by a Decreased Interleukin-12 Synthesis? Axel Franke, MD, Wolfgang Lante, MD, Edmond Kurig, MD, Lothar G. Zöller, MD, Christian Weinhold, MD, and Andreas Markewitz, MD Department of Cardiovascular Surgery, Bundeswehr Central Hospital, and Department of Immunology, Central Institute of the Bundeswehr Medical Service, Koblenz, Germany.
108. Loeckinger A, Kleinsasser A, Lindner KH, et al. Continuous positive airway pressure at 10 cm H₂O during cardiopulmonary bypass improves postoperative gas exchange. *Anesth Analg.* 2000; 91(3):522-7.
109. Momin AU, Sharabiani MT, Kidher E, et al. Feasibility and safety of minimized cardiopulmonary bypass in major aortic surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2013; 17(4): 659-63.
110. Remadi JP, Marticho P, Butoi I, et al. Clinical experience with the mini-extracorporeal circulation system: an evolution or a revolution? *Ann Thorac Surg.* 2004; 77(6): 2172-5.
111. Aldea GS, Soltow LO, Chandler WL, et al. Limitation of thrombin generation, platelet activation, and inflammation by elimination of cardiotomy suction in patients undergoing coronary artery bypass grafting treated with heparin-bonded circuits. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002; 123(4): 742-55.
112. Fromes Y, Gaillard D, Ponzio O, et al. Reduction of the inflammatory response following coronary bypass grafting with total minimal extracorporeal circulation. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2002;22(4): 527-33.
113. Kunitz M, Northrop JH. Isolation from Beef Pancreas of Crystalline Trypsinogen, Trypsin, A Trypsin inhibitor, and an Inhibitor-Trypsin Compound. *The Journal of General Physiology.* 1935; 19:991-1007.
114. Mifflin RC, Saada JI, Di Mari JF, et al. Aspirin-mediated COX-2 transcript stabilization via sustained p38 activation in human intestinal myofibroblasts. *Mol Pharmacol.* 2004; 65(2): 470-8.
115. Shapiro TA, Fahey JW, Wade KL, et al. Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998; 7(12): 1091-100.
116. Rolović Z, Marisavljević D. Fiziologija hemostaze i tromboze. *Sprint, Beograd,* 2002; 3-13.

117. Biljana Vujičić, Lana Mačukanović-Golubović, Branko Mihailović, Milan Miladinović. Krvarenje i hemostaza u oralnohirurškoj praksi. IP Obeležje Beograd, 2009;39-57.
118. Baklaja R. Hemostaza, koagulacija krvi i fibrinoliza, Interlab, Beograd, 2008; 7-20.
119. Mac Farlan RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biological amplifier. *Nature* 1964; 202: 498-9.
120. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based Model of Hemostasis. *Tromb Haemost* 2001; 85; 958-65.
121. Roberts HR. Oscar Ranthoff: his contributions to the golden era of coagulation research. *Br J Haematol* 2003; 122: 180-98.
122. Monković D, Tracy PB. Activation of human factor V by factor Xa and thrombin. *Biochemistry* 1990; 29: 1118-28.
123. Lijnen RH, Kolen D. Molecular and cellular basis of fibrinolysis. In: Hofman et al. *Hematology, Basic Principles and Practice*, Churchill Livingstone, 4 th ed. 2005; 195-59.
124. Hoffbrand AV, Moss PAH, Pettit JE. Platelets, blood coagulation and haemostasis. *Haematology* 2008; 264-77.
125. Beyersdorf F. New dimensions for extracorporeal circulation. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*.2017; 24(4): 479-81.
126. Greiner TO, Volkmann AS, Hildenbrand S, et al. DEHP and its active metabolites: leaching from different tubing types, impact on proinflammatory cytokines and adhesion molecule expression.*Perfusion*2012 27(1): 21-9.
127. Lander H, Zammert M, FitzGerald D. Anticoagulation management during cross-clamping and by-pass. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2016; 30(3): 359-70.
128. Cunningham D, Besser MW, Giraud K et al. Agreement between ACT and aPTT during extracorporeal membrane oxygenation shows intra- and inter-individual variation.*Perfusion*. 2016; 31(6): 503-7.
129. Hasan-Ali H, Mosad E. Changes in platelet, coagulation, and fibrinolytic activities in mitral stenosis after percutaneous mitral valvotomy: role of hemodynamic changes and systemic inflammation.*Clin Appl Thromb Hemost*. 2015;21(4): 339-47.
130. Kind SL, Spahn-Nett GH, Emmert MY, et al. Is dilutional coagulopathy induced by different colloids reversible by replacement of fibrinogen and factor XIII concentrates?*Anesth Analg*. 2013;117(5): 1063-71.
131. Watts Dorraine Day, Trask Arthur, Soeken Karen, et al. Hypothermic coagulopathy in trauma: effect of varying levels of hypothermia on enzyme speed, platelet function and

- fibrinolytic activity. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care*. 1998; 44 (5): 846-54.
132. Hirai S. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac surgery under cardiopulmonary bypass. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2003; 9: 365-70.
133. Elezović I. Fibrinoliza I fibrinogenoliza u akutnoj leukemiji, Doktorska teza, Medicinski fakultet Beograd, 1993.
134. Kelton JG, Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: historical perspective. *Blood* 2008; 112(7): 2607-15.
135. Mannacio V, Mannacio L, Antignano A, et al. Antiplatelet therapy suspension in patients undergoing coronary surgery for acute coronary syndrome: Is point-of-care guided strategy the best choice? *Journal of Cardiol*. 2017.
136. Wikkelso A, Wetterslev J, Møller AM, et al. Thromboelastography (TEG) or rotational thromboelastometry (ROTEM) to monitor haemostatic treatment in bleeding patients: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Anaesthesia*. 2017; 72(4): 519-31.
137. Huffmyer JL, Fernandez LG, Haghghian C, et al. Comparison of SEER Sonorheometry With Rotational Thromboelastometry and Laboratory Parameters in Cardiac Surgery. *Anesth Analg*. 2016; 123(6): 1390-99.
138. Rafiq S, Johansson PI, Kofoed KF, et al. Preoperative hemostatic testing and the risk of postoperative bleeding in coronary artery bypass surgery patients. *Journal of Card Surg*. 2016;31(9):565-71.
139. Ellis J, Valencia O, Crerar-Gilbert A, et al. Point-of-care platelet function testing to predict blood loss after coronary artery bypass grafting surgery: a prospective observational pilot study. 2016; 6.
140. Bomberg H, Klingele M, Wagenpfeil S, et al. Presepsin (sCD14-ST) Is a Novel Marker for Risk Stratification in Cardiac Surgery Patients. *Anesthesiology*. 2017 ;126(4): 631-42.
141. Bolliger D, Tanaka KA. Point-of-Care Coagulation Testing in Cardiac Surgery. *Semin Thromb Hemost*. 2017.
142. Kapoor JR. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med*. 2008; 358(15): 1638.
143. Patrono C. Acetylsalicylic acid: Cardiovascular Drug Therapy. 1996; 1443-51.
144. Doggrell SA. Clopidogrel: A cure in acute coronary syndromes? *Expert Opin Pharmacother* 2002; 3: 351-3.

145. Peisen H, Yuan Y, Xikun H, et al. Efficacy of Short-term Dual Antiplatelet Therapy after Implantation of Second-generation Drug-eluting Stents: A Meta-analysis and Systematic Review. *Chin Med Sci J.* 2017; 32(1): 1-12.
146. Alfonso F, Jiménez-Borreguero LJ. Optimizing dual antiplatelet therapy duration after myocardial infarction: evidence-based, precision, or personalized medicine? *Eur Heart J.* 2017; 38(14): 1056-9.
147. Luque Ramos A, Ohlmeier C, Enders D, et al. Initiation and duration of dual antiplatelet therapy after inpatient percutaneous coronary intervention with stent implantation in Germany: An electronic healthcare database cohort study. *Z Evid Fortbild Qual Gesundhwes.* 2017;120:31-8.
148. Usta C, Turgut NT, Bedel A. How abciximab might be clinically useful. *Int Journal of Cardiol.* 2016 ; 222: 1074-8.
149. Hansson EC, Jeppsson A. Platelet inhibition and bleeding complications in cardiac surgery: A review. *Scand Cardiovasc J.* 2016; 50(5-6): 349-54.
150. Khan MY, Khan AZ, Jalal A, et al. Risks and benefits of giving early Aspirin within 6 hours of CABG: A retrospective analysis. *Pak J Med Sci.* 2017; 33(1): 106-10.
151. Elbadawi A, Saad M, Nairooz R. Aspirin Use Prior to Coronary Artery Bypass Grafting Surgery: a Systematic Review. *Curr Cardiol Rep.* 2017; 19(2): 18.
152. Jones DW, Schermerhorn ML, Brooke BS, et al. Perioperative clopidogrel is associated with increased bleeding and blood transfusion at the time of lower extremity bypass. *J Vasc Surg.* 2017; S0741-5214 (17) 30077-0.
153. Koch CG: Tolerating anemia: taking aim at the right target before pulling the transfusion trigger. *Transfusion.* 2014;54(10 Pt 2):2595-7.
154. Ad N, Massimiano PS, Burton NA, et al. Effect of patient age on blood product transfusion after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015; 150(1): 209-14.
155. Robich MP, Koch CG, Johnston DR, et al.: Trends in blood utilization in United States cardiac surgical patients. *Transfusion.* 2015; 55(4): 805-14.
156. Geissler RG, Rotering H, Buddendick H, et al. Utilisation of blood components in cardiac surgery: a single-centre retrospective analysis with regard to diagnosis-related procedures. *Transfus Med Hemother.* 2015; 42(2): 75-82.
157. Stoicea N, Bergese SD, Ackermann W, et al. Current status of blood transfusion and antifibrinolytic therapy in orthopedic surgeries. *Front Surg.* 2015; 2:3.

158. Koch CG: Tolerating anemia: taking aim at the right target before pulling the transfusion trigger. *Transfusion*. 2014;54(10 Pt 2):2595-7.
159. Ad N, Massimiano PS, Burton NA, et al. Effect of patient age on blood product transfusion after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2015; 150(1): 209-14.
160. Paone G, Likosky DS, Brewer R, et al. Transfusion of 1 and 2 units of red blood cells is associated with increased morbidity and mortality. *Ann Thorac Surg*. 2014; 97(1): 87-93;
161. Paone G, Herbert MA, Theurer PF, et al. Red blood cells and mortality after coronary artery bypass graft surgery: an analysis of 672 operative deaths. *Ann Thorac Surg*. 2015; 99(5): 1583-9.
162. Shander A, Goodnough LT: Can blood transfusion be not only ineffective, but also injurious? *Ann Thorac Surg*. 2014; 97(1): 11-4. *Surgery: Data From The Society of Thoracic Surgeons National Database*. *Ann Thorac Surg*. 2016;101(2): 558-66.
163. Junichi S, Eiji H, Akio M, Tomoyuki K, Hidetomo N, Kazuyoshi H. Pilot Study of Changes in Presepsin Concentrations Compared With Changes in Procalcitonin and C-Reactive Protein Concentrations After Cardiovascular Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2017 Aug ;31(4):1262-1267.
164. Popov D, Plyushch M, Ovseenko S, Abramyan M, Podshchekoldina O, Yaroustovsky M. Prognostic value of sCD14-ST (presepsin) in cardiac surgery. *Kardiochir Torakochirurgia Pol*. 2015 Mar; 12(1): 30–36.
165. Leen V. Hemolysis in Cardiac Surgery Patients Undergoing Cardiopulmonary Bypass: A Review in Search of a Treatment Algorithm. *J Extra Corpor Technol*. 2008 Dec; 40(4): 257–267.
166. Gundling F, Seidl H, Gansera L, et al. Early and late outcomes of cardiac operations in patients with cirrhosis: a retrospective survival-rate analysis of 47 patients over 8 years. *Eur J Gastroenterol*.
167. Haanschoten MC, van Straten AH, Verstappen F, et al. Reducing the immediate availability of red blood cells in cardiac surgery, a single-centre experience. *Neth Heart J*. 2015; 23(1): 28-32.
168. Shinji H. Systemic Inflammatory Response Syndrome after Cardiac Surgery under Cardiopulmonary Bypass. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* Vol. 9, No. 6 (2003).
169. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, et al. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108: 626–35.

170. Finn A, Naik S, Klein N, Levinsky RJ, Strobel S, Elliott M. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105: 234–41.
171. Hashimoto K, Miyamoto H, Suzuki K, Horikoshi S, Arai T, Kurosawa H. Evidence of organ damage after cardiopulmonary bypass. The role of elastase and vasoactive mediators. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104: 666–73.
172. Kukielka GL, Smith CW, LaRosa GJ, et al. Interleukin8 gene induction in the myocardium after ischemia and reperfusion in vivo. *J Clin Invest* 1995; 95: 89–103. 10.
173. Oz MC, Liao H, Naka Y, et al. Ischemia-induced interleukin-8 release after human heart transplantation. A potential role for endothelial cells. *Circulation* 1995; 92 (Suppl): 428–32.
174. A. Akila, B. D'souza, P. Vishwanath, and V. D'souza, "Oxidative injury and antioxidants in coronary artery bypass graft surgery: off-pump CABG significantly reduces oxidative stress," *Clinica Chimica Acta*, vol. 375, no. 1-2, pp. 147–152, 2007.
175. K.S.A. Khabar, M.A. ElBarbary, F. Khouqeer, E. Devol, S. Al-Gain, Z. Al-Halees. Circulating endotoxin and cytokines after cardiopulmonary bypass: differential correlation with duration of bypass and systemic inflammatory response/multiple organ dysfunction syndromes *Clin Immunol Immunopathol*, 85 (1997), pp. 97-103.
176. E. Fransen, J. Maessen, M. Dentener, N. Senden, G. Geskes, W. Buurman. Systemic inflammation present in patients undergoing CABG without extracorporeal circulation. *Chest*, 113 (1998), pp. 1290-1295.
177. A. Diegeler, N. Doll, T. Rauch, D. Haberer, T. Walther, V. Falk, et al. Humoral immune response during coronary artery bypass grafting: a comparison of limited approach, "off-pump" technique, and conventional cardiopulmonary bypass. *Circulation*, 102 (Suppl) (2000), pp. III95-III100.
178. M.M. Jemielity, B. Perek, P. Buczkowski, K. Lesniewska, K. Wiktorowicz, W. Dyszkiewicz. Inflammatory response following off-pump and on-pump coronary artery bypass grafting. *Heart Surg Forum*, 6 (Suppl 1) (2003), pp. 40-41.
179. N.E. Khan, A. De Souza, R. Mister, M. Flather, J. Clague, S. Davies, et al. A randomized comparison of off-pump and on-pump multivessel coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med.*, 350 (2004), pp. 21-28.
180. Fahey TJ, Yoshioka T, Shires GT, Fantini GA. The role of tumor necrosis factor and nitric oxide in the acute cardiovascular response to endotoxin *Ann Surg* 1996; 223: 636-9.
181. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, Merrick SH, Keith FM, Bronstein MH, Leung JM, Mangano DT, Greenfield LJ, Rankin JS. Relationship of the proinflammatory cytokines to

myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:626-635.

182. Whitten CW , Hill GE, Ivy R, Greilich PE, Lipton JM. Does the duration of cardiopulmonary bypass or aortic cross-clamp, in the absence of blood and/or blood product administration, influence the IL-6 response to cardiac surgery? *Anesth Analg* 1998;86:2833.
183. Wan S , LeClerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies *Chest* 1997;112:676-692.
184. Wan S , LeClerc JL, Schmartz D, Barvais L, Huynh CH, Devière J, DeSmet JM, Vincent JL. Hepatic release of interleukin-10 during cardiopulmonary bypass in steroid-pretreated patients *Am Heart J* 1997;133:335-339.
- 185..Song Wan, Anthony P.C. Yim Author Notes. Cytokines in myocardial injury: impact on cardiac surgical approach. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, Volume 16, Issue Supplement_1, September 1999, Pages S107–S111.
186. Vamvakas EC, Carven JH. RBC transfusion and postoperative length of stay in the hospital or the intensive care unit among patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: the effects of confounding factors. *Transfusion*. 2000; 40(38): 832–9.

10. BIOGRAFIJA AUTORA

Dr Milan Lazarević rođen je 22.09.1983.godine u Nišu.

Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu završio je u roku sa prosečnom ocenom tokom studija 9,19.

Specijalizaciju iz transfuzijske medicine na Medicinskom fakultetu u Beogradu završio je 2016.godine sa ocenom odličan.

Užu specijalizaciju iz hematologije završio je 2019.godine na Medicinskom fakultetu u Nišu sa ocenom odličan.

Doktorske akademske studije na Medicinskom fakultetu u Nišu završio je u roku sa prosečnom ocenom 9,93.

Od 2009.godine u stalnom radnom odnosu u UKC Niš. Pomoćnik je generalnog direktora UKC Niš za transfuzijsku medicinu i laboratorijsku dijagnostiku.

Marta 2020.godine izabran je za asistenta na predmetu Imunologija na Medicinskom fakultetu u Nišu.

Autor i koautor 40 različitih naučnih i stručno-medicinskih publikacija.

Član lekarske komore Srbije, Udruženja zdravstvenih radnika Niša, Udruženja transfuziologa Srbije, Evropskog udruženja anesteziologa, Udruženja lekara urgentne medicine.

Član Upravnog odbora Instituta za lečenje i rehabilitaciju Niška Banja.

Oženjen suprugom Zoricom, otac ćerke Lane.

Izjava 1

IZJAVA O AUTORSTVU

Izjavljujem da je doktorska disertacija, pod naslovom:

Uticao sistema za vantelesni krvotok na sistemski inflamatorni odgovor i funkciju trombocita kod pacijenata koji se podvrgavaju revaskularizaciji miokarda

koja je odbranjena na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu:

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da ovu disertaciju, ni u celini, niti u delovima, nisam prijavljivao na drugim fakultetima, niti univerzitetima;
- da nisam povredio autorska prava, niti zloupotrebio intelektualnu svojinu drugih lica.

Dozvoljavam da se objave moje lični podaci, koji su u vez sa autorstvom i dobijanjem akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada, i to u katalogu Biblioteke, Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Nišu, kao i u publikacijama Univerziteta u Nišu.

U Nišu, _____.

Potpis autora disertacije:

Dr Milan V. Lazarević

Izjava 2

IZJAVA O ISTOVETNOSTI ELEKTRONSKOG I ŠTAMPANOG OBLIKA DOKTORSKE DISERTACIJE

Naslov disertacije: **Uticaj sistema za vantelesni krvotok na sistemski inflamatorni odgovor i funkciju trombocita kod pacijenata koji se podvrgavaju revaskularizaciji miokarda**

Izjavljujem da je elektronski oblik moje doktorske disertacije, koju sam predao za unošenje u **Digitalni repozitorijum Univerziteta u Nišu**, istovetan štampanom obliku.

U Nišu, _____.

Potpis autora disertacije:

Dr Milan V. Lazarević

Izjava 3

IZJAVA O KORIŠĆENJU

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Nikola Tesla“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Nišu unese moju doktorsku disertaciju, pod naslovom:

Uticao sistema za vantelesni krvotok na sistemski inflamatorni odgovor i funkciju trombocita kod pacijenata koji se podvrgavaju revaskularizaciji miokarda

Disertaciju sa svim prilogima predao sam u elektronskom obliku, pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju, unetu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Nišu, mogu koristiti svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons), za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)

2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade (CC BY-NC-ND)

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

5. Autorstvo – bez prerade (CC BY-ND)

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

U Nišu, _____.

Potpis autora disertacije:

Dr Milan V. Lazarević