

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET



Petar S. Vukićević

**UTICAJ RAZLIČITIH OPERATIVNIH TEHNIKA
TOKOM HIRURŠKE REVASKULARIZACIJE
MIOKARDA NA OKSIDATIVNI STRES I
ANTIOKSIDATIVNU ZAŠTITU**

Doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE



Petar S. Vukicevic

**THE EFFECT OF VARIOUS OPERATIVE
TECHNIQUES DURING THE MYOCARDIAL
SURGICAL REVASCULARISATION TO AN
OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDATIVE
PROTECTION**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2016.

Mentor:

Doc.dr sci med Aleksandar Mikić
Klinički centar Srbije, Klinika za kardiohirurgiju
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komisija:

1. Prof.dr. Tatjana Simić, predsednik komisije
Institut za medicinsku i kliničku biohemiju
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
2. Prof.dr Milan Petrović, član komisije
Klinički centar Srbije, Klinika za kardiologiju
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof.dr Radoje Ilić, član komisije
Vojno-medicinska akademija, Klinika za kardiohirurgiju
Medicinski fakultet VMA, Univerzitet odbrane u Beogradu

Datum odbrane:

IZJAVE ZAHVALNOSTI

Najiskrenije i neizmerno zahvaljujem, ženi velikog znanja, srca i dobrog ukusa, prof.dr. Jeleni Kotur-Stevuljević na beskrajnom strpljenju, dobronamernosti, nesebičnom pružanju znanja, velikom trudu uloženom u ovo istraživanje, kao i prisutnosti i dostupnosti u momentima kada je bilo najteže...

Iskreno zahvaljujem mom mentoru, kolegi i prijatelju Doc.dr. Aleksandru Mikiću, na nesebičnoj pomoći i podršci, savetima, razgovorima, kao i prenesenom znanju u momentima kada sam učio prve korake u kardiohirurgiji...

Ova doktorska disertacija je nastala kao rezultat timskog i multidisciplinarnog rada tokom poslednje četiri godine. Veliku zahvalnost osećam prema laboratorijskim tehničarima i saradnicima sa Katedre za medicinsku biohemiju Farmaceutskog fakulteta u Beogradu, medicinskim sestrama i tehničarima Instituta za medicinsku biohemiju VMA, Instituta za anesteziju i reanimaciju VMA, operacionog bloka VMA, kao i načelniku, kolegama i kompletnom osoblju Klinike za kardiohirurgiju VMA.

Zahvaljujem dr.sci. Jeleni Martinović na tehničkoj podršci tokom rane faze sprovođenja ove studije, kao i laboratorijskim tehničarima Doma zdravlja Rakovica.

Takođe, zahvaljujem svim svojim dragim profesorima i učiteljima kardiohirurgije i vaskularne hirurgije sa Instituta za kardiovaskularne bolesti KCS-Druge hirurške klinike, zbog kojih danas često kažem da sam učio od najboljih...

Prof.dr.Miljku Ristiću, veliko hvala na radu bez radnog vremena, viziji, strpljenju, mudrosti, ukazanoj šansi i poverenju što mi je kao veoma mladom specijalizantu pružio mogućnost da radim operacije na otvorenom srcu...

Prof.dr.Dušanu Velimiroviću veliku zahvalnost dugujem na korisnim savetima, prijateljstvu, vedrom duhu i ukazanoj šansi da se školujem kod najboljih kardiohirurga u inostranstvu...

Dr Goranu Paniću, na stručnim savetima i usmeravanju tokom mojih prvih koraka u kardiohirurgiji, kao i ukazivanju na sve lepote ali i opasnosti kardiohirurgije...

Prof.dr.Petru Đukiću i Prof.dr.Miletu Vranešu zahvaljujem na korisnim stručnim razgovorima, prenesenom znanju i hirurgskim veštinama...

Prof.dr.Lazaru Davidoviću, Prof.dr.Živanu Maksimoviću i Prof.dr.Slobodanu Cvetkoviću i ostalim lekarima Klinike za vaskularnu hirurgiju KCS zahvaljujem na ukazanom poverenju, znanjima i veštinama iz vaskularne hirurgije, zbog kojih sam danas često sklon da kažem da sam kardiohirurgiju najviše naučio radom i usavršavanjem na vaskularnoj hirurgiji...

...Prof.Afksendyios Kalangosu i Prof.Wolfgangu Hemmeru, mojim učiteljima iz Ženeve i Štutgarta, ljudima kosmopolitskog duha i beskrajnog optimizma od kojih sam učio rekonstrukcije mitralnog zalistaka, korena i luka aorte, ljudi zbog kojih sam naučio drugačije da razmišljam, koji su kod mene ostavili neizbrisiv trag, čije su mi reči zauvek ostale u sećanju: „Peter, always try repair...and don't give up”, „...You should always keep an open mind and heart...”, „...Vanity and fear are our main enemies...”

Mojim roditeljima, jer su me naučili putu kojim se ređe ide...

Mojoj supruzi Tijani, našoj deci Eleni, Dunji i Stevanu, kao i Svevišnjem Bogu, zbog pružene beskrajne ljubavi i smisla postojanja.

UTICAJ RAZLIČITIH OPERATIVNIH TEHNIKA TOKOM HIRURŠKE REVASKULARIZACIJE MIOKARDA NA OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDATIVNU ZAŠTITU

Petar S.Vukićević

REZIME

Cilj. Osnovni cilj studije je utvrditi razlike između vrednosti pokazatelja oksidativno-stresnog statusa kod bolesnika kojima hirurška revaskularizacija miokarda urađena na kucajućem srcu (Off-Pump Coronary Artery Bypass-OPCAB grupa) i bolesnika kojima je revaskularizacija miokarda urađena uz pomoć pumpe za vantelesnu cirkulaciju (Cardio-Pulmonary Bypass pump-CPB grupa). Da bi se ostvario osnovni cilj, bilo je potrebno odrediti koncentracije markera oksidativnog stresa-proooksidanasa ili produkata njihovog delovanja na biomolekule, kao i koncentracije činilaca antioksidativne zaštite kod dve grupe bolesnika.

Takođe, jedan od bitnih ciljeva studije je bio ispitati da li postoji korelacija između vremena provedenog na respiratoru, broja dana provedenih na odeljenju intenzivne nege, broja dana provedenih u bolnici nakon operacije, broja jedinica primenjene transfuzije krvi, smanjenja telesne težine nakon operacije (kg), broja bolničkih infekcija, kao i brzine i kvaliteta oporavka u obe grupe bolesnika.

Jedna od glavnih ideja studije je bila sagledavanje biohemijskih pokazatelja oksidativnog stresa u svetlu kliničkih parametara kod OPCAB hirurgije, kao i primena rezultata ove studije u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Sa tim u vezi, osnovna ideja i koncept studije su bili vezani za reevaluaciju indikacija kod hirurške revaskularizacije miokarda u smislu svakodnevne rutinske primene OPCAB procedura, kao metode izbora.

Materijal i metode. Istraživanje je sprovedeno u vidu kohortne studije, koja je obuhvatila 107 bolesnika podvrgnutih hirurškoj revaskularizaciji miokarda. Bolesnici su bili podeljeni u dve grupe (CPB i OPCAB grupa). U prvoj grupi bolesnika, kojima je revaskularizacija miokarda urađena uz pomoć pumpe za vantelesnu cirkulaciju (CPB grupa), je bilo 60

bolesnika. U drugoj grupi bolesnika, kojima je revaskularizacija miokarda urađena na kucajućem srcu, je bilo 47 bolesnika.

Kod obe grupe bolesnika su se uzimali uzorci venske krvi u šest različitih vremena (pre operacije, neposredno nakon operacije, 6 sati, 24 sata, 48 sati i 96 sati nakon završetka operacije). U uzorcima krvi merene su koncentracije prooksidanasa: lipidnih-hidroperoksida (LOOH), produkata uznapredovale oksidacije proteina (AOPP), totalnog oksidantnog statusa (TOS), superoksidnog anjona ($O_2^{\bullet-}$), prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB), malondialdehida (MDA). Određivane su i aktivnosti antioksidativnih enzima: paraoksonaze (PON1) i supeoksid-dismutaze (SOD), kao i koncentracije činilaca neenzimske antioksidativne zaštite: ukupnih sulfhidrilnih grupa (tSHG) i totalnog antioksidantnog statusa (TAS). Procenjivani su i indeksi pokazatelja oksidativnog stresa (AOPP/tSHG, PON1/LOOH), kao i indeksi aktivacije trombocita (MPR-odnos MPV i broja trombocita) i eritrocita (RPR-odnos RDW i broja trombocita). Procena brzine oporavka bolesnika izvođena je merenjem vremena provedenog na respiratoru, na odeljenju intenzivne nege, broja dana provedenih u bolnici nakon operacije, broja jedinica primenjene transfuzije krvi, merena je telesna težina pre i posle operacije i računato smanjenje telesne težine nakon operacije, kao i pojava bolničkih infekcija. Ispitivana je brzina i kvalitet oporavka kod obe grupe bolesnika primenom jednostavnog EuroQol upitnika (EuroQol Research Foundation, Rotterdam, Netherlands), kao standardizovanog instrumenta za merenje zdravstvenog ishoda.

Rezultati. Bolesnici iz obe ispitivane grupe su imali komparabilne vrednosti nivoa superoksidnog anjona i PAB-a, što ukazuje da na nivo ovih brzih pokazatelja oksidativnog stresa utiče pre svega hirurška trauma, a ne operativni pristup. Koncentracije LOOH su inicijalno bile značajno niže kod OPCAB grupe bolesnika u odnosu na CPB grupu. Vrednosti LOOH, markera rane faze oksidativnog oštećenja lipida, su se posle operacije snižavale i ostajale značajno niže kod OPCAB do kraja ispitivanog perioda, što ukazuje da je u postoperativnom periodu dolazilo do njihove dekompozicije, do MDA ili nekih isparljivih produkata. Koncentracija krajnjeg produkta razgradnje lipidnih peroksida, MDA- markera kasne faze oksidativnog oštećenja lipida, se nije razlikovala kod dve grupe bolesnika, sve do 96. sata kada vrednost MDA postaje značajno viša kod CPB grupe

bolesnika. Dinamika promene lipidnih markera delovanja slobodnih radikala ukazuje da je OPCAB grupa bila sposobnija da suprimira nastala oštećenja različitim mehanizmima, koji su mogli delimično da budu uslovljeni i samom operativnom tehnikom. Koncentracije markera oksidativnog oštećenja proteina (AOPP) su padale posle operacije u odnosu na startne vrednosti i to značajno više kod OPCAB nego kod CPB grupe, pa pretpostavljamo da je ovakav nalaz posledica snižavanja koncentracije proteina (albumina) u akutnoj fazi. Kardiohirurška operacija sama po sebi, a posebno upotreba CPB pumpe je uticala na iscrpljivanje antioksidativne zaštite organizma, kako u neposrednom tako i u produženom postoperativnom periodu, što je potvrđeno nalazom sniženih koncentracija tSHG i TAS u odnosu na vrednosti pre operacije. Enzimski antioksidativna zaštita procenjena određivanjem aktivnosti PON1 i SOD je takođe bila ugrožena hirurškom traumom, a uočen pad obe enzimske aktivnosti je bio značajno veći kod CPB grupe bolesnika u odnosu na OPCAB grupu. Promene činilaca redoks ravnoteže, koje nastaju kao posledica hronične ishemije uslovljene aterosklerotskim promenama na krvnim sudovima, a sa druge strane usled akutne ishemije tokom operacije i posledične reperfuzije nakon uspostavljanja protoka krvi, ukazuju na kompleksnost ovog sistema kao i na to da se ove promene ne mogu posmatrati pojedinačno već samo u sklopu celog sistema oksidativno-stresnog statusa. Indeksi aktivacije trombocita i eritrocita, MPR i RPR značajno rastu tokom postoperativnog perioda. Porast je veći kod CPB grupe, ali razlika dostiže graničnu značajnost 48h posle operacije. AOPP/tSHG indeks se značajno povećava 6h nakon operacije, a prethodi mu značajan pad PON1/LOOH indeksa i ovo je bilo uočljivije u CPB grupi. Multipla linearna regresiona analiza (MLR) je pokazala eksplicitnu vezu između ovih markera i kliničkih pokazatelja pre svega vezanih za tip operacije (korigovani koeficijent determinacije, R^2 se za izabrane najbolje modele kretao od 0,080 do 0,325, što ukazuje na relativno visok uticaj kliničkih uslova vezanih za operaciju na pomenute indekse). Ovakva veza objašnjava dublju progresiju oksidativnih procesa kod bolesnika kojima je primenjena CPB tehnika, koja se karakteriše dužim trajanjem operacije, trajanjem intubacije, trajanjem srčanog aresta (aortne kleme) i kardiopulmonarnog bajpasa (CPB).

U statističkoj obradi podataka u zavisnosti od tipa raspodele parametara korišćene su parametarske odnosno njima ekvivalentne neparametarske metode: T test, analiza

varijanse, analiza varijanse za ponovljenja merenja, korelaciona analiza; multipla linearna regresiona analiza, binarna logistička regresiona analiza i receiver operating characteristic curve (ROC) analiza. ROC analiza (Receiver Operating Characteristic Curve) je omogućila procenu kliničke tačnosti definisanog modela (kombinacija oksidativno stresnih indeksa i indeksa aktivacije trombocita) u proceni pojave komplikacija (površina ispod krive je bila veća od 0,9 što govori o izuzetnoj kliničkoj tačnosti- $P < 0,001$).

Zaključak. Sagledavajući biohemijske pokazatelje oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite organizma, ova studija je nedvosmisleno pokazala veći stepen oksidativnog stresa kod CPB grupe bolesnika u odnosu na OPCAB grupu bolesnika. Posmatrajući kliničke pokazatelje, studija je pokazala kraće vreme boravka na odeljenju intenzivne nege i kraće vreme provedeno u bolnici nakon operacije kod OPCAB grupe bolesnika, što je u vezi sa kvalitetnijim i bržim oporavkom bolesnika. Svakako da na gore navedeno imaju uticaj manja količina izgubljene krvi usled krvarenja, manji broj jedinica krvi u vidu ordinirane transfuzije, kao i kraće vreme provedeno na respiratoru kod OPCAB grupe bolesnika. Naši rezultati pokazuju neželjenu aktivaciju trombocita i eritrocita kod CPB grupe bolesnika. Pokazatelji oksidativnog stresa i indeksi aktivacije trombocita i eritrocita, zajedno izmereni, imaju izuzetnu kliničku tačnost u predviđanju razvoja mogućih postoperativnih komplikacija. S obzirom na to da se ova studija nije bavila dužinom trajanja prohodnosti graftova, perioperativnim infarktima i neurološkim komplikacijama, a analizirajući najnovije multicentrične studije može se izvesti zaključak da OPCAB hirurgija treba da bude rezervisana za bolesnike sa visokim prediktivnim mortalitetom (EuroSCORE preko 5), za starije bolesnike, kao i za bolesnike sa lošim kvalitetom aorte kod kojih se mogu očekivati neurološke komplikacije porekla ushodne aorte. Kod mlađih bolesnika, kod kojih se očekuje duži životni vek, kao i kod bolesnika sa niskim i srednjim prediktivnim mortalitetom, standardna hirurška revaskularizacija miokarda uz pomoć pumpe za CPB ostaje terapija izbora.

Ključne reči: oksidativni stres, antioksidativna zaštita, OPCAB, aktivacija trombocita, aortokoronarni bajpas, kardiopulmonarni bajpas, CPB, kucajuće srce.

Naučna oblast: Medicina

Uža oblast: Kardiohirurgija

THE EFFECT OF VARIOUS OPERATIVE TECHNIQUES DURING THE MYOCARDIAL SURGICAL REVASCULARISATION TO AN OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDATIVE PROTECTION

Petar S. Vukićević

Objective. The main objective of the study is to determine the difference between the value of the oxidative stress status indicators in patients whom surgical revascularization was performed on the beating heart (Off-Pump Coronary Artery Bypass-OPCAB group) and patients who underwent revascularization with the help of pumps for artificial circulation (Cardio-Pulmonary Bypass pump-CPB group). In order to achieve the main objective, it was necessary to determine the concentrations of markers of oxidative stress-prooxidants or products of their action on biomolecules, as well as the concentration of antioxidant protection factors in two groups of patients.

Also, one of the essential objectives of the study was to examine whether there is a correlation between the time spent on a ventilator, the number of days spent on the intensive care unit, the number of days spent in the hospital after the surgery, the number of units applied blood transfusion, weight loss after surgery (kg), the number of hospital infections, as well as the speed and quality of recovery in both groups of patients.

One of the main ideas of the study was assessment of biochemical indicators of oxidative stress in the terms of clinical parameters in OPCAB surgery, as well as the application of the results of this study in everyday clinical practice. In this regard, the basic idea and the concept of the study were related to the re-evaluation of indications in coronary artery bypass surgery in terms of the everyday routine application of OPCAB procedures, as a method of choice.

Materials and Methods. The study was carry out in the form of cohort study, which included 107 patients undergoing surgical myocardial revascularization. Patients were divided into two groups (CPB and OPCAB group). The first group of patients who underwent revascularization with the help of a pump for artificial circulation (CPB group), there were 60 patients. In the second group of patients who underwent revascularization on the beating heart, was 47 patients.

In both groups of patients, preoperatively and postoperatively, the venous blood samples were taken at six different times (before surgery, immediately after administration of protamine sulfate, 6 hours, 24 hours, 48 hours and 96 hours after the surgery). In the blood samples, the concentrations of prooxidants were evaluated: lipid-hydroperoxide (LOOH), advanced oxidation protein products (AOPP), total oxidant status (TOS), superoxide-anion ($O_2^{\bullet-}$), prooxidant-antioxidant balance (PAB), malondialdehyde (MDA). Measured the activities of antioxidant enzymes paraoxonase (PON1) and superoxid-dismutase (SOD) and the concentration factors of non-enzymatic antioxidant protection: total sulfhydryl groups (tSHG) and total antioxidant status (TOS). The study assessed the indicators and indices of oxidative stress (AOPP/tSHG, PON1/LOOH), as well as indices of platelet activation (MPR-relationship MPV and platelet count) and erythrocytes (RPR-relationship RDW and platelet count).

The assessment rate of recovery was performed by measuring the time spent on a ventilator in the intensive care unit, the number of days spent in the hospital after the surgery, the number of units applied blood transfusions, body weight was measured before and after surgery and the calculated weight loss after surgery, as well as the frequency of hospital infections. The speed and quality of recovery in both groups of patients were analyzed by using simple questionnaires EuroQol (EuroQol Research Foundation, Rotterdam, Netherlands), as well as a standardized instrument to measure health outcomes.

Results. Patients in both groups had comparable levels of superoxide-anion levels and PAB-a, indicating that the level of these quick indicators of oxidative stress affects primarily surgical trauma, rather than surgical approach. LOOH concentrations were

initially significantly lower in OPCAB group of patients compared with CPB group. LOOH values, a marker of early stages of oxidative damage of lipids, were lowered after surgery and remained significantly lower in OPCAB by the end of the test period, which indicates that in the postoperative period came to their decomposition, to MDA or any volatile products. The concentration of the final breakdown product of lipid peroxidation, MDA, a marker of late stage oxidative damage of lipids, was not different in two groups of patients, up to 96 hours when the value of MDA becomes significantly higher in CPB group of patients. Dynamics of change in markers of lipid effects of free radicals suggests that OPCAB group was better able to suppress damages, assuming by different mechanisms that could be partially conditioned by an operative technique itself. The concentrations of markers of oxidative damage of proteins (AOPP) fell after the operation compared to the starting value, significantly higher in OPCAB than in the CPB group, and we assume that this finding is the result of lowering the concentration of protein (albumin) in the acute phase. Cardiac surgery itself, especially CPB technique influenced the depletion of antioxidant protection of the organism, both in the immediate and extended postoperative period, which was confirmed by the finding of reduced concentration tSHG and TAS in relation to the value before the operation. The enzymatic antioxidant defense was assessed by determining PON1 activity and SOD was also threatened by surgical trauma, and observed reduction of both enzyme activity was significantly higher in CPB group of patients compared with OPCAB group. Changes in redox equilibrium factors, which occur as a result of chronic ischemia caused by atherosclerotic changes in blood vessels, and on the other hand due to acute ischemia during surgery and subsequent reperfusion after the establishment of blood flow, indicate the complexity of the system and the fact that these changes cannot be analyzed individually, but only as a part of the whole system-oxidative stress status.

Indices of activation of platelets and red blood cells , MPR and RPR increase significantly during the postoperative period. The increase was higher in CPB group, but the difference reached borderline significance 48h after surgery. AOPP/tSHG index was significantly increased 6h after surgery, and was preceded by a significant decline in

PON1/LOOH index and this was more evident in the CPB group. Multiple linear regression analysis (MLR) showed an explicit link between these markers and clinical variables, primarily related to the type of surgery (adjusted coefficient of determination, R^2 , selected for the best models, ranged from 0.080 to 0.325, which indicates a relatively high impact of clinical conditions related to operation to the mentioned indexes). This link explains the deeper progression of oxidative processes in patients who underwent CPB technique, which is characterized by a longer duration of surgery, duration of intubation, duration of cardiac arrest (aortic cross-clamp), and cardiopulmonary bypass (CPB).

During a statistical analysis of data, depending on the type of distribution, parametric and non-parametric equivalent parameters were used: T test, analysis of variance, analysis of variance for repeated measurements, correlation analysis; Multiple linear regression analysis, binary logistic regression analysis and receiver operating characteristic curve (ROC) analysis. ROC analysis (Receiver Operating Characteristic Curve) has enabled the evaluation of the clinical accuracy of this model (combination of oxidative stress index and the index of platelet activation) in the assessment of complications (area under the curve was greater than the 0.9 which shows the remarkable accuracy of clinical- $P < 0.001$).

Conclusion. Considering the biochemical indicators of oxidative stress and antioxidant protection of the organism, this study clearly showed a greater degree of oxidative stress in CPB group of patients compared with OPCAB group of patients. Observing clinical indicators, the study showed a shorter residence time at the intensive care unit and less time spent in the hospital after surgery in OPCAB group of patients, which is related to the better and faster recovery of patients. Of course, it was also influenced by a less bleeding loss, less transfusion units and less time spent on a ventilator in the OPCAB group of patients.

Our results show an unwanted activation of platelets and red blood cells in the CPB group of patients. Indicators of oxidative stress and indices of platelet activation and

red blood cells, measured together, have excellent clinical accuracy in predicting the development of possible postoperative complications.

Given that this study did not deal with the grafts patency and duration, perioperative myocardial and neurological complications, analyzing a recent multicentric studies, it can be concluded that OPCAB surgery should be reserved for patients with high predictive mortality (EuroSCORE over 5), for elderly patients and for patients with a poor quality of the aorta, especially ascending aorta in which the neurological complications can be expected. In younger patients, which are expected to longer life expectancy, as well as in patients with low and middle predictive mortality, standard surgical revascularization with the help of pumps CPB remains the treatment of choice.

Keywords: oxidative stress, antioxidant defense, OPCAB, platelet activation, coronary artery bypass, cardiopulmonary bypass, CPB, beating heart.

Science Field: Medicine

Subdivision: Cardiac Surgery

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. ISTORIЈAT I RAZVOЈ KORONARNE HIRURGIЈE	2
1.1.1. Istorijat razvoja pumpe za vantelesni krvotok	2
1.1.2. Istorijat razvoja koronarne hirurgije	9
1.1.2.1. Denervacione procedure	10
1.1.2.1.1. Denervacija miokarda	10
1.1.2.2. Indirektne procedure	11
1.1.2.2.1. Kreiranje kolateralnog krvotoka	11
1.1.2.2.2. Stvaranje arterio-venske fistule	12
1.1.2.2.3. Stvaranje komunikacije između perifernih i koronarnih arterija	12
1.1.2.3. Direktne procedure	13
1.1.2.3.1. Endarterektomija koronarnih arterija	14
1.1.2.3.2. Aortokoronarno premoščavanje	14
1.1.2.3.3. Aortokoronarno premoščavanje na kucajućem srcu	16
1.2. HIRURŠKA REVASKULARIZACIЈA MIOKARDA UZ POMOĆ PUMPE ZA VANTELESNU CIRKULACIЈU	17
1.3. OKSIDATIVNI STRES	20
1.3.1. Slobodni radikali	21
1.3.1.1. Vrste slobodnih radikala i njihove osobine	22
1.3.1.2. Fiziološka uloga slobodnih radikala	22
1.3.1.3. Štetne posledice delovanja slobodnih radikala	24
1.3.2. Marker oksidativnog stresa	24
1.3.2.1. Lipidna peroksidacija	24
1.3.2.2. Oksidacija proteina	25
1.3.2.3. Oksidacija DNK	25
1.4. ANTIOKSIDATIVNA ZAŠTITA	26
1.4.1. Enzimski antioksidativni sistem	26
1.4.1.1. Antioksidativni enzimi	26
1.4.2. Ne-enzimski antioksidativni sistem	28
1.4.2.1. Proteinski antioksidansi	28
1.4.2.2. Antioksidansi male molekulske mase	29
1.5. SISTEMSKI INFLAMATORNI ODGOVOR I OKSIDATIVNI STRES KAO ODGOVOR NA UPOTREBU PUMPE ZA VANTELESNU CIRKULACIЈU	31
1.5.1. Sistemski inflamatorni odgovor i pumpa za CPB	31
1.5.2. Oksidativni stres i pumpa za CPB	32

1.6. HIRURŠKA REVASKULARIZACIJA MIOKARDA NA KUCAJUĆEM SRCU	33
1.6.1. Koncepti ekspozicije srca i ciljne koronarne arterije	34
1.6.1.1. Upotreba multiplih perikardnih šavova	35
1.6.1.2. Upotreba tehnike „jednog šava”	35
1.6.1.3. Upotreba uređaja za pozicioniranje srca	36
1.6.2. Koncepti stabilizacije miokarda tokom kreiranja distalnih anastomoza	37
1.6.2.1. Mehanička stabilizacija	37
1.6.2.1.1. Stabilizacija pritiskom	38
1.6.2.1.2. Stabilizacija sukcionim mehanizmom	38
1.6.2.1.3. Koncept stabilizacije platformom	39
1.6.2.2. Farmakološka stabilizacija	39
1.6.3. Protekcija miokarda i beskrvno operativno polje	40
1.6.3.1. Protektivni intrakoronarni šant	40
1.6.3.2. Blower/mister	41
1.6.4. Dopunske tehnike hemodinamske stabilizacije i ekspozicije arterija	41
1.6.4.1. Trendelenburgova pozicija	42
1.6.4.2. Desni kosi položaj ili desni dekubitalni položaj	42
1.6.4.3. Hernijacija srca ili pleuro-dijafragmalna diskonekcija	43
1.6.4.4. Privremen prekid protoka kroz VCI–IVC Snaring	43
1.6.5. Hemodinamske promene uzrokovane pomeranjem srca	44
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	46
3. MATERIJAL I METODE	47
3.1. MATERIJAL	47
3.1.1. Kriterijumi za uključivanje u studiju	48
3.1.2. Kriterijumi za isključivanje iz studije	48
3.2. METOD RADA	49
3.2.1. Dijagnostika	49
3.2.2. Preoperativna priprema bolesnika	50
3.2.3. Intraoperativno praćenje bolesnika	51
3.2.3.1. Anestezija	51
3.2.3.2. Hirurška procedura	52
3.2.3.3. Intraoperativno praćenje vitalnih parametara	60
3.2.3.4. Postoperativno praćenje vitalnih parametara	61
3.2.3.5. Postoperativno praćenje ostalih parametara	62
3.2.4. Uzimanje uzoraka krvi	63
3.2.5. Određivanje vrednosti pokazatelja oksidativnog stresa	64
3.2.5.1. Određivanje lipidnih-hidroperoksida (LOOH)	64
3.2.5.2. Određivanje produkata uznapredovale oksidacije proteina (AOPP)	66

3.2.5.3. Određivanje totalnog oksidantnog statusa (TOS)	68
3.2.5.4. Određivanje nivoa superoksid-anjon radikala ($O_2\bullet^-$) u plazmi	68
3.2.5.5. Određivanje prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB)	71
3.2.5.6. Određivanje koncentracije malondialdehida (MDA)	73
3.2.5.7. Određivanje koncentracije ishemijom modifikovanog albumina (IMA)	75
3.2.6. Određivanje vrednosti pokazatelja antioksidativne zaštite	76
3.2.6.1. Određivanje aktivnosti enzima paraoksonaze (PON1)	77
3.2.6.2. Određivanje ukupnog sadržaja sulfhidrilnih-tiolnih grupa (tSHG)	79
3.2.6.3. Određivanje koncentracije totalnog antioksidativnog statusa (TAS)	80
3.2.6.4. Određivanje aktivnosti enzima serumske superoksid-dismutaze (SOD)	82
3.2.7. EuroQol upitnik-Procena kvaliteta i brzine oporavka	83
3.3. STATISTIČKA ANALIZA	84
4. REZULTATI	86
4.1. STRUKTURNE ANALIZE GRUPE BOLESNIKA	86
4.1.1. Distribucija ispitanika po starosti	86
4.1.2. Distribucija ispitanika prema polu	86
4.1.3. Distribucija ispitanika prema indeksu telesne mase (BMI)	87
4.2. TEŽINA KLINIČKIH KARAKTERITIKA BOLESNIKA I PREDIKTIVNI MORTALITET	88
4.2.1. EuroSCORE Logistic, EuroSCORE II	88
4.2.2. EuroSCORE Logistic, EuroSCORE II u odnosu na cut-off vrednosti	88
4.3. TRAJANJE VANTELESNE CIRKULACIJE I AORTNE KLEME	90
4.4. BROJ BAJPASEVA	90
4.5. VREME TRAJANJA OPERACIJE	91
4.6. POSTOPERATIVNO KRVARENJE–DRENAŽA	91
4.7. TRNSFUZIJA KRVI	92
4.8. PROCENA BRZINE OPORAVKA	93
4.9. PROCENA RAZLIKE U TELESNOJ MASI	94
4.10. POSTOPERATIVNE KOMPLIKACIJE	95
4.11. DINAMIKA PROMENE KONCENTRACIJA POJEDINIH BIOHEMIJSKIH PARAMETARA ZA PROCENU OŠTEĆENJA MIOKARDA I FUNKCIJE JETRE	96
4.11.1. Dinamika promene koncentracija aktivnosti enzima CK i CK–MB-praćenje oštećenja miokarda	96

4.11.2. Dinamika promene koncentracije transaminaza (ALT, AST)	100
4.12. DINAMIKA PROMENA KONCENTRACIJA POKAZATELJA OKSIDATIVNOG STRESA	104
4.12.1. Dinamika promena koncentracije lipidnih- hidroperoksida (LOOH)	104
4.12.2. Dinamika promena koncentracija produkata uznapredovale oksidacije proteina (AOPP)	106
4.12.3. Dinamika promena koncentracija totalnog oksidantnog statusa-potencijala (TOS)	107
4.12.4. Dinamika brzine generisanja superoksidnog- anjona (O_2^-)	110
4.12.5. Dinamika promena koncentracija prooksidativno- antioksidativnog balansa (PAB)	112
4.12.6. Dinamika promena koncentracija malondialdehida (MDA)	114
4.12.7. Dinamika promena koncentracije ishemijom modifikovanog albumina (IMA)	116
4.13. DINAMIKA PROMENA KONCENTRACIJA POKAZATELJA ANTIOKSIDATIVNE ZAŠTITE	118
4.13.1. Dinamika promena u aktivnosti enzima paraoksonaze (PON 1)	118
4.13.2. Dinamika promena u koncentracijama ukupnih sulfhidrilnih-tiolnih grupa (tSHG)	120
4.13.3. Dinamika promena u koncentracijama totalnog antioksidativnog statusa-kapaciteta (TAS)	121
4.13.4. Dinamika promena u koncentracijama suepeoksid-dismutaze (SOD)	124
4.14. INDEKSI POKAZATELJA OKSIDATIVNOG STRESA	125
4.14.1. Indeks pokazatelja oksidativnog stresa lipidnog porekla-PON1/LOOH indeks	126
4.14.2. Indeks pokazatelja oksidativnog stresa proteinskog porekla-AOPP/tSHG indeks	128
4.15. INDEKS HETEROGENOSTI ERITROCITA	129
4.15.1. Distribucija volumena eritrocita-RDW	130
4.16. BROJ TROMBOCITA	132
4.17. SREDNJI VOLUMEN TROMBOCITA (MPV)	133
4.18. INDEKSI AKTIVACIJE TROMBOCITA-RPR I MPR	135
4.18.1. RDW to Platelet Ratio-RPR	135
4.18.2. MPV to Platelet Ratio-MPR	137
4.19. VREDNOSTI SYNTAX SKORA (SS) I PON1 U ISPITIVANIM GRUPAMA	138
4.19.1. Vrednosti SYNTAX skora u ispitivanim grupama	139
4.19.2. Veza između aktivnosti enzima PON1 i osobina aterosklerotskog plaka procenjenog računanjem SYNTAX skora	140

4.20. KLINIČKA TAČNOST POJEDINIH IZABRANIH PARAMETARA OKSIDATIVNO–STRESNOG STATUSA U PREDVIĐANJU POJAVA POSTOPERATIVNIH KOMPLIKACIJA	146
4.21. ANALIZA REZULTATA KVALITETA I BRZINE OPORAVKA DOBIJENIH EUROQOL–5D I EUROQOL–VAS UPITNICIMA	147
5. DISKUSIJA	152
6. ZAKLJUČCI	193
7. LITERATURA	195

1. UVOD

Ishemijska bolest srca nastaje kao rezultat pojave neravnoteže između potreba miokarda za kiseonikom i snabdevanja miokarda kiseonikom putem koronarne cirkulacije. Ateroskleroza je vodeći uzročnik ishemijske bolesti srca¹. U najvećem broju slučajeva, ishemijska bolest srca uzrokovana je aterosklerotičnim promenama na koronarnim krvnim sudovima. Iako ateroskleroza predstavlja bolest starenja, u poslednje dve decenije se sve više javlja kod mladih ljudi. Poslednjih decenija prošlog veka, registrovano je dramatično povećanje učestalosti koronarne bolesti, pa ona danas predstavlja vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta u svetu.

Napredovanjem procesa ateroskleroze dolazi do značajnog suženja lumena koronarne arterije, što može biti praćeno kliničkom manifestacijom. Kliničke manifestacije su nepredvidljive, klinički tok može biti različit, a neželjena smrt često je iznenadna i neočekivana. Prepoznavanje ishemijske bolesti srca u bilo kom kliničkom obliku je važno, jer postojanje minimalnih simptoma može ukazati na ozbiljnu bolest.

Poslednje decenije prethodnog i početkom ovog veka, uvođenjem u kliničku praksu novih dijagnostičkih i terapijskih, kardioloških i kardiohirurških procedura, dovelo je do značajnog napretka u lečenju ovih bolesnika. Lečenje ishemijske bolesti srca sada predstavlja jedan od najvećih izazova u savremenoj kardiologiji i kardiohirurgiji. Savremena farmakološka terapija, nove invazivne perkutane koronarne intervencije i usavršene kardiohirurške operacije u znatnoj meri su promenile shvatanje mehanizma koronarne bolesti, način zbrinjavanja i prognozu ovih bolesnika.

Revaskularizacija miokarda je metoda kojom se obezbeđuje novi, dodatni dotok krvi u određene delove miokarda, u cilju bolje perfuzije ishemijski zahvaćenih delova miokarda. Revaskularizacija miokarda se može postići na dva načina:

1. Perkutanim kardiološkim interventnim procedurama (balon dilatacija sa ili bez ugradnje stenta u koronarne krvne sudove) i/ili

2. Hirurškom revaskularizacijom miokarda

Hirurška revaskularizacija miokarda može se postići na tri načina:

1. Aortokoronarnim premošćavanjem-aortokoronarni bajpas
2. Transmiokardnom laserskom revaskularizacijom
3. Revaskularizacijom matičnim stem-ćelijama

Hirurška revaskularizacija miokarda putem aortokoronarnog premošćavanja (bypass) se može postići na dva načina:

1. Uz pomoć pumpe za vantelesnu cirkulaciju (Cardiopulmonary Bypass Machine-CPB ili Heart-Lung machine), kada se aortokoronarno premošćavanje vrši na flakcidnom, mirnom srcu (u kardioplegičnom arestu)
2. Bez upotrebe pumpe za vantelesnu cirkulaciju, kada se aortokoronarno premošćavanje radi na kucajućem srcu (Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting-OPCABG).

1.1. Istorijat i razvoj koronarne hirurgije

1.1.1. Istorijat razvoja pumpe za vantelesni krvotok

Počeci savremene kardiohirurgije se vezuju za naučno-istraživački rad dvojice pionira svetske kardiohirurgije, John Gibbon-a i Walton Lillehei-a, kao i pronalazak pumpe za vantelesni krvotok i „bubble” oksigenatora.

Lečeći bolesnika koji je umirao od masivne plućne embolije 1931.godine, doktor John Gibbon je došao na ideju da napravi mašinu koja bi privremeno zamenila funkciju srca i pluća i na taj način omogućio lečenje ovih teških bolesnika. Gibbon je 1937.godine postavio osnove koncepcije pumpe za vantelesnu cirkulaciju². Naime, dr John Gibbon je 1937. godine uradio prvu uspešnu operaciju uz upotrebu pumpe za vantelesnu cirkulaciju

kod mačke, tako što je klemujući plućnu arteriju krvotok šantom preusmerio oksigenator i pumpu u trajanju od 25 minuta.

Posle drugog svetskog rata, John Gibbon je intenzivirao svoj naučno-istraživački rad. U tom periodu je upoznao direktora IBM (International Business Machines) Tomasa Watsona koji je bio fasciniran Gibbonovim radom. Tom prilikom Tomas Watson mu je obećao veliku pomoć, nakon čega je šest inženjera IBM-a bilo uključeno u projekat u kom su konstruisali novu mašinu. Nova pumpa je bila sastavljena od vertikalnog cilindričnog rotacionog oksigenatora i modifikovane DeBakey roler pumpe koja je nazvana Model I pumpa. Uz pomoć ove mašine uradili su nekoliko operacija na psima i imali dobro dugoročno preživljavanje, ali je oksigenator bio premali da bi se koristio na čoveku³.

S obzirom na to da je osnovna ideja bila da se operacije rade na ljudima, konstruisana je nova pumpa koja je nazvana Model II pumpa. Ova pumpa je bila veoma složena, napravljena je od nerđajućeg čelika i bila je teška 1000 kilograma. Krv je bila ispumavana uz pomoć tri DeBakey roler pumpe. Oksigenator se sastojao od akumulatora sa šest filtera od nerđajućeg čelika, svaki 40 cm visok i 25 cm širok. Krv je proticala kroz svaki od šest filtera i na taj način bila izložena kiseoniku. Površina kroz koju je krv prolazila je bila 8m^2 , što je znatno manje od ukupne alveolarne površine kod normalnih pluća ($70\text{-}100\text{m}^2$), ali je bila dovoljna da obezbedi 100% saturaciju kiseonika, uz protok veći od 5 litara u minuti³.

Ovo je bila izvanredna i revolucionarna pumpa, ali veoma složena, skupa i komplikovana za upotrebu. Ovakva pumpa je zahtevala 2-3 obučena lekara ili tehničara za upravljanje i nekoliko litara pune krvi za ispunjavanje sistema.

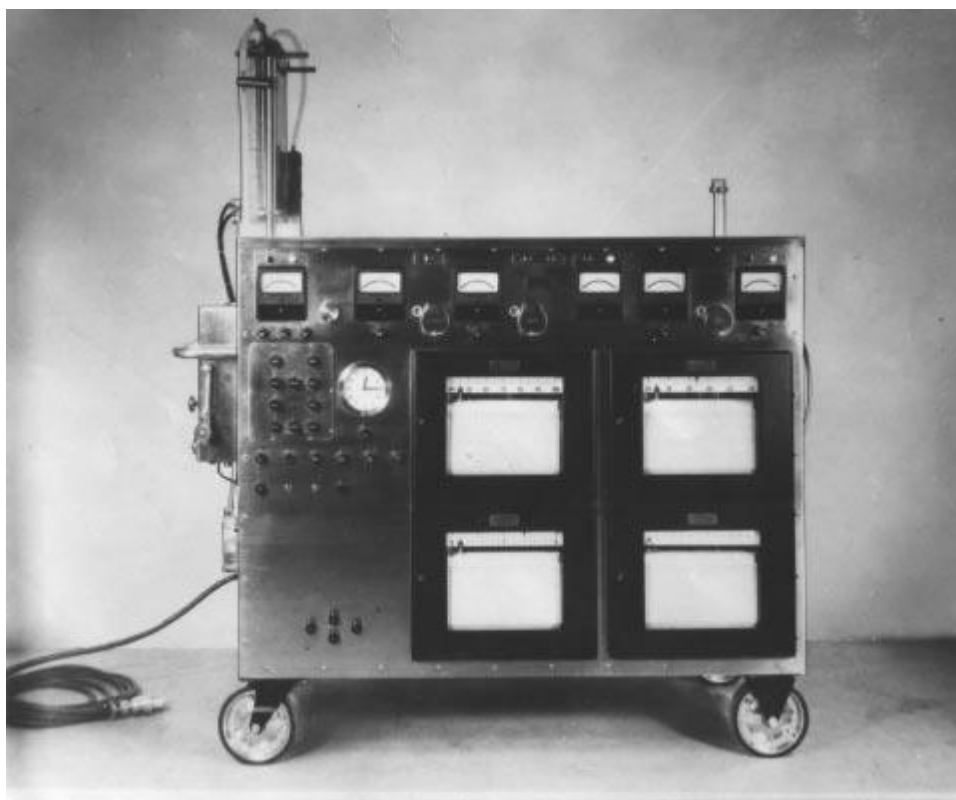
Do 1952. godine, nakon dugogodišnjeg laboratorijskog ispitivanja, Gibbon i saradnici su bili u stanju da rutinski operišu kućice uz pomoć pumpe za vantelesnu cirkulaciju, sa veoma dobrim uspehom. Oni su radili tzv. „varka operacije” kroz desnu pretkomoru, koristeći pumpu za vantelesnu cirkulaciju u trajanju od sat vremena i duže. Uspeh ovih „operacija” je bio evidentan, jer je devet od deset kućica preživelo upotrebu

pumpe za CPB. Februara 1952. godine Gibbon i njegovi saradnici su procenili da je vreme za kliničku upotrebu pumpe za vantelesnu cirkulaciju³.

Prvi bolesnik je bila petnaest meseci stara devojčica sa dijagnostikovanim atrijalnim septalnim defektom. Kataterizacija srca je pokušana, ali nije sprovedena do kraja zbog postojanja insuficijencije srca i veoma malih dimenzija bolesnice. Grudni koš je otvoren kroz desnu torakotomiju. Nakon što je kod ove bebe, preko nove pumpe za CPB, uspostavljena vantelesna cirkulacija, otvorena je desna pretkomora i konstatovano da atrijalni septalni defekt ne postoji. Tokom operacije stanje bebe se rapidno pogoršavalo, nakon čega je došlo do srčanog zastoja. Obdukcijom je pronađen veliki duktus arteriozus perzistens i konstatovano da je dijagnoza bila pogrešna. Ovo je bio prvi pokušaj upotrebe pumpe za vantelesnu cirkulaciju u kliničkoj medicini, koji je ostao neuspešan.

Ipak, nakon dve decenije rada u eksperimentalnoj laboratoriji, John Gibbon je 6. maja 1953.godine u Filadelfiji (Jefferson Medical College Hospital, Philadelphia) uradio prvu uspešnu operaciju na otvorenom srcu uz pomoć pumpe za vantelesnu cirkulaciju⁴. Bolesnica je bila osamnaestogodišnja studentkinja Sesilija Bavolek (Cecelia Bavolek) , koja je imala urođenu srčanu manu po tipu atrijalnog septalnog defekta i ponavljane epizode desnostrane srčane slabosti. Grudni koš je otvoren kroz transversalnu inciziju kože, nakon čega je urađena sternotomija i razdvojen sternum. Nakon što je kod bolesnice uspostavljena vantelesna cirkulacija, učinjena je desna atriotomija i veliki atrijalni septalni defekt je zatvoren produžnim kontinuiranim šavom. Trajanje pumpe za vantelesnu cirkulaciju je bilo 45 minuta, dok je trajanje totalnog kardiopulmonalnog bajpasa i aortne kleme bilo 26 minuta. Međutim, tokom operacije se desio jedan veliki problem sa pumpom za vantelesnu cirkulaciju. Heparinizirana sveža krv je korišćena kao prajming (početno punjenje osnovnom tečnošću) da bi se u potpunosti ispunio sistem creva i oksigenator. Svakih 500 ml krvi je heparinizirano sa samo 10 mg heparina. Kada je Gibbon uradio desnu atriotomiju i spremao se da zatvori defekt, saturacija krvi kiseonikom je počela rapidno da pada, te je konstatovao da je došlo do formiranja koaguluma u oksigenatoru zbog neadekvatne heparinizacije. Obzirom na veličinu atrijalnog septalnog defekta, Gibbon je prvobitno planirao da uradi pač-plastiku defekta perikardnim pačem. Međutim, zbog naglog

pada saturacije i neadekvatne oksigenacije, Gibbon je odlučio da defekt zatvori produžnim šavom što je brže moguće i privede operaciju kraju. Nakon operacije nije bilo nikakvih kliničkih i neuroloških pogoršanja i bolesnica se probudila sat vremena nakon završetka operacije. Obzirom na neadekvatnu heparinizaciju, Gibbon dao preporuku da se svakih 500 ml krvi treba heparinizirati sa 25 mg heparina.



Slika 1. Pumpa za vantelesnu cirkulaciju sa kojom je urađena prva operacija na otvorenom srcu (Gibbon-IBM heart-lung machine-Model II)

Godine 2003. proslavljeno je 50 godina od prve uspešno urađene operacije na otvorenom srcu uz upotrebu pumpe za vantelesnu cirkulaciju. Na proslavi se pojavila i bolesnica Sesilija Bavolek, koja je bila dobrog opšteg statusa i zdravlja³.

Nakon početnog i prvog uspeha, tokom 1953. godine su urađene još dve operacije, koje su se neuspešno završile zbog loše postavljene dijagnoze urođenih srčanih mana, kao

i problemima vezanim za oksigenator. Obzirom da su tri od četiri operisana bolesnika umrla, Gibbon je odlučio da obustavi program operacija na otvorenom srcu u trajanju od godinu dana. On je to vreme iskoristio za edukaciju kardiologa u salama za kateterizaciju srca, čime se značajno povećao procenat tačno postavljenih dijagnoza.

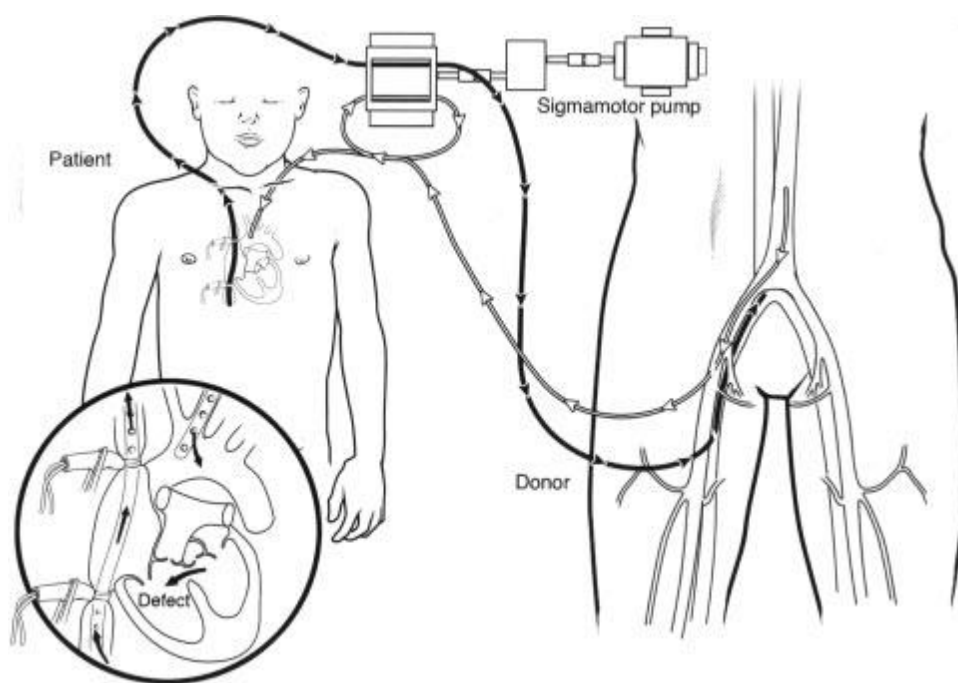
U isto vreme, grupa lekara i naučnika sa Minesota Univerziteta iz Mineapolisa, razvijala je program operacija na otvorenom srcu, kao i mogućnosti upotrebe oksigenatora i mašine za vantelesnu cirkulaciju. Ovu grupu naučnika predvodio je Walton Clarence Lillehei sa saradnicima Herbert Wardenom, Marley Cohenom i Richardom Varcom. S obzirom na to da su bili jako dobro upoznati sa radom doktora Johna Gibbona, oni su istraživali mogućnost upotrebe autolognih pluća kao oksigenatora tokom upotrebe pumpe za vantelesnu cirkulaciju kod pasa. Jedne večeri, inspirisani podmaklom trudnoćom supruge doktora Marley Cohena, oni su diskutovali o funkciji placente. Tada su shvatili da je, zapravo, supruga doktora Cohena „oksigenerator” za njeno još nerođeno dete, tj. fetus³. Došli su na ideju da operišu srce malog psa, a da kao „oksigenerator” upotrebe velikog psa, koristeći tehniku „malog perfuzionog protoka” krvi. Tehnika „malog perfuzionog protoka” je bila bazirana na istraživanjima Andreasena i Watsona, koja su pokazala da cirkulacija kod pasa može biti privremeno redukovana za 90% u trajanju do 2 sata, što je praćeno potpunim oporavkom organizma oba psa⁵. Lillehei i saradnici su upotreбили tehniku spajanja femoralne arterije psa donora sa arterijskim sistemom psa primaoca, uz pomoć plastičnog sterilnog creva. Iz femoralne vene je venska krv vraćana iz psa primaoca da bi se oksigenisala u plućima psa donora. Oba protoka, i arterijski i venski, su kontrolisani Sigmamotor pumpom koja je održavala balansirani protok krvi. Lillehei je ovakav vid vantelesne cirkulacije nazvao „kontrolisana ukrštena cirkulacija” (controled cross-circulation)⁶. Oni su bili veoma zadovoljni svojim istraživanjem, jer je oporavak oba psa bio potpun, bez metaboličkih i neuroloških komplikacija. Nakon što je dobio poverenje i dopuštenje svojih kolega i šefova, Lillehei je planirao da ovu proceduru uvede u kliničku praksu.

Dana 26.marta 1954.godine Walton Lillehei je sa svojim saradnicima uradio prvu uspešnu korekciju ventrikularnog septum defekta korišćenjem tehnike „ukrštene

cirkulacije” kod trinaestomesečnog dečaka Gregory Gliddena. Donor cirkulacije je bio otac. Operacija je bila uspešno urađena, ali je beba umrla 11 dana nakon operacije od posledica bronhopneumonije. Nekoliko dana nakon toga, krajem marta 1954.godine Lillehei je uspešno operisao jedanaestogodišnjeg dečaka kome je uradio korekciju ventrikularnog septum defekta. Otac bolesnika je bio „donor-oksigenator”. Tokom ove operacije, tehnika „ukrštene cirkulacije” je uspostavljena tako što je venska krv iz obe vene kave deteta preko sistema creva odlazila u femoralnu venu i pluća oca. Iz pluća oca je oksigenisana krv odlazila u prethodno kanuliranu karotidnu arteriju deteta. Ventrikularni septum defekt kod deteta je zatvoren, uz ukupno trajanje „ukrštene cirkulacije” od 19 minuta. U periodu od marta 1954. godine do jula 1955.godine Walton Lillehei je uz pomoć tzv. „ukrštene cirkulacije” operisao ukupno 45 bolesnika sa urođenim srčanim manama, od kojih je 32 preživelo operaciju. Mnogi od ovih bolesnika su bili mlađi od 2 godine. Tehnika perfuzije i operacija na otvorenom srcu primenom „ukrštene cirkulacije” privukla je veliku pažnju stručne javnosti i medija toga vremena, uz pozitivne i negativne reakcije stručne javnosti⁷. Iako je „ukrštena cirkulacija” imala mnoge prednosti, nije bila šire prihvaćena jer je imala potencijalno ozbiljne rizike po „donora cirkulacije”. Tokom ovih operacija, Lillehei i saradnici su imali dve ozbiljne komplikacije sa donorima cirkulacije. Prva komplikacija se odnosila na akcidentalno upumpavanje vazduha kroz centralnu vensku liniju na samom početku operacije, kod majke bolesnika. Ona je pretrpela velika kognitivna oštećenja, koja su zahtevala veoma dug period rehabilitacije. Druga komplikacija se desila kod majke-donora, koja je pretrpela srčani zastoj na kraju operacije. Nakon otvorene masaže srca i reanimacije, majka se potpuno oporavila. Međutim, ovo su bili osnovni razlozi koji su naveli jednog od kritičara da konstatuje da „ovakva operacija može imati 200% smrtnost”³. Ipak, ova metoda je otvorila put za dalji razvoj operacija na otvorenom srcu. Godine 1955. Lillehei, Cohen, Warden i Varco su dobili prestižnu nagradu Albert Lasker za medicinska istraživanja⁸.

Treba napomenuti da je kod svih operacija gde je korišćena „ukrštena cirkulacija”, upotrebljavana tehnika „malog perfuzionog protoka”, gde je korišćen sistem creva i Sigmamotor pumpa koja je regulisala količinu perfuzionog protoka krvi. Doktor Richard

DeWall je imenovan da postavi i nadgleda celokupnu instalaciju sistema creva i upravlja Sigmamotor pumpom tokom trajanja „ukrštene cirkulacije”. Radeći to Richard DeWall je postao zvanično prvi perfuzer na svetu kod operacija na otvorenom srcu.



Slika 2. Tehnika kontrolisane „ukrštene cirkulacije” (controled cross-circulation)

Iste godine Richard DeWall i Walton Lillehei usavršavaju program proizvodnje oksigenatora i pronalaze tzv. bubble oksigenator⁹. Oni, po prvi put, uvode u kliničku praksu „bubble” oksigenator”, koji je nazvan DeWall-Lillehei oksigenator, koji je ostao u upotrebi do kasnih sedamdesetih godina i pojave tzv. membranskih oksigenatora. Uvođenjem bubble oksigenatora počinje nova era u razvoju operacija na otvorenom srcu.

Walton Lillehei je bio prvi kardiohirurg koji je uspešno uradio kompleksnije operacije na otvorenom srcu tipa ventrikularnog septum defekta, zajedničkog AV kanala i tetralogije Fallot. Takođe, kod njega se obučavalo nekoliko generacija kardiohirurga iz 40

različitih zemalja širom sveta, a među njima i Norman Shumway i Christian Bernard koji su uz Richarda Lowera i Adraiana Kantrowitza bili pioniri hirurgije transplantacije srca. Izmislio je prve i najprostije pejsmekere za srce i uveo je u upotrebu bubble oksigenator. Zbog kompletnog naučno-istraživačkog rada i rada kao kardiohirurga danas ga mnogi smatraju „ocem operacija na otvorenom srcu”^{8,10}, kao i jednog od „besmrtnih hirurga”⁸.

Pored John Gibbon-a i Walton Lillehei-a, veliki broj poznatih lekara, inženjera i fabrika toga doba je učestvovalo u izradi nacрта pumpi za vantelesnu cirkulaciju, kao i u pionirskim poduhvatima operacija na otvorenom srcu. Pored svega navedenog, 6. maj 1953. godine je datum koji će ostati zlatnim slovima upisan u istoriju svetske medicine i hirurgije uopšte. Pronalazak pumpe za vantelesnu cirkulaciju je omogućio razvoj moderne kardiohirurgije i savremeni tretman kongenitalnih mana srca, valvularnih bolesti, kao i koronarne bolesti srca i hirurgije velikih krvnih sudova.

1.1.2. Istorijat razvoja koronarne hirurgije

Uprkos primeni pumpe za vantelesnu cirkulaciju, koja je prvu put uspešno upotrebljena 1953.godine, prve dve uspešne hirurške revaskularizacije miokarda urađene su na kucajućem srcu (Goetz¹¹-1961.g. i Kolesov¹²-1963.g.), da bi tek 1967.godine Favaloro¹³ izveo prvo uspešno aortokoronarno premošćavanje uz pomoć pumpe za CPB.

Kada bi smo gledali kroz istoriju, hirurške revaskularizacije miokarda bi smo mogli podeliti na tri velike grupe:

- Denervacione procedure
- Indirektne procedure
- Direktne procedure

Sa druge strane, istorijat koronarne hirurgije se može podeliti na razdoblja ili ere u kojima se koronarna hirurgija razvijala. Istorijat koronarne hirurgije se može podeliti na pet različitih razdoblja ili era:

- Prva era: od 1880. do 1934. godine

- Druga era: od 1935. do 1953. godine
- Treća era: od 1954. do 1966. godine
- Četvrta era: od 1966. do 1996. godine
- Peta era: od 1996. do danas

Svakako da prva i druga era razvoja koronarne hirurgije obuhvataju razvoj i primenu palijativnih denervacionih i indirektnih procedura zbog smanjenja tegoba bolesnika, dok su treća, četvrta i peta era razvoja koronarne hirurgije vezane za primenu direktnih procedura.

1.1.2.1. Denervacione procedure

Palijativne denervacione procedure su vezane za prvu eru istorijata razvoja koronarne hirurgije. Ovaj period karakterišu bazična istraživanja i primena palijativnih procedura sa ciljem da se umanje bolne senzacije koje prate koronarnu bolest. U ove procedure spada denervacija miokarda.

1.1.2.1.1. Denervacija miokarda

Pod deneracijom miokarda su spadale procedure koje su imale za cilj sprečavanje bola i bolnih senzacija uzrokovanih koronarnom bolešću. Godine 1880. Langer je opisao postojanje značajne komunikacije između koronarne cirkulacije i okolnih ekstrakardijalnih struktura (dijafagma, bronh, perikard)¹⁴. U procedure deneracije miokarda su spadale:

- Cervikalna simpatička denervacija (Francois-Frank-1899.godina)
- Uklanjanje cervikalnog gangliona (Jonesco, Coffee-1920-1923.godina)
- Denervacija parijetalnog pleksusa (Fanteux-1939.godina)

Francuski fiziolog Charles-Émile François-Franck je 1899.godine predlagao simpatektomiju gornjeg torakalnog simpatičkog gangliona sa ciljem otklanjanja anginoznih simptoma¹⁵. Godine 1916. Jonesco je po prvi put primenio bilateralno uklanjanje cervikalnog simpatičkog trunkusa. Rad na ovu temu je objavio 1920.godine, čime je samo potvrdio hipotezu Francois-Frank-a, da simpatektomija dovodi do koronarne dilatacije¹⁶.

Godine 1902. Kocher je primetio da bolesnici sa anginom pektoris postaju asimptomatični nakon tiroidektomije¹⁷. Fanteux je 1939.godine uradio denervaciju periarterijalnog pleksusa.

Svakako da je veoma bitan doprinos savremenoj kardiohirurgiji dao Alexis Carrel. Godine 1910. Carrel je eksperimentalno anastomozirao arteriju inominatu jednog psa na distalnu koronarnu arteriju drugog psa. Takođe, Carrel je eksperimentalno implantirao slobodan karotidni arterijski graft između descendentne torakalne aorte i glavnog stabla leve koronarne arterije¹⁸. Sa druge strane, Carrel je bio prvi eksperimentalni hirurg u istoriji koji je interponirao venski graft u presečenu torakalnu aortu kod psa. Ovaj pionirski rad predstavlja preteču današnjih bajpas procedura sa korišćenjem venskih graftova¹⁹. Alexis Carrel je, 1912.godine, za svoj naučno-istraživački rad dobio Nobelovu nagradu za medicinu.

1.1.2.2. Indirektne procedure

Drugu i najveći deo treće ere razvoja koronarne hirurgije pripada uvođenju indirektnih procedura hirurške revaskularizacije miokarda. Osnovni cilj indirektnih procedura je bio da se indukuje neovaskularizacija, čime bi se poboljšala kolateralna cirkulacija. U tzv. indirektne procedure hirurške revaskularizacije miokarda spadale su:

- Kreiranje kolateralnog krvotoka
- Stvaranje arterio-venske fistule
- Stvaranje komunikacije između perifernih i koronarnih arterija

1.1.2.2.1. Kreiranje kolateralnog krvotoka

Istorijat kreiranja kolateralnog krvotoka započinje ranim radovima Beck-a i Moritz-a. Godine 1930. Beck je shvatio da su perikardne priraslice veoma dobro vaskularizovane²⁰. Kod bolesnika koji su umrli od posledica perikarditisa, Moritz je primetio postojanje bogatih anastomotičnih kolaterala i kolateralne cirkulacije između koronarnih arterija i ekstrakardijalnih struktura, kao i postojanje vaskularnih anastomoza između masnih naslaga perikarda i grana luka aorte²¹. Godine 1932. Beck je prvo na životinjama, a nakon toga

1935.godine na ljudima uradio tzv. kardio-perikardiopeksiju. Beck je vršio tzv. skarifikaciju epikarda izazivajući sterilni perikarditis mehaničkom abrazijom epikarda i visceralnog perikarda. Na taj način je stvarao vaskularizovane priraslice. Vaskularizovane priraslice su, praktično, predstavljale novi vid vaskularizacije kojom je trebalo biti stvorena komunikacija sa koronarnim krvnim sudovima²².

Godine 1935. Beck uvodi novu vrstu procedura za stvaranje kolateralne vaskularne mreže. On uvodi tzv. kardio-miopeksiju poznatiju kao Beck I procedura, koja se zasnivala na spajanju m. pectoralis major-a sa površinom srca, nakon učinjene gore opisane skarifikacije epikarda²³.

Vremenom, brojni maštoviti autori toga doba dolaze na ideju da modifikuju Beckove originalne ideje plasiranjem dobro vaskularizovanih organa na skarificirani epikard. Tako je O'Shaughnessey, 1936.godine, uradio prvu kardio-omentopeksiju, obavijanjem dobro vaskularizovanog omentuma oko cele površine srca. Kasnije su rađene i kardio-jejunopeksija, kardio-gastropeksija, kardio-lienopeksija i kardio-pneumopeksija.

Godine 1938. Beck i Tompson posipaju erodirani epikard talkom i azbestom u cilju pojačavanja kolateralne cirkulacije. Ovakve i slične procedure su rađene sve do 1950. godine.

1.1.2.2.2. Stvaranje arterio-venske fistule

Beck 1946.godine je uspeo da napravi prvi arterijsko-venski bajpas kod psa, tako što je uspeo da vaskularizuje koronarni sinus psa korišćenjem zajedničke karotidne arterije i njenim spajanjem sa aortom. Godine 1948. Beck je prvi put na čoveku uradio vaskularizaciju koronarnog sinusa upotrebom slobodnog venskog grafta ili brahijalne arterije. Ova procedura je poznata kao Beck II procedura.

1.1.2.2.3. Stvaranje komunikacije između perifernih i koronarnih arterija

Svakako da se prvi radovi vezani za stvaranje komunikacije između perifernih i koronarnih arterija odnose na pionirske radove Alexisa Carrela. Sa druge strane, početni

deo treće ere razvoja koronarne hirurgije se odnosi na stvaranje komunikacija između perifernih i koronarnih arterija.

Godine 1946. Vineberg je implantirao levu arteriju mamariju direktno u tunel stvoren u anterolateralnom delu komorskog zida psa²⁴. Vineberg je smatrao da u srčanom mišiću postoje venski sinusi koji će absorbovati dotok krvi iz arterije mamarije i sprečiti stvaranje intramiokardnog hematoma. Ova procedura je 28.aprila 1950.godine primenjena na čoveku i nazvana je Vinebergova procedura. Implantacija leve arterije mamarije u tunel komorskog zida leve komore dobila je na smislu i značaju, jer su nakon šest meseci nastale nove kolaterale. Suština Vinebergove procedure je bilo stvaranje tzv. „treće koronarne arterije”. Naime, implantacijom leve arterije mamarije kroz mišićni tunel dugačak 5 cm između LAD i ACx stvara se treća koronarna arterija leve komore srca, preko koje nastaju nove kolateralne arterije. Od prvih 40 operisanih bolesnika, 33 bolesnika su preživela, a 71,4% su bili bez anginoznih tegoba. Sones je 1962.godine angiografski dokazao vezu između implantirane arterije mamarije i krvnih sudova mišića srca²⁵, čime je Vinebergova procedura još više dobila na popularnosti. Po uzoru na Vinebergovu proceduru, Charles Bailey je 1966.godine implantirao gastroepiploičnu arteriju u posteriorni zid leve komore srca.

Obzirom na otkriće Sonesa i na činjenicu da je Vinebergova procedura smirivala postojeće anginozne tegobe bolesnika, ova operacija je sprovedena sve do ranih sedamdesetih godina. U periodu između 1960. do 1975.godine izvedeno je između 10-15.000 ovih procedura. Godine 1975. Vinebergova procedura je definitivno napuštena. Vinebergova procedura se smatra neposrednim pretečom direktnih revaskularizacija miokarda.

1.1.2.3. Direktne procedure

U direktne procedure spadaju:

- Endarterektomija koronarnih arterija (zatvorena, otvorena)

- Premošćavanje-Bypass (otvorenom, standardnom metodom, minimalno invazivnim putem ili robotom asistirano aortokoronarno premoščavanje).

1.1.2.3.1. Endarterektomija koronarnih arterija

Murray je 1954.godine, na kucajućem srcu, uspešno implantirao sistemske arterije (karotidnu i aksilarnu arteriju, kao i arteriju mamariju internu) direktno na koronarne arterije²⁶. Prvu ekperimentalnu zatvorenu retrogradnu endarterektomiju koronarne arterije na psu je uradio May, koristeći specijalni kateter za ekstrakciju ateroma²⁷. Godine 1956. Bailey je prvi put kod čoveka uradio zatvorenu endarterektomiju, bez korišćenja pumpe za vantelesnu cirkulaciju. Senning je 1958.godine započeo svoje eksperimentalne radove na otvorenoj endarterektomiji sa pač-plastikom otvorene koronarne arterije²⁸. Godine 1961. Senning je uradio prvu endarterektomiju i pač-plastiku LAD u dubokoj hipotermiji. Godine 1960. Dubost je uradio prvu endarterektomiju ostijuma desne koronarne arterije (sifilistična lezija), bez upotrebe pumpe za CPB. Leffler je 1962.godine uradio prvu endarterektomiju i pač-plastiku glavnog stabla leve koronarne arterije.

1.1.2.3.2. Aortokoronarno premoščavanje-Bypass hirurgija

Kako je već gore pomenuto, uprkos primeni pumpe za vantelesnu cirkulaciju, prve dve uspešne hirurške revaskularizacije miokarda urađene su na kucajućem srcu (Goetz¹¹–1960.g. i Kolesov¹²–1963.g.), da bi tek 1967.g. Favaloro¹³ izveo prvo uspešno aortokoronarno premoščavanje uz pomoć pumpe za CPB.

Dana 02.maja 1960.godine je, prvi put u istoriji, urađena prva direktna revaskularizacija miokarda kod čoveka implantacijom desne arterije mamarije na desnu koronarnu arteriju. Operacija je urađena na kucajućem srcu. U bolnici Van-Etten u Njujorku operaciju je uradio Goetz sa saradnicima¹¹. Ova operacija je urađena kod tridesetosmogodišnjeg bolesnika. Međutim, ova operacija je ostala dugo ne zapažena, jer nigde nije bila objavljena, ali se podaci o ovoj operaciji nalaze u operativnom protokolu bolnice u Njujorku.

Četvrtog aprila 1962.godine Sabiston je prvi upotrebio v. saphenu magnu kao graft za koronarni bajpas. On je 1961.godine u bolnici John Hopkins u Baltimoru operisao bolesnika sa okluzijom desne koronarne arterije, kada je učinio standardnu endarterektomiju. Nakon godinu dana je došlo do reokluzije desne koronarne arterije. Bolesnik je te godine ponovo operisan, kada je venski autograft upotrebljen za distalnu T–T anastomozu sa desnom koronarnom arterijom, nakon njenog ligiranja u njenom proksimalnom segmentu. Proksimalni okrajak je ušiven za aortu po tipu T–L anastomoze. Operisani bolesnik je umro nakon tri dana. Obdukcijom je dokazan tromb blizu proksimalne anastomoze. Razočaran svojim iskustvom, Sabiston je prestao da koristi venski graft za aortokoronarno premošćavanje sve do 1968.godine. Ovaj prikaz slučaja je objavio tek 1974. godine, kada su se venski graftovi već koristili u koronarnoj hirurgiji kao metoda izbora grafta za revaskularizaciju miokarda²⁹.

De Bakey, Dennis i Garret su 23.novembra 1964.godine upotrebili venu saphenu magnu kao graft u koronarnoj hirurgiji kod bolesnika koji je preživeo operaciju. Distalna anastomoza je kreirana po tipu T–L anastomoze. Ovaj rad je objavljen tek 1974.godine.

Pionir ruske kardiohirurgije Kolesov je 1964.godine u Lenjingradu anastomozirao levu arteriju mamariju sa medijalnim segmentom prednje descendentne arterije³⁰.

Danas se smatra da je argentinski kardiotorakalni hirurrg Rene Favaloro zaslužan za rutinsku upotrebu venskog grafta u koronarnoj hirurgiji. Favaloro je 9.maja 1968.godine, u Klivlend klinici u Ohaju, operisao pedesetjednogodišnju bolesnicu sa idejom da uradi endarterektomiju i pač-plastiku desne koronarne arterije. Postoje dve verzije ovog događaja. Prva verzija događaja je da je venski graft na desnu koronarnu arteriju bio iznuđeno rešenje. Naime, tokom endarterektomije desne koronarne arterije došlo do komplikacija po tipu transekcije arterije, te je kao iznuđeno rešenje bila T–T anastomoza između venskog grafta i distalnog okrajka, tj. bifurkacije desne koronarne arterije. Obzirom na transekciju arterije, proksimalni segment arterije je morao biti podvezan. Druga verzija ovog događaja je dosta slična prvoj, samo se smatra da nije bilo nikakvih komplikacija, već da je Favaloro napravio procenu da desna koronarna arterija nije bila pogodna za

endarterektomiju i pač-plastiku, pa se odlučio da preseče desnu koronarnu arteriju na samoj bifurkaciji. Nakon toga je učinio T–T anastomozu između venskog grafta i distalnog dela desne koronarne arterije. Proksimalni segment desne koronarne arterije je podvezao, dok je proksimalni okrajak venskog grafta anastomozirao sa aortom¹³. Kasnije je ustanovio da ova vrsta operacije nije pogodna kod proksimalnih lezija na koronarnoj arteriji, te da se podvezivanjem proksimalnog segmenta koronarne arterije kompromituje protok u nativnoj cirkulaciji. Zbog toga je modifikovao svoju tehniku, tako da je uveo distalnu T-L anastomozu na koronarnoj arteriji, kako bi proksimalni segment koronarne arterije ostao nepodvezan³¹.

Robert Flemma i Dudley Johnson iz Milvokija su 1969.godine implantirali prvi vesni graft na LAD³². Takođe, Robert Flemma i Dudley Johnson su sa svojim saradnicima prvi uveli u praksu sekvencijalni bajpas, kao i multiple venske graftove na koronarnim arterijama, o čemu svedoče brojni radovi.

Godine 1971. francuski kardiohirurg Alain Carpentier, po prvi put, u upotrebu uvodi radijalnu arteriju kao slobodan atrijski graft³³. Godine 1987. kanadski kardiohirurg Pym uvodi u upotrebu gastroepiploičnu arteriju³⁴, kao alternativni graft izbora u direktnoj revaskularizaciji zadnje descendentne grane desne koronarne arterije (Pd).

1.1.2.3.3. Aortokoronarno premošćavanje na kucajućem srcu

Razvoj tehnika ekstrakorporalne cirkulacije i metoda miokardne protekcije, udruženi sa široko prihvaćenom i standardizovanom revaskularizacijom miokarda na „mirnom” srcu u kardioplegičnom arestu, doveli su do potpunog napuštanja operacija na kucajućem srcu. Međutim, unapređenjem tehnologije i operativnih tehnika, revaskularizacija miokarda na kucajućem srcu ponovo dobija na aktuelnosti i značaju. Ove tehničke varijacije i tehnološka unapređenja su se odnosila na stabilizaciju srca tokom šivenja anastomoze na koronarnoj arteriji, kao i na primenu protektivnog intraluminalnog šanta. Grupa autora godine iz Utrehta, Holandija, tzv. Utrehtska grupa³⁵, 1996.godine uvodi u praksu vakuum sukcionu sistem za stabilizaciju ciljne arterije (Octopus sistem). U cilju maksimalne protekcije miokarda, 1997.godine Rivetti i Gandra³⁶, uvode upotrebu

protektivni intraluminalni šant kojim se uspostavlja protok kroz ciljnu arteriju. Time je smanjeno trajanje perioda ishemije, pri čemu se sve anastomoze mogu bezbedno ušiti bez prekida protoka u koronarnoj cirkulaciji. Uvođenjem stabilizatora za srce i protektivnog šanta postavljen je osnov za bezbednu i pouzdanu revaskularizaciju miokarda na kucajućem srcu. Osnovni koncept ove metode je da se operacija radi u uslovima normotermije, na kucajućem srcu, u fiziološkim uslovima cirkulacije.

1.2. Hirurška revaskularizacija miokarda uz pomoć pumpe za vantelesnu cirkulaciju-CPB

Procedure na „mirnom” srcu podrazumevaju upotrebu pumpe za vantelesnu cirkulaciju (CPB), sistemske hipotermiju i upotrebu različitih vrsta rastvora kardioplegije, čime se postiže privremeni zastoj srca. Mašina za vantelesnu cirkulaciju predstavlja veštačku pumpu. Ona se sastoji od sistema rolera, oksigenatora, venskog rezervoara, izmenjivača toplote, mešača gasova, arterijskog filtera, mašine za hlađenje i grejanje (Heater-Cooler System), kao i sistema silikonskih creva i kanila. Cirkulacija se obezbeđuje održavanjem željenog perfuzionog pritiska i adekvatnog protoka. Održavanje adekvatnog perfuzionog pritiska i protoka krvi se postiže, pre svega, upotrebom roler pumpe. Glavni roler pumpe za vantelesnu cirkulaciju zamenjuje srce i predstavlja glavnu pumpu tokom operacije.

Danas su u upotrebi dva tipa arterijskih pumpi:

- okluzivna roler pumpa
- centrifugalna pumpa

Roler pumpa ostvaruje protok krvi tako što dve glave (roleri i valjci), postavljene na 180°, vrše naizmeničnu kompresiju na silikonsko ili PVC crevo (silikonska ili PVC linija) u kome se nalazi krv (Slika 6). Okluzijom se određuje stepen smanjena poprečnog preseka creva (linije) komprimovane glavom pumpe. Okluzija arterijske linije ne sme biti potpuna, jer to može dovesti do oštećenja silikonskih ili PVC creva, kao i krvnih elemenata. Sa druge strane, okluzija arterijske linije ne sme biti ni mala, jer bi time došlo do smanjena

protoka i povećanog oštećenja uobličениh krvnih elemenata zbog tzv. retrogradnog ili povratnog protoka u arterijskoj liniji.

Centrifugalna pumpa je aparat koji, kao i roler pumpa, menja srčani mišić dok traje operacija. Za razliku od roler pumpe koja mehaničkom silom (pritiskom) obezbeđuje protok krvi, centrifugalna pumpa ostvaruje protok krvi uz pomoć centrifugalne sile. Glava za centrifugalnu pumpu se sastoji iz plastičnog kućišta u kome se nalaze rotirajući elementi konusnog oblika. Krv ulazi u centralni deo pumpe i istiskuje se preko njene periferije centrifugalnom silom, koja nastaje obrtanjem konusnih elemenata koje pokreće elektromagnet. Protok kod centrifugalne pumpe se meri meračem protoka (flow sensor). Za razliku od roler pumpe, protok kod centrifugalne pumpe nije konstantan već se menja u zavisnosti od sistemske vaskularne rezistencije bolesnika, dužine i promera arterijske linije i promera arterijske kanile. Centrifugalna pumpa manje oštećuje krvne elemente, ali i pet puta poskupljuje cenu procedure.

Osim glavnog rolera koji menja srce, na pumpi za vantelesnu cirkulaciju se nalaze još četiri rolera. Dva mala rolera predstavljaju rolere pomoću kojih se ordinira tzv. krvna kardioplegija. Druga dva rolera predstavljaju tzv. sukzione pumpe, koje uklanjaju krv i kardioplegični rastvor iz operativnog polja, da bi kardiohirurg radio na potpuno beskrvnom operativnom polju. Ova dva rolera pokreću dve roler pumpe, od kojih je jedan za tzv. vent ili dekompresiju levog srca.

Kao što roler pumpe zamenjuje srce kao prirodnu pumpu, tako oksigenator menja pluća tokom operacije srca. Oksigenator treba da obezbedi nezavisnu kontrolu procesa ventilacije i oksigenacije, uz minimalnu traumu krvnih elemenata. U savremenoj kardiohirurgiji koriste se tzv. membranski oksigenatori. Kod membranskih oksigenatora se gasna razmena vrši po sistemu difuzije CO_2 i O_2 kroz membranu. Difuzija gasova se odvija tako što sa jedne strane membrane protiče krv, a sa druge strane membrane prolazi komprimovani vazduh iz mešača gasova obogaćen adekvatnim procentom kiseonika. Membrana oksigenatora može biti od različitih materijala (polipropilenska, teflonska, silikonska). Da bi se povećala kontaktna površina i skratila difuziona distanca, membrana je

napravljena tako da se savija i nabira. Danas je u upotrebi najsavremeniji model membrane oksigenatora u vidu poroznih kapilarnih cevčica („hollow-fiber” oksigenatori). Mala površina membrane (do 4 m²) u odnosu na aleveolarnu površinu pluća (više od 100 m²) nadoknađuje se povećanjem procenta kiseonika u smeši gasova (FiO₂) jednostavnim povećanjem ventilaciono-perfuzionog odnosa, produženjem tranzitornog vremena eritrocita i obrnutim smerom kretanja gasa u odnosu na struju krvi. Osnovne prednosti membranskih oksigenatora su niži traumatizam krvnih elemenata i nezavisna kontrola ventilacije i oksigenacije.

Kanulacijom aorte se obezbeđuje arterijska linija, dok se kanulacijom desne pretkomore srca obezbeđuje venska, drenažna linija. Kanile se spajaju sistemom creva za pumpu za vantelesnu cirkulaciju, čime se omogućava da venska krv preko venske kanile slobodnim padom pod uticajem sile Zemljine teže dođe venskog rezervoara. U venskom rezervoaru uvek mora biti dovoljna količina krvi da bi se obezbedio bezbedan nivo volumena krvi u oksigenatoru, da ne bi došlo do „upumpavanja” vazduha u oksigenator i mogućnosti nastanka masivne vazdušne embolije mozga i drugih vitalnih organa. Ovaj nivo krvi u venskom rezervoaru se kontroliše pomoću tzv. „level senzora”. Iz venskog rezervoara krv preko glavnog rolera arterijske pumpe odlazi u oksigenator, gde se vrši razmena gasova. Nakon oksigenacije krvi, krv ide u izmenjivač toplote. Tu se krvi hladi ili greje, u zavisnosti od dela operacije i potreba, te se na taj način se čitav organizam hladi ili greje. Iz izmenjivača toplote krv nastavlja put kroz arterijski filter do arterijske linije i kanile i odatle u celu sistemsku cirkulaciju organizma.

Na ovaj način se „zaobilazi” ili „premošćuje” srčana i plućna cirkulacija. Otuda je anglosaksonski naziv za ovu pumpu cardiopulmonary bypass (CPB), tj. pumpa kojom se premošćuje srčana i plućna cirkulacija, da bi kardiohirurg radio na potpuno beskrvnom i mirnom operativnom polju.

Tokom trajanja operacije i upotrebe pumpe za vantelesnu cirkulaciju nema tzv. pulzatilnog protoka krvi, već pumpa obezbeđuje kontinuirani, laminarni, nepulzatilni protok krvi. Svakako da ovakav protok nije fiziološki protok krvi. U današnje vreme se radi

na tome, da se tokom trajanja operacije obezbedi tzv. pulzatilni protok krvi. Veliki broj studija se bavi dokazivanjem prednosti pulzatilnog u odnosu na nepulzatilni protok krvi.

Osnovna prednost pumpe za vantelesnu cirkulaciju je obezbeđivanje sistemske perfuzije celog organizma tokom zastoja srca i pluća. Upotreba pumpe za vantelesnu cirkulaciju ima brojne prednosti koje se, pre svega, odnose na bezbedan i komforan rad za kardiohirurga, na mirnom i potpuno beskrvnom operativnom polju. Pored brojnih prednosti pumpe za CPB, ona ima i svoje nedostatke. Osnovni nedostaci se odnose na protok i kontakt krvi kroz sistem neendotelizovanih silikonskih creva, nepulzatilni (laminarni) protok, kao i prolazak krvi kroz sistem rolera. Gore navedeno predstavlja „okidač“ za pokretanje oksidativnog stresa, kao inflamatorne i koagulacione kaskade. Ova reakcija inicira stvaranje, otpuštanje i reperfuziju vazoaktivnih i citotoksičnih supstanci, koja može pogoditi sve organe i tkiva unutar organizma.

Uprkos napretku razvoja perfuzionih, anestezioloških i hirurških tehnika, ovaj period u toku konvencionalne revaskularizacije miokarda uz pomoć pumpe za CPB, zbog nefiziološkog protoka krvi, i dalje ostaje najveći uzročnik proceduralnog mortaliteta i morbiditeta. Ovo naročito može biti potencirano kod bolesnika sa visoko izraženim komorbiditetom, tj. visokim EuroSCORE-om. Međutim, u najvećem broju slučajeva, biološki mehanizmi autoregulacije i sistemi antioksidativne zaštite dovode do toga da se štetni efekti pumpe za CPB značajno ne održavaju na kliničko stanje bolesnika.

1.3. Oksidativni stres

Oksidativni stres predstavlja stanje u kome postoji neravnoteža između stvaranja slobodnih radikala i njihovog neutralisanja od strane antioksidativne zaštite organizma. U fiziološkim uslovima u organizmu postoji ravnoteža između stvaranja prooksidanasa, tj. slobodnih radikala i antioksidanasa³⁷. Oksidativni stres je stanje u kome je ravnoteža između prooksidanasa i antioksidanasa pomeren u pravcu prooksidanasa³⁸, sa posledičnim oksidativnim oštećenjem esencijalnih ćelijskih biomolekula³⁹. Po novoj definiciji, oksidativni stres predstavlja poremećaj redoks zavisnih signalnih puteva i procesa koje oni kontrolišu⁴⁰.

1.3.1. Slobodni radikali

Slobodni radikali su molekuli ili delovi molekula koje imaju jedan ili više nesparenih elektrona u poslednjoj orbitali. Slobodni radikali imaju nespareni elektron u spoljašnjoj orbitali, što ih čini visoko reaktivnim elektrofilnim vrstama, koje se mogu povezivati sa gotovo svim atomima³⁷. Štetno delovanje slobodnih radikala potiče iz potrebe da postignu elektronsku stabilnost i zato reaguju sa prvim susednim stabilnim molekulom uzimajući njegov elektron i započinjući na taj način lančanu reakciju koja dovodi do biohemijskih, strukturalnih, funkcionalnih promena biomolekula⁴¹. Najveći značaj imaju reaktivne vrste kiseonika (kiseonični slobodni radikali, KSR). Klasifikacija i trajanje poluživota slobodnih radikala prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Klasifikacija i trajanje poluživota slobodnih radikala

SLOBODNI RADIKAL	OZNAKA	POLUŽIVOT
Reaktivna kiseonikova jedinjenja	ROS	
Superoksidani anjon	O_2^{\bullet}	10^{-5} sek
Singletni kiseonik	1O_2	1 μ sek
Ozon	O_3	Stabilan
Hidroksil radikal	HO^{\bullet}	10^{-6} sek
Vodonik peroksid	H_2O_2	Stabilan
Hipohlorna kiselina	$HOCl$	Stabilna
Alkoksi radikal	RO^{\bullet}	10^{-6} sek
Peroksi radikal	ROO^{\bullet}	7 sek
Hidroperoksi radikal	$ROOH^{\bullet}$	-
Slobodni radikali azota	RNS	
Azotmonoksid radikal	NO^{\bullet}	-
Azotdioksid radikal	NO_2^{\bullet}	1-10 sek
Peroksinitrit	$ONOO^{\bullet}$	0.005 sek
Slobodni radikali sumpora	RSS	
Tili radikal	RS	

1.3.1.1. Vrste slobodnih radikala i njihove osobine

Kiseonična reaktivna jedinjenja. Kiseonik je neophodan za život aerobnih organizama, a sastavni deo aerobnog metabolizma čini i stvaranje slobodnih radikala. U fiziološkim uslovima, kiseonični slobodni radikali nastaju kod svih ćelija koje dišu. U najreaktivnije, od svih kiseoničnih radikala, spadaju hidroksil radikal i superoksidni anjon⁴². Vodonik peroksid nije po svojoj strukturi slobodni radikal, ali zbog svoje izrazite sposobnosti da doprinosi stvaranju reaktivnih kiseoničnih radikala, takođe je svrstan u ovu grupu. U leukocitima, enzim mijeloperoksidaza prevodi H₂O₂ u hipohlornu kiselinu i na taj način uništava mikroorganizme⁴³. Kiseonični slobodni radikali i njihove osobine prikazani su u Tabeli 2.

Reaktivna jedinjenja azota. Azot-monoksid (NO) je jedinjenje koje ima značajnu regulatornu funkciju u mnogim fiziološkim funkcijama i njegova aktivnost zavisi od redoks forme. Jedan od najagresivnijih predstavnika azotnih slobodnih radikala je peroksinitrit, koji dovodi do lipidne peroksidacije i oštećenja membrane. Peroksinitrit nastaje reakcijom azotmonoksidnog radikala i superoksidnog anjona. Tako nastaje izuzetno reaktivan slobodni radikal koji doprinosi i smanjenju bioaktivnosti NO, sintetisanog od strane endotelnih ćelija, važnog dilatatora krvnih sudova i inhibitora agregacije trombocita^{44,45}.

1.3.1.2. Fiziološka uloga slobodnih radikala

Delovanje slobodnih radikala nije uvek štetno po zdravlje, jer oni imaju svoju odbrambenu kao i regulacionu ulogu u organizmu. Pored toga što se javljaju kao produkti normalnih ćelijskih oksidativnih procesa, slobodni radikali učestvuju u neutralizaciji mikroorganizama i u ćelijskoj signalizaciji (npr. regulacija krvnog pritiska pomoću NO•)⁴⁶. Ispitivanja su pokazala da kiseonični radikali doprinose aktivaciji pojedinih enzima koji učestvuju u procesu detoksikacije lekova i ubrzavanju mobilizacije glikogena⁴⁷. Pozitivnim efektom se može smatrati i glasnička uloga reaktivnih kiseoničnih supstanci, jer doprinosi adaptaciji i poboljšanju antioksidantnog sistema odbrane⁴⁸.

Tabela 2. Kiseonični slobodni radikali i njihove osobine

KISEONIČNI SLOBODNI RADIKALI	OSOBINE
Superoksid anjon O_2^{\bullet}	Vrlo je reaktivan, ne difunduje daleko od mesta nastanka jer je slabo rastvorljiv u mastima. Stvara moćne oksidanse - vodonik peroksid, hidroksil radikal i peroksinitrit
Vodonik peroksid H_2O_2	Nepolaran molekul, lako difunduje kroz ćelijske membrane. Nije slobodan radikal, ali ih stvara u reakciji sa metalima promenljive valence. Iz njega mogu nastati hidroksilni radikal i hipohlorna kiselina
Hidroksil radikal OH^{\bullet}	Najmoćniji i najreaktivniji radikal, koji je produkt nepotpune redukcije O_2 primanjem tri elektrona. Toksični efekti se stvaraju na mestu njegove produkcije. Nastaje u Fentonovoj reakciji u prisustvu Fe^{2+} i započinje lančanu reakciju u kojoj nastaju lipidni peroksidi i organski radikali.
Hidroperoksil radikal HO_2	Protonizovana forma superoksidnog radikala
Peroksil radikal $RCOO^{\bullet}$	Nastaje u toku lipidne peroksidacije
Organski radikali RO^{\bullet} , R^{\bullet} , $R-S^{\bullet}$	Nastaju kada hidroksilni radikal napadne organska jedinjenja
Hipohlorna kiselina $HOCl$	Nastaje u fagocitima tokom „oksidativnog praska”
Azot oksid NO^{\bullet}	Istovremeno esencijalan i toksičan, nastaje iz arginina pod dejstvom azot-oksida sintaze. On je hormon sa vazodilatatornim efektom, a u većim koncentracijama gradi azotne radikale. U reakciji sa superoksidnim anjonom gradi peroksinitrit $O_2^{\bullet} + NO^{\bullet} \rightarrow ONOO^{\bullet}$
Peroksinitrit $ONOO^{\bullet}$	Ukoliko veže proton, dobija svojstva slična peroksil radikalima. Oštećuje DNK, izaziva peroksidaciju lipida, oksidaciju tiolnih grupa proteina, hidroksilaciju i nitraciju aromatičnih aminokiselina. Ima citostatska, citotoksična i inflamatorna dejstva.
Protonisani peroksinitrit $ONOOH$	

1.3.1.3. Štetne posledice delovanja slobodnih radikala

Negativni efekti delovanja slobodnih radikala ispoljavaju se na različitim biomolekulama (lipidima, proteinima i DNK molekulama), a posledica njihove interakcije je povećana propustljivost ćelijske membrane, ubrzan katabolizam proteina i genske mutacije. Metode za određivanje nivoa oksidativnog stresa uglavnom su zasnovane na merenju oštećenja koja su slobodni radikali izazvali na lipidima, DNK molekulama i proteinima, kao i na merenju aktivnosti antioksidantnih enzima.

Prema tipu molekula koji se oštećuju delovanjem slobodnih radikala definisane su tri osnovne reakcije koje dovode strukturnih i funkcionalnih promena u ćelijama: lipidna peroksidacija, oksidacija proteina i oksidativna modifikacija DNK.

1.3.2. Markeri oksidativnog stresa

Većina slobodnih radikala su visoko reaktivne vrste i imaju izuzetno kratak poluživot (svega nekoliko sekundi). Nasuprot tome, poluživot lipida, proteina, ugljenih hidrata i nukleinskih kiselina, nakon dejstva slobodnih radikala, traje od nekoliko sati do nekoliko nedelja, što ih čini stabilnijim markerima oksidativnog stresa. Indirektno merenje oksidativnog stresa podrazumeva merenje stabilnijih molekulskih produkata koji nastaju reakcijom oksidacije između slobodnih radikala i određenih biološki važnih makromolekula - lipida, proteina i DNK⁴⁹.

1.3.2.1. Lipidna peroksidacija

Lipidna peroksidacija je važan faktor u nastajanju ateroskleroze jer slobodni radikali iniciraju oksidaciju LDL holesterola. Stepenn lipidne peroksidacije u mnogome zavisi od stepena antioksidantne zaštite kojom raspolaže organizam u momentu kada se stvaranje slobodnih radikala poveća usled hirurške traume.

Proces lipidne peroksidacije započinje reakcijom hidroksil radikala i dvogube veze u molekuli lipida i ovaj događaj se naziva inicijacija. U tom trenutku molekul lipida sam postaje radikal i u prisustvu kiseonika prevodi se peroksidiradikal koji je izuzetno reaktivan i kao takav reaguje sa najbližim, susednim lipidnim molekulom pri čemu susedna molekula postaje radikal a peroksidiradikal se prevodi u lipidni hidroperoksid. Ovaj deo lipidne peroksidacije se naziva propagacija i objašnjava način na koji se pokreće lančana reakcija lipidne peroksidacije. Isto tako, krajnji produkt ove reakcije su lipidni hidroperoksidi koji predstavljaju meru oksidativnog oštećenja. Ipak, oksidacija polizasićenih masnih kiselina koje se nalaze u sastavu ćelijske membrane dejstvom slobodnih radikala inicira jedan lančani proces koji uzrokuje stvaranje lipidnih peroksida i hidroperoksida a zatim i nastajanje konjugovanih diena i malondialdehida (MDA).

Lipidna peroksidacija menja fluiditet i permeabilnost ćelijske membrane što rezultira poremećajem u transportu elektrolita, sadržaju proteina i promenjenom funkcionisanju organela.

1.3.2.2. Oksidacija proteina

Oksidacija proteina se, uglavnom, javlja kao posledica nekog inflamatornog procesa, ishemije i reperfuzije tkiva⁵⁰. Slobodni radikali imaju potencijal da oksiduju proteine plazme i strukturne proteine, kao i da oksidacijom izazovu inhibiciju enzima. Tokom oksidacije proteini mogu da pretrpe značajne strukturne i funkcionalne promene, a laboratorijska potvrda ovog procesa je povećan nivo karbonilnih grupa i produkata uznapredovale oksidacije proteina [Advanced Oxidation Protein Products (AOPP)]^{51,52}. Oksidovani proteini bi trebalo da se katabolišu da bi se ponovo uspostavila sekvenca aminokiselina, ali karbonil metaboliti ne mogu ući u ovaj proces. Stoga se proteoliza blokira i dolazi do akumulacije oksidovanih proteinskih produkata.

1.3.2.3. Oksidacija DNK

Sistem koji služi za reparaciju DNK je veoma efikasan, ali u situaciji povećanog generisanja slobodnih radikala kapaciteti ovog sistema mogu biti premašeni. U tom slučaju,

oksidativna oštećenja na DNK molekulama mogu da rezultiraju mutacijama koje su glavni uzrok maligniteta i starenja ćelija⁵³. Razni vidovi trauma mogu da izazovu ovakvu vrstu oksidativnog oštećenja, ali je kao uzrok za nastajanje malignih bolesti daleko manje štetno od pušenja, hroničnih bolesti i zagađenosti vazduha.

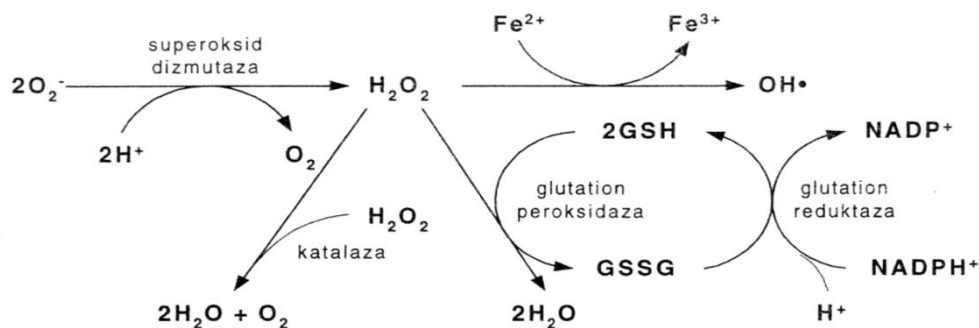
1.4. Antioksidativna zaštita

Efikasnost antioksidativne zaštite je od velikog značaja tokom operativnih zahvata, obzirom na efekat koji sama hirurška trauma ima na stvaranje slobodnih radikala. Uloga antioksidativnog sistema je da štiti organizam od oksidativnog stresa tako što će sprečiti nastanak slobodnih radikala ili ih neutralisati, ukoliko su već nastali. Sistem antioksidativne zaštite se može podeliti na dve celine: 1) enzimski antioksidativni sistem, koga čine superoksid dismutaza, katalaza, paraoksonaza i glutacion peroksidaza; i 2) ne-enzimski antioksidativni sistem, koji podrazumeva učešće supstanci kao što su vitamin C, vitamin E, retinol, bilirubin, mokraćna kiselina, redukovani glutacion, kao i transportni proteini i proteini za deponovanje Fe^{2+} i Cu^{2+} (transferin i feritin) koji vezuju potencijalno opasne metalne jone i na taj način onemogućavaju njihovo učešće u produkciji slobodnih radikala.

1.4.1. Enzimski antioksidativni sistem

1.4.1.1. Antioksidativni enzimi

Antioksidativni enzimi su verovatno evolucijski odgovor na život u aerobnim uslovima i stvaranje slobodnih radikala tokom metaboličkih procesa. Enzimski antioksidativna zaštita prvenstveno je potrebna i locirana na mestu na kom nastaje najviše slobodnih radikala-u mitohondrijama, ali ima je u citosolu i u ekstracelularnom prostoru. Glavni antioksidativni enzimi uključuju superoksid-dismutazu, glutacion-peroksidazu i katalazu. Enzimski antioksidativni sistem je prikazan na Slici 3.



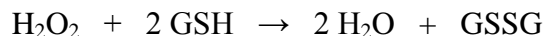
Slika 3. Enzimski antioksidantni sistem

Superoksid dismutaza (SOD) je enzim koji katalizuje transformaciju superoksid anjon radikala do H_2O_2 i kiseonika i predstavlja prvu liniju odbrane protiv slobodnih radikala.



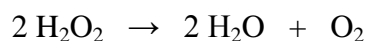
Neutralizaciju nastalog H_2O_2 dalje vrše glutation peroksidaza ili katalaza. Superoksid dismutaza se javlja u tri oblika: Cu-Zn-SOD, koji se nalazi u citosolu ćelija, Mn-SOD koja je lokalizovana u mitohondrijama i EC-SOD koja deluje u ekstracelularnom prostoru. U somatskim ćelijama, prilikom mirovanja, najveću količinu superoksidnog anjona nastalog u procesu ćelijskog disanja, neutrališe mitohondrijalna SOD, dok neznatna količina superoksidnog anjona difunduje u citosol⁵⁴. Primera radi, u mišićnim ćelijama najveći deo neutralisanja superoksidnog anjona dešava u se citosolu (65-85%)⁵⁵.

Glutation peroksidaza (GPX) je enzim lokalizovan u citosolu i mitohondrijama gde ima ulogu da štiti fosfolipide i sfingolipide membrana od oksidativnog oštećenja tako što redukuje H_2O_2 i hidroperokside masnih kiselina.



Tokom ove reakcije troše se rezerve glutaciona u ćeliji. Glutation reduktaza ima ulogu u održavanju rezervi redukovanog glutaciona u ćeliji, koristeći NADPH iz pentoza-fosfatnog puta. Čak i kada su prisutne velike količine H₂O₂, ovaj enzim je veoma efikasan u održavanju ćelijskih rezervi glutaciona⁵⁶.

Katalaza je enzim koji razgrađuje H₂O₂ koji je nastao prilikom dismutacije O₂•- ili u reakcijama koje katalizuje ksantin oksidaza.



Katalaza razlaže H₂O₂ do vode i kiseonika, za razliku od peroksidaza koje neutrališu H₂O₂ tako što pomoću njega oksiduju drugi supstrat. Katalaza je intercelularni enzim koji se nalazi u peroksizomima, osim kod eritrocita gde se nalazi u citosolu⁵⁶.

Humana serumna paraoksonaza 1 (PON1) je enzim koji se sintetise u jetri i koji je udružen sa HDL česticama velike gustine⁵⁷. Fiziološki supstrat PON1 još uvek nije poznat ali ovaj enzim ispoljava nekoliko vrsta aktivnosti, pa u zavisnosti od supstrata može delovati kao paraoksonaza, diazoksonaza ili arilesteraza. Gen za PON1 se nalazi na hromozomu 7 i odgovoran je za sintezu proteina izgrađenog od 354 aminokiseline molekulske mase od 43 kDa. U humanoj populaciji PON1 ima nekoliko genotipova, od kojih zavisi specifičnost prema supstratu. PON1 sa glutaminom na položaju 192 (Q) ima nisku aktivnost prema paraoksonu. Ukoliko je na tom mestu arginin (R) aktivnost prema paraoksonu biće visoka^{58,59,60}. Veliki broj studija je pokazao da PON1 ima značajnu ulogu u zaštiti LDL čestica male gustine od oksidativne modifikacije, a samim tim i u sprečavanju nastajanja ateroskleroze^{61,62,63}.

1.4.2. Ne-enzimski antioksidativni sistem

1.4.2.1. Proteinski antioksidansi

U proteinske visokomolekularne antioksidanse ubrajamo proteine koji imaju sposobnost da spreče stvaranje slobodnih radikala tako što vezuju slobodne jone metala (najčešće gvožđa i bakra) radi skladištenja ili transporta. Ovi antioksidansi se uglavnom

nalaze ekstracelularno, u plazmi, i čine značajan deo antioksidantne zaštite budući da su antioksidativni enzimi uglavnom smešteni u ćelijama.

Transferin. Sinteza transferina se obavlja u jetri, a stimulišu je niska koncentracija serumskog gvožđa, estrogini i kortikosteroidi. Transferin je monomerni glikoprotein koji transportuje gvožđe kroz cirkulaciju do ciljnih ćelija. Pri fiziološkom pH=7.4, molekul transferina vezuje dva jona Fe³⁺. U uslovima pada pH vrednosti krvi ili ekstracelularnoj tečnosti dolazi do oslobađanja jona gvožđa iz transferina, što omogućava započinjanje reakcija koje dovode do lipidne peroksidacije⁶⁴.

Feritin predstavlja glavni depo gvožđa u organizmu i predstavlja kompleks proteina apofertina i trovalentnog gvožđa. Apofertin je sferičnog oblika, sastavljen od 24 subjedinice, sa unutrašnjom šupljinom u koju dvovalentno gvožđe dospeva kroz pore na površini molekule. U apofertinu se gvožđe oksiduje u feri-oksid, koji obrazuje kristalno jezgro. Subjedinice koje čine feritin mogu biti teške, više kisele (H) i lake, više bazne (L) i u zavisnosti od odnosa H i L subjedinica postoje kiseli i bazni feritini⁶⁵. Feritin je zastupljen u svim ćelijama i u zavisnosti od potreba organizma može brzo da veže ili oslobodi gvožđe, zahvaljujući brzim reakcijama oksidacije ili redukcije. Ćelije oslobađaju malu količinu feritina u sistemsku cirkulaciju i koncentracija feritina u serumu je direktno proporcionalna sadržaju u ćelijama. Obzirom da tranzicioni metali potencijalno mogu da započnu lipidnu peroksidaciju, deponovanje gvožđa od strane feritina leži u osnovi njegove antioksidantne uloge^{66,67}.

1.4.2.2. Antioksidansi male molekulske mase

Antioksidansi male molekulske mase su supstance koje mogu biti locirane na membranama (Vitamin E, β-karoten i Koenzim Q10), u ćeliji (glutation) ili u plazmi (mokraćna kiselina, bilirubin) i čija je uloga da spreče oksidaciju biomolekula.

Glutation (GSH) se nalazi citoplazmi, jedru i mitohondrijama i predstavlja glavni endogeni antioksidans u ćelijama. Po strukturi je tripeptid (L-γ-glutamil-L-cisteinil-glicin) i u biološkim sistemima reaguje sa H₂O₂ ili sa lipidnim hidroperoksidima u prisustvu enzima

glutation peroksidaze pri čemu nastaje oksidovana forma glutaciona (GSSG)⁶⁸. U cilju održavanja visoke intracelularne koncentracije ovog antioksidansa, glutation se pomoću enzima glutation-reduktaze a u prisustvu NADPH, prevodi u svoju redukovanu formu.

Vitamin E (tokoferol) je liposolubilni antioksidans koji se iz hrane apsorbuje se u tankom crevu, akumulira se u jetri i u masnim ćelijama, a nalazi se i u lipoproteinskim česticama. Liposolubilnost i molekularna struktura vitamina E omogućavaju mu da svoje antioksidantno delovanje ispoljava u ćelijskim i mitohondrijalnim membranama i da sprečava lipidnu peroksidaciju⁶⁹. Interakcija vitamina E sa drugim antioksidansima, kao što su vitamin C, glutation i lipoinjska kiselina, omogućuje adekvatnu regeneraciju njegove oksidovane forme i pojačava antioksidantno delovanje.

Vitamin C (askorbinska kiselina) je hidrosolubilni vitamin koji doprinosi održavanju i reparaciji vezivnog i epitelnog tkiva kao i zaštiti arterija od oksidativnog oštećenja. Vitamin C može pružiti znatnu zaštitu od oksidativnog oštećenja, mada se pri visokim koncentracijama ovaj vitamin u prisustvu jona prelaznih metala (Fe^{3+} , Cu^{2+}) može ponašati i kao prooksidans. Sprečavanje peroksidacije lipida koju izazivaju hidroksilni radikali i neutralisanje inflamatornih faktora oksidativnog stresa predstavljaju dva najvažnija antioksidativna dejstva vitamina C⁷⁰. Takođe, vitamin C ima sposobnost da regeneriše tj. redukuje oksidovane forme glutaciona, vitamina E i β -karotena.

Koenzim Q10 je jedinjenje iz grupe ubihinona i predstavlja značajan antioksidans koji deluje dvostruko antioksidativno: direktno i preko regeneracije vitamina C i E^{71,72}. Antioksidativno delovanje ubihinona je obezbeđeno fenolnom strukturom. Koenzim Q10 je ključna karika u okviru mitohondrijalnog respiratornog sistema i spada u liposolubilne antioksidanse koji učestvuju u odbrani LDL čestica od lipidne peroksidacije.

α -lipoinjska kiselina je endogeni tiol koji pomaže u obnavljanju vitamina C i E⁶⁸. Lipoinjska kiselina se vrlo često uzima kao dodatak ishrani, a njena redukcija do dihidrolipoinjske kiseline (DHLLA) omogućava snažno antioksidantno dejstvo na većinu kiseoničnih radikala.

β-karoten zajedno sa vitaminom A pokazuje imunostimulatorna svojstva, antimutagenu i antioksidativnu aktivnost⁷³. β-karoten predstavlja prekursor vitamina A. Fiziološke uloge vitamina A su učestvovanje u optičkoj transmisiji, procesima reprodukcije i rasta. β-Karoten je liposolubilni antioksidant, smešten je u ćelijskim membranama i može da neutrališe i superoksidne i peroksidne radikale⁵⁵.

Mokraćna kiselina predstavlja važan fiziološki antioksidans u ukupnom antioksidativnom kapacitetu krvne plazme. Antioksidativna svojstva mokraćne kiseline ispoljavaju se na dva načina: direktno redukuje hidroksilni anjon, peroksil radikale i ostale slobodno-radikalske intermedijere i vezuje tranzicione metale koji mogu inicirati lipidnu peroksidaciju^{74,75,76}. Mokraćna kiselina može da difunduje u ćelije, tako da svoje antioksidantno delovanje može da ispolji i intracelularno.

Bilirubin. Antioksidativno dejstvo bilirubina se zasniva na sposobnosti da otpusti dva vodonikova atoma koja će redukovati peroksi radikal u molekul masne kiseline. U fiziološkim uslovima, bilirubin je sposoban da redukuje tokoferole i uspori lipidnu peroksidaciju, i tako doprinese ukupnoj ne-enzimskoj antioksidativnoj zaštiti⁷⁷.

1.5. Sistemski inflamatorni odgovor i oksidativni stres kao odgovor na upotrebu pumpe za vantelesnu cirkulaciju (CPB)

1.5.1. Sistemski inflamatorni odgovor i pumpa za CPB

Hirurška revaskularizacija miokarda kao vid akcidentalne traume, predstavlja okidač za akutni sistemski inflamatorni odgovor i oksidativni stres. Međutim, permanetna izloženost ćelija krvi površini silikonskih creva i njihova reinfuzija i recirkulacija u sistemsku cirkulaciju značajno povećava ovaj inflamatorni odgovor. Sistemski inflamatorni odgovor na CPB započinje kontaktom između heparinizirane krvi i neendotelizirane površine silikonskih creva^{78,79,80}. Svi glavni ćelijski elementi krvi su uključeni u ovu akutnu inflamatornu reakciju⁸¹ (neutrofili, eozinofili, basofili, mast ćelije, monociti, makrofagi, endotelne ćelije, trombociti). Ovo ima za posledicu aktivaciju sistema komplemenata i oslobađanje anafilatoksina (C3a,C4a,C5a), otpuštanje medijatora inflamatornog odgovora i

proinflammatornih citokina (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8)^{82,83,84}, kao i moćnih citotoksičnih enzima^{85,86} u cirkulaciju i ekstraćelijski prostor^{87,88}. Ove vazoaktivne i citotoksične supstance utiču na ćelije glatke muskulature, povećavaju permeabilnost ćelijske membrane i vaskularnog korita⁸⁹, te mogu dovesti do ozbiljnih oštećenja tkiva i organa.

1.5.2. Oksidativni stres i pumpa za CPB

Kao što je već gore navedeno, oksidativni stres predstavlja poremećaj ravnoteže oksidoredukcionih procesa u organizmu koji nastaje zbog prekomernog stvaranja slobodnih kiseonikovih radikala, koje ćelijski homeostatski mehanizmi nisu u stanju da neutrališu. To znači da postoji neravnoteža između stvaranja slobodnih radikala i njihovog neutralisanja od strane antioksidativne zaštite organizma.

Slobodni radikali su atomi, molekuli ili joni koji sadrže bar jedan nesparen elektron u spoljašnjem elektronskom omotaču. Ove molekule imaju veliki stepen reaktivnosti zbog tendencije sparivanja elektrona. Štetno delovanje slobodnih radikala potiče iz potrebe da postignu elektronsku stabilnost i zato reaguju sa prvim susednim stabilnim molekulom uzimajući njegov elektron i stvarajući novi radikal. Tako susedna molekula postaje i sama nestabilna i dalje ulazi u reakcije sa drugim molekulima iz okruženja. Na taj način započinje lančana reakcija koja dovodi do biohemijskih, strukturnih, funkcionalnih promena biomolekula.

Tokom trajanja CPB, neutrofil, monociti i makrofage proizvode slobodne radikale koji imaju citotoksična svojstva unutar fagozoma, ali se izvan fagozoma ponašaju kao medijatori u procesu inflamacije. Slobodni radikali imaju jedan ili više nesparenih elektrona koji su vrlo reaktivni i stalno su u potrazi za jonima vodonika u drugim molekulima ne bi li se redukovali i dostigli stabilnu elektronsku konfiguraciju. Četiri enzima učestvuju u stvaranju slobodnih radikala: NADPH (nikotinamid adenin dinukleotid fosfat) oksidaza, superoksid dismutaza, azot-oksida (NO) sintaza i mijeloperoksidaza⁹⁰. Enzim NADPH oksidaza dodaje slobodni elektron molekularnom kiseoniku i stvara super-oksida anjon ($O_2^{\bullet-}$) i dva H^+ jona. Nastali superoksida anjon ($O_2^{\bullet-}$), superoksid-dismutaza konvertuje u vodonik peroksid (H_2O_2) i molekularni kiseonik (O_2). Vodonik peroksid (H_2O_2) sam po

sebi nije slobodni radikal, ali u reakciji sa tranzicionim metalima ili nezasićenim vezama može da ima svojstva oksidansa. Nitrit-oksida sintaza stvara NO iz NADPH, arginina i kiseonika, dok mijeloperoksidaza koristi H₂O₂ za oksidaciju halidnog jona do hipohlorne kiseline⁴³. Ova četiri jedinjenja nastala reakcijom ovih enzima (O₂•⁻, H₂O₂, NO, i hipohloriti) učestvuju u stvaranju svih neenzimski nastalih slobodnih radikala u organizmu⁴³.

Potencijalno štetna dejstva pumpe za vantelesnu cirkulaciju i njen mogući štetni uticaj na udaljena tkiva i organe, doveli su do usavršavanja i uvođenja operativnih tehnika i uređaja, koji su kardiohirurzima omogućili da hiruršku revaskularizaciju miokarda mogu bezbedno uraditi na kucajućem srcu.

1.6. Hirurška revaskularizacija miokarda na kucajućem srcu

S obzirom na sve veći broj bolesnika sa ozbiljnim komorbiditetom, kao i pomeranja starosne granice za operacije na koronarnim arterijama, pojavila se potreba za razvojem manje invazivnih hirurških procedura. Tokom poslednje decenije XX veka, uvođenje u kliničku praksu koncepta hirurške revaskularizacije miokarda na kucajućem srcu, omogućilo je tretman i najtežih bolesnika sa zadovoljavajućim rezultatima.

Kritičan momenat u uspešnoj hirurškoj revaskularizaciji miokarda je konstruisanje distalne anastomoze, tj. anastomoze na koronarnoj arteriji. Tokom formiranja anastomoze na ciljnoj koronarnoj arteriji, u hirurgiji na kucajućem srcu, neophodno je ispunjavanje sledećih uslova:

1. stabilne hemodinamske performanse tokom hirurškog rada
2. adekvatna ekspozicija regiona srca na kome se nalazi ciljna koronarna arterija
3. optimalna stabilizacija regiona srca na kome će se kreirati anastomoza
4. adekvatna ekspozicija arteriotomije i beskrvno operativno polje, bez izazivanja regionalne ishemije miokarda.

Tek ispunjavanjem svih navedenih uslova, moguće je ispunjavanje osnovnog cilja-OPCAB hirurgije, tj. kompletne revaskularizacije miokarda na kucajućem srcu, bez upotrebe pumpe za vantelesnu cirkulaciju (CPB).

1.6.1. Koncepti ekspozicije srca i ciljne koronarne arterije

Aдекватna ekspozicija ciljne koronarne arterije je prvi i najbitniji korak da bi totalna revaskularizacija miokarda na kucajućem srcu bila uspešna. Ukoliko je ciljna koronarna arterija teška za ekspoziciju i potpunu vizuelizaciju, revaskularizacija miokarda na kucajućem srcu (OPCAB) mora biti konvertovana u revaskularizaciju miokarda uz pomoć pumpe za vantelesnu cirkulaciju (CPB) uz ordiniranje rastvora kardioplegije i zaustavljanja srca. Ukoliko se kardiohirug ne odluči za konverziju operacije, a ciljna arterija je nemoguća za adekvatnu ekspoziciju, od bajpasa na ciljnu arteriju se najčešće mora odustati, što neminovno vodi u nepotpunu revaskularizaciju miokarda.

Hirurški pristup za kompletnu revaskularizaciju na kucajućem srcu je totalna medijalna sternotomija. Kada se srce nalazi u normalnoj anatomskej poziciji, grane arterije cirkumflekse (ACx), kao što su obtuzne marginalne grane (OM) ili posterolateralna grana (PL), su pozicionirane na zadnjoj strani srca. Zadnja interventrikularna grana (PD) desne koronarne arterije (RCA) naleže u potpunosti na dijafragmu, dok se prednja descendentna arterija (LAD) i prva dijagonalna arterija (D1) anatomskej nalaze u blizini levog plućnog krila. Očigledno je da se ovim ciljnim arterijama ne može pristupiti u normalnoj anatomskej poziciji. Samo se glavnom stablu desne koronarne arterije (RCA) može pristupiti u anatomskej poziciji.

Najlakša je ekspozicija prednjeg zida srca i LAD, kao i desne koronarne arterije (RCA). Za adekvatnu ekspoziciju lateralnog, posteriornog i donjeg zida srca, danas su u upotrebi tri metode pomeranja i dislociranja srca, kao i metode adekvatnog pozicioniranja bolesnika radi održavanja hemodinamske stabilnosti.

1.6.1.1. Upotreba multiplih perikardnih šavova-Limini šavovi

Pre nego što su uvedeni u upotrebu uređaji za stabilizaciju i pozicioniranje srca, brazilski kardiohirurg Ricardo de Carvalho Lima uveo je u upotrebu tzv. duboke perikardne šavove u cilju pomeranja, rotiranja i adekvatnog pozicioniranja srca⁹¹. Upotrebom ove tehnike, srce se može pomeriti postavljanjem tri duboka perikardna šava na zadnji perikard. Prvi duboki perikardni šav se plasira na spoj između perikarda i leve gornje plućne vene, drugi šav se postavlja na spoj između perikarda i leve donje plućne vene, dok se treći šav plasira na središnji deo perikarda na spoju između leve donje plućne vene i donje vene kave (VCI). Trakcijom ovako plasiranih šavova se može postići elevacija i rotacija srca. Isto tako, različitim kombinacijama trakcije perikarda sa tri duboka perikardna šava može se postići adekvatna ekspozicija ciljnih arterija.

1.6.1.2. Upotreba tehnike „jednog šava”

Ovo je modifikacija originalnog Liminog načina ekspozicije srca. Ona podrazumeva kratkotrajnu elevaciju srca levom šakom i plasiranje jednog jakog šava (Ethibond, Ethicon) na kosi sinus zadnjeg perikarda, između desne i leve donje plućne vene. Potom se u šav plasira snažna, široka traka ili razmotana gaza koja se Roummelovim tourniquet-om učvrsti za zadnji perikard. Posebna pažnja treba da bude usmerena da se šav postavi dovoljno plitko, da bi se izbegla povreda jednjaka prilikom plasiranja ovog šava. Ekspozicija ciljnih koronarnih arterija se postiže povlačenjem trake u raznim pravcima, kao i promenom stepena trakcije na krajeve trake. Na taj način je moguće postići elevaciju i lateralno pomeranje srca, koje omogućava kreiranje anastomoza na marginalnim obtuznim granama (OM) arterije cirkumflekse, na zadnjoj descendntnoj (PD) i posterolateralnoj grani desne koronarne arterije (PL). Tom prilikom važno je izbeći trakciju na celu cirkumferencu srca, jer to može dovesti do hemodinamske nestabilnosti usled promene geometrije srčanih šupljina.

Prilikom plasiranja dubokih perikardnih šavova, posebnu pažnju treba obratiti da šavovi ne budu preduboko plasirani. Neoprezno postavljanje dubokih perikardijalnih šavova može da izazove ozbiljna krvarenja iz velikih krvnih sudova zadnjeg

medijastinuma, kao što su plućne vene i descendenta aorta. Takođe, postavljanjem dubokih perikardnih šavova može doći do povreda jednjaka. Zbog toga, tehnika postavljanja ovih šavova mora da bude minuciozna.

1.6.1.3. Upotreba uređaja za pozicioniranje srca

U cilju postizanja neophodne dislokacije srca uz minimalnu deterioraciju komorske funkcije srca proizvedeni su brojni uređaji. Ovi uređaji, najčešće u kombinaciji sa sukcionim i platformskim stabilizatorima, omogućavaju ujedno i pozicioniranje srca i miokardnu stabilizaciju regiona na kome se kreira distalna anastomoza. Sukcioni kateter ovih uređaja omogućava manipulaciju srcem bez kompromitovanja dijastolne relaksacije komora, što omogućava održavanje zadovoljavajućeg hemodinamskog statusa tokom hirurškog rada.

XPOSE™ Access Device (Guidant Corporation Cardiac Surgery Group). Januara 1997. godine je uveden jedan od prvih sistema koji je omogućio komfornu dislokaciju srca i stabilizaciju željenog regiona miokarda (*Access MV OPCAB System™*). Godine 2000. u rutinsku upotrebu je uveden *XPOSE™ Apical Positioning Device*. Trenutno je na raspolaganju četvrta generacija ovih proizvoda (*XPOSE™ 4 Device*). Ovaj uređaj je dizajniran tako da omogućava bezbedno podizanje srca u cilju vizuelizacije ciljnih koronarnih arterija, pogotovo arterija lateralnog i posteriornog zida, bez konsekvenci po hemodinamski status. To se postiže pozicioniranjem kupe na srčani mišić, njenim fiksiranjem sukcionim mehanizmom, i dislociranjem srca u željenom pravcu savijanjem niskoprofilne i veoma pokretljive ručice. Prednost *XPOSE™ 4* sistema je u tome što je dizajniran tako da može podići srce plasiranjem sukcionne kupe i na vrh srca, kao i na druge delove srca (slobodni zid srca, desna komora srca).

Starfish™ Heart Positioner (Starfish™ 2 Heart Positioner, Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA). Ovaj uređaj se sastoji od zglobljene ručice na čijem vrhu se nalazi silikonska kupa sa većim brojem nastavaka, koji se sukcionim mehanizmom fiksiraju za određeni deo srca. Kao i *XPOSE™ 4 Device*, ova vrsta podizača srca se može aplikovati i lateralno od srčanog vrha, što je od značaja za ekspoziciju lateralnog i donjeg zida srca.

The Immobilizer™ Heart Manipulation Device (Genzyme Corporation). Ovaj uređaj ima slične performanse kao i *Starfish™ Heart Positioner*, kojim se lako omogućava dislokacija srca u svim pravcima, bez izazivanja poremećaja hemodinamike.

TENTACLES™ Multi-Suction Cardiac Positioner (Sumitomo Bakelite Co, Ltd, Tokyo, Japan). Ovaj uređaj ima tri zasebne, nezavisne sukcione kupe i ručice, sa tri elastične silikonske trake. Usled negativnog pritiska, sukcione kupe veoma dobro naležu na epikard, čime se one mogu plasirati na bilo koji deo površine srca. Povlačenjem elastičnih traka u bilo koji od tri željena pravca i njihovim fiksiranjem peanima za sterilne komprese, može se postići gotovo idealna stabilizacija srca i ekspozicija ciljne arterije⁹².

Prema iskustvu autora, odlična ekspozicija srca se može postići kombinacijom tehnika jednog šava i stabilizatora srca.

1.6.2. Koncepti stabilizacije miokarda tokom kreiranja distalnih anastomoza

1.6.2.1. Mehanička stabilizacija

Osnovni uslov za kreiranje perfektne distalne anastomoze na kucajućem srcu je adekvatna stabilizacija dela miokarda na kome se nalazi ciljna koronarna arterija. Idealno, uređaj za mehaničku stabilizaciju bi morao imati dovoljno nizak profil koji bi omogućio hirurškom timu nesmetan rad tokom kreiranja anastomoza. Istovremeno, mehanički stabilizator mora obezbediti mirno operativno polje, bez konsekvenci po hemodinamski status. Takođe, mora biti jednostavan za upotrebu, pozicioniranje i uklanjanje po kompletiranju distalne anastomoze. Postoje tri različita koncepta mehaničke stabilizacije:

1. stabilizacija pritiskom
2. stabilizacija sukcionim mehanizmom
3. stabilizacija platformom

1.6.2.1.1. Stabilizacija pritiskom

Ovaj koncept se zasniva na plasiranju specijalno dizajnirane metalne viljuške oblika slova U, tako da se njeni kraci nalaze sa obe strane arteriotomije. Metalna viljuška je pričvršćena za rigidnu ručicu koja je fiksirana za sternalni retractor. Pažljivim podešavanjem pritiska viljuške na miokard postiže se stabilizacija dela arterije na kom se šije anastomoza, bez kompromitacije komorske funkcije i hemodinamskog statusa.

Ovo su bili prvi stabilizatori uvedeni u kliničku praksu. Danas se najčešće koriste u MIDCAB hirurgiji za kreiranje anastomoze na prednjoj descendentnoj arteriji. Osnovne prednosti ovog koncepta su jednostavno rukovanje i minimalan prostor koji stabilizator zauzima, što je od posebnog značaja u minimalno invazivnoj hirurgiji, kao i niska cena uređaja. Nedostatak kod ovih naprava je što se, uglavnom, može koristiti samo za kreiranje anastomoza na prednjoj strani srca, kao i veća mogućnost izazivanja hemodinamske nestabilnosti i ventrikularnih poremećaja ritma, nego u sukcionom konceptu stabilizacije.

1.6.2.1.2. Stabilizacija sukcionim mehanizmom

Lokalna stabilizacija može biti postignuta sukcijom površine dela srca na kome će se kreirati anastomoza. Prvi sukcioni sistem dostupan kardiohirurzima bio je Octopus 1 tkivni stabilizator (Octopus I Tissue Stabilizer-Medtronic). Sastojao se od dve odvojene ručke sa otvorima na donjoj površini pomoću kojih se sila usisavanja prenosila na površinu srca. Danas su u upotrebi savremeniji uređaji četvrte generacije Octopus sistema (Octopus® IV Tissue Stabilizer, Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA). Značajno su manjih dimenzija i jednostavniji za rukovanje. Umesto dve, postoji jedna veoma pokretljiva, zglobljena ručica sa dva sukciona nastavka na vrhu koji se u obliku slova U apliciraju oko mesta arteriotomije.

Acrobat™ V Vacuum Stabilizer System (Guidant Corporation Cardiac Surgery Group), drugi uređaj danas dostupan kardiohirurzima, je veoma sličan po obliku i načinu aplikacije. Prednosti ovakvog načina stabilizacije su jednostavno premeštanje sa jednog na drugi deo površine miokarda. To omogućava preparisanje koronarnih arterija u dužim

segmentima i kreiranje većeg broja distalnih anastomoza na koronarnim arterijama u kratkom vremenskom roku. Uloga sukcionih mehanizama je da, pored imobilizacije površine srca, rotacijom i dislokacijom srca omoguće adekvatnu ekspoziciju koronarnih arterija. U poređenju sa nesukcionim stabilizatorima, gde je pritisak glavni mehanizam imobilizacije površine srca, aplikacija sukcionih uređaja znatno ređe izaziva hemodinamsku nestabilnost i ventrikularne poremećaje ritma.

1.6.2.1.3. Koncept stabilizacije platformom

Stabilizacioni sistem koji čine fleksibilna zglobljena ručica, koja se može fiksirati za bilo koji deo sternalnog retraktora, kao i stabilizaciona platforma na njenom vrhu karakterišu tzv. Immobilizer system (Genzyme Surgical Products). Platforma se aplicira na površinu srca, u predelu predviđene arteriotomije. Epikardna imobilizacija se postiže povlačenjem dela epikarda sa koronarnom arterijom kroz poseban otvor na platformi. Plasiranjem traka za krvne sudove ispod koronarnih arterija distalno i proksimalno od platforme i njihovim fiksiranjem za platformu postiže se ne samo imobilizacija koronarne arterije, već i beskrvno operativno polje. Važno je naglasiti da se stabilizacija postiže trakcijom određenog dela epikarda, a ne pritiskom platforme na površinu srca, što je od velikog značaja za održavanje hemodinamskog statusa bolesnika tokom hirurškog rada.

Međutim, plasiranje traka za koronarne krvne sudove distalno i proksimalno od mesta arteriotomije i njihovo fiksiranje za platformu može dovesti pucanja plakova i intime koronarnih arterija, što neminovno može dovesti do njihovog oštećenja i rane tromboze. Zbog toga je autor ove studije protivnik ovakvog načina stabilizacije ciljnih arterija.

1.6.2.2. Farmakološka stabilizacija

Kontrola srčanog ritma i kontraktilnosti je osnova ovog koncepta stabilizacije miokarda. Beta-blokatori i blokatori kalcijumskih kanala su bili najčešće korišćeni agensi u cilju izazivanja bradikardije tokom kreiranja anastomoza na kucajućem srcu. Tokom 1995-1996. godine brojni autori su sprovodili operativne zahvate na kucajućem srcu, tako što su

tokom kreiranja anastomoza spuštali frekvencu srčanog ritma na 35-40 otkucaja u minuti⁹³. Međutim, ovaj metod ne eliminiše pokrete ciljne regije srca, te zahteva ogromnu hiruršku veštinu za kreiranje adekvatne anastomoze. Pored toga, frekvencija je jedna od determinanti krvnog pritiska, te farmakološki izazvana ekstremna bradikardija u kombinaciji sa negativnim inotropnim efektom ovih lekova, može dovesti do hipotenzije tokom kreiranja anastomoza.

Indukcija prolaznog srčanog zastoja multiplim bolus infuzijama adenzina, stimulacija vagalnog nerva i ubrizgavanje bradikardnih farmakoloških agenasa direktno u desnu koronarnu arteriju uz održavanje srčanog ritma ventrikularnim pejsingom su neke od farmakoloških metoda stabilizacije miokarda, koje nisu našle širu primenu u kardiohirurgiji. Iz svih gore navedenih razloga, koncept farmakološke stabilizacije srca kao jedine metoda stabilizacije tokom operacije, je danas, praktično, potpuno napušten.

Hirurški tim naše ustanove ima odlična iskustva sa kombinacijom metoda: stabilizacijom ciljnih koronarnih arterija sukcionim mehanizmom, upotrebom Octopus 4 tkivnog stabilizatora i Starfish podizača srca baziranog na sukcionom mehanizmu, kao i farmakološkom stabilizacijom beta-blokatorima u smislu smanjenja frekvence srca.

1.6.3. Protekcija miokarda i beskrvno operativno polje

Dok se protekcija miokarda tokom hirurške revaskularizacije miokarda uz pomoć pumpe za vantelesnu cirkulaciju vrši primenom hladnog hiperkalijemijskog rastvora kardioplegije u cilju potpunog zaustavljanja srca, protekcija miokarda kod OPCAB procedura se vrši plasiranjem intraluminalnog koronarnog šanta.

1.6.3.1. Protektivni intrakoronarni šant

Upotreba intraluminalnih koronarnih šantova može imati odlučujući značaj u održavanju hemodinamske stabilnosti tokom kreiranja distalne anastomoze. Intraluminalno plasiranje šanta sprečava ishemiju miokarda distalno od mesta arteriotomije, pa samim tim sprečava i eventualnu hemodinamsku nestabilnost. Svaka hemodinamska nestabilnost može

dovesti do konverzije operativnog zahvata, posebno u slučajevima kada se anastomoze kreiraju na velikim koronarnim arterijama (preko 2mm) koje obezbeđuju retrogradni protok u regije miokarda sa okludiranim, negraftabilnim arterijama. Vrednosti hemodinamskih parametara, kao što su udarni volumen i srčani index, su podložnije promenama kada se prilikom kreiranja distalnih anastomoza beskrvno operativno polje postiže proksimalnom i distalnom okluzijom koronarne arterije. Sa druge strane, kreiranje anastomoze uz pomoć protektivnog intraluminalnog šanta je tehnički nešto zahtevnije, ali su anastomoze tehnički perfektna, jer se šavovi postavljaju plitko. Sa druge strane, plasiranjem protektivnog šanta izbegava se bilo kakva mogućnost hvatanja ciljane koronarne arterije za zadnji zid, što bi svakako dovelo do perioperativnog infarkta miokarda. Isto tako, plasiranjem šanta izbegava se bilo kakva mogućnost distalne embolizacije koronarne arterije.

1.6.3.2. Blower/mister

Blower/mister je raspršivač koji rasprskavanjem mešavine ugljen-dioksida i fiziološkog rastvora pod velikim pritiskom omogućava vizuelizaciju arteriotomije. Upotreba ovog uređaja, u kombinaciji sa protektivnim intraluminalnim šantom, omogućava kreiranje distalnih anastomoza bez okluzije ciljane koronarne arterije. Na taj način moguće je izbeći potencijalne lezije koronarnih arterija, koje mogu nastati na mestu plasiranja privremenih okluzivnih šavova.

1.6.4. Dopunske tehnike hemodinamske stabilizacije i ekspozicije arterija

Mnoge dopunske tehnike su opisane kako bi olakšale kardiohirurgu ekspoziciju ciljnih arterija i optimalizovale hemodinamske promene tokom podizanja i pomeranja srca. Sve ove metode se koriste kao dopunske metode gore navedenim metodama ekspozicije i stabilizacije srca

1.6.4.1. Trendelenburgova pozicija

Frederich Trendelenburg je, 1890.godine, prvi uveo poziciju operacionog stola i bolesnika sa „nagnutom glavom na dole i nogama na gore”, u želji da olakša hiruršku ekspoziciju pelvičnih organa⁹⁴. Ova pozicija bolesnika se danas naziva Trendelenburgova pozicija ili položaj.

Tokom OPCAB procedura, u prisustvu dijastolne disfunkcije komora tokom vertikalizacije vrha srca i stabilizacije zadnjeg zida srca, Trendelenburgov položaj bolesnika omogućava povećanje venskog hidrostatskog pritiska i pasivnog punjenja desne komore srca, što doprinosi hemodinamskoj stabilizaciji bolesnika.

Sa druge strane, nekada je postojala dilema kakav uticaj Trendelenburgov položaj bolesnika može imati na cerebralnu cirkulaciju i nastanak edema mozga⁹⁵. Međutim, brojne studije su pokazale da su autoregulacija i metaboličke potrebe mozga potpuno očuvane tokom Trendelenburgovog položaja bolesnika, čak i kada je bolesnik u dubokom Trendelenburgovom položaju do 75° nagiba^{96,97}. Takođe, postoje radovi u kojima je dokazano da bolesnici koji imaju oštećenja autonomnog nervnog sistema imaju očuvanu autoregulaciju mozga prilikom promene položaja⁹⁸.

Očigledno je da je korišćenje Trendelenburgovog položaja tokom OPCAB procedura bezbedno, jednostavno i korisno prilikom ekspozicija grana arterije cirkumflekse (ACx).

1.6.4.2. Desni kosi položaj ili desni dekubitalni položaj-„Right tilt position”

Pored dubokog Trendelenburgovog položaja, za ekspoziciju arterija zadnjeg zida srca se koristi rotacija operacionog stola po uzdužnoj osi u desno, tzv. desni kosi ili desni dekubitalni položaj bolesnika. Rotacija operacionog stola na desnu stranu, za 60° nagiba ka hirurgu, značajno povećava srednji arterijski pritisak, pritisak u desnoj pretkomori, end-dijastolni pritisak desne komore, čime se održava preload leve komore.

Prema iskustvima autora, desni kosi položaj udružen sa dubokim Trendelenburgovim položajem značajno poboljšava hemodinamiku i hiruršku ekspoziciju ciljnih arterija.

1.6.4.3. Hernijacija srca ili pleuro-dijafragmalna diskonekcija

Jatrogena „hernijacija” srca⁹⁹ je tehnika kojom se može postići bolja vizuelizacija zadnjeg zida srca, tokom ekspozicije grana arterije cirkumflekse (ACx). Ova tehnika naročito može biti korisna kod bolesnika sa dilatativnom ishemijskom kardiomiopatijom i uvećanim srčanim šupljinama. Dilatativna ishemijska kardiomiopatija predstavlja najteže stanje za adekvatnu stabilizaciju i ekspoziciju ciljnih arterija tokom OPCAB procedura. U ovakvim okolnostima, prostor između zadnjeg zida srca i ručica sternalnog retraktora je veoma smanjen tokom vertikalizacije srca sukcionim mehanizmom. Da bi se povećao radni prostor, kardiohirurg ima dva izbora: da široko otvori desnu pleuru ili da napravi razdvajanje dijafragmalnog i pleuralnog dela desne strane perikarda, tzv. pleuro-dijafragmalnu diskonekciju¹⁰⁰. Ona se sastoji od vertikalnog otvaranja desne strane perikarda, ispod desnog freničnog nerva, na freno-perikardnom spoju. Ovo otvaranje desne strane perikarda se može produžiti ka desnoj donjoj plućnoj veni, čime se dobija veći prostor u koji se mogu smestiti desna komora i deo baze srca, tokom vertikalizacije srca. Tom prilikom treba paziti da ne dođe do povrede desnog freničnog nerva. Vertikalizacijom srca i povlačenjem vrha srca udesno sukcionim mehanizmom, kao i „uglavljivanjem” desne komore i dela baze srca u napravljen otvor na desnoj strani perikarda, dolazi do tzv. jatrogene hernijacije srca čime se otvara radni ugao na zadnjem zidu srca.

1.6.4.4. Privremen prekid protoka kroz donju šuplju venu-IVC Snaring

Ponekad, mobilizacija srca i regionalna ishemija tokom privremenog prekida koronarnog protoka mogu izazvati akutnu plućnu hipertenziju. Ovo se najčešće dešava tokom ishemije leve komore, njene disfunkcije i prolazne mitralne insuficijencije¹⁰¹. Iako

se ova komplikacija može desiti prilikom revaskularizacije bilo kog zida srca, najčešće se dešava prilikom revaskularizacije prednjeg zida srca.

Ukoliko dođe do naprasne plućne hipertenzije i sistemske hipotenzije, najlakši način da se preventivno utiče na ovo stanje je da se privremeno prekine protok krvi iz donje šuplje vene (VCI) u desnu pretkomoru srca. Ovo se može postići ili klemovanjem VCI ili „zaomčavanjem” VCI. Ovakav prekid krvotoka može biti parcijalan ili totalan i može se održavati nekoliko minuta. Privremenim smanjenjem venskog preloada, smanjuje se pritisak punjenja desne i leve komore, nakon čega se rapidno poboljšava hemodinamika. Ishemijom indukovana distenzija leve komore i prolazna mitralna insuficijencija se ubrzo vraćaju u normalu.

Ovaj manevar daje kardiohirurgu vremena da kompletira anastomozu i anesteziologu da hemodinamski stabilizuje bolesnika, čime se može izbeći konverzija operacije u CPB proceduru.

1.6.5. Hemodinamske promene uzrokovane pomeranjem srca

Hemodinamske promene se dešavaju prilikom promene položaja srca, čime se želi postići adekvatna stabilizacija i ekspozicija ciljnih arterija. Iako je plasiranje dubokih perikardnih šavova i njihova trakcija i vakuum-asistirana sukcija vrha srca i regiona oko ciljnih arterija bezbedno, smatra se da vakuum-asistirana sukcija stvara manji stepen hemodinamske nestabilnosti. Hemodinamske promene se mogu desiti kao rezultat opstrukcije protoka ili „kinkinga” desne komore srca, regionalnom diskinezijom zidova srca uzrokovane prolaznom ishemijom ili kompresijom od strane stabilizatora za srce. Pomeranje i izmeštanje srca iz svoje osovine može dovesti do distorzije mitralnog anulusa i nastanka akutne mitralne insuficijencije i plućne hipertenzije. Isto tako, plasiranje sukcionog stabilizatora u predeo medijalnog segmenta RCA može dovesti do pritiska na prednji ili muralni deo trikuspidnog anulusa što može dovesti do njegove distorzije i opstrukcije protoka kroz trikuspidno ušće. Opstrukcija protoka kroz trikuspidno ušće može dovesti do smanjenja preloada i pritiska punjenja leve komore, što neminovno vodi u sistemska hipotenziju.

Transezofagealna ehokardiografija (TEE) je veoma korisna za brzo detektovanje uzroka i znakova hemodinamske nestabilnosti.

Tesna i pravovremena saradnja između kardiohirurga i anesteziologa je neophodna, da bi OPCAB procedure bile uspešne. Ordiniranje rastvora i redistribucija tečnosti, rotacija i pozicioniranje bolesnika, perfuzija ciljne arterije, infuzije ili bolusi kateholamina (velike količine kateholamina su štetne kod OPCAB hirurgije) i korišćenje privremenog pacemakera mogu biti veoma korisni prilikom hemodinamske stabilizacije bolesnika. Ipak, ukoliko hipotenzija perzistira, najbolje je privremeno vratiti srce u normalan anatomski položaj.

Ukoliko se hemodinamska stabilnost ne može održati, treba hitno i bez odlaganja razmotriti upotrebu intra-aortne balon pumpe ili konverziju operacije. Konverziju OPCAB operacije u operaciju na kucajućem srcu na pumpi za vantelesnu cirkulaciju (CPB) treba izbegavati, zbog velike stope morbiditeta i mortaliteta.

Činjenica je da hirurška trauma, sama po sebi, predstavlja okidač za pokretanje inflamatorne i koagulacione kaskade, kao i oksidativnog stresa i aktiviranje mehanizama antioksidativne zaštite. Autora ovog istraživanja je najviše interesovalo, da li postoje razlike u pokazateljima oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite kod bolesnika kojima je hirurška revaskularizacija miokarda urađena uz pomoć pumpe za vantelesnu cirkulaciju (CPB) ili kod OPCAB bolesnika i kako se eventualne razlike odražavaju na kliničko stanje bolesnika. U kojoj meri se jačina i veličina oksidativnog stresa javlja tokom hirurške revaskularizacije miokarda, i kakva je aktivacija mehanizama antioksidativne zaštite, te da li postoji razlika u kliničkom ishodu, brzini i kvalitetu oporavka bolesnika, pitanja su na koja bi ovo istraživanje trebalo da odgovori u punoj meri.

Ukoliko se ovom studijom dokaže radna hipoteza, postavlja se pitanje reevaluacije indikacija za OPCAB hirurgiju u smislu rutinske svakodnevne primene, kao metodu izbora hirurške revaskularizacije miokada.

Svakako da je osnovna ideja autora da ovo istraživanje, pre svega, bude primenljivo u svakodnevnoj kliničkoj praksi i da bude kvalitetna dopuna postojećim saznanjima iz ove oblasti.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Utvrditi razlike između vrednosti pokazatelja oksidativnog stresa (lipidni hidroperoksidi-LOOH, produkti uznapredovale oksidacije proteina-AOPP, totalni oksidantni status-TOS, superoksid anjon radikal- O_2^- prooksidativno-antioksidativni balans-PAB, malondialdehid-MDA) kod bolesnika kojima hirurška revaskularizacija miokarda urađena na kucajućem srcu (OPCAB grupa) i bolesnika kojima je revaskularizacija miokarda urađena na mašini za vantelesnu cirkulaciju (CPB grupa).
2. Utvrditi razlike između vrednosti pokazatelja antioksidativne zaštite (PON1-humana serumska paraoksonaza, sulfhidrilne grupe-tSHG, totalni antoksidativni status-TAS, enzim serumska superoksid-dizmutaza-SOD) kod bolesnika kojima hirurška revaskularizacija miokarda urađena na kucajućem srcu (OPCAB grupa) i bolesnika kojima je revaskularizacija miokarda urađena na mašini za vantelesnu cirkulaciju (CPB grupa).
3. Ispitati postojanje korelacije između vremena provedenog na respiratoru, broja dana provedenih na Odeljenju intezivne nege, broja dana provedenih u bolnici nakon operacije, broja jedinica primenjene transfuzije krvi, gubitaka u kilaži, broja bolničkih infekcija, kao i brzine i kvaliteta oporavka u obe grupe bolesnika.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. MATERIJAL

Istraživanje je sprovedeno u vidu kohortne studije, koja je obuhvatila bolesnike podvrgnute hirurškoj revaskularizaciji miokarda u Klinici za kardiohirurgiju Vojno-medicinske akademije u Beogradu u periodu od 2012. godine do 2016. godine. Imajući u vidu kriterijume za isključivanje iz studije opredelili smo se za 107 bolesnika koji su bili izabrani metodom slučajnog izbora (onim redosledom kako dolaze na Kliniku za kardiohirurgiju VMA), a pritom ispunjavaju kriterijume za uključivanje u studiju. Bolesnici su uključeni u studiju, nakon što je kardiološko-kardiohirurški konzilijum postavio indikaciju za hirurškom revaskularizacijom miokarda. Studija je sprovedena nakon pismenog odobrenja Etičkog Odbora VMA (Br.1130-8) i Etičkog Komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (Br.29/II-27). Nakon detaljnog upoznavanja od strane lekara sa procedurom, koristima i rizicima operacije, kao i vrstom studije, bolesnici su davali pismeni pristanak za učešće u studiji. Pristanak za učešće u studiji, svi bolesnici su potvrdili svojeručnim potpisom u prethodno napravljenom formularu o informisanom pristanku bolesnika za učešće u studiji.

U studiju je bilo uključeno 107 bolesnika, podeljenih u dve grupe, kojima je urađena hirurška revaskularizacija miokarda na 2 načina:

1. Revaskularizacija miokarda uz upotrebu pumpe za vantelesnu cirkulaciju-CPB grupa. U ovoj grupi je bilo 60 operisanih bolesnika.
2. Revaskularizacija miokarda na kucajućem srcu, bez upotrebe pumpe za vantelesnu cirkulaciju-OPCAB grupa. U ovoj grupi je bilo 47 operisanih bolesnika.

Cilj hirurgije je bila kompletna, totalna revaskularizacija miokarda sprovedena prema angiografskom nalazu.

3.1.1. Kriterijumi za uključivanje u studiju

1. Postavljena indikacija za elektivnom hirurškom revaskularizacijom miokarda na kardiološko-kardiohirurškom Konzilijumu
2. Bolesnik se prvi put podvrgava hirurškoj revaskularizaciji miokarda
3. Nema restrikcije po pitanju godina bolesnika
4. Pismeni pristanak bolesnika
5. Procedure na kucajućem srcu radi samo jedan kardiohirurg sa istim timom, sa iskustvom u OPCAB procedurama
6. Uvod u anesteziju i održavanje anestezije sprovedeno istim lekovima kod svih bolesnika
7. Bolesnik otpušten kući nakon operacije

3.1.2. Kriterijumi za isključivanje iz studije

1. Bolesnici koji su primljeni i operisani kao hitni slučajevi
2. Reoperisani bolesnici
3. Bolesnici koji nisu bili u stanju da potpišu pristanak za studiju ili nesposobnost bolesnika da razume planiranu proceduru i studiju
4. Bolesnici koji imaju pridruženu i dijagnostikovanu malignu bolest
5. Bolesnici koji imaju pridruženu i dijagnostikovanu neku od sistemskih inflamatornih bolesti (npr. Lupus erythematoses, reumatoidni artritis i sl.)
6. Bolesnici koji su uzimali bilo kakvu imunosupresivnu terapiju
7. Bolesnici koji su uzimali lekove koji bi mogli imati antioksidativni efekat na organizam
8. Bolesnici kod kojih je urađena konkomitantna, kombinovana procedura (npr. ukoliko je bolesniku, u istom aktu, pored revaskularizacije miokarda urađena i procedura na zalisku)
9. Akutni infarkt miokarda (STEMI)
10. Infarkt miokarda (STEMI) u prethodnih 6 nedelja

11. Perioperativni infarkt miokarda
12. Cerebro-vaskularni insult u prethodna tri meseca od planirane operacije
13. Perioperativni cerebro-vaskularni insult (TIA, RIND, CVI sa parezom ili plegijom ekstremiteta)
14. Nije korišćen aparat i sistem creva za intraoperativno spašavanje krvi (Cell-Saver aparat)
15. Bolesnici koji su postoperativno masivno krvarili ili su reintervenisani zbog masivnog krvarenja
16. Preoperativno prisustvo infekcije u organizmu
17. Preoperativna insuficijencija srca
18. Letalni ishod unutar 30 dana od operacije

3.2. METOD RADA

3.2.1. Dijagnostika

Preoperativno, bolesnici su bili kompletno kardiološki i hemodinamski ispitani. Od invazivnih i neinvazivnih dijagnostičkih procedura, kod bolesnika su sprovedene neophodne dijagnostičke procedure prema protokolima za hiruršku revaskularizaciju miokarda:

- Kateterizacija srca sa selektivnom koronografijom
- Transtorakalni EHO srca
- Color-Duplex scan karotidnih i vertebralnih arterija
- Spirometrija sa gasnim analizama
- Rtg srca i pluća

U slučaju potrebe, sprovedene su i dopunske dijagnostičke procedure: transezofagealni EHO srca, kao i testovi vijabilnosti miokarda (Dobutamski stress EHO srca, SPECT miokarda).

Preoperativno, bolesnik je bio dužan da dostavi kompletnu medicinsku dokumentaciju i sprovede preporučenu kompletnu dijagnostiku predviđenu protokolom za preoperativnu pripremu kardiohirurških bolesnika (biohemijske analize, kompletna krvna

slika, hormoni štitne žlezde i EHO štitne žlezde, EHO abdomena, biohemijske analize na infektivne bolesti - HIV, AntiHCV, HbsAg).

3.2.2. Preoperativna priprema bolesnika

Kod svih bolesnika su iz terapije isključeni Aspirin i Clopidogrel, 7-10 dana od početka hospitalizacije. Po prijemu u bolnicu, bolesniku je urađen:

- preoperativni EKG
- preoperativni EHO srca
- kompletna krvna slika, sedimentacija, CRP, fibrinogen, kompletne biohemijske analize, uz lipidogram i određivanje koncentracija kardiospecifičnih enzima.

Nakon što je ispunio kriterijume za ulazak u operacionu salu, bolesnik je pripreman za operaciju prema standardnom kliničkom protokolu:

- pražnjenje creva-klizma
- brijanje i kupanje
- lokalno ordiniranje antiseptičnih rastvora u predeo planiranih hirurških incizija

Kod svih bolesnika su se uzimali svi neophodni anamnestički podaci, kao i demografski podaci:

- starost bolesnika
- pol
- preoperativna težina
- visina
- trajanje bolesti
- pušenje
- nasleđe
- komorbiditet

Na osnovu podataka o telesnoj visini i telesnoj težini su izračunati:

- indeks telesne mase-BMI (body mass index)
- površina tela-BSA (body surface area)

Na osnovu podataka o godinama bolesnika i komorbiditetu, kao i vrsti planirane operacije, za svakog bolesnika je izračunat EuroSCORE (European System for Cardiac Operative Risk Evaluation). Na osnovu EuroSCORE-a je preoperativno procenjivan prediktivni operativni mortalitet.

Isto tako, na osnovu nalaza selektivne koronografije, za svakog bolesnika je izračunat SYNTAX Score (Synergy between percutaneous coronary intervention with Taxus and Cardiac Surgery Score), na osnovu koga je procenjivana težina i obim koronarnih lezija.

Noć pred operaciju, svaki bolesnik je dobijao preoperativnu peroralnu sedaciju (Diazepam-5 mg per os). Ujutro, na dan operacije, svaki bolesnik je dobijao preoperativnu intramuskularnu sedaciju (Diazepam 0,07 mg/kg).

3.2.3. Intraoperativno praćenje bolesnika

Svi bolesnici su operisani u intravenskoj opštoj endotrahealnoj anesteziji, sprovedenoj sa istom paletom lekova (sedativ, anestetik, analgetik, miorelaksant), uz obaveznu antibiotsku hiruršku profilaksu.

3.2.3.1. Anestezija

Nakon adekvatne preoperativne sedacije, bolesnici su uvođeni u operacionu salu. Punkciom perifernih vena na rukama i plasiranjem braunila, izvedeno je nekoliko perifernih venskih linija. Nakon plasiranja EKG elektroda, kao i lokalnog ordiniranja 2% Lydocaina i punkcije radijalne ili brahijalne arterije, plasirana je linija za invazivno praćenje arterijskog krvnog pritiska. Potom su bolesnici uvođeni u opštu endotrahealnu anesteziju (OETA). Uvod u OETA je sproveden anestetikom Etomidatom (0,1-0,2 mg/kg) i opijatom Sufentanylom (0,5-1 µg/kg). Nakon ordiniranja miorelaksanta Rocuronijuma (1mg/kg) bolesnik je intubiran adekvatnim endotrahealnim tubusom, koji je spojen sistemom creva za aparat za anesteziju. Nakon toga je, punkcijom vene jugularis interne, plasiran centralni venski kateter (CVK) za invazivno praćenje centralnog venskog pritiska, kao i Swan-Ganzov kateter u plućnu arteriju za merenje pritiska u plućnoj arteriji, kao i eventualno

merenje plućnog kapilarnog „wedge” pritiska. Svi kateteri su spojeni sistemom linija za monitore za invazivno praćenje svih vitalnih parametara svih bolesnika.

Kod svih bolesnika je plasirana nazogastrična ili rektalna temperaturna sonda, radi kontinuiranog praćenja telesne temperature tela bolesnika. Plasiranjem sterilnog urinarnog katetera u mokraćnu bešiku, kod svakog bolesnika je praćena satna diureza. Takođe, preko sonde plasirane na čelo bolesnika, rađen je monitoring dubine anestezije (entropija mozga). Opšta anestezija je održavana sa Sevofluranom (0,6-1,0%) i Sufentanylom (0,5-1 μ /kg/h). Hemodinamsko stanje bolesnika je održavano prema uobičajenoj anesteziološkoj rutini, davanjem infuzionih kristaloidnih ili koloidnih rasvora i, po potrebi, davanjem bolusa ili kontinuirane infuzije vazoaktivnih lekova (npr. noradrenalin).

3.2.3.2. Hirurška procedura

Nakon sterilne pripreme i sterilnog garniranja operativnog polja, sve operacije su se radile kroz isti hirurški pristup, tj. putem medijalne sternotomije. Pre incizije na koži, svi bolesnici su dobijali antifibrinolitičnu kiselinu, prema protokolu za davanje ovoga leka.

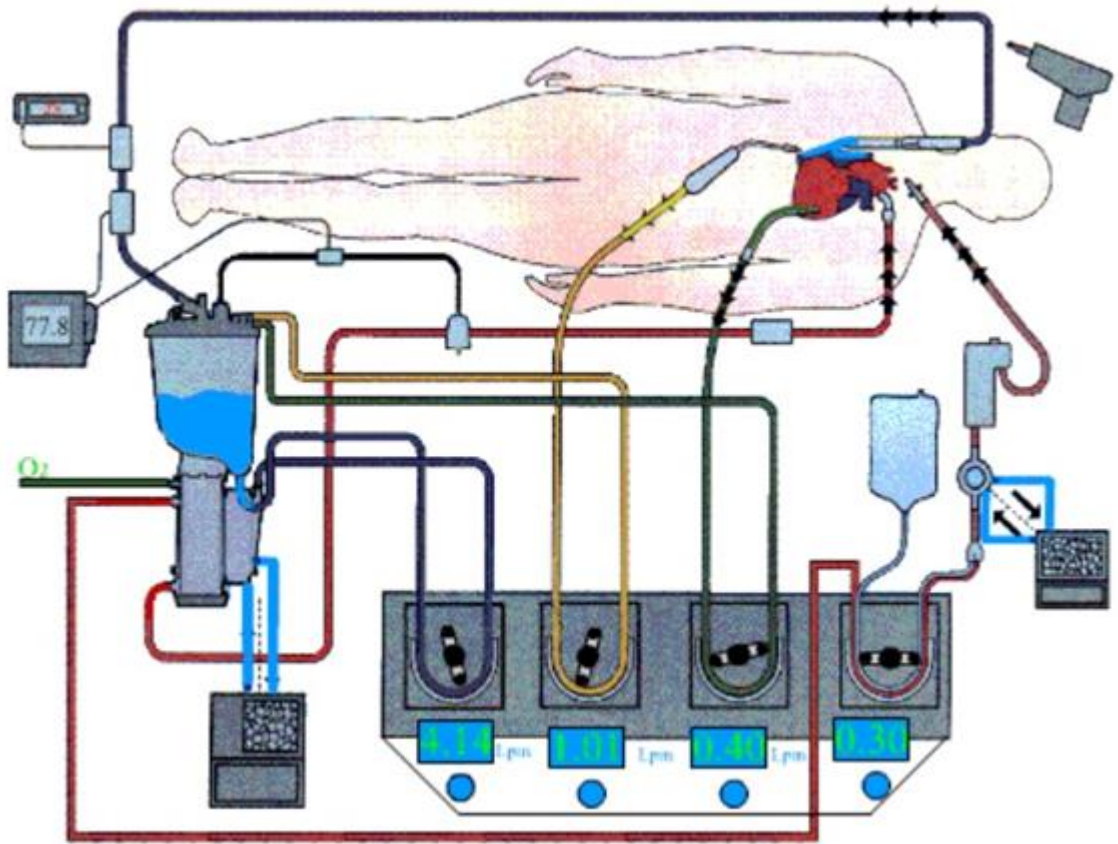
Nakon medijalne sternotomije, kod obe grupe bolesnika, je preparisana arterija mamarija sa leve strane u vidu pedikla (Left Internal Mammary Artery-LIMA), koja je korišćena kao arterijski graft. Kod obe grupe bolesnika, u paralelno vođenom aktu, preparisana je vena saphena magna (Great Saphenous Vein-GSV) sa potkolenica ili natkolenica nogu bolesnika, koja je korišćena kao venski graft.

Kod prve grupe bolesnika (CPB grupa), hirurška revaskularizacija miokarda se radila u uslovima opšte heparinizacije, na mašini za vantelesnu cirkulaciju (CPB). Opšta heparinizacija je postizana intravenskim ordiniranjem 400 IU/kg Heparina, da bi se postigao željeni ACT (Activated Clotting Time) veći od 450 sekundi ili više od toga (ACT Plus™-Medtronic, Inc., Minneapolis, USA). Na kraju operacije, Heparin je neutralisan intravenskim ordiniranjem kontinuirane infuzije Protamina, tako da očekivani ACT bude oko 160 sekundi.

Standardna aortna kanulacija je postizana plasiranjem aortne kanile (Curved Tip Arterial Cannula, DLP[®], 22-24Fr, Medtronic, Inc., Minneapolis, USA) u ushodni deo aorte, čime je obezbeđena arterijska linija za CBP preko koje se perfundovao ceo organizam tokom trajanja srčanog aresta. Plasiranjem dvostepene venske kanile u desnu pretkomoru srca (Two Stage Venous Cannula 34/36Fr, MC2[®], Medtronic, Inc., Minneapolis, USA) obezbeđivana je venska, drenažna linija za CPB. Sve kanile su spojene sistemom silikonskih i/ili PVC creva (Tubing Set, Heart-Lung Bypass, Sorin Group, Mirandola, Italy) za low-prime oksigenator sa inkorporiranim kardiomotnim venskim rezervoarom (Sorin Inspire 8, Sorin Group, Mirandola, Italy) i pumpu za vantelesnu cirkulaciju (Stockert-S5, Sorin Group, Munich, Germany). Rastvor kojim je ispunjen sistem creva za CPB („priming“) je bio standardizovan za sve bolesnike (1000 mL Hartmannovog rastvora, 150 mL Manitola, 60 mL 8,4% Natrijum-bikarbonata, i 5.000 UI Heparina).



Slika 4. Pumpa za CPB sa oksigenatorom i sistemom creva



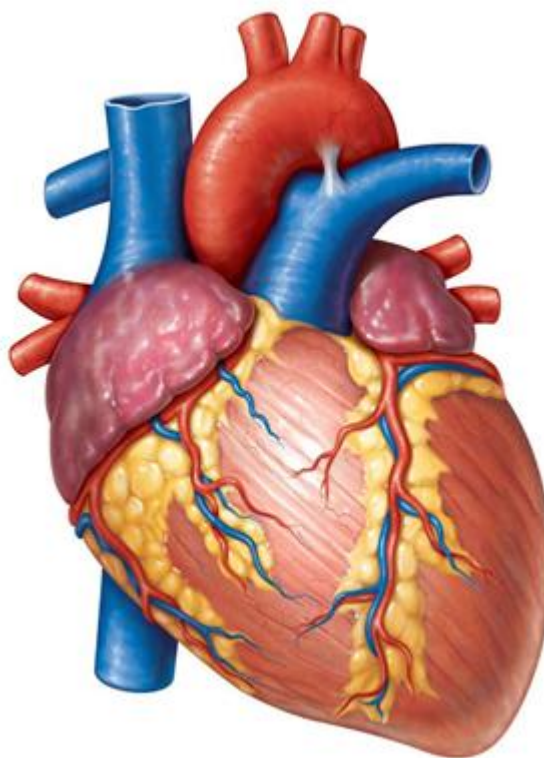
Slika 5. Pumpa za kardiopulmonalni bajpas (CPB)-Shematski prikaz

Nakon klemovanja aorte, protekcija srca i srčani arest je postizan oridniranjem hladnog rastvora kardioplegije (4°C) u bulbus aorte (Institut za farmaciju VMA - K^{+} -40mmol/L, Na^{+} -77 mmol/L, Mg^{2+} -15 mmol/L, Ca^{2+} -2 mmol/L, Cl^{-} -151mmol/L, Glu-277 mmol/L, uz dodavanje adekvatne količine Na-bikarbonata čime se postizao adekvatan PH kardioplegije od 7,6-7,8). Na taj način su sve distalne anastomoze ušivene na flakcidnom, mirnom srcu.

Kod svih bolesnika iz ove grupe, operacije su rađene u uslovima sistemske hipotermije bolesnika (32°C), uz pomoć aparata za sistemsko hlađenje i grejanje krvi (Heater-Cooler aparat), koji je povezan sistemom creva sa pumpom za vantelesnu cirkulaciju (Stockert Heater-Cooler System 3T, Sorin Group, München, Germany).

Sve distalne anastomoze su kreirane u srčanom arestu, na flakcidnom srcu. Nakon puštanja aortne kleme, sve proksimalne anastomoze su kreirane na kucajućem „praznom”

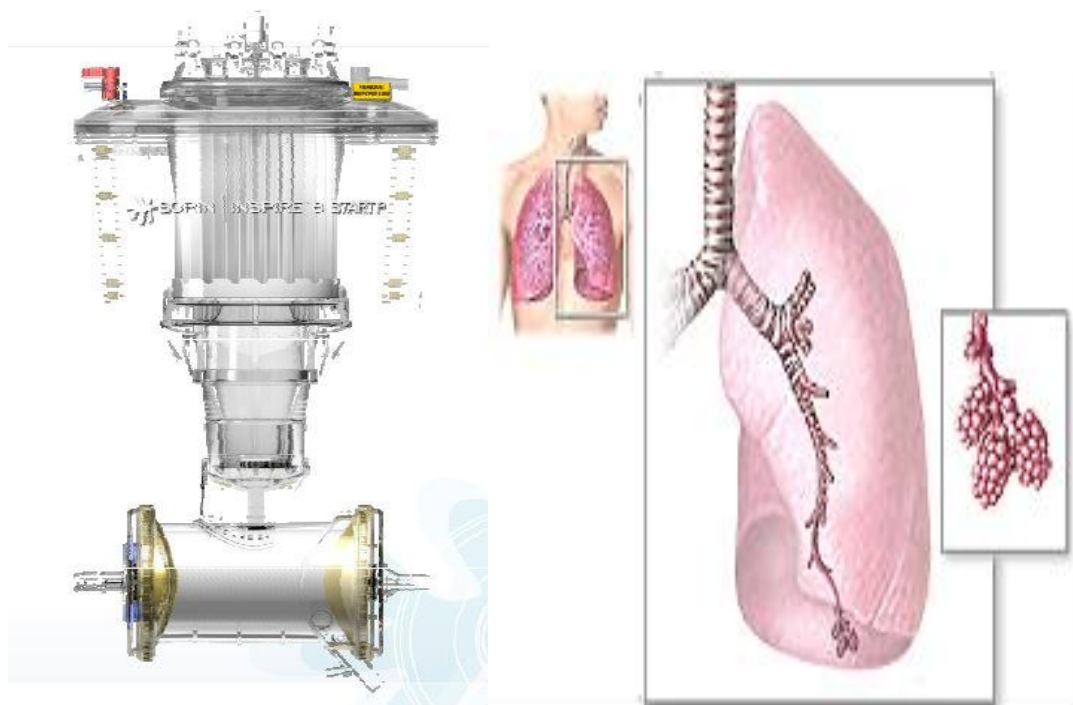
srcu, tokom trajanja CPB. Sve distalne anastomoze su šivene produžnom over-over tehnikom monofilamentnim Prolen koncem 7-0, dok su sve proksimalne anastomoze ušivene produžnom over-over tehnikom monofilamentnim Prolen koncem 6-0.



Slika 6. Okluzivni roler pumpe za CPB menja srce

Tokom trajanja CPB, nepulzatilni arterijski protok krvi je bio od 2.2-2.4 L/min/m², čime je sistemski pritisak održavan između 50-80 mmHg.

Nakon kreiranja svih anastomoza i postizanja hemodinamske stabilnosti, bolesnik je odvajan od pumpe za CPB. Nakon vađenja svih kanila iz srca, ordiniran je protamin-sulfat, sprovedena revizija hemostaze, nakon čega su operativne rane rekonstruisane po slojevima.



Slika 7. „Hollow-fiber” oksigenator menja funkciju pluća

Kod druge grupe bolesnika (OPCAB grupa), hirurška revaskularizacija miokarda se radila u uslovima opšte heparinizacije, bez upotrebe pumpe za vantelesnu cirkulaciju (CPB). Opšta heparinizacija je postizana intravenskim ordiniranjem 100 IU/kg Heparina, da bi se postigao željeni ACT od 300 sekundi. Na kraju operacije, Heparin je neutralisan intravenskim ordiniranjem kontinuirane infuzije protamin-sulfata, tako da očekivani ACT bude oko 160 sekundi.

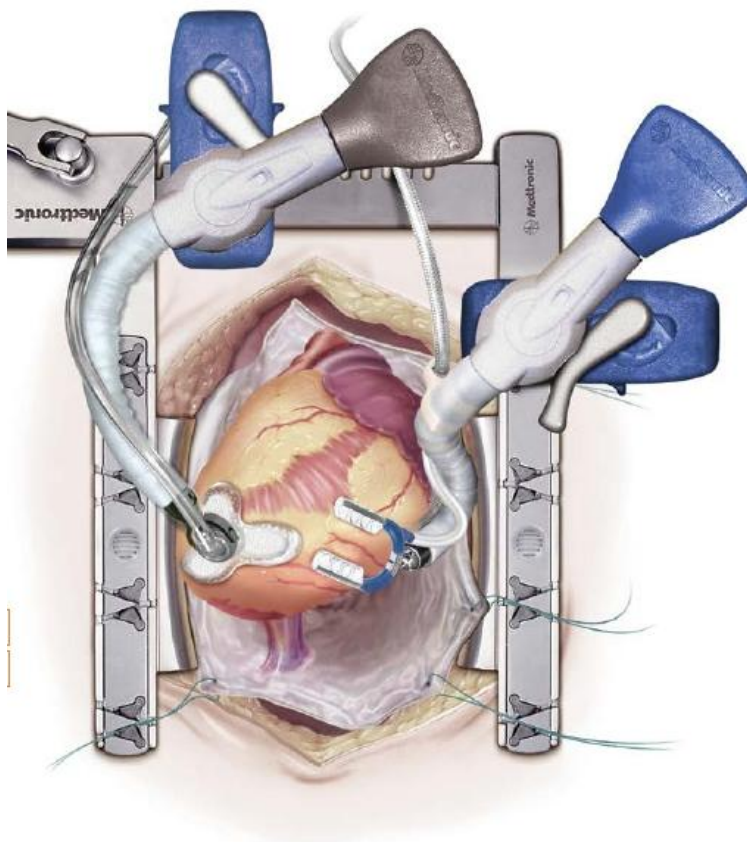
Stabilizacija svih ciljnih arterija se postizala primenom vakuum stabilizatora za srce tipa Octopus 4 (Octopus® IV Tissue Stabilizer, Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA), dok se stabilizacija i podizanje vrha srca (za arterije zadnjeg i donjeg zida srca, tj. obtuzne marginalne grane a.circumflexae i Pd grane desne koronarne arterije) postizala primenom vakuum stabilizatora i podizača vrha srca tipa StarFish (Starfish™ 2 Heart Positioner, Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA). Negativni pritisak za sukcionu vakuum stabilizaciju srca je prosečno iznosio -400 mmHg.



Slika 8. Vakuum stabilizator za srce i ciljne arterije tipa Octopus IV



Slika 9. Podizač i stabilizator vrha srca tipa StarFish



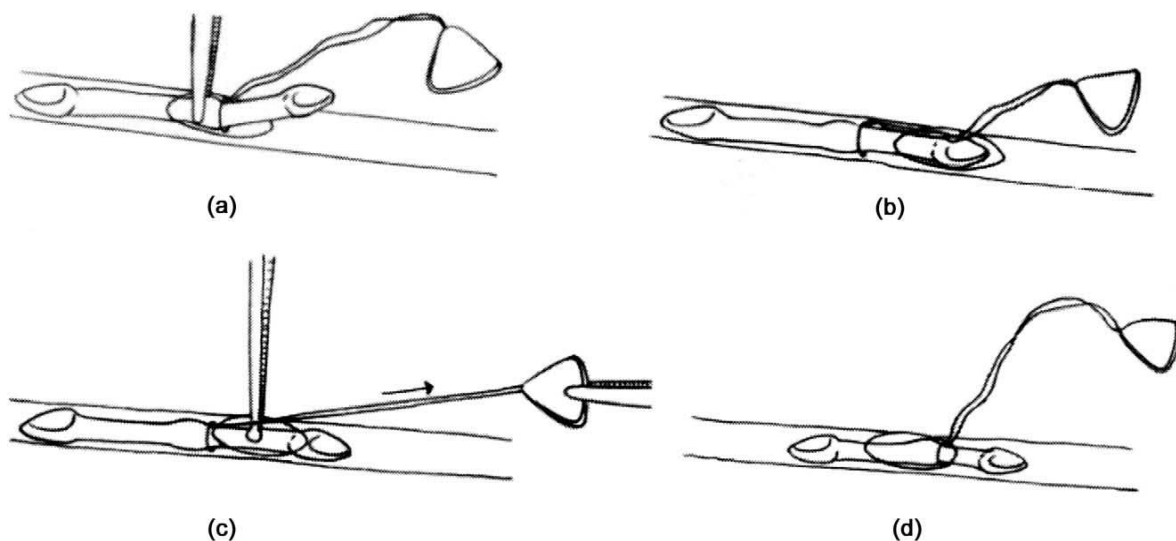
Slika 10. Pozicioniranje srca i ciljne arterije kod OPCAB procedura

U cilju protekcije srca primenjivao se intraluminalni protektivni šant (Soft plastic intraluminally coronary flow-shunt, Medtronic, Clearview®, Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA) različitih veličina (od 1,25 mm do 2,5 mm).



Slika 11. Protektivni intraluminalni šantovi

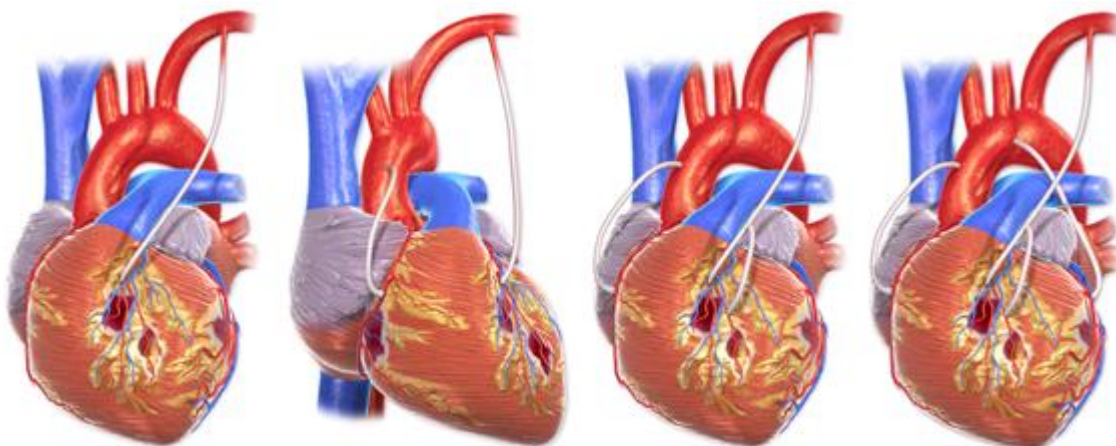
Nakon potpune stabilizacije srca i ciljne arterije, proksimalno od mesta planirane arteriotomije je uvek bio plasiran Gore-Tex šav 3-0, radi kratkotrajne i privremene okluzije koronarne arterije radi jednostavnijeg plasiranja koronarnog intraluminalnog šanta (Gore-Tex®Suture, ePTFE Nonabsorbable Monofilament Suture, W.L.Gore&Associates, Inc., Flagstaff, Arizona, USA). Nakon učinjene arteriotomije, uvek je bio plasiran intraluminalni protektivni šant odgovarajuće veličine, nakon čega je privremeni okluzivni Gore-Tex šav uklanjan.



Slika 12. Tehnika plasiranja protektivnog intraluminalnog šanta

Sve distalne anastomoze su šivene produžnom over-over tehnikom monofilamentnim Prolen koncem 7-0, dok su sve proksimalne anastomoze ušivene produžnom over-over tehnikom monofilamentnim Prolen koncem 6-0.

Sve distalne i proksimalne anastomoze su kreirane dok srce radi, bez upotrebe pumpe za CPB. Neutralizacija Heparina se vršila Protamin-sulfatom prema protokolu za ordiniranje. Kod svih bolesnika iz ove grupe, operacije su rađene u uslovima sistemske normotermije bolesnika (36-37°C), uz pomoć specijalnog gumenog ćebeta ispod tela bolesnika (Blanket Maxi-Term Adult, Hypo-Hypertermia Blanket, CSZ-Cincinnati Sub-Zero, Cincinnati, OH, USA).



Slika 13. Aortokoronarni bajpasevi - Shematski prikaz

Nakon kompletiranja svih anastomoza i revizije hemostaze, operativne rane su rekonstruisane po slojevima.

3.2.3.3. Intraoperativno praćenje vitalnih parametara

Kod svih bolesnika su se kontinuirano pratili sledeći hemodinamski i vitalni parametri:

1. Kontinuirano invazivno praćenje na monitorima:
 - arterijskog krvnog pritiska
 - centralnog venskog pritiska preko CV katetra
 - pritiska u pulmonalnoj arteriji preko Swan-Ganzovog katetera
2. Kontinuirano praćenje na monitorima:
 - EKG ritma i promena ritma
 - frekfence srca
 - telesne temperature tela ($t^{\circ}\text{C}$)
 - entropije mozga preko elektroda na glavi
3. Gasne analize iz arterijske krvi (kontinuirano uzimanje na 30 minuta) (GEM Premier 3000, Blood Gas/Electrolyte Analyzer, Instrumentation Laboratory, Lexington, MA, USA):

- PH krvi, PO₂, PCO₂, Hb, Hct(%), SO₂(%), FO₂Hb(%), FCOHb(%), FHHb(%), FMetHb(%), cK(mmol/L), cNa(mmol/L), cCa(mmol/L), cCl(mmol/L), cGlu, cLact, cBase(B)c, cBase(Ecf)c, cHCO₃.
4. Kompletna krvna slika (iz venske krvi-CVK)
 5. Biohemijske analize sa kardiospecifičnim enzimima (iz venske krvi - CVK)
 6. Diureza-kontinuirano praćenje (ml)
 7. Vreme trajanja operacije (min)-od momenta reza na koži do ulaska u OIN
 8. Trajanje CPB (min)-samo za CPB grupu
 9. Trajanje srčanog aresta-vreme klemovanja aorte (min)-samo za CPB grupu
 10. Protok krvi (L/min)-samo za CPB grupu
 11. Perfuzioni pritisak (mmHg)-samo za CPB grupu
 12. Broj bajpaseva-broj distalnih anastomoza
 13. Vrsta graftova-samo arterijski, samo venski, ili kombinovano
 14. Konverzija operacije-iz OPCAB u CPB (u slučaju vitalnih indikacija ili u slučaju duboko intramiokardno položene LAD).

Svi gore navedeni parametri su se beležili i upisivali u istoriju bolesti, a nakon toga ubacivali u unapred pripremljenu bazu podataka.

3.2.3.4. Postoperativno praćenje vitalnih parametara

Odmah po ulasku bolesnika na Odeljenje kardiohirurške intenzivne nege kontinuirano su se pratili sledeći vitalni parametri:

1. Kontinuirano invazivno praćenje na monitorima:
 - arterijskog krvnog pritiska
 - centralnog venskog pritiska preko CV katetera
 - pritiska u pulmonalnoj arteriji preko Swan-Ganzovog katetera
2. Kontinuirano praćenje na monitorima:
 - EKG ritma i promena ritma

- frekvence srca
 - telesne temperature tela (t°C)
3. Gasne analize:
 - PH krvi, PO₂, PCO₂, Hb, Hct(%), SO₂(%), FO₂Hb(%), FCOHb(%), FHHb(%), FMetHb(%), cK(mmol/L), cNa(mmol/L), cCa(mmol/L), cCl(mmol/L), cGlu, cLact, cBase(B)c, cBase(Ecf)c, cHCO₃.
 4. Kompletna krvna slika (iz venske krvi-CVK)
 5. Biohemijske analize sa kardiospecifičnim enzimima (iz venske krvi-CVK)
 6. Diureza-kontinuirano praćenje

3.2.3.5. Postoperativno praćenje ostalih parametara

Pored gore navedenih parametara, u daljem postoperativnom toku su se pratili i ostali parametri od značaja za ovu studiju:

1. Vreme provedeno na aparatu za disanje od momenta ulaska na OIN do ekstubacije-vreme intubacije (u satima)
2. Vreme provedeno na OIN (u danima)
3. Količina izgubljene krvi-mediastinalna i pleuralna drenaža u prvih 48 sati (ml)
4. Broj jedinica transfuzije krvi (komada i/ili ml)
5. Vreme provedeno u bolnici nakon operacije (u danima)
6. Komplikacije: srce-postoperativni infarkt (EKG, kardiospecifični enzimi), insuficijencija srca (low cardiac output syndrome)
7. Komplikacije: ostalo (bubrežna insuficijencija-dijaliza, intrahospitalne infekcije, infekcije operativne rane, krvarenja, krvarenja iz ulkusa želuca ili duodenuma, CVI, itd.)
8. Gubitak u telesnoj masi (kg)
9. Procena brzine oporavka i neposredni postoperativni kvalitet života

3.2.4. Uzimanje uzoraka krvi

Prema ideji i dizajnu studije, venska krv se uzimala iz centralnog venskog katetera (CVK) i punila u epruvete (Vacuette® Blood Collection Tubes, Greiner Bio-One Diagnostics GmbH, Rainbach, Austria). Arterijska krv se skupljala iz radijalne ili brahijalne arterije i direktno sipala u kertridže, a odatle direktno u gasni analizator, radi izrade gasnih analiza.

Gasne analize iz arterijske krvi su se uzimale i merile u prva četiri previđena merenja:

- t1 - Pre početka operacije (u operacionoj sali)
- t2 - Nakon kompletiranja anastomoza i davanja protamina
- t3 - 6 sati nakon operacije
- t4 - 24 sata nakon operacije

Ideja i dizajn studije su takvi da su se uzorci venske krvi, za određivanje koncentracija parametara oksidativnog stresa, uzimali u šest različitih vremena:

- t1 - Pre početka operacije (u operacionoj sali)
- t2 - Nakon kompletiranja anastomoza i davanja protamina
- t3 - 6 sati nakon operacije
- t4 - 24 sata nakon operacije
- t5 - 48 sati nakon operacije
- t6 - 96 sati nakon operacije

Prilikom svakog uzimanja krvi su se uzimale po tri epruvete:

1. Jedna epruveta za biohemijske analize
2. Jedna epruveta za kompletnu krvnu sliku
3. Jedna epruveta za koagulacioni status

Iz ovih uzoraka su se određivali kompletna krvna slika (Cell-Dyn®3700 System, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA) i svi predviđeni biohemijski parametri (Advia®1200 Chemistry System, Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, NY,

USA) i beležili rezultati. Rezultati su odmah upisivani u unapred pripremljenu bazu podataka.

Nakon uzimanja uzoraka krvi svi uzorci su bili centrifugirani u biohemijskoj laboratoriji u aparatu za centrifugiranje krvi (Multifuge 3L, Heraeus, Kendro, Laboratory Products, Osterode, Germany) na 3000 obrtaja/min u trajanju od 10 minuta. Nakon centrifugiranja su bili odvojeni serum i plazma. Nakon toga, serum se pipetom delio u 4 plastične ependorfe od 1,5 ml. Isti postupak je učinjen i sa plazmom. Po jednom bolesniku smo imali ukupno 48 ependorfi od po 1,5 ml i to:

- 24 ependorfe od po 1,5 ml sa serumom, i
- 24 ependorfe od po 1,5 ml sa plazmom

Sve ependorfe su se pakovale u specijalne kutije za duboko zamrzavanje (Nalgene[®] CryoBox[™] 10x10 array, Sygma-Aldrich, Germany) i zamrzavale u frižideru na -80°C.

3.2.5. Određivanje vrednosti pokazatelja oksidativnog stresa

Prilikom određivanja koncentracija pokazatelja oksidativnog stresa, po jedna ependorfa sa serumom i plazmom (po jednom bolesniku i po jednom merenju) je odmrzavana sa -80°C na sobnu temperaturu i pripremana za analizu (ILAB 650 analyzer - Instrumentation Laboratory, Milan, Italy).

3.2.5.1. Određivanje lipidnih-hidroperoksida (LOOH)

U kiseloj sredini, Fe (II) se oksiduje do Fe (III) u prisistvu LOOH iz uzorka. Stvoreni Fe (III) formira kompleks sa ksilenol-oranžom (o-krezosulfonftalein-3,3'-bismetilimino-bisirčetna kiselina). Intenzitet boje meri se korišćenjem bihromatskog merenja na 540 nm na kojoj apsorbuju uzorak i eventualno prisutni interferenti i na 670 nm gde apsorbuju samo interferirajuće supstance, čime se anulira njihov uticaj. Analiza se izvodi uz proces deproteinizacije sa perhlornom kiselinom¹⁰².

Vrsta uzorka. Mogu se koristiti serum ili plazma (EDTA, heparin).

Aparatura. ELISA reader-LKB 5060-006, $\lambda=540\text{nm}$. Korekciona $\lambda=670\text{nm}$. Na spektrofotometru „Beckmann” su određeni apsorpcioni spektri na $\lambda=540\text{nm}$, kako slepe probe reagensa, tako i standarda različitih koncentracija ($50\ \mu\text{M}$ i $200\ \mu\text{M}$). Spektri su određeni merenjem apsorbanace u širem opsegu talasnih dužina, da bi se videlo na kojoj talasnoj dužini je „peak”.

Reagensi (sastav i priprema)

1. Ksilanol-oranž $2,5\text{mM}$: Rastvoriti $0,1901\text{g}$ u destilovanoj H_2O i dopuniti do $100\ \text{ml}$. Napravljen rastvor ksilenol-oranža stabilan je tri nedelje na temperaturi od 4°C .
2. Morova so (Mohr) - $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ $2,5\text{mM}$ u $1,1\text{M HClO}_4$: Rastvoriti $0,098\text{g}$ u perhlornoj kiselini i dopuniti do $100\ \text{ml}$. Napravljen rastvor Morove soli stabilan je tri nedelje na temperaturi od 4°C .
3. Perhlorna kiselina, HClO_4 (60%) $1,1\text{M}$: U $88\text{ml H}_2\text{O}$ dodati 12ml kiseline (priprema 100ml rastvora). Napravljen rastvor porhlorne kiseline stabilan je mesec dana na temperaturi od 4°C .
4. Kao standard se koristi terc-butilhidroperoksid, štok-rastvor 20mM . Priprema 10ml rastvora standarda: U normalni sud sipati $0,0257\text{ml}$ terc-butilhidroperoksida i dopuniti do crte redestilovanom vodom. Rastvor je stabilan na 4°C , mesec dana. Za izradu standardne krive korišćena su razblaženja rastvora standarda (štoka) u $0,9\%\text{NaCl}$: $3,125\ \mu\text{M}$, $6,25\ \mu\text{M}$, $12,5\ \mu\text{M}$, $25\ \mu\text{M}$, $50\ \mu\text{M}$, $100\ \mu\text{M}$, $200\ \mu\text{M}$. Razblaženja rastvora standarda pravljena su sveža, svakodnevno.

Izvođenje. U ependorf-epruvete ($V=1,5\text{mL}$) sipano je $25\ \mu\text{l}$ razblaženog uzorka (uzorak treba razblažiti 10 puta sa $0,9\%\ \text{NaCl}$), nakon čega je dodato $180\ \mu\text{l}$ rastvora ksilenol-oranža i inkubirano 5 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim dodato $45\ \mu\text{l}$ rastvora Morove soli u perhlornoj kiselini i inkubirano dalje na sobnoj temperaturi, još 30 minuta. Nakon toga je vršeno centrifugiranje na $10.000\ \text{o/min}$, 10 minuta, na 25°C . Izdvojeno je $200\ \mu\text{L}$ supernatanta koji je usut u udubljenje na mikro-ploči. Očitavane su koncentracije uzorka korišćenjem adekvatnog programa na ELISA-reader-u, na 540nm i 670nm .

Izračunavanje. $C_{uzorka}, \mu\text{mol/l} = A_{uzorka} \times C_{standarda} / A_{standarda}$

3.2.5.2. Određivanje produkata uznapredovale oksidacije proteina (AOPP)

Spektralnom analizom razblaženog uzorka plazme ili seruma fosfatnim puferom pH 7,4 u opsegu talasnih dužina 200-400 nm uočava se karakterističan pik oko 340 nm. Dodavanjem sirćetne kiseline u razblažen serum i rastvora kalijum-jodida 1,16 M i merenjem absorbance na 340 nm možemo pratiti i porediti vrednosti u uzorcima bolesnika i u kontrolnoj grupi. Koncentracija AOPP se izražava preko ekvivalenata hloramina T koji se koristi za izradu standardne krive u koncentracijama 10-100 $\mu\text{mol/L}$, pri čemu njegova apsorbanca linearno raste sa porastom koncentracije¹⁰³. Za određivanje AOPP kao markera oksidativnog stresa korišćena je metoda koju su postavili Witko-Sarsat i saradnici¹⁰⁴.

Princip metode. Spektralnom analizom razblaženog uzorka plazme ili seruma fosfatnim puferom pH 7,4 u opsegu talasnih dužina 200-400 nm uočava se karakterističan pik oko 340 nm. Dodavanjem sirćetne kiseline u razblažen serum i rastvora kalijum-jodida 1,16 M i merenjem absorbance na 340 nm možemo pratiti i porediti vrednosti u uzorcima bolesnika i u kontrolnoj grupi. Koncentracija AOPP se izražava preko ekvivalenata hloramina T koji se koristi za izradu standardne krive u koncentracijama 10-100 $\mu\text{mol/L}$, pri čemu njegova apsorbanca linearno raste sa porastom koncentracije.

Reagensi (sastav i priprema)

1. Standardni rastvor Hloramina T (N-hloro-p-toluensulfonamid natrijum), 100 $\mu\text{mol/L}$. Odmeriti 0,028 g Hloramin T-trihidrata i rastvoriti destilovanom vodom do 1000 ml. Od ovog standardnog rastvora praviti razblaženja za sledeće koncentracije: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 i 90 $\mu\text{mol/L}$.
2. Glacijalna sirćetna kiselina
3. Rastvor kalijum jodida 1,16 M
Odmeriti 19,257 g KJ i rastvoriti destilovanom vodom do 1000 ml. Regens čuvati u tamnoj boci.

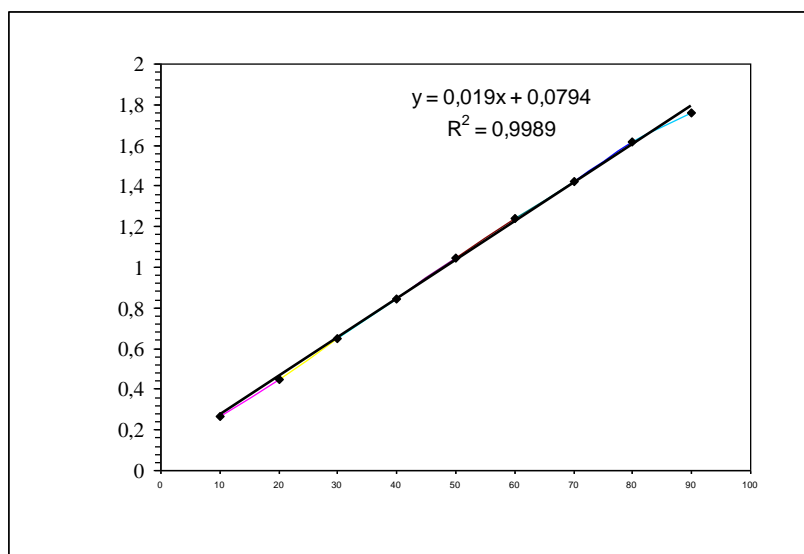
4. Fosfatni pufer 20 mM, pH 7,4. Rastvoriti 3,4g KH₂PO₄ u 250 ml vode, a zatim 4,45g Na₂HPO₄ rastvoriti u 250 ml vode. U rastvor Na₂HPO₄ dodavati KH₂PO₄ sve dok pH ne bude 7,4.

Uzorci. Mogu se koristiti serum ili plazma (EDTA, heparin).

Aparati, pribor i uslovi određivanja. Spektrofotometar sa protočnom kivetom (STASAR, GILFORD III-Lighting) ili biohemijski analizator talasna dužina 340 nm, pipete, pH-metar, vorteks mešalica.

Izrada standardne krive. Od osnovnog standarda Hloramina T 100 µmol/L napraviti razblaženja: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 i 90 µmol/L.

Na osnovu izmerenih apsorbanci u zavisnosti od koncentracija standarda konstruisana je standardna kriva pomoću koje se izražava koncentracija AOPP preko ekvivalenta Hloramina T (Slika 14).



Slika 14. Standardna kriva za određivanje koncentracije AOPP

Izvođenje analize. Fosfatnim puferom (R4) su razblaženi uzorci seruma ili plazme u odnosu 1:5.

Izračunavanje. Koncentracija AOPP je izračunavana iz standardne krive ili pomoću jednačine prave, a izražava se u jedinicama µmol/L ekvivalenta Hloramina T.

3.2.5.3. Određivanje totalnog oksidantnog statusa (TOS)

Kao glavne komponente TOS sistema u serumu su prisutni H_2O_2 i lipidni hidroperoksidi. Ukupni oksidansi prisutni u uzorku oksiduju fero jon-orto-dianizidni kompleks u feri jon. Reakcija oksidacije olakšana je molekulom glicerola koji je prisutan u reakcionom medijumu. Nastali feri jon zatim gradi obojeni kompleks sa ksilenol-oranžom u kiseloj sredini. Intezitet boje se meri spektrofotometrijski ($\lambda = 560$ nm) i proporcionalan je ukupnom sadržaju oksidacionih molekula u uzorku. Kao standard korišćen je vodeni rastvor vodonik-peroksida opsega koncentracije 10-200 $\mu\text{mol/L}$, što odgovara linearnosti metode i očekivanim koncentracijama u biološkom materijalu¹⁰⁵.

Reagensi za određivanje koncentracije TOS

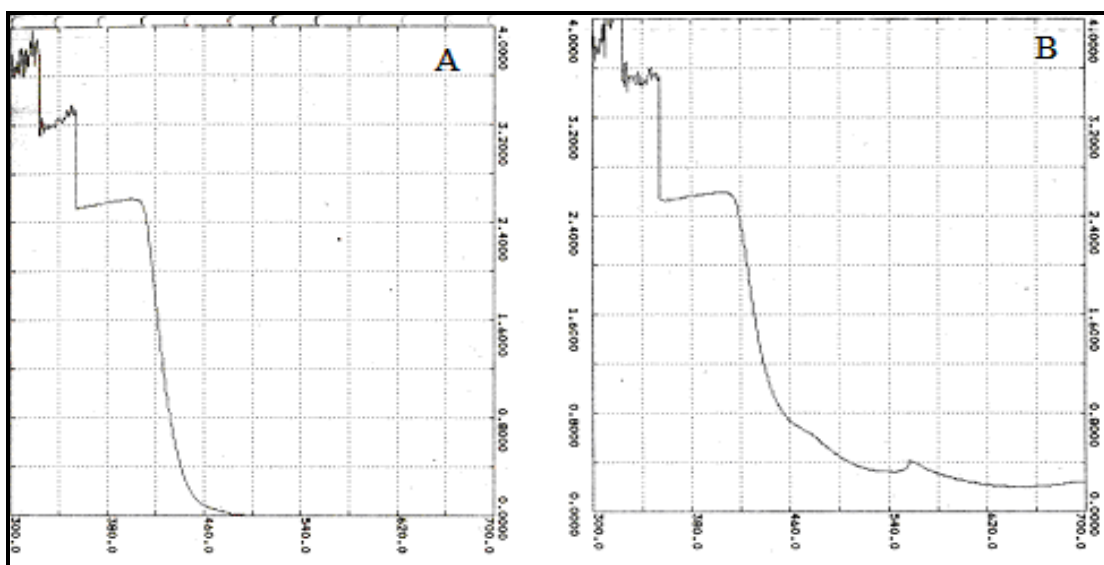
1. Reagens 1-TOS 1: Pripremljen je rastvaranjem ksilenol- oranža (114mg) i NaCl (8,18g) u 900ml rastvora H_2SO_4 ($c=25\text{mM}$). U tako dobijeni rastvor dodato je 100 ml glicerola. pH vrednost ovog reagensa bila podešena na 1.75.
2. Reagens 2-TOS 2: Pripremljen je rastvaranjem feroamonijum sulfata (1,96g) i o-dianizidin-dihidrohlorida (3,17g) u 1000ml rastvora H_2SO_4 ($c=25\text{mM}$).

Izvođenje. Postupak odedivanja TOS-a se sastojao iz nekoliko koraka. U reakcione epruvete se prvo pipetiralo po 450 μL TOS 1 rastvora, zatim po 22 μL rastvora TOS 2 i na kraju po 70 μL seruma, standarda odnosno dejonizovane vode u odgovarajuće epruvete. Sadržaj je bio mešan i inkubiran 3-4 minuta, nakon čega su se apsorbance čitale na spektrofotometru pri talasnoj dužini od 560 nm.

3.2.5.4. Određivanje nivoa superoksid anjon radikala ($O_2^{\bullet-}$) u plazmi

Određivanje brzine stvaranja superoksid anjon radikala ($O_2^{\bullet-}$) je zasnovano na metodi koju su dali Auclair i Voisin¹⁰⁶. Metoda je zasnovana na sposobnosti superoksid anjon radikala da redukuje hinin, tetranitrometan i citohrom c, kao i nitro grupu supstituisanih aromatičnih jedinjenja kao što je nitrobluetetrazolijum [NBT, 2,2'-di-p-nitrofenil-5,5'-difenil-3,3'-(3,3'-dimetoksi-4,4'-difenilen)-ditetrazolium hlorid]. Redukcija žuto obojenog NBT-a do plavog formazana se koristi kao mera stvaranja superoksidnog

radikala u hemijskim i biološkim sistemima. Redukcija NBT-a se odvija u dva stupnja i to: a) nepotpuna redukcija do monoformazana; b) potpuna redukcija do diformazana. U oksidovanoj formi NBT je rastvorljiv u vodi. Redukcijom u diformazan se smanjuje rastvorljivost u vodi, zbog čega se dodaje želatin koji održava formazan u rastvorenom obliku. Kada je pH sredine u kojoj se odvija reakcija blizak neutralnom pH, molarni ekstinkcioni koeficijent na talasnoj dužini od 515 nm za monoformazan iznosi $15.000 \text{ Lxmol}^{-1}\text{xcm}^{-1}$, a za diformazan $30.000 \text{ Lxmol}^{-1}\text{xcm}^{-1}$. U vodenim rastvorima, u reakcijama u kojima se stvara $\text{O}_2^{\bullet-}$, dolazi do nepotpune redukcije NBT-a do monoformazana. Stimulacija redukcije NBT-a pri višim pH vrednostima je rezultat inhibicije reakcije spontane dismutacije kiseonika, koja kompetira sa reakcijom redukcije NBT-a. Redukcija NBT-a se stoga povećava smanjenjem pritiska kiseonika u medijumu, što se postiže uvođenjem azota pod pritiskom i to 1h pre određivanja.



Slika 15. Spektri NBT reagensa pre (A) i posle reakcije sa superoksidnim anjonom iz uzorka (B).

Na Slici 15 su prikazani spektri NBT reagensa (A) i nakon reakcije sa superoksidnim anjonom iz uzorka plazme (B). Analizom snimljenih spektara se vidi da je apsorpcioni maksimum nastalog formazana na 550 nm, pa smo bili u mogućnosti da

primenimo modifikaciju ove metode sa čitanjem na Elisa readeru koji je imao optički filter na 550 nm.

Hemikalije. Kalijum-dihidrogenfosfat (Mm=136,1, Calbiochem); dinatrijum-monohidrogenfosfat (Mm=142, Calbiochem), etilendiaminotetrasirćetna kiselina (EDTA, dinatrijumova so, dihidrat, $C_{10}H_{14}N_2N_2O_8 \times 2H_2O$, Mm=372,24, Merck); nitrobluetetrazolijum [NBT, 2,2'-Di-p-nitrofenil-5,5'-difenil-3,3'-(3,3'-dimetoksi-4,4'-difenilen-ditetrazolijum hlorid, Mm= 817,7, Sigma].

Reagensi.

1. Fosfatni pufer 0,05 mol/L (pH-8,6), uz dodavanje EDTA u koncentraciji od 0,1 mmol/L.
2. Radni reagens. 1 mmol/L NBT-a se rastvori u sveže pripremljenom fosfatnom puferu uz dodatak 0,1 mg/mL želatina.

Biološki materijal. Isključivo plazma, primećeno je da u serumu nema nikakve reakcije sa NBT supstancom, tj. ne dolazi do njegove redukcije koja bi bila merljiva (kao da se u procesu koagulacije istroši sav superoksidni anjon).

Izračunavanje. Brzina generisanja superoksidnog anjona se izražava preko brzine stvaranja redukovanog NBT-a. Brzina redukovanja NBT-a se određuje kinetičkim postupkom, a izračunava se upotrebom molarnog ekstinkcionog koeficijenta monoformazana.

$$\text{red.NBT, } \mu\text{mol / min / L} = \frac{\Delta A / \text{min} \times V_{\text{uk}}}{\epsilon \times l \times V_{\text{uz}}} \times 10^6 = \frac{\Delta A / \text{min} \times 1,05}{15000 \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times 1 \text{ cm} \times 0,05 \text{ mL}} \times 10^6$$

gde su:

Vuk-1,05 mL (ukupna zapremina u kiveti)

Vuz-0,05 mL (zapremina uzorka u kiveti)

l-dužina svetlosnog puta (1 cm)

ϵ -molarni ekstinkcioni koeficijent monoformazana ($15\ 000 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$)

10^6 -faktor za prevođenje mol u μmol .

Krajnji izraz za izračunavanje glasi:

$$\text{red. NBT, } \mu\text{mol/min/L} = \Delta A / \text{min} \times 1400$$

Reakcija redukcije NBT-a pomoću superoksidnog anjona je jako brza, tako da se posle 60 sekundi reakcija završava. Uočeno je da je samo u prvih 60 sekundi reakcija linearna.

3.2.5.5. Određivanje prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB)

Reagensi i hemikalije. Sve hemikalije su bile nabavljene od Acros Organics (Acros Organics, Geel, Belgium). Za izvođenje PAB testa korišćena je metoda Hamidi-Alamdaria i saradnika¹⁰⁷ uz određene modifikacije. Kao uzorak je korišćena plazma dobijena iz venske krvi uz etilendiamino-tetrasirćetnu kiselinu (EDTA) kao antikoagulans. Kao uzorak može se koristiti i serum dobijen centrifugiranjem pune krvi na 3.000 o/min u trajanju od 15 minuta. Dobijena plazma se odvoji i čuva na -80 °C. Prema podacima iz literature vrednosti PAB-a u plazmi veće su nego u serumu istih osoba. Ova razlika posledica je različitog nivoa proteina u plazmi i serumu, tako da smo se mi odlučili, da bi izbegli uticaj ovog efekta da kao materijal konzistentno koristimo plazmu u svim ispitivanjima. Hemoliza pozitivno interferira, dok urea, heparin, EDTA i citrati ne interferiraju sa određivanjem PAB parametra.

Modifikovani PAB test

PAB testom se određuje koncentracija vodonik-peroksida (H_2O_2) u antioksidativnom okruženju. Hromogen 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) reaguje i sa vodonik-peroksidom i sa antioksidansima (mokraćnom kiselinom) u isto vreme, obzirom da se nalaze u istoj sredini. Reakcija H_2O_2 i hromogena je enzimski katalizovana enzimom peroksidazom, pri čemu oksidovanjem TMB-a nastaje intenzivno plavo obojeni proizvod. Za razliku od toga reakcija mokraćne kiseline i hromogena je nekatalizovana, hemijska reakcija u kojoj se TMB katjon redukuje do bezbojnog proizvoda. Intenziteti obojenja standardnih rastvora su srazmerni odnosu dodatih količina H_2O_2 i mokraćne kiseline. Kapacitet prisutnih antioksidanasa se kalibriše prema mokraćnoj kiselini i izražava u μmolxL^{-1} mokraćne kiseline, a kapacitet prooksidanasa se kalibriše prema H_2O_2 i izražava

u μmolxL^{-1} H_2O_2 . Za pravljenje standardne krive se koriste rastvori H_2O_2 i mokračne kiseline u različitim odnosima, tako da na početku dominira mokračna kiselina a na kraju H_2O_2 . Ove dve komponente su izabrane za predstavnike prooksidanasa i antioksidanasa, jer ne reaguju jedna sa drugom i ne ometaju aktivnost jedna drugoj prema hromogenu.

Reagensi.

- 1. TMB I rastvor.** 60 mg TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin) supstance se rastvori u 10ml dimetilsulfoksida (DMSO), rastvor se podeli na zapremine od 1,1 ml i čuva na -20°C .
- 2. TMB katjon.** Za pripremu TMB katjona 1 ml TMB/DMSO (TMB I) se doda u 50 ml acetatnog pufera (0,05M, pH 4,5), zatim se doda 175 μL sveže pripremljenog hloramina T (100 mmolxL^{-1}), dobro se promeša i inkubira 1 sat na 37°C , na tamnom mestu uz stalno mešanje. Nakon inkubacije u 50 ml TMB katjona doda se 25 U enzima peroksidaze. Dobijeni rastvor se pažljivo promeša, podeli u zapremine od 1,1 ml i čuva na -20°C .
- 3. TMB II rastvor.** 200 μl TMB/DMSO se rastvori u 10 ml acetatnog pufera (0,05M, pH 5,6). Ovako pripremljen rastvor najbolje je koristiti odmah ili maksimalno u roku od 2 dana, pri čemu se čuva na temperaturi od 4°C .
- 4. Radni rastvor.** 1 ml TMB katjona se doda u 10 ml TMB rastvora II i 6 minuta se meša na sobnoj temperaturi i na tamnom mestu. Ovako pripremljen radni rastvor se koristi odmah.
- 5. Standardni rastvor.** Standardni rastvori se pripremaju mešanjem različitih odnosa (0-100%) 1 mmolxL^{-1} H_2O_2 sa 6 mmolxL^{-1} mokračnom kiselinom (rastvorenom u 10 mM NaOH).

Metoda je spektrofotometrijska, za očitavanje apsorbancija je korišćen ELISA čitač (Pharmacia LKB, Wien, Austria). Reakcija je izvođena na ELISA ploči. Na osnovu apsorbancija koje se dobijaju u standardnim rastvorima konstruiše se kalibraciona kriva iz koje se očitavaju koncentracije uzoraka.

Postupak. Od svakog uzorka, 10 μL standardnog rastvora i slepe probe (destilovana voda) je pomešano sa 180 μL radnog rastvora u svaki od 96 bazena ploče, koji se onda

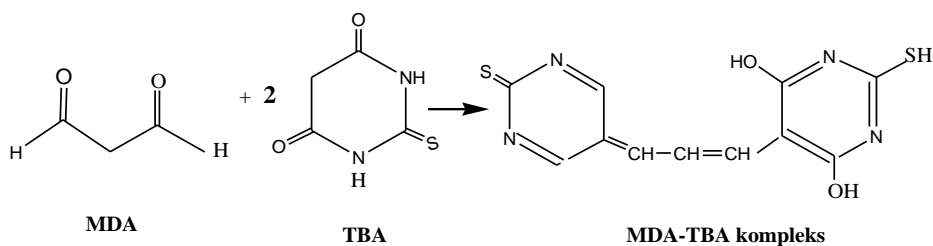
inkubirao 12 minuta na 37 °C, na tamnom mestu. Nakon inkubacije reakcija je prekidana dodatkom 40 μ L 2 molxL⁻¹ hlorovodonične kiseline, pri čemu se dobijena plava boja prevodila u žutu. Apsorbancija se odmah očitavala na ELISA čitaču na 450 nm.

Vrednosti PAB-a se izražavaju u arbitrarnim jedinicama-HKU (hidrogen-peroksid komplementarne jedinice), koje predstavljaju procenat H₂O₂ u standardnim rastvorima pomnožen sa 6. Zahvaljujući ovoj multiplikaciji, moguće je očitavanje većeg raspona dobijenih vrednosti.

Modifikaciju metode smo izvršili na taj način što smo zapremine uzorka, standardnih rastvora, slepe probe i reagensa prilagodili standardnim zapreminama bazena ELISA ploče i na taj način što smo povećali količinu enzima peroksidaze u radnom rastvoru i time omogućili dobijanje linearne zavisnosti između koncentracije i apsorbancije prilikom izrade kalibracione krive.

3.2.5.6. Određivanje koncentracije malondialdehida (MDA)

Koncentracija MDA se određuje kao tiobarbiturna kiselina-reagujuće supstance (TBARS) spektrofotometrijskim testom koji se zasniva na apsorpcionom maksimumu kompleksa malondialdehida i ostalih TBARS sa tiobarbiturnom kiselinom na 535 nm, čiji je molarni ekstinkcioni koeficijent 1,56x10⁵ L/mol/cm¹⁰⁸. Princip ove metode se zasniva na sledećoj reakciji prikazan na Slici 16.



Slika 16. Mehanizam reakcije TBARS sa tiobarbiturnom kiselinom

Hemikalije. Trihlorsirćetna kiselina (Mm=163,39); tiobarbiturna kiselina [2-tio-barbituricacid (4,6-dihidroksi-2-tiopirimidin), Mm = 144,2]; hlorovodonična kiselina

(Mm=36,46, 36,2%, Zorka, Šabac); TRIS (hidroksimetil) aminometan (Mm=121,14); malondialdehid, MDA (malondialdehydbis-(dimethylacetal), Mr = 164,20 , 97%).

Aparati, pribor i uslovi određivanja. Spektrofotometar, vodeno kupatilo, centrifuga, vorteks-mešalica, laboratorijski sat, automatske pipete, epruvete, staklene kivete, talasna dužina 535 nm, temperatura 100°C.

Reagensi.

1. TBA Reagens 0,917 mmol/L trihlorsirćetna kiselina (TCA, 15% rastvor), 2,6 mol/L (0,375%) TBA-tiobarbiturna kiselina, 0,25 mol/L HCl. Sve ove komponente se rastvaraju u destilovanoj vodi, reagens se čuva u frižideru, na +4°C.
2. TRIS-Cl pufer 0,05 mol/L, pH 7,4.
3. Koncentrovani standard MDA, malonaldehid bis(dimetil acetal) ili 1.1.3.3-tetraetoksipropan, Mr=164,1 mmol/L.

Za izračunavanje koncentracije MDA korišćena je standardna kriva koja je konstruisana upotrebom standarda koncentracije od 1-10 µmol/L, napravljenih od osnovnog standarda MDA koncentracije 1 mmol/L kao što je prikazano u Tabeli 3.

Tabela 3. Postupak za konstruisanje standardne krive za određivanje MDA.

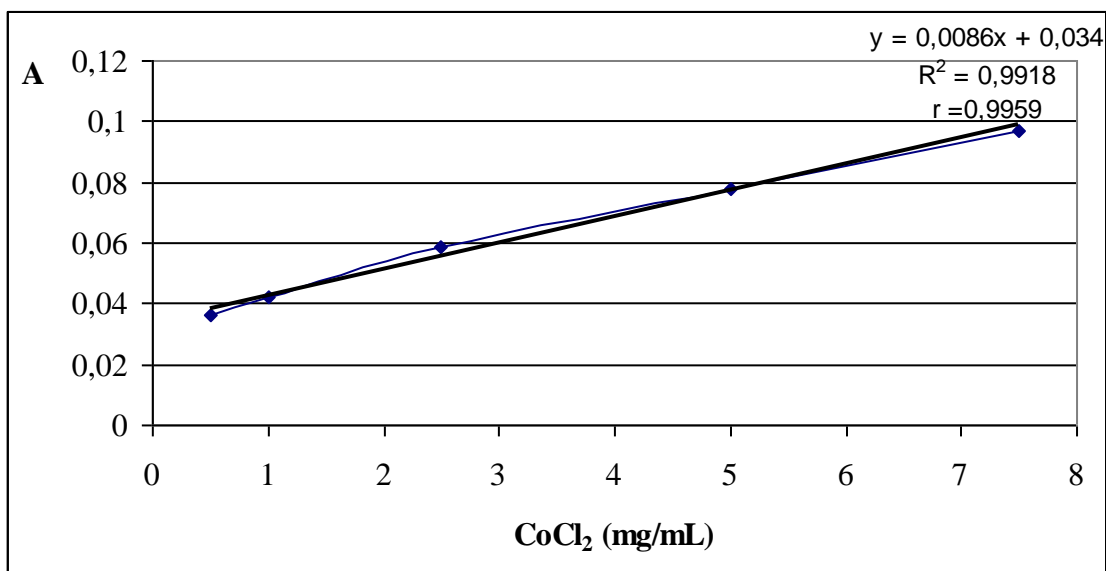
Standardi	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
MDA, mL	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.10
Pufer, mL	0.99	0.98	0.97	0.96	0.95	0.94	0.93	0.92	0.91	0.90
cMDA, µmol/L	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Izračunavanje koncentracije MDA. Osim uz upotrebu standardne krive, koncentracija MDA može se izračunati i upotrebom molarnog ekstinkcionog koeficijenta $1.56 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ nastalog kompleksa između MDA i tiobarbiturne kiseline.

3.2.5.7. Određivanje koncentracije ishemijom modifikovanog albumina (IMA)

Određivanje IMA je primarno implementirano od strane Bar-Ora¹⁰⁹ i saradnika 1990. godine u formi ACB testa, po principu kolorimetrijskog testa. ACB test se zasniva na ispitivanju kardijalnom ishemijom izazvanih promena u humanom albuminu i time redukovanim vezivanjem egzogenog Co (II) za albumin¹¹⁰.

Koncentracija IMA može biti određena dodatkom poznate količine kobalta (II) u serum i potom određivanjem nevezanog kobalta (II) kolorimetrijski sa DTT (ditiotreitol) reagensom. Od apsorbance dobijene u ovoj reakciji se oduzima absorbanca slepe probe analize dobijene reakcijom koja se odigrava u serumu bez prisustva DTT reagensa¹¹⁰. Ova metoda predstavlja kvantitativnu dijagnostičku procenu prisustva IMA u in vitro humanom serumu, a čiji rezultati su izraženi u jedinicama absorbancije (ABSU). Standardizacija metode je izvršena korišćenjem serijskih razblaženja rastvora $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ u vodi koncentracija: 10, 7,5, 5, 2,5, 1 i 0,5 mg/mL, a linearnost je utvrđena u opsegu od 0,5 – 7,5 mg/mL. Standardna kriva sa jednačinom i koeficijentima determinacije (R^2) i korelacije r je prikazana na Slici 17.



Slika 17. Standardna kriva za određivanje koncentracije IMA

Reagensi

1. Reagens 1 – rastvor solvatisanog kobalt – hlorida ($\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) u vodi – priprema se rastvaranjem 0,01 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ u 100 mL vode.
2. Reagens 2 – rastvor ditiotretiola (DTT) u vodi – priprema se rastvaranjem 0,15g DTT-a u 10 ml vode.
3. Reagens 3 – fiziološki rastvor (0,9 % NaCL) – priprema se rastvaranjem 0,9 g NaCL- a u 100 ml vode.

Svi reagensi su bili ex tempore napravljeni zbog pouzdanosti i tačnosti rezultata.

Pribor i aparatura

- Elisa čitač (Pharmacia LKB, Wien, Austria)
- Elisa ploče
- Eppendorf epruvete
- Automatske pipete i odgovarajući plastični nastavci
- Automatski analizator ILAB 300+ (Instrumentation Laboratories, Milan, Italy)

Izvođenje ACB testa. Postupak određivanja IMA-e se sastoji iz nekoliko koraka. U elisa ploču je najpre pipetirano 35 μl uzorka (seruma), potom 10 μl rastvora kobalt-hlorida. Sadržaj ploče je inkubiran na sobnoj temperaturi 10 minuta uz blago mešanje na Elisa šejkeru. Paralelno se na isti način pripremala i slepa proba. Po isteku vremena inkubacije dodavalo se 10 μl rastvora ditiotretiola i ponovo inkubiralo na sobnoj temperaturi u trajanju od 2 minuta. Nakon isteka ovog inkubacionog vremena reakcija se zaustavljala dodatkom 175 μl fiziološkog rastvora. U slepu probu se nije dodavao DTT reagens, ali ona je prolazila isti tretman tako da se nakon 2 minuta dodavalo 185 μl fiziološkog rastvora. Intenzitet boje dobijenog hromogena je određivana ELISA čitačem, očitavanjem apsorbanci na talasnoj dužini od 450 nm.

3.2.6. Određivanje vrednosti pokazatelja antioksidativne zaštite

Prilikom određivanja koncentracija pokazatelja antioksidativne zaštite, po jedna ependorfa sa serumom i/ili plazmom (po jednom bolesniku i po jednom merenju) je

odmrzavana sa -80°C na sobnu temperaturu i pripremana za analizu (ILAB 650 analyzer - Instrumentation Laboratory, Milan, Italy).

3.2.6.1. Određivanje aktivnosti enzima paraoksonaze (PON1)

Aktivnost ovog enzima određuje se spektrofotometrijskom metodom koja meri stepen hidrolize dva supstrata, paraoksona i diazoksona. Apsorbancija nastalog proizvoda meri se na 405 nm za paraokson i na 270 nm za diazokson pri 37°C . Aktivnost enzima izražava se u međunarodnim jedinicama po litru seruma (U/L)¹¹¹.

Hemikalije. Paraokson (O,O-dietil-O-p-nitrofenilfosforna kiselina, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NO}_6\text{P}$, $\text{Mr}=275,2$, Chem Service, West Chester, Pensilvanija); Tris (trishidroximetilaminometane, 2-amino-2-hidroksimetil-1,3-propandiol, $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$, $\text{Mr}=121,1$).

Aparati i pribor. Spektrofotometar sa termostatomom i kivetom i mogućnošću čitanja u UV i VIS oblasti, pH-metar, automatske i staklene pipete, erlenmajeri, normalni sudovi, laboratorijske naočare, maska.

Reagensi.

- 1. Radni pufer.** Rastvorano je 116g NaCl u oko 800 mL destilovane vode koja sadrži 100 mL 1 mol/L Tris-HCl pufera pH 8,5, 2 mL 1 mol/L CaCl_2 i dopunjavano do 1 L destilovanom vodom. (Konačne koncentracije: 2 mol/L NaCl, 0,1M Tris-HCl pH 8,5, 2,0 mmol/L CaCl_2). Čuvanje na sobnoj temperaturi.
- 2. Diluent pufer.** Da bi se napravio jedan litar ovog pufera dodavano je 10 mL 1 mol/L Tris-HCl pufera pH 8,5, 2 mL 1 mol/L CaCl_2 i dopunjavano do 1 L destilovanom vodom (Konačne koncentracije: 10 mmol/L Tris-HCl, pH 8,5, 2 mmol/L CaCl_2).
- 3. Zasićen rastvor NaOH.** Napravljen rastvor NaOH minimalne koncentracije 2 mol L⁻¹ je korišćen za dekontaminaciju korišćenog posuđa i razgradnju preostalog paraoksona pre bacanja u slivnik.
- 4. Paraokson supstrat 1,2 mmol/L.** Dodavano je 12,9 μL paraoksona u 50 mL radnog pufera, pa je zatvaran normalni sud i snažno promešan nekoliko puta,

pažljivo iznad sudopere. Čuvanje je bilo u plastičnim neprozirnim bočicama, dobro zatvoreno. Može se odmah napraviti veća količina (koliko se isplanira da je potrebno za određeni eksperiment) koja se u plastičnim bočicama, podeljeno u manje količine dovoljne za rad u toku jednog dana, čuva u zamrzivaču. Čak se posle upotrebe višak koji preostane može vratiti u zamrzivač i ponovo odmrznuti sledećeg radnog dana. Potrebno je vrlo oprezno raditi sa ovim toksičnim supstratom. Tokom rada nošene su zaštitne laboratorijske naočare i maska. Pre rada je pripremljen zasićeni rastvor NaOH u velikoj, širokoj posudi (laboratorijska čaša zapremine nekoliko litara) i sav otpad je bačen, a prljavo posuđe, plastične nastavke, ampulu u kojoj je stajao rastvor paraoksona i sve ostalo što je došlo u kontakt sa paraoksonom prvo je potapano u taj rastvor, a zatim prano ili bacano. Ukoliko se koristi spektrofotometar sa protočnom kivetom, na dno boce u koju se izliva tečnost nakon merenja pre rada, svakog dana usipan svež koncentrovani rastvor NaOH, od prilike 1/3 zapremine boce.

Izvođenje reakcije. Za određivanje POazne aktivnosti serum je razblaživan diluent puferom u odnosu 1:10. U epruvetu je odmereno 50 μ l razblaženog seruma i dodavano je 500 μ l rastvora paraoksona. Nakon toga je mešano, sipano u kivetu ili aspirirano u slučaju protočne kivete i aktiviran početak merenja na spektrofotometru. U ovoj studiji je korišćen UV/VIS spektrofotometar (Jasco, Jasco Corporation, Japan) koji je bio povezan sa kompjuterom, tako da je očitavanje apsorbancije bilo softverski dirigovano za zadate parametre (način rada: kinetički, vreme čitanja 3 minuta, temperatura 25°C, $\lambda=405$ nm).

Izračunavanje POazne aktivnosti. Prema Lambert-Beerovom zakonu:

$$A = \varepsilon \times l \text{ cm} \times c$$

gde su:

- A-apsorbancija
- ε -molarni apsorpcioni koeficijent p-nitrofenola na pH 8,5 = 18 000 L/mol/cm
- l cm-dužina optičkog puta (uobičajeno je 1 cm, ali obavezno proveriti kod svakog spektrofotometra, može biti i manji)

Iz osnovne formule se izvodi sledeća formula:

$$c = \frac{\Delta A / \text{min}}{\varepsilon \times l \text{ cm} \times 10^{-6}} \times \frac{V_{\text{uk}}}{V_{\text{uz}}} = \frac{\Delta A / \text{min} \times 10^{-6}}{18000 \times L \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times 1 \text{ cm}} \times \frac{0,55}{0,05} \times 10$$

gde su:

- 10^{-6} -faktor kojim se mol prevodi u μmol jer je molarni ekstinkcioni koeficijent izražen u L/mol/cm a enzimska aktivnost se izražava u broju μmol proizvoda koji nastane u minutu u litru rastvora.
- 10-faktor inicijalnog razblaženja seruma (1:10)
- V_{uk} -ukupna zapremina u epruveti (0,5 mL supstratni reagens + 0,05 mL uzorak = 0,55 mL)
- V_{uz} -zapremina uzorka (0,05 mL)

Krajnja formula za izračunavanje glasi:

$$\Delta A / \text{min} \times 6111 = \mu\text{mol } p\text{-nitrofenola po min u litri rastvora} = IU/L \text{ PON1 aktivnosti}$$

3.2.6.2. Određivanje ukupnog sadržaja sulfhidrilnih grupa (tSHG)

Ova metoda se zasniva na reakciji 2,2'-dinitro-5,5'-ditio-benzojeva kiseline (DTNB) sa alifatičnim tiolnim jedinjenjima u baznoj sredini (pH 9.0), pri čemu se stvara jedan mol p-nitrofenol-anjona po jednom molu tiola. Pošto je ovaj anjon u baznoj sredini jako žuto obojen, merenje njegove apsorbcije je moguće na 412 nm¹¹².

Postupak određivanja SH-grupa. Spektri DTNB reagensa (A) i nastalog TNB jedinjenja (B) u reakciji između DTNB reagensa i SH grupa iz uzorka

Hemikalije. Dikalijum-hidrogen fosfat (Mm=174,2, Calbiochem); etilendiaminotetra sirćetna kiselina (EDTA, dinatrijumova so, dihidrat, Mm=372,24, Merck); 2,2'-dinitro-5,5'-ditio-dibenzojeva kiselina (DTNB, Mm=396,0 Merck); redukovani glutation (GSH, Mr=307.02, 98%, ACROS).

Reagensi

1. 0,2 mol/L K₂HPO₄, 2 mmol/L EDTA, pH 9,0
2. 10 mmol/L DTNB, rastvoren u 50 mmol/L fosfatnog pufera, pH 7,0

Aparati, pribor i uslovi određivanja. Spektrofotometar, vorteks-mešalica, automatske pipete, epruvete, laboratorijski sat, talasna dužina 412 nm, temperatura 25°C.

Izračunavanje. Koncentracija ukupnog sadržaja SH grupa u plazmi izračunava se preko molarog ekstinkcionog koeficijenta p-nitrofenola na 412 nm, koji za date uslove ima vrednost od 13600 L mol⁻¹ cm⁻¹. Koncentracija ukupnog sadržaja SH grupa se može izračunati i uz upotrebu standardne krive korišćenjem vodenog rastvora redukovano glutaciona (GSH) kao standarda.

$$SH \text{ grupe, mmol/L} = \frac{A_A}{\epsilon} \times \frac{V_{uk}}{V_{uz}} \times 1000$$

gde su:

- ϵ -13 600 Lx mol⁻¹xcm⁻¹
- V_{uk}-ukupna zapremina (0,97 mL)
- V_{uz}-zapremina uzorka (0,05 mL)

Referentne vrednosti. Poznate su referentne vrednosti za humanu plazmu: 0,400-0,500 mmol/L.

3.2.6.3. Određivanje koncentracije totalnog antioksidativnog statusa (TAS)

TAS je određivan metodom po Erelu¹¹³ koja je aplikovana na automatskom analizatoru. Test se izvodi uz upotrebu ABTS⁺ katjona kao hromogena. Sam ABTS rastvor je bezbojan. Nakon oksidacije do ABTS⁺ pomoću vodonik-peroksida u kiselom medijumu, rastvor dobija karakterističnu smaragdnu boju. Kada se obojeni ABTS⁺ rastvor pomeša sa supstancama koje mogu da se oksiduju, kao što su antioksidansi iz uzorka, dolazi do njegove redukcije u bezbojni ABTS. Intenzitet obezbojavanja izmeren na 660 nm, srazmeran je koncentraciji prisutnih ukupnih antioksidanata u ispitivanom uzorku⁹⁵. Reakcije su se izvodile na ELISA ploči (koja ima 96 mesta) čime je postupak izvođenja u

značajnoj meri olakšan. Modifikacija metode izvršena je u smislu prilagođavanja preporučenih zapremina standardnim zapreminama ELISA ploče.

Koncentracija prisutnih antioksidanasa u uzorku određivana je upotrebom standardne krive. Najčešće upotrebljavani standard za određivanje TAS je Trolox, hidrosolubilni ekvivalent vitamina E. Kako se on teško rastvara u vodi, za pripremu rastvora korišćen je 30 mmol/L fosfatni pufer, pH=7,4. Dobijeni rezultati izražavaju se u mmol/L Trolox ekvivalenta. Pri konstruisanju standardne krive korišćeni su rastvori Troloksa rastućih koncentracija i to: 0,125 mmol/L; 0,25 mmol/L; 0,5 mmol/L; 0,75 mmol/L; 1 mmol/L; 1,5 mmol/L; 2 mmol/L, što je ujedno i gornja granica linearnosti metode.

Reagensi za određivanje koncentracije TAS.

- **Reagens 1:** Acetatni pufer (pH = 5,8; 0,4mol/L). Priprema se mešanjem 940 ml CH₃COONa (0,4mol/L) i 60 ml CH₃COOH (0,4mol/L) za 1000ml rastvora (prvo se dodaje bazna komponenta, a potom kisela dok se ne postigne potrebna pH vrednost). Rastvor pufera je stabilan šest meseci na temperaturi od +4°C.
- **Reagens 2:** Rastvor ABTS-a [2,2-azobis (3-etilbenzotiazolidin-6-sulfonat)]. Priprema se mešanjem 30 ml acetatnog pufera (pH=3,6; 30 mmol/L), 70 ml rastvora H₂O₂ (2 mmol/L). Potom se 0,549 g čvrstog ABTS-a rastvori u 100 ml prethodno pripremljenog rastvora (finalna koncentracija rastvora ABTS-a je 10 mmol/l). Inkubira se 1h na sobnoj temperaturi, dok rastvor ne poprimi karakterističnu intenzivnu plavo-zelenu boju ABTS+ jona. Ovako pripremljen reagens je stabilan šest meseci na 4°C.
- **Reagens 3:** Rastvor Troloksa. Kao standard koristi se hidrosolubilni analog vitamina E – Trolox (6 – hidroksi - 2,5,7,8 - tetrametilroman - 2 - karboksilna kiselina, Mr=250,29 g/mol). Rastvor Troloxa priprema se rastvaranjem u fosfatnom puferu, pH=7,4; 30 mmol/L.

Serum za analize dobijen je iz pune krvi, a bolje odvajanje supernatanta (seruma) od koaguluma postignuto je centrifugiranjem 15 minuta na 3000 obrtaja u minuti. Na ovaj način dobijen serum čuvan je na temperaturi od +4°C za analize koje se odmah rade ili na temperaturi od -80°C za kasnija određivanja.

Izvođenje. Postupak određivanja TAS-a sastoji se iz nekoliko koraka. U bazenčice Elisa ploče je pipetirano 200 μ l reagensa 1 (acetatnog pufera), 12,5 μ l seruma i 37,5 μ l reagensa 2 (rastvor ABTS-a). Sadržaj ploče je inkubiran 5 minuta na 37°C ili 10 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon isteka inkubacionog perioda apsorbancije ispitivanih rastvora čitale su se na Elisa čitaču, na talasnoj dužini od 660 nm. Kao slepa proba reagensa korišćen je reagens 2 – rastvor ABTS-a.

3.2.6.4. Određivanje aktivnosti plazmatske superoksid-dismutaze (SOD)

Određivanje aktivnosti ovog enzima u plazmi i homogenatima tkiva se izvodi po originalnoj metodi koju su dali Misra i Fridovich¹¹⁴ uz određene modifikacije. Metoda se zasniva na sposobnosti enzima superoksid-dismutaze da inhibira spontanu autooksidaciju adrenalina u baznoj sredini na pH 10,2. Aktivnost ovog enzima se izražava u relativnim jedinicama, koje se dobijaju merenjem apsorbancije nastalog crvenog proizvoda oksidacije adrenalina na 480 nm, bez prisustva superoksid-dismutaze (kontrola) i u prisustvu superoksid-dismutaze (analiza). Aktivnost superoksid-dismutaze u uzorku se izračunava kao procenat inhibicije autooksidacije adrenalina.

Reagensi

- Karbonatni pufer 0,05 mmol/L pH 10,4, kome je dodat 1 mmol/L EDTA
- Hlorovodonična kiselina, 20 mmol/L
- Osnovni rastvor adrenalina, 10 mmol/L, rastvoren u 20 mmol/L HCl.

Izvođenje analize. Reakcija počinje dodavanjem adrenalina u reakcionu smešu. Nakon mešanja kivetu je ostavljena na tamnom mestu, na 25°C, 3 minuta (vreme preinkubacije). Očitavana je apsorbancija na svaki minut u toku naredna 3 minuta, a nakon to je izračunavana $\Delta A/\text{min}$ za kontrolu i analize.

Izračunavanje. Relativna jedinica aktivnosti superoksid-dismutaze (SOD) je definisana kao ona aktivnost koja dovodi do 50 % inhibicije autooksidacije adrenalina pod određenim uslovima. Izabrana je ona koncentracija adrenalina koja će u kontroli dati promenu apsorbancije u minuti od 0,025. Pri tome se polazi od koncentracije adrenalina od 10 mmol/L, a zatim se on razblažuje sve dok se ne postigne $\Delta A/\text{min}$ od 0,025. Izabrana je

promena apsorbancije u minuti od 0,025, jer je utvrđeno da superoksid-dismutaza tada postiže najviši procenat inhibicije autooksidacije adrenalina. Pod uslovima u kojima je bila izvođena reakciju bila je potrebna koncentracija adrenalina od 3 mmol/L da bi se postigla odgovarajuća promena apsorbancije. Obzirom na definiciju relativne jedinice aktivnosti enzima superoksid-dismutaze, jedinična aktivnost bi dovela do 50% smanjenja apsorbancije odnosno $\Delta A/\text{min}$ bi u takvom uzorku bila 0,0125.

Aktivnost SOD-e u relativnim jedinicama se izračunava preko sledeće proporcije:

$$0.0125 : 1U = [0.025 - (\Delta A_{\text{analize}}/\text{min})] : X$$

Da bi se dobila aktivnost u 1 mL plazme dobijena vrednost je pomnožena razblaženjem uzorka (Vukupan/Vuzorka), a zatim sa 1000 da bi se dobila aktivnost u zapremini od 1L plazme (SOD, U/L). Kao uzorak korišćena je EDTA plazma.

Sve dobijene vrednosti pokazatelja oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite su se beležile u postojeću bazu podataka. Time su se stvorili uslovi da se uradi adekvatna statistička analiza.

3.2.7. EuroQol upitnik-Procena kvaliteta i brzine oporavka

Obzirom da stepen oksidativnog stresa direktno utiče na brzinu oporavka organizma, u ovoj studiji je korišćen veoma jednostavan EuroQol upitnik, koji na osnovu odgovora bolesnika lekar popunjava za manje od jednog minuta. Ovaj upitnik se sastoji iz dva dela:

1. Upitnik koji se sastoji od pet jednostavnih pitanja vezanih za zdravstveni status bolesnika (EQ-5D)
2. Vizuelna analogna skala (EQ-VAS)

Upitnik EQ-5D se sastoji od pet pitanja vezanih za trenutno zdravstveno stanje bolesnika: pokretljivost, briga o sebi, uobičajene aktivnosti, bol (nelagodnost) i briga

(potištenost). Na svako pitanje ponuđena su po tri jednostavna, gradirana odgovora: bez problema, umereni problemi i ekstremni problemi.

Kao što se može videti ovaj upitnik se odnosi i na fizičko, kao i psihološko stanje bolesnika. Skoriranje EQ-5D zdravstvenog statusa bazirano je na „tarifama” dobijenim anketom u Ujedinjenom Kraljevstvu¹¹⁵. Prema pomenutom scoring sistemu, najniži zdravstveni status koji se može izmeriti EQ-5D instrumentom jednak je -0.594, dok najbolji zdravstveni status iznosi 1.

Vizuelna analogna skala-VAS skala se sastoji od 100 podeoka sličnih termometru. Bolesnik treba da odgovori kako se oseća na skali od 0–100. EuroQol upitnik je validiran za Republiku Srbiju 2005.godine.

Bolesnici su grupisani u grupe (prema godinama, polu, komorbiditetu, EuroSCORE-u, karakteru koronarne bolesti, broju bajpaseva) tako da se dobiju potpuno homogene grupe, koje su se kasnije analizirale. Na osnovu ciljeva istraživanja i upoređivanjem gore navedenih parametara u potpuno homogenizovanim grupama, došlo se do zaključaka.

3.3. STATISTIČKA ANALIZA

Statistička analiza je izvođena metodama deskriptivne i analitičke statistike uz računarsku podršku i softverski paket SPSS (IBM ®SPSS® version 22.0).

Od deskriptivnih metoda koristili su se: tabeliranje, grafičko prikazivanje, izračunavanje mera centralne tendencije, mera varijabiliteta i relativnih brojeva.

Od analitičkih metoda korišćene su: Kolmogorov-Smirnov test za proveru oblika raspodele podataka, Studentov t test, analiza varijanse (ANOVA), ANOVA za ponovljena merenja sa Bonferroni post-hoc testom, neparametarski Mann-Whitney U test za nezavisne uzorke, neparametarska ANOVA (Kruskall-Wallisov test), neparametarska ANOVA sa ponovljenim merenjima (Friedmanov test) sa Wilcoxonovim testom rankova kao post-hoc testom. Korelacija parametara je ispitivana primenom Spearmanove neparametarske korelacione analize.

Svi faktori čiji uticaj dostizao statističku značajnost na nivou verovatnoće $p < 0.01$ su ulazili unešen u multivarijatni, regresioni model koji je dao ocenu njihove nezavisne prediktivne vrednosti. Nezavisna prediktivna vrednost navedenih faktora je procenjena kako na celokupnom uzorku, tako i u pojedinačnim grupama. Za sve primenjene statističke testove značajnim je smatrano $P < 0,05$.

Primenjena je i binarna logistička regresiona analiza sa ciljem utvrđivanja značajnih prediktora niskog rizika za postoperativni oporavak.

Dobijeni rezultati u ovom istraživanju, ukoliko se radilo o kontinuiranim podacima, prikazivani su kao srednje vrednosti i standardne devijacije, ukoliko je raspodela ispitivanih sledila normalni tok. Normalnost distribucije je proveravana računanjem koeficijenata asimetrije (skewness) i zaobljenosti (kurtosis) kojima je opisivan oblik distribucije, crtanjem histograma i upotrebom Kolmogorov-Smirnov testa. Kod parametara čija distribucija nije sledila normalni tok, proveravana je distibucija logaritmovanih vrednosti i rezultati su prikazivani kao geometrijske sredine i intervali pouzdanosti¹¹⁶. Kategorički podaci su prikazivani kao apsolutne frekvence, a razlike između njih testirane su upotrebom χ^2 (Hi-kvadrat) testa. Multipla linearna regresiona analiza (selekcija unazad ili „backward” selekcija) je korišćena da bi se utvrdilo koji model (grupa) parametara sa najvećim procentom utiče na varijabilnost vrednosti selektovanih parametara od interesa.

Klinička tačnost ispitivanih parametara je proverena ROC analizom. Parametri sa statistički značajnom tačnošću su dalje međusobno kombinovani, pri čemu su formirani modeli za koje su računane površine ispod krive (AUC, engl. **Area Under the Curve**), standardne greške i 95% intervali pouzdanosti (95th CI, engl. **Confidence Interval**).

4. REZULTATI

4.1. STRUKTURNE ANALIZE GRUPE BOLESNIKA

U studiju je uključeno ukupno 107 bolesnika, podeljenih u dve grupe:

- CPB grupa – 60 bolesnika
- OPCAB – 47 bolesnika

4.1.1. Distribucija ispitanika po starosti

Kod obe grupe bolesnika, distribucija ispitanika po starosti prikazana je u Tabeli 4. Prosečna starost bolesnika u CPB grupi bila je $63,6 \pm 9,8$ godina, a u OPCAB grupi bila je $64,7 \pm 9,3$ godina.

Tabela 4. Distribucija ispitanika po starosti kod obe grupe bolesnika

Starost, godine	CPB (n=60)	OPCAB (n=47)	P
	$63,6 \pm 9,8$ (41-78)	$64,7 \pm 9,3$ (44-82)	0,545

\pm SD (min-max), P – Studentov t test

Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji ispitanika po starosti između ispitivanih grupa (Studentov t test za nezavisne uzorke).

4.1.2. Distribucija ispitanika prema polu

Kod obe grupe bolesnika, distribucija ispitanika prema polu prikazana je u Tabeli 5.

Tabela 5. Distribucija ispitanika prema polu

POL		Vrsta operacije		Ukupno
		CPB	OPCAB	
muški	N (%)	49 (81,7%)	32 (68,1%)	81(75,7%)
ženski	N (%)	11 (18,3%)	15 (31,9%)	26 (24,3%)
Ukupno	N (%)	60 100,0%	47 100,0%	107 100,0%

Distribucija ispitanika po polu u dve ispitivane grupe bolesnika bila je ujednačena ($\chi^2=2,64$, $P=0,104$). U obe grupe je bio zastupljen proporcionalno veći broj muškaraca u odnosu na žene, što je u skladu sa opštom prevalencom koronarne bolesti kod ove kategorije bolesnika u odnosu na pol.

4.1.3. Distribucija ispitanika prema indeksu telesne mase (BMI)

Distribucija ispitanika prema indeksu telesne mase (BMI) prikazana je u Tabeli 6.

Tabela 6. Distribucija ispitanika prema indeksu telesne mase (BMI)

Parametar	CPB	OPCAB	P
Telesna masa pre operacije, kg	85,1±12,3 (58-118)	78,7±12,0 (53-105)	<0,01
BSA, m ²	2,01±0,17 (1,62-2,40)	1,93±0,19 (1,48-2,33)	<0.05
BMI, kg/m ²	28,9±3,8 (21,6-38,1)	27,0±3,31 (19,0-35,9)	<0.01

±SD (min-max), P – Studentov t test

Telesna masa bolesnika pre operacije, površina tela (BSA) i indeks telesne mase (BMI) u OPCAB grupi su bili statistički značajno niži u odnosu na bolesnike iz CPB grupe (Studentov t test).

4.2. TEŽINA KLINIČKIH KARAKTERISTIKA BOLESNIKA I PREDIKTIVNI MORTALITET

Procena težine kliničkih karakteristika bolesnika na osnovu godina, pratećeg komorbiditeta i težine operativnog zahvata su procenjivani kalkulatorima i scoring sistemima posebno definisanim za ovakvu vrstu hirurgije.

Logistic EuroSCORE¹¹⁷ i EuroSCORE II¹¹⁸ su kalkulatori pomoću kojih se vrši procena prediktivnog postoperativnog mortaliteta.

4.2.1. EuroSCORE Logistic i EuroSCORE II

Skorovi za procenu prediktivnog postoperativnog mortaliteta kod obe grupe bolesnika prikazani su u Tabeli 7.

Tabela 7. Skorovi za procenu prediktivnog postoperativnog mortaliteta

Skor rizika	CPB	OPCAB	P
EuroSCORE - Logistic	6,0 (3,0-8,0) (2-14)	6,0 (4,0-9,0) (2-19)	0,334
EuroSCORE II - %	1,34 (0,87-2,38) (0,67-9,86)	1,47(1,01-2,96) (0,65-27,92)	0,363

Medijana (25. – 75. percentil), (minimum-maksimum), P- Mann-Whitney U test

Dve grupe bolesnika se nisu razlikovale po proceni prediktivnog postoperativnog mortaliteta, na osnovu izračunatih skorova ($P > 0,05$), ali se može uočiti trend da bolesnici iz OPCAB grupe imaju više vrednosti ovih skorova.

4.2.2. EuroSCORE Logistic i EuroSCORE II u odnosu na cut-off vrednosti

Oba scoring sistema za procenu rizika od postoperativnog mortaliteta su gradirana prema cut-off vrednostima na nizak, srednji i visok rizik. Bolesnike smo dodatno podelili na podgrupe prema cut-off vrednostima i poredili distribuciju bolesnika kod CPB i OPCAB

grupe u odnosu na stepene rizika, kako bi smo utvrdili da li se dve ispitivane grupe razlikuju po zastupljenosti bolesnika sa niskim, srednjim ili visokim rizikom (Tabele 8 i 9)

Tabela 8. Rapodela broja bolesnika po podgrupama prema cut-off vrednostima Logistic EuroSCORE-a kod obe grupe bolesnika

Vrsta operacije	EuroSCORE Logistic-Grupe po cut-off vrednostima			Ukupno
	Nizak (0-7)	Srednji (8-10)	Visok (11-17)	
CPB n (%)	9 (15,0%)	19 (31,7%)	32 (53,3%)	60 (100,0%)
OPCAB n (%)	6 (12,8%)	15 (31,9%)	26 (55,3%)	47 (100,0%)
Ukupno	15 (14,0%)	34 (31,8%)	58 (54,2%)	107 (100,0%)

$\chi^2=0,114$, $P=0,946$

Tabela 9. Raspodela broja bolesnika po podgrupama prema cut-off vrednostima EuroSCORE II (%) kod obe grupe bolesnika

Vrsta operacije	EUROSCORE II (%) -Grupe po cutoff vrednostima			Ukupno
	Nizak (0-2)	Srednji (3-5)	Visok (>6)	
CPB	49 (81,7%)	10 (16,7%)	1 (1,7%)	60 (100,0%)
OPCAB	36 (76,6%)	6 (12,8%)	5 (10,6%)	47 (100,0%)
Ukupno	85 (79,4%)	16 (15,0%)	6 (5,6%)	107 (100,0%)

$\chi^2=4,14$, $P=0,126$

Primenom χ^2 testa utvrdili smo da su CPB i OPCAB grupa bile homogene po zastupljenosti bolesnika sa različitim stepenima rizika, prema oba EuroSCORE kalkulatora.

4.3. TRAJANJE VANTELESNE CIRKULACIJE I AORTNE KLEME

Prosečno trajanje vantelesne cirkulacije kod CPB grupe bolesnika bilo je 83,5 minuta, dok je prosečno vreme klemovanja aorte kod CPB grupe bolesnika bilo je 46,0 minuta. Prosečno trajanje ekstarkorporalne cirkulacije kod CPB grupe bolesnika prikazana je u Tabeli 10.

Tabela 10. Prosečno trajanje ekstarkorporalne cirkulacije i aortne kleme u CPB grupi bolesnika

Determinante vantelesnog krvotoka	CPB	OPCAB	P
ECC, min	83,5 (75,0-113,2) (46-159)	/	/
ACC, min	46,0 (40,0-55,0) (21-100)	/	/
Protok krvi, L/min	4,75 (4,40-5,00) (4-6)	/	/

Medijana (25. – 75. percentil), (minimum-maksimum)

S obzirom na to da je postojala samo jedna grupa bolesnika koja je podvrgnuta hirurškoj revaskularizaciji miokarda na pumpi za CPB, nije bilo potrebno komentarisati ove nalaze. Konstatovano je da su vremena trajanja vantelesne cirkulacije i trajanja aortne kleme (srčanog aresta) u minutima uobičajeni za ovakve procedure.

4.4. BROJ BAJPASEVA

Prosečan broj ugrađenih bajpaseva kod obe grupe bolesnika prikazan je u Tabeli 11.

Tabela 11. Prosečan broj ugrađenih bajpaseva kod obe grupe bolesnika

Broj bajpaseva	CPB	OPCAB	P
	2,0 (2,0-3,0) (2-5)	2,0 (2,0-2,0) (1-3)	<0,001

Medijana (25. – 75. percentil), (minimum-maksimum), P- Mann-Whitney U test

Bolesnici iz OPCAB grupe su imali 3 ili manje ugrađenih bajpaseva, dok su bolesnici iz CPB grupe imali od 2-5 ugrađenih bajpaseva. Broj ugrađenih bajpaseva je bio statistički značajno veći kod CPB grupe bolesnika ($P < 0,001$).

4.5. VREME TRAJANJA OPERACIJE

Ukupno vreme trajanja operacije se računalo od prvog reza na koži do ulaska na Odeljenje kardiohirurške intenzivne nege. Prosečne vrednosti vremena trajanja operacije u minutima kod obe grupe bolesnika su prikazane u Tabeli 12.

Tabela 12. Vreme trajanja operacije kod obe grupe bolesnika

Trajanje operacije (min)	CPB	OPCAB	P
	240,9±48,1 (140-375)	237,9±45,2 (135-360)	0,740

±SD (min-max), P – Studentov t test

Dve primenjene operativne tehnike bile su uniformne po vremenu trajanja ($P > 0,05$). Utvrđeno je da nije bilo statistički značajne razlike u prosečnom trajanju operacije kod ove dve grupe bolesnika. Ipak, može se uočiti da OPCAB grupa pokazuje trend ka kraćem vremenu potrebnom za izvođenje.

4.6. POSTOPERATIVNO KRVARENJE-DRENAŽA

Procena postoperativnog krvarenja (drenaže) kod obe grupe bolesnika izvedena je poređenjem količine izgubljene krvi u prva dva postoperativna dana i poređenjem ukupne količine izgubljene krvi u postoperativnom toku. Količina izgubljene krvi po postoperativnim danima i ukupna količina izgubljene krvi kod obe grupe bolesnika prikazana je u Tabeli 13.

Tabela 13. Postoperativno krvarenje kod obe grupe bolesnika

Parametar	CPB	OPCAB	P
Drenaža-1. postoperativni dan (krv - ml)	600 (500-700)	500 (350-700)	<0,05
Drenaža-2. postoperativni dan (sukrvica - ml)	450 (300-550)	300 (200-450)	<0,01
Drenaža, ukupno (ml)	1000,00 (850-1250)	800 (600-1100)	<0,01

Medijane (25.-75. percentil), Mann-Whitney U test

Bolesnici iz OPCAB grupe su statistički značajno manje krvarili u postoperativnom toku u odnosu na CPB grupu bolesnika.

4.7. TRANSFUZIJA KRVI

Procena nadoknade krvi kod obe grupe bolesnika izvedena je poređenjem broja jedinica transfuzije i ukupnom zapreminom krvi koja je ordinirana bolesnicima. Ukupna količina ordinirane transfuzije krvi kod obe grupe bolesnika je data u Tabeli 14.

Tabela 14. Ukupna količina ordinirane transfuzije krvi kod obe grupe bolesnika

Parametri vezani za transfuziju krvi	CPB	OPCAB	P
Transfuzija, kom	2,00 (1,00-3,00)	1,00 (0,00-2,00)	<0,001
Transfuzija, ml	655,0 (330,0-955,0)	340,0 (0,0-650,0)	<0,001

Medijane (25. – 75. percentil), (min-max), P – Mann-Whitney U test

Bolesnici iz OPCAB grupe su primili statistički značajno manje jedinica transfuzije krvi, kao i prosečno znatno manju ukupnu zapreminu krvi u odnosu na CPB grupu bolesnika.

Raspodela bolesnika u CPB i OPCAB grupi, po broju jedinica transfuzije krvi su prikazane u Tabeli 15.

Tabela 15. Raspodela broja bolesnika u CPB i OPCAB grupi prema broju jedinica transfuzije krvi

Broj jedinica transfuzije krvi	CPB	OPCAB	P
0	2 (3,33%)	15 (31,9%)	<0,001
1	18 (30%)	13 (27,6%)	ns
2	17 (28,3%)	12 (25,5%)	ns
3	13 (21,7%)	5 (10,6%)	<0,01
4	7 (11,7%)	1 (2,1%)	<0,01
≥5	4 (6,7%)	/	/

Broj bolesnika (% u CPB odnosno OPCAB grupi), χ^2 test

U aktuelnoj studiji broj datih jedinica krvi se kretao od 0-13, s tim da treba naglasiti da je samo jedan bolesnik dobio 13 jedinica krvi i da je taj bolesnik operisan CPB tehnikom. Ostali bolesnici su dobijali maksimalno 7 jedinica krvi. Izuzimajući pomenutog bolesnika za ostale bolesnike se može reći da nisu spadali u grupu bolesnika sa ekscenim perioperativnim krvarenjem.

Hi-kvadrat testom (χ^2) je pokazano da trećina OPCAB bolesnika nije dobijala transfuziju i da je taj procenat značajno veći nego kod CPB grupe bolesnika (samo 3% bolesnika ove grupe nije dobijalo transfuziju). Veći broj jedinica transfuzije krvi (3 i više) je dobijao značajno manji procenat OPCAB u odnosu na CPB bolesnike.

4.8. PROCENA BRZINE OPORAVKA

Procena brzine oporavka u obe grupe bolesnika nakon kardiohirurške operacije je vršena na osnovu kliničkih pokazatelja: vremena intubacije, vremena provedenog u intenzivnoj nezi i ukupnom broju postoperativnih dana provedenih u bolnici. Klinički pokazatelji brzine postoperativnog oporavka kod obe grupe bolesnika i dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 16.

Tabela 16. Klinički pokazatelji brzine postoperativnog oporavka kod obe grupe bolesnika

Pokazatelji postoperativnog oporavka	CPB	OPCAB	P
Vreme intubacije, sati	14,5 (7,4-17,9) (3,5-87,0)	7,3 (5,5-13,5) (0,00-116)	<0,001
Vreme u intenzivnoj nezi, dani	2,00 (1,00-2,75) (1-6)	1,00 (1,00-2,00) (1-7)	<0,001
Postoperativni dani	11,0 (8,0-15,0) (7-49)	9,0 (7,0-10,0) (4-15)	<0,001

Medijane (25. – 75. percentil), (min-max), P- Mann-Whitney U test

Rezultati ovog dela studije pokazuju da su bolesnici iz OPCAB grupe imali brži oporavak od CPB grupe bolesnika, na osnovu statistički značajno kraćeg vremena intubacije, vremena provedenog na odeljenju intenzivne nege i ukupnog broja postoperativnih dana ($P < 0,001$ za sva tri pokazatelja). Ova činjenica je posebno bila jasna u slučaju raspona broja postoperativnih dana, gde se vidi da je broj dana kod OPCAB grupe bolesnika provedenih u bolnici značajno manji od CPB grupe bolesnika.

4.9. PROCENA RAZLIKE U TELESNOJ TEŽINI

Procena razlike u telesnoj težini i gubitaka u težini (kg) kod obe grupe bolesnika izvedena je poređenjem preoperativne i postoperativne telesne težine, kao i poređenjem njihovih razlika. Procene razlike u telesnoj težini prikazane su u Tabeli 17.

Tabela 17. Telesna težina bolesnika pre operacije, posle operacije i razlika u telesnoj težini pre i posle operacije u ispitivanim grupama

Parametar	CPB	OPCAB	P
Težina, pre operacije (kg)	85,0 (75,0 - 90,0)	79,5 (69,8 - 85,8)	0,016
Težina, posle operacije (kg)	78,0 (71,0 – 84,0)	73,5 (66,0 - 82,2)	0,078
Razlika u težini (kg)	6 (5 - 8)	5 (3 - 6)	<0,001

Medijane (25. – 75. percentil), Mann-Whitney U test

Telesna težina se značajno razlikovala kod bolesnika pre operacije i bila je značajno veća kod CPB grupe bolesnika u odnosu na OPCAB grupu. Telesna težina bolesnika posle operacije se nije značajno razlikovala između dve grupe bolesnika. Razlika u težini pre i posle operacije je bila značajno veća kod CPB grupe bolesnika ($P < 0,001$).

4.10. POSTOPERATIVNE KOMPLIKACIJE

Kada se uzmu u obzir kriterijumi za isključivanje iz studije, a koji su delom obuhvatali i postoperativne komplikacije vezane za perioperativni infarkt miokarda ili cerebrovaskularni insult (CVI), u Tabeli 18 su prikazane sve komplikacije kod obe grupe bolesnika.

Tabela 18. Postoperativne komplikacije kod obe grupe bolesnika

Komplikacije	CPB grupa N=60	OPCAB grupa N=47	χ^2 , P
Infekcija operativne rane na nozi, n(da/ne)	3/57	1/46	0,629, ns
Plitka infekcija presteralne regije, n (da/ne)	1/59	0/47	1, ns
Pleuralni izliv sa atelektazom, n (da/ne)	5/55	1/46	0,227, ns
Plućna tromboembolija, n (da/ne)	1/59	0/47	1, ns
Respiratorna insuficijencija, n(%)	2/58	0/47	0,503, ns
Dijareja, n(%)	0/47	1/46	0,444, ns
Ukupno, n(%)	12/48	3/44	0,053, ns

CPB-Cardiopulmonary Bypass, OPCAB – Off-Pump Coronary Artery Bypass,

*P –Fisher Exact Probability Test

Zbog generalno malog broja komplikacija nije bilo statistički značajne razlike ni u pojedinačnim komplikacijama, niti u ukupnom broju komplikacija između dve grupe bolesnika.

4.11. DINAMIKA PROMENE KONCENTRACIJA POJEDINI BIOHEMIJSKIH PARAMETARA ZA PROCENU OŠTEĆENJA MIOKARDA I FUNKCIJE JETRE

4.11.1. Dinamika promene koncentracija aktivnosti enzima CK i CK-MB – praćenje oštećenja miokarda

Procena oštećenja srčanog mišića tokom operacija vršena je određivanjem aktivnosti enzima kreatin-kinaze (CK) i njenog izoenzima (CK-MB) specifičnog za srčani mišić. Referentne vrednosti ukupne CK su za muškarce 40-200 U/L, za žene 35-150 U/L,

nešto su niže vrednosti za hospitalizovane bolesnike (<171U/L za muškarce, <145 U/L za žene). Referentne vrednosti za CK-MB se određuju kao % ukupne CK i treba da budu <5% ukupne CK aktivnosti. Zbog toga se ove dve aktivnosti određuju u paru.

Analitika ova dva enzima je značajna za dijagnostiku perioperativnog infarkta miokarda, pa se zato analiza dobijenih aktivnosti izvodi sagledavanjem celokupnog statusa bolesnika. Dobijene aktivnosti ukupne CK i srčanog izoenzima CK-MB kod dve grupe bolesnika prikazane su u Tabelama 19 i 20.

Tabela 19. Promena aktivnosti enzima CK (U/L)

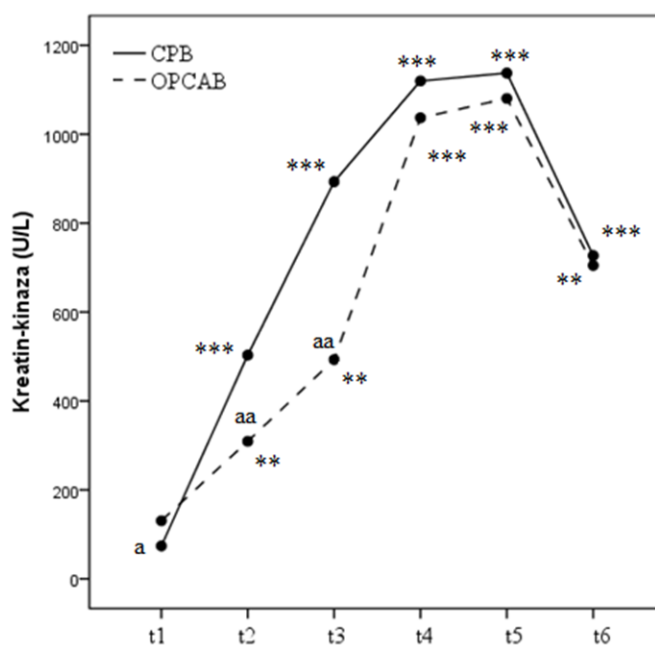
Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
CK/t1	74±36	131±169	<0,029
CK/t2	503±350	309±245	<0,01
CK/t3	893±847	493±319	<0,01
CK/t4	1120±1121	1037±864	ns
CK/t5	1137±1344	1080±1222	ns
CK/t6	727±887	705±1023	ns

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno >0,05

Analiziranjem vrednosti aktivnosti ukupne CK kod dve ispitivane grupe bolesnika uočava se da su bolesnici iz OPCAB grupe imali inicijalno značajno više aktivnosti ovog mišićnog enzima, što bi moglo da ukaže na lošije stanje srčanog mišića kod ovih bolesnika i to bi moglo da se poveže sa njihovim većim EuroSCORE vrednostima za procenu rizika od postoperativnog mortaliteta. Međutim, neposredno posle operacije uočavamo značajno veće aktivnosti CK kod CPB grupe, i to u tačkama t2 i t3 (neposredno posle završetka operacije i 6 sati nakon operacije), a zatim aktivnosti u obe grupe bolesnika nastavljaju da rastu i izjednačavaju se do kraja posmatranog perioda, tako da u tačkama t4-t6 statistički

značajna razlika nestaje. Vrednosti aktivnosti ovog enzima dostižu pik 24 sata posle operacije kod CPB grupe, a 48 sati posle operacije kod OPCAB grupe, a nakon toga aktivnost enzima počinje da opada što govori o oporavku bolesnika. U svakoj od tačaka postoperativno aktivnost je niža kod OPCAB grupe u poređenju sa aktivnostima u CPB grupi, bez obzira na obrnutu sliku pre operacije.

Poređenje promena aktivnosti ovog enzima tokom ispitivanih vremena je izvedeno primenom ANOVE za ponovljena merenja. Ista metoda je omogućila u isto vreme poređenje između pojedinih vremenskih tačaka u okviru jedne grupe bolesnika (CPB odnosno OPCAB), kao i poređenje u svakoj tački CPB vs. OPCAB. Dobijeni rezultati su grafički predstavljeni na Slici 18.



Slika 18. Promene aktivnosti enzima kreatin kinaze (CK) postoperativno (neposredno posle operacije do 96 sati nakon operacije), u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije

Aktivnost ovog enzima je rasla više u CPB grupi nego u OPCAB grupi, iako su startne vrednosti aktivnosti bile čak značajno niže u CPB grupi ($p < 0,05$). Porast aktivnosti ovog enzima je u CPB grupi bio konstantan i statistički značajan od vremena posle

operacije do 96 sati nakon operacije kada je bila poslednja tačka praćenja aktivnosti ovog enzima. U OPCAB grupi je aktivnost ovog enzima rasla postoperativno, ali nešto niže u odnosu na bazičnu vrednost CK u ovoj grupi. Takođe se može uočiti značajno niža aktivnost ovog enzima u OPCAB grupi neposredno posle operacije i 6 sati posle operacije, dok u ostalim praćenim vremenima postoperativno razlika nije bila statistički značajna.

Srčani izoenzim enzima kreatin kinaze CK-MB, koji se specifično povećava prilikom oštećenja srčanog mišića, je poslužio kao indikator stepena oštećenja miokarda tokom hirurške intervencije na srcu. Dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli 20.

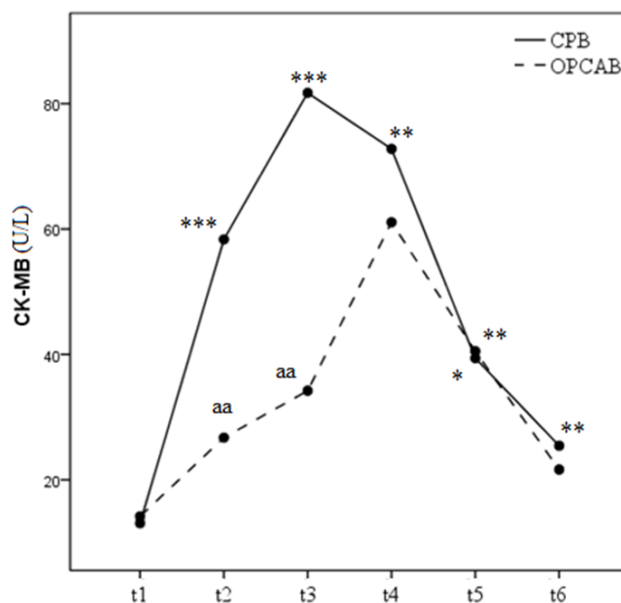
Tabela 20. Promena aktivnosti enzima CK-MB (U/L)

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
CK-MB/t1	13,08±4,893	14,17±8,331	ns
CK-MB/t2	58,35±52,208	26,72±20,002	<0,001
CK-MB/t3	81,72±103,754	34,21±28,948	<0,01
CK-MB/t4	72,78±139,168	61,09±94,732	ns
CK-MB/t5	39,40±43,573	40,51±72,667	ns
CK-MB/t6	25,43±29,305	21,64±14,216	ns

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB,
ns-nesignifikantno >0,05

Startna aktivnost CK-MB se nije razlikovala između dve grupe bolesnika. Neposredno posle operacije aktivnost ovog enzima raste u obe grupe, ali značajno više kod CPB grupe bolesnika (prosečno su dva puta više vrednosti kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu) i ta značajna razlika perzistira i 6 sati nakon operacije. Zatim se u narednim vremenima aktivnosti CK-MB izjednačavaju i od t5 (48 sati nakon operacije) počinju da se snižavaju i taj trend se nastavlja do 96 sati nakon operacije, što govori o oporavku obe grupe bolesnika.

Na Slici 19 je prikazana promena aktivnosti enzima CK-MB kod CPB odnosno OPCAB grupa bolesnika tokom ispitivanih vremena.



Slika 19. Promene aktivnosti enzima CK-MB postoperativno (neposredno posle operacije do 96 sati nakon operacije), u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije

Na Slici 19 se može uočiti značajan porast aktivnosti CK-MB enzima i to značajno veći kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu (t2 i t3). U odnosu na startnu vrednost kod CPB grupe aktivnost ovog enzima je bila značajno viša u svim tačkama postoperativno, dok je takav porast kod OPCAB grupe bio značajan samo 48 sati nakon operacije. Postoperativno, vrednosti CK-MB su se kod OPCAB grupe vraćale na vrednosti bliske startnim aktivnostima.

4.11.2. Dinamika promene koncentracije transaminaza (ALT, AST)

Da bismo procenili eventualno oštećenje jetre tokom kardiohirurške operacije bolesnicima smo u definisanim vremenima određivali aktivnosti jetrenih enzima

alaninaminotransferaze (ALT) i aspartataminotransferaze (AST). Rezultati ovog dela istraživanja su prikazani u Tabelama 21 i 22.

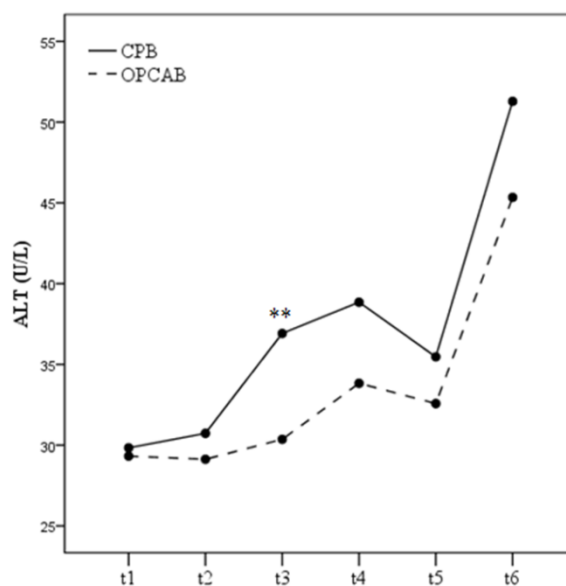
Tabela 21. Promena aktivnosti enzima ALT (U/L) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
ALT/t1	29,8±19,9	29,3±15,3	ns
ALT/t2	30,7±20,1	29,1±13,8	ns
ALT/t3	36,9±30,4	23,4±13,8	ns
ALT/t4	38,8±33,8	30,6±17,8	ns
ALT/t5	35,5±32,6	26,8±27,6	ns
ALT/t6	51,3±45,3	42,1±28,9	ns

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno $P>0,05$

Nije bilo statistički značajne razlike u aktivnosti enzima ALT između dve grupe bolesnika, ni pre operacije, tako ni u jednom vremenu postoperativno. Vrednosti nisu prelazile gornju granicu referentnog opsega (50 U/L za muškarce, 35 U/L za žene), osim nakon 96 sati u CPB grupi, gde je srednja vrednost bila na samoj gornjoj granici referentnog opsega.

Dinamika promene aktivnosti ovog enzima, u ispitivanim vremenima je prikazana grafički na Slici 20. Promena aktivnosti ALT tokom vremena u dve grupe bolesnika je ispitivana statističkom metodom – ANOVA za ponovljena merenja i dobijene razlike su označene na Slici 20.



Slika 20. Promena aktivnosti enzima ALT (U/L) pre operacije i u postoperativnom toku u zavisnosti od tipa operacije. **P<0,01 vs. bazična vrednost (pre operacije-t1)

Može se uočiti statistički značajno povećanje aktivnosti ovog enzima u postoperativnom toku samo kod CPB grupe bolesnika u t3 tački (24 sata nakon operacije). Međutim, aktivnost je ostala u referentnom opsegu.

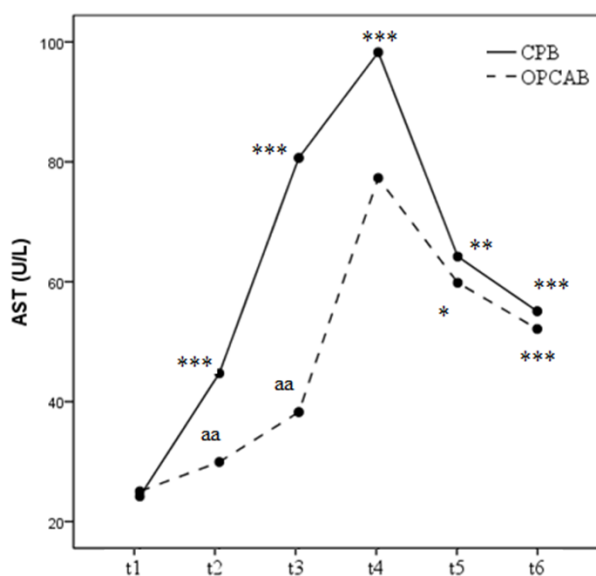
Tabela 22. Promena aktivnosti enzima AST (U/L) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
AST/t1	24,2±9,6	25,0±12,7	ns
AST/t2	44,7±24,8	29,9±23,0	<0,01
AST/t3	80,6±78,1	38,2±24,9	<0,01
AST/t4	98,3±141,4	77,30±102,3	ns
AST/t5	64,2±59,8	74,5±69,9	ns
AST/t6	55,1±35,0	52,1±35,0	ns

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno P>0,05

Uočava se da je povećanje aktivnosti enzima AST (U/L) veće od ALT, što je i očekivano obzirom na to da se ovaj enzim nalazi u visokim koncentracijama u srčanom mišiću, pa je jasno da je tokom hirurške procedure i posledičnog oštećenja srca dolazilo do izlivanja ovog enzima u cirkulaciju.

Promene aktivnosti enzima AST u ispitivanim vremenima kod dve grupe bolesnika prikazane su na Slici 21. Primenjena je metoda ANOVA za ponovljena merenja.



Slika 21. Promena aktivnosti enzima AST (U/L) pre operacije i u postoperativnom toku u zavisnosti od tipa operacije; *, **, *** $P < 0,05, < 0,01, < 0,001$ vs. bazična vrednost (pre operacije – t1), aa- $P < 0,01$ CPB vs. OPCAB u istoj tački merenja

Uočava se da aktivnost ovog enzima značajnije raste u CPB grupi u odnosu na OPCAB grupu, iako su bolesnici pre operacije imali jednake startne vrednosti. Razlika je posebno uočljiva neposredno nakon operacije i 6 sati posle, u ranom postoperativnom period (t2 i t3). Porast aktivnosti ovog enzima od t2 do t6 (96 sati posle operacije) je statistički značajno u odnosu na bazalnu vrednost pre operacije kod CPB grupe i vrednosti aktivnosti ovog enzima su izlazile znatno iz granica referentnog opsega. Kod OPCAB grupe bolesnika, porast aktivnosti AST enzima je bio blaži sa generalno nižim prosečnim

vrednostima i postaje značajno različit tek 48 sati ($P < 0,05$), odnosno 96 sati posle operacije ($P < 0,001$) u poređenju sa bazalnom aktivnošću pre operacije.

4.12. DINAMIKA PROMENA KONCENTRACIJA POKAZATELJA OKSIDATIVNOG STRESA

4.12.1. Dinamika promene koncentracije lipidnih-hidroperoksida (LOOH)

Dinamika promene koncentracije lipidnih-hidroperoksida (LOOH) kod obe grupe bolesnika tokom 96 sati praćenja bolesnika prikazana je u Tabeli 23.

Tabela 23. Dinamika promene koncentracije LOOH

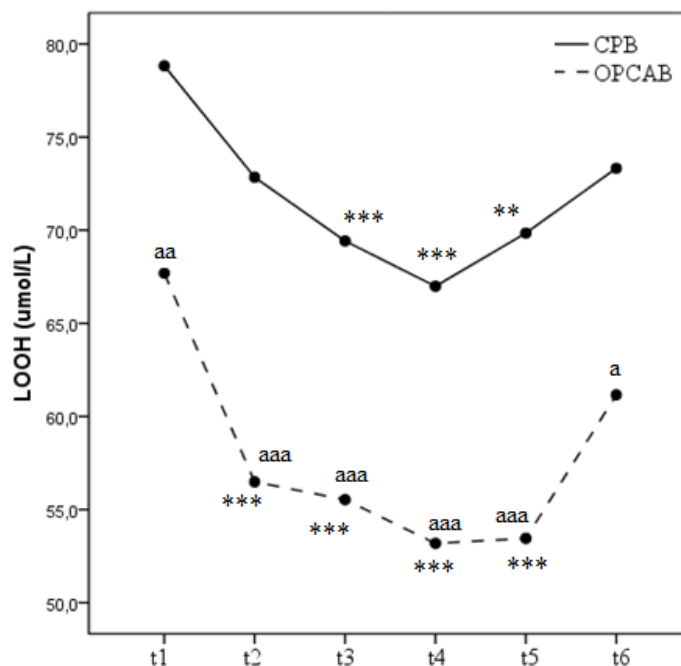
Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
LOOH/t1	78,8±21,0	67,6±15,09	<0,01
LOOH/t2	72,8±22,4	56,4±15,1	<0,001
LOOH/t3	69,4±21,4	55,5±11,8	<0,001
LOOH/t4	67,0±20,7	53,1±10,2	<0,001
LOOH/t5	69,8±21,8	53,4±13,4	<0,001
LOOH/t6	73,3±30,2	61,1±13,8	<0,05

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno $> 0,05$

Koncentracije LOOH su inicijalno bile značajno niže kod OPCAB grupe bolesnika u odnosu na CPB grupu. Vrednosti ovog parametra su se posle operacije snižavale i ostajale značajno niže u celom praćenom toku kod OPCAB grupe u odnosu na CPB grupu. S obzirom na to da smo smatrali da ćemo zabeležiti porast ovog markera rane faze oštećenja lipida, ovaj nalaz je bio neočekivan. Pretpostavka je da je praćen suviše rani period posle hirurškog stresa i da je dolazilo do dekompozicije ovog markera oštećenja lipida u kasnijem

postoperativnom toku. Pretpostavljamo da su uočene početno visoke koncentracije LOOH nastale kao posledica hroničnog oštećenja krvnih sudova aterosklerotskim plakom, a da ovaj mehanizam oksidativnog oštećenja ne dominira u postoperativnom toku od 96 sati.

Dinamika promene koncentracija lipidnih-hidroperoksida (LOOH) je grafički prikazana na Slici 22.



Slika 22. Promene koncentracije LOOH postoperativno u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije

Jasno se uočava trend nižih vrednosti kod OPCAB bolesnika u odnosu na CPB grupu celim praćenim postoperativnim tokom. Pad koncentracija ovog markera je verovatno posledica aktiviranja drugih sistema i mehanizama oksidativnog oštećenja ili slika sposobnosti antioksidativnog sistema da se izbori sa nastalom slobodno-radikalskom eksplozijom u akutnom stanju izazvanom hirurškom traumom. CPB grupa bolesnika je očigledno lošije tolerisala ovaj oksidativno-stresni „udar”, pa su njihove koncentracije LOOH perzistirale na višem nivou celim tokom praćenja.

4.12.2. Dinamika promena koncentracija produkata uznapredovale oksidacije proteina (AOPP)

Dinamika promena koncentracija produkata uznapredovale oksidacije proteina (AOPP) tokom 96 sati kod obe grupe bolesnika prikazana je u Tabeli 24.

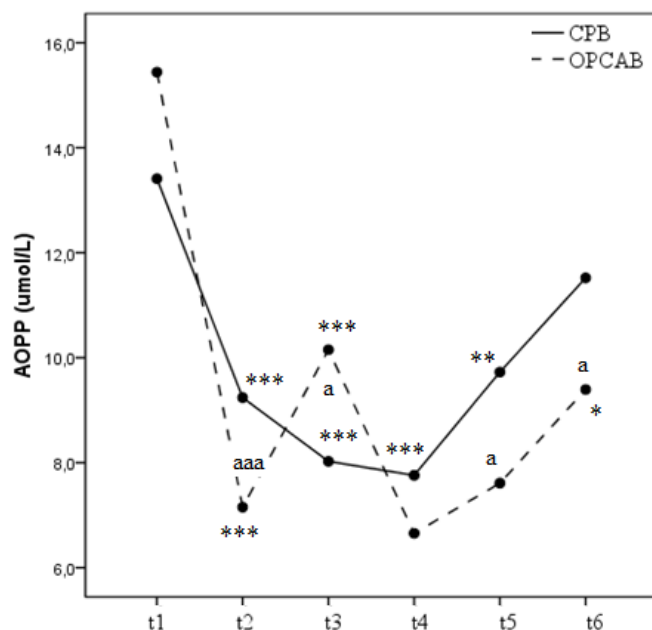
Tabela 24. Dinamika promena koncentracija AOPP (μmol)

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
AOPP/t1	13,4 \pm 6,0	15,4 \pm 8,8	ns
AOPP/t2	9,2 \pm 2,8	7,1 \pm 2,6	<0,001
AOPP/t3	8,0 \pm 4,0	10,1 \pm 5,6	<0,024
AOPP/t4	7,8 \pm 3,9	6,7 \pm 3,4	ns
AOPP/t5	9,7 \pm 5,5	7,6 \pm 3,1	<0,05
AOPP/t6	11,5 \pm 5,3	9,4 \pm 3,8	<0,05

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno >0,05

Kao i u slučaju LOOH, koncentracije markera oksidativnog oštećenja proteina (AOPP) su se snižavale posle operacije u odnosu na startne vrednosti. Vrednosti koncentracija AOPP su bile komparabilne kod dve grupe bolesnika pre operacije, a čak se uočava trend ka višim vrednostima kod OPCAB grupe. Nakon operacije, koncentracije ovog markera padaju i to više kod OPCAB nego kod CPB grupe bolesnika. Očigledno je da je ovo kasni marker oksidativnog oštećenja i njegova precizna promena nije mogla da bude detektovana u postoperativnom toku od 96 sati, kada dominiraju brzi mehanizmi oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite kao dela akutno-faznog odgovora.

Dinamika promena koncentracija AOPP u postoperativnom toku prikazana je na Slici 23.



Slika 23. Promene koncentracije AOPP postoperativno u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije

Uočava se trend značajno nižih vrednosti u OPCAB grupi u odnosu na CPB grupu u svim tačkama, osim u t3 vremenu (6 sati postoperativno) kada uočavamo skok vrednosti ovog parametra kod OPCAB grupe.

4.12.3. Dinamika promene koncentracija totalnog oksidantnog statusa (TOS)

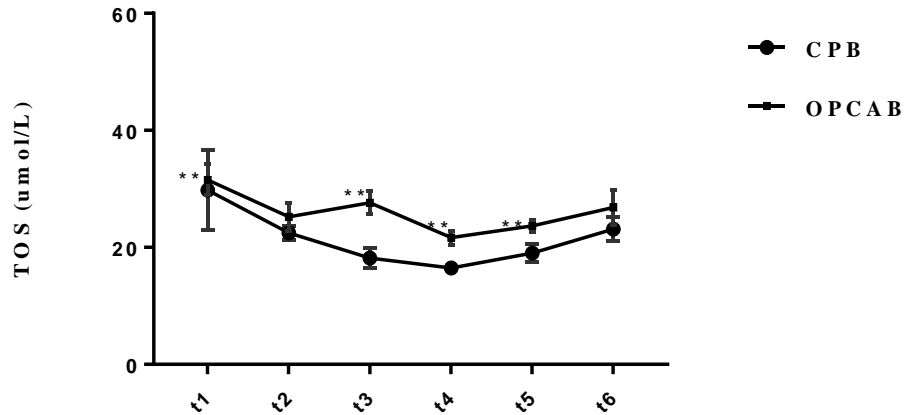
Kao jednu od sveobuhvatnih mera jačine oksidativnog stresa koji se generiše, kako usled aterosklerotskog procesa tako i usled uslova tokom operacije, koristili smo određivanje koncentracije totalnog oksidantnog statusa (TOS) ili potencijala. Meranjem promena koncentracije TOS se mogu odrediti zbirno koncentracije, u tom trenutku, u krvi generisanog vodonik-peroksida i lipidnih-hidroperoksida. Rezultati su prikazani u Tabeli 25.

Tabela 25. Promena koncentracije totalnog oksidantnog statusa (TOS) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike

Parametar/vreme	CPB	OPCAB	P
TOS ($\mu\text{mol/L}$)/t1	25,9 (20,4-37,2)	26,8 (22,7-38,0)	0,006
TOS ($\mu\text{mol/L}$)/t2	28,7 (23,6-30,9)	22,3 (18,8 -28,1)	ns
TOS ($\mu\text{mol/L}$)/t3	19,0 (15,7-22,1)	25,3 (21,1-30,2)	<0,001
TOS ($\mu\text{mol/L}$)/t4	19,8 (16,4-22,8)	19,9 (17,8-24,4)	0,002
TOS ($\mu\text{mol/L}$)/t5	20,6 (18,1-28,7)	24,1 (20,6-26,6)	0,002
TOS ($\mu\text{mol/L}$)/t6	24,0 (21,0-33,2)	21,1(19,4-25,4)	ns

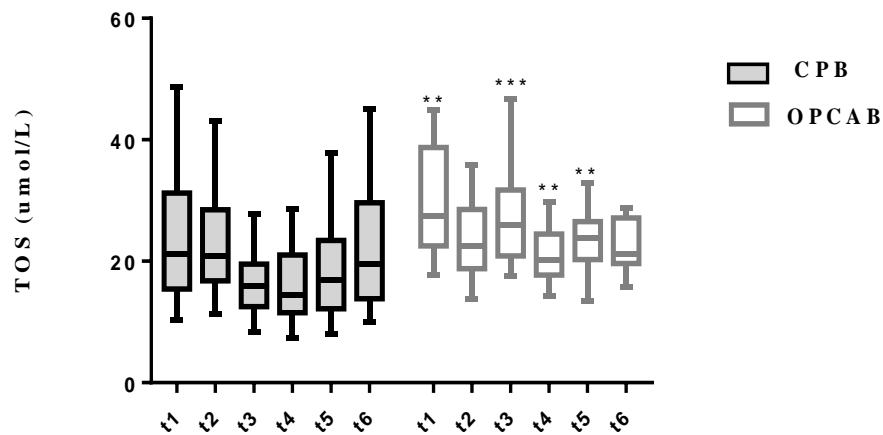
Medijane (25. – 75. percentil), Mann-Whitney U test, ns- nesignifikantno, bez statistički značajne razlike

Možemo uočiti da su koncentracije TOS, u svim tačkama gde je postojala statistički značajna razlika između dve grupe bolesnika (pre operacije, 6 sati, 24 sata i 48 sati posle operacije) u korist prooksidanasa, bile više kod OPCAB grupe u odnosu na CPB grupu bolesnika. Dinamika promena koncentracija totalnog oksidantnog statusa (TOS) u postoperativnom toku prikazana je na Slikama 24 i 25.



Slika 24. Koncentracije totalnog oksidantnog statusa (TOS) u CPB i OPCAB grupi bolesnika pre i posle operacije u definisanim vremenima—linijski grafikon.

*, **, ***P<0,05; 0,01; 0,001 OPCAB vs. ista vremenska tačka u CPB grupi
 a, aa, aaa P<0,05; 0,01; 0,001 u CPB grupi (t2-t5) vs. t1
 b, bb, bbb P<0,05; 0,01; 0,001 u OPCAB grupi (t2-t5) vs. t1



Slika 25. Koncentracije totalnog oksidantnog statusa (TOS) u CPB i OPCAB grupi bolesnika pre i posle operacije u definisanim vremenima. *, **, ***P<0,05; 0,01; 0,001 OPCAB vs. ista vremenska tačka u CPB grupi a, aa, aaa P<0,05; 0,01; 0,001 u CPB grupi (t2-t5) vs. t1 b, bb, bbb P<0,05; 0,01; 0,001 u OPCAB grupi (t2-t5) vs. t1

Kod CPB grupe uočavamo inicijalno povećanje koncentracije TOS, neposredno nakon operacije, zatim pad 6 sati nakon operacije i onda mali ali konstantan porast do 96 sati nakon operacije, kada je praćenje završeno. Kod OPCAB grupe bolesnika nakon

inicijalnog pada neposredno po završetku operacije smenjuju se u svakoj drugoj tački praćenja porast i pad. Ipak, unutar svake od dve grupe bolesnika uočena promena TOS-a nije bila statistički značajna.

4.12.4. Dinamika brzine generisanja superoksidnog anjona ($O_2\bullet^-$)

Za potrebe ove studije određivana je brzina generisanja superoksidnog anjona ($O_2\bullet^-$) u krvi bolesnika pre operacije, kao i u zadatim vremenima postoperativno i to u podgrupama u zavisnosti od dve operativne tehnike. Interesovalo nas je da li je koncentracija ovog centralnog i najznačajnijeg slobodnog radikala različita kod dve grupe bolesnika tokom definisanih vremena, kao i da li nakon operacije dolazi do njegovog značajnog povećanja i u kom vremenu. Dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli 26.

Tabela 26. Dinamika promena brzine generisanja superoksidnog anjona ($O_2\bullet^-$) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike

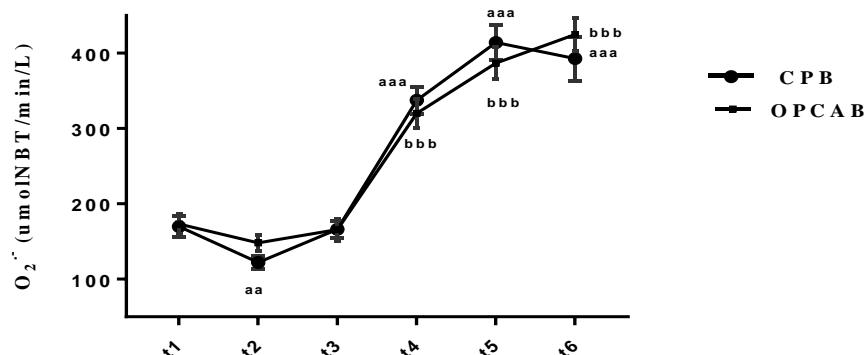
Parametar/vreme	CPB	OPCAB	P
$O_2\bullet^-$ ($\mu\text{mol NBT/min/L}$)/t1	125 (78-188)	166 (127-230)	ns
$O_2\bullet^-$ ($\mu\text{mol NBT/min/L}$)/t2	112 (71-145)	118(102-180)	ns
$O_2\bullet^-$ ($\mu\text{mol NBT/min/L}$)/t3	128 (102-173)	152(118-179)	ns
$O_2\bullet^-$ ($\mu\text{mol NBT/min/L}$)/t4	288 (205-348)	322(265-380)	ns
$O_2\bullet^-$ ($\mu\text{mol NBT/min/L}$)/t5	285 (245-421)	417 (282-457)	ns
$O_2\bullet^-$ ($\mu\text{mol NBT/min/L}$)/t6	257 (191-454)	446 (379-475)	ns

Medijane (25. – 75. percentil), Mann-Whitney U test, ns- nesignifikantno, bez statistički značajne razlike.

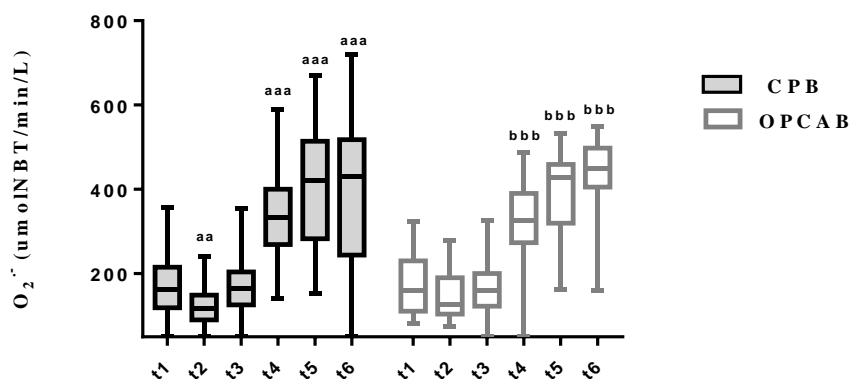
Ako posmatramo medijane vrednosti brzine generisanja superoksidnog anjona možemo uočiti da su bolesnici iz OPCAB grupe imali više vrednosti ovog parametra u odnosu na CPB grupu bolesnika. Međutim, primena t-testa za nezavisne uzorke je pokazala

da uočena razlika nije statistički značajna. Ovo je posledica velikih raspona u vrednostima ovog parametra posebno unutar jedne grupe bolesnika, između različitih tačaka studije.

Dinamika promena brzine generisanja superoksidnog anjona ($O_2\bullet^-$) u postoperativnom toku prikazana je na Slikama 26 i 27.



Slika 26. Brzina generisanja superoksidnog anjona ($O_2\bullet^-$) u CPB i OPCAB grupi bolesnika pre i posle operacije u definisanim vremenima (linijski grafikon). *, **, *** $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ OPCAB vs. ista vremenska tačka u CPB grupi, a, aa, aaa $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u CPB grupi (t2-t5) vs. t1, b, bb, bbb $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u OPCAB grupi (t2-t5) vs. t1



Slika 27. Brzina generisanja superoksidnog anjona ($O_2\bullet^-$) u CPB i OPCAB grupi bolesnika pre i posle operacije u definisanim vremenima. *, **, *** $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ OPCAB vs. ista vremenska tačka u CPB grupi, a, aa, aaa $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u CPB grupi (t2-t5) vs. t1, b, bb, bbb $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u OPCAB grupi (t2-t5) vs. t1

Interesantna je dinamika promene ovog parametra, posebno kod OPCAB grupe bolesnika. Superoksidni anjon pada u prvoj tački posle operacije u odnosu na preoperativne vrednosti. Dinamika promene ovog oksidativnog markera je slična i u CPB grupi, ali je porast koji se uočava u kasnijim tačkama studije mirniji, manje buran u odnosu na ono što se može uočiti kod OPCAB grupe bolesnika.

4.12.5. Dinamika promene koncentracija prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB)

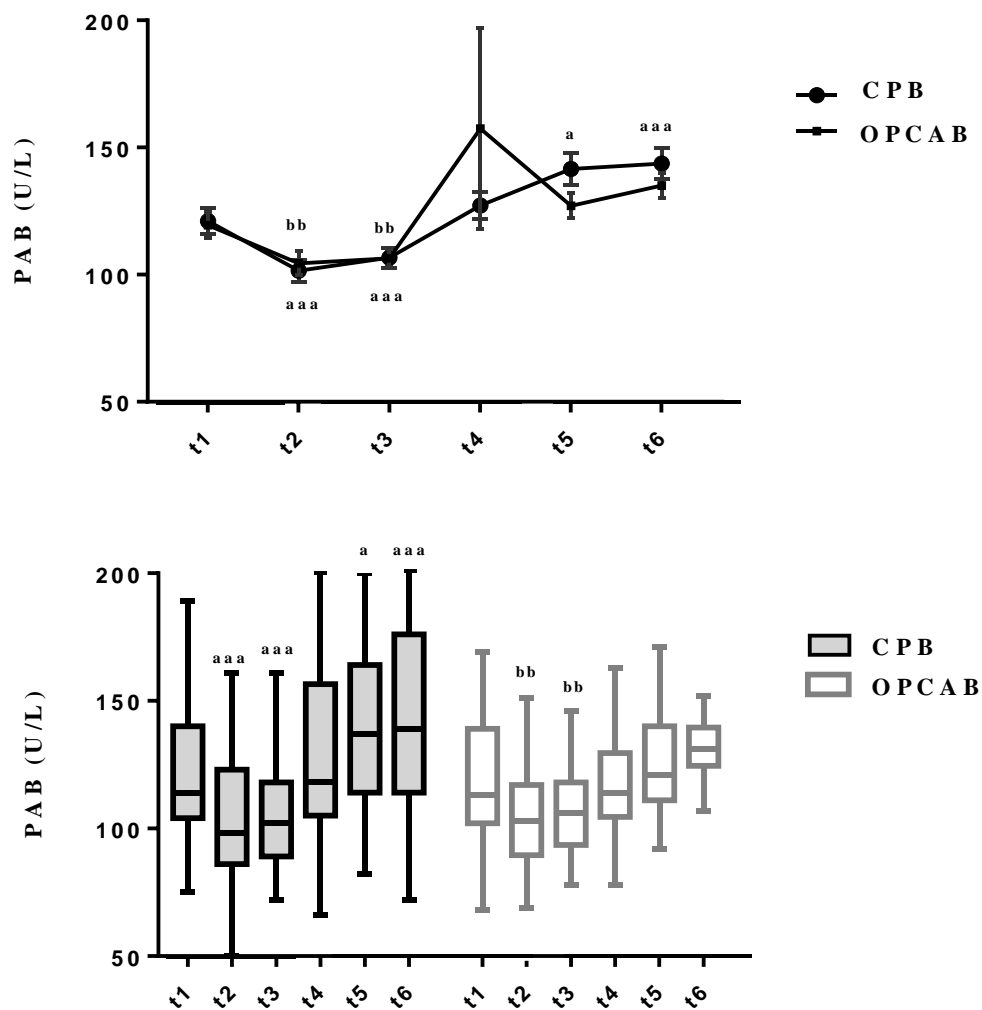
Ovaj parametar se određuje kao deo oksidativno-stresnog statusa i predstavlja meru koncentracija oksidanasa tipa vodonik-peroksida u antioksidativnom okruženju, što predstavlja realnu situaciju kakva postoji u svakom živom organizmu u ma kakvom stanju da se on nalazi. Ovaj parametar odslikava realnu situaciju ili sposobnost antioksidativnog sistema da neutrališe prooksidanse koji se svakodnevno stvaraju u organizmu kao deo fizioloških metaboličkih procesa, a utoliko više u patološkim stanjima. Dinamika promena aktivnosti prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike prikazana je u Tabeli 27.

Tabela 27. Dinamika promena aktivnosti prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike

Parametar/vreme	CPB	OPCAB	P
PAB/t1	109 (94-130)	114 (102-135)	ns
PAB/t2	93 (84-101)	103 (90-117)	ns
PAB/t3	97 (85-107)	103 (90-116)	ns
PAB/t4	111 (100-138)	117 (109-138)	ns
PAB/t5	125 (108-159)	122 (104-142)	ns
PAB/t6	140 (116-182)	131 (120-136)	ns

Medijane (25. – 75. percentil), Mann-Whitney U test, ns- nesignifikantno

Prooksidativno-antioksidativni balans (PAB) se nije značajno razlikovao kod CPB i OPCAB grupe bolesnika ni u jednoj od posmatranih tačaka. Dinamika promena aktivnosti prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike prikazana je na Slikama 28 i 29.



Slike 28 i 29. Aktivnost prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB) u CPB i OPCAB grupi bolesnika pre i posle operacije u definisanim vremenima.

*, **, *** $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ OPCAB vs. ista vremenska tačka u CPB grupi

a, aa, aaa $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u CPB grupi (t2-t5) vs. t1

b, bb, bbb $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u OPCAB grupi (t2-t5) vs. t1

Tokom ispitivanog perioda dolazilo je do porasta PAB-a i to više kod CPB u odnosu na OPCAB bolesnike.

4.12.6. Dinamika promene koncentracija malondialdehida (MDA)

Malondialdehid (MDA) je krajnji produkt razgradnje lipidnih-hidroperoksida (LOOH) i smatra se markerom kasne faze oksidativnog oštećenja. Koncentraciju malondialdehida (MDA) smo određivali kod CABG bolesnika, pre operacije i pod uticajem dve različite operativne tehnike sa ciljem provere razlike do kojih bi ove dve različite tehnike dovele u nivou generisanja oksidativnog stresa. Dinamika promena koncentracije malondialdehida (MDA, $\mu\text{mol/L}$) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike prikazana je u Tabeli 28.

Tabela 28. Promena koncentracije malondialdehida (MDA, $\mu\text{mol/L}$) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike.

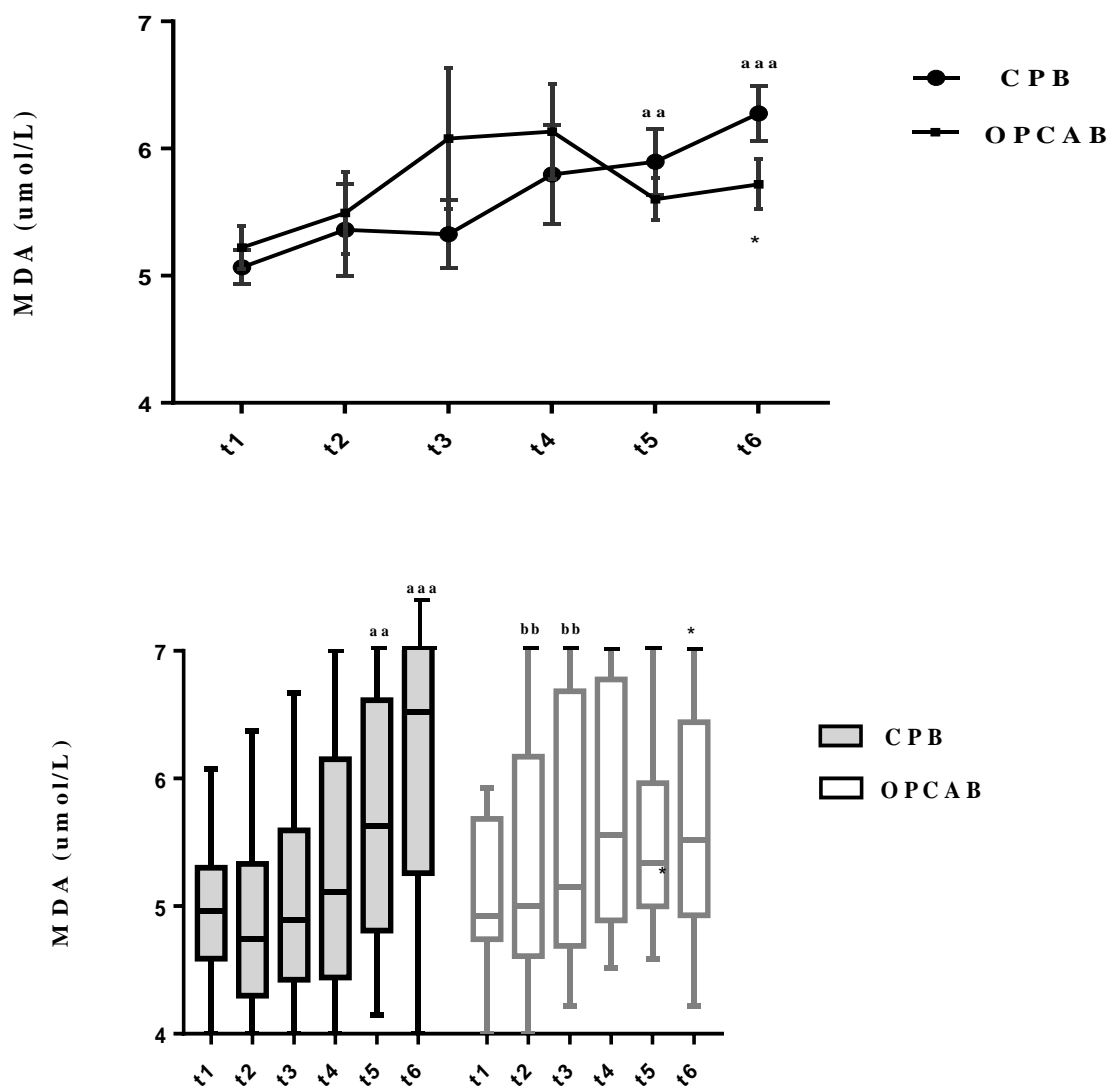
Parametar/vreme	CPB	OPCAB	P
MDA ($\mu\text{mol/L}$)/t1	4,96 (4,61-5,11)	5,04 (4,74-5,72)	ns
MDA ($\mu\text{mol/L}$)/t2	4,56 (4,06-6,11)	5,00 (4,65-6,36)	ns
MDA ($\mu\text{mol/L}$)/t3	5,23 (4,48-6,33)	5,30 (4,84-7,27)	ns
MDA ($\mu\text{mol/L}$)/t4	5,52 (4,67-6,15)	5,38 (4,89-6,89)	ns
MDA ($\mu\text{mol/L}$)/t5	5,89 (5,24-6,70)	5,41 (5,24-5,94)	ns
MDA ($\mu\text{mol/L}$)/t6	6,52 (5,19-6,96)	5,89 (5,11-6,50)	0,036

Medijane (25. – 75. percentil), Mann-Whitney U test, ns- nesignifikantno, bez statistički značajne razlike.

Koncentracije MDA se ne razlikuje značajno između dve grupe bolesnika ni pre operacije, ni posle operacije, sve do 96 sati, ili poslednje ispitivane tačke studije kada

vrednost ovog kasnog markera oksidativnog oštećenja lipida postaje značajno viši kod CPB grupe bolesnika.

Dinamika promena koncentracije malondialdehida (MDA) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike prikazana je na Slikama 30 i 31.



Slike 30 i 31. Koncentracije malondialdehida (MDA) u CPB i OPCAB grupi bolesnika pre i posle operacije u definisanim vremenima

*, **, *** $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ OPCAB vs. ista vremenska tačka u CPB grupi

a, aa, aaa $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u CPB grupi (t_2 - t_5) vs. t_1

b, bb, bbb $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u OPCAB grupi (t_2 - t_5) vs. t_1

S obzirom na to da je MDA kasni marker oksidativnog oštećenja, ovakva dinamika je i očekivana, jer se koncentracija MDA na kraju značajno povećala u jednoj od dve grupe koje su podvrgnute različitim operativnim tehnikama, pošto je za ovakav kasni marker potrebno duže vreme u odnosu na neke druge markere čija se koncentracija brže menja u akutnom stanju.

4.12.7. Dinamika promene koncentracije ishemijom modifikovanog albumina (IMA)

Promene koncentracije ishemijom modifikovanog albumina (IMA) praćene su kod bolesnika podvrgavanih CPB ili OPCAB operacijama u zadatim vremenima, čime se procenjivala dinamika promene ovog osetljivog parametra i utvrđivala potencijalna razlika između dve grupe bolesnika. Rezultati su prikazani u Tabeli 29.

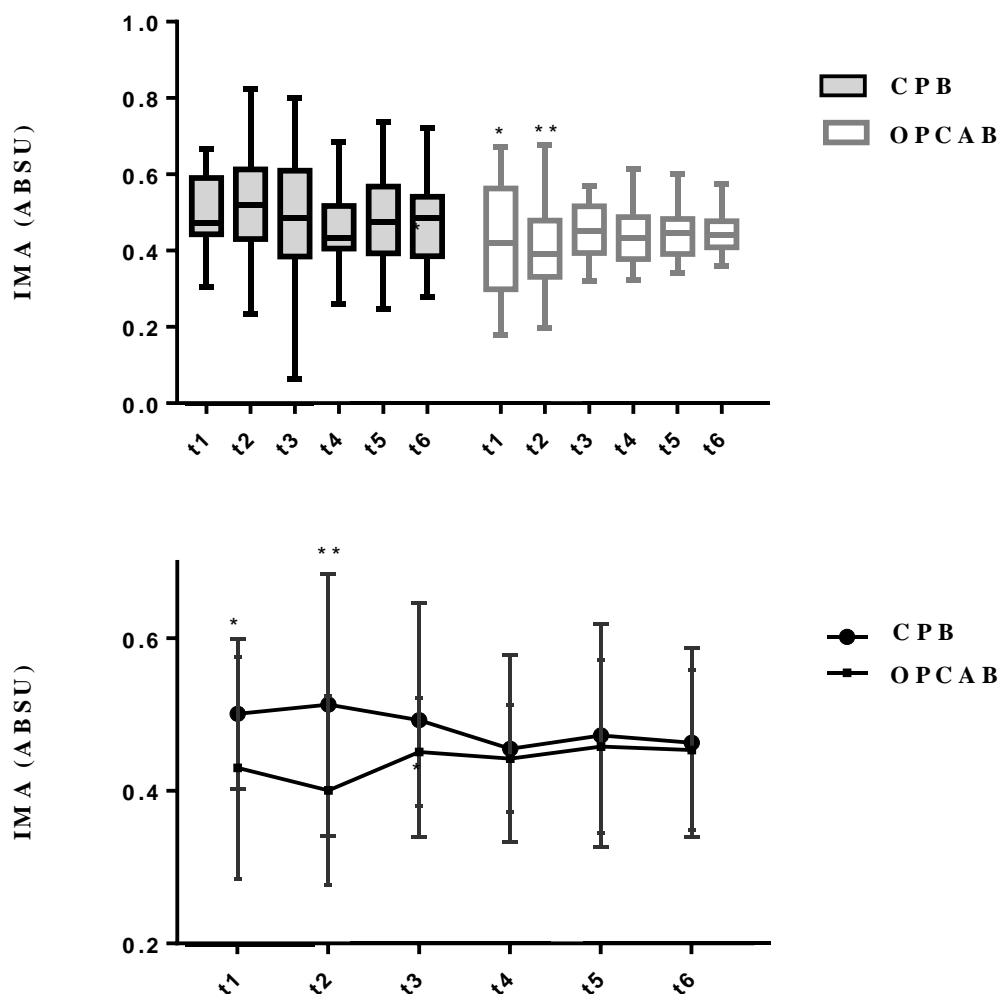
Tabela 29. Promena koncentracije ishemijom modifikovanog albumina (IMA) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike

Parametar/vreme	CPB	OPCAB	P
IMA (ABSU)/t1	0,455 (0,413-0,578)	0,405 (0,284-0,516)	0,057
IMA (ABSU)/t2	0,540 (0,452-0,698)	0,386 (0,343-0,472)	0,002
IMA (ABSU)/t3	0,490 (0,407-0,664)	0,458 (0,396-0,521)	ns
IMA (ABSU)/t4	0,439 (0,417-0,507)	0,443 (0,376-0,478)	ns
IMA (ABSU)/t5	0,485 (0,424-0,633)	0,438 (0,387-0,467)	ns
IMA (ABSU)/t6	0,503 (0,405-0,597)	0,455 (0,403-0,476)	ns

Medijane (25. – 75. percentil), Mann-Whitney U test, ns- nesignifikantno, bez statistički značajne razlike

Bolesnici operisani uz pomoć pumpe za CPB su imali više koncentracije IMA pre operacije, ali ta razlika je bila na granici statističke značajnosti. Kod iste grupe bolesnika u

drugoj tački studije, nakon davanja protamin-sulfata dolazi do značajnog porasta koncentracije IMA u odnosu na stanje pre operacije i to je tačka u kojoj kod ove grupe bolesnika IMA dostiže maksimum. Do kraja posmatranog perioda u CPB grupi IMA ostaje povišena iznad startnih vrednosti, a svakako iznad vrednosti 0,400 koje po rezultatima različitih studija ukazuju na značajnu ishemiju. Dinamika promena koncentracije ishemijom modifikovanog albumina (IMA) u ispitivanim vremenima prikazana je na Slikama 32 i 33.



Slike 32 i 33. Koncentracije ishemijom modifikovanog albumina (IMA) u CPB i OPCAB grupi bolesnika pre i posle operacije u definisanim vremenima *, **, ***P<0,05; 0,01; 0,001 OPCAB vs. ista vremenska tačka u CPB grupia, aa, aaa P<0,05; 0,01; 0,001 u CPB grupi (t2-t5) vs. t1 b, bb, bbb P<0,05; 0,01; 0,001 u OPCAB grupi (t2-t5) vs. t1

Kod OPCAB grupe bolesnika vrednosti IMA opadaju u drugoj tački, a zatim blago rastu, dostižući maksimum 6 sati nakon završetka operacije i nakon toga ostaju na tom nivou. Vrednosti IMA kod OPCAB grupe bolesnika dostignute tokom postoperativnog toka dostižu preoperativne vrednosti izmerene kod CPB bolesnika od 0,455 ABSU. Pored uočene razlike u koncentraciji IMA u kasnijem toku studije između CPB i OPCAB grupe, ta razlika nije bila statistički značajna.

4.13. DINAMIKA PROMENA KONCENTRACIJA POKAZATELJA ANTIOKSIDATIVNE ZAŠTITE

4.13.1. Dinamika promena u aktivnosti enzima PON 1

Kao deo antioksidativne zaštite organizma određivali smo aktivnost enzima PON1. Inicijalne vrednosti aktivnosti ovog enzima, kao i vrednosti u postoperativnom toku, kod obe grupe bolesnika prikazane su u Tabeli 30.

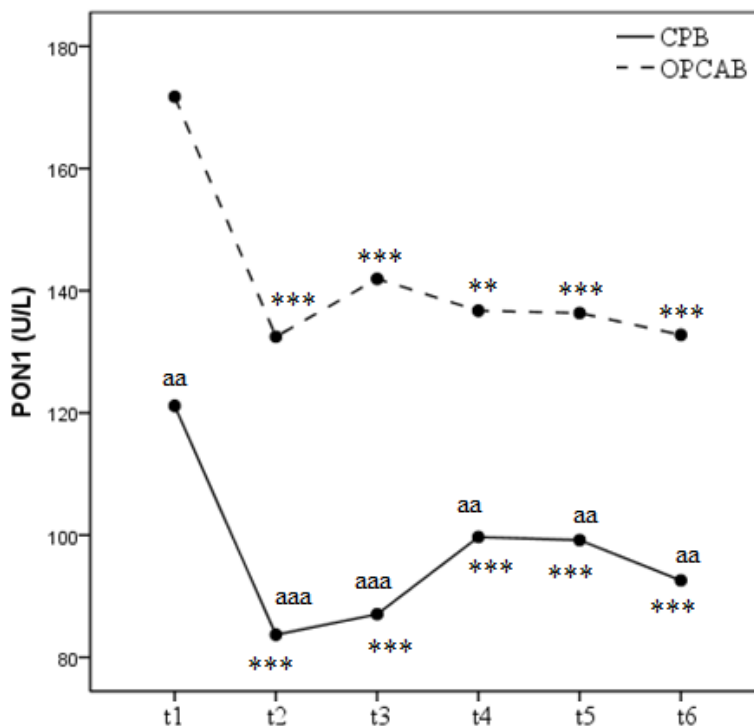
Tabela 30. Promene aktivnosti enzima PON 1 (U/L)

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
PON1/t1	121±68	172±81	<0,01
PON1/t2	84±54	132±69	<0,001
PON1/t3	87±49	142±70	<0,001
PON1/t4	100±54	137±62	<0,01
PON1/t5	99±52	136±67	<0,01
PON1/t6	93±46	133±70	<0,01

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno >0,05

Aktivnost PON1 je, pre operacije, bila značajno niža kod CPB grupe bolesnika u odnosu na OPCAB grupu. U postoperativnom toku kod obe grupe bolesnika aktivnost ovog zaštitnog enzima se značajno smanjivala i u celom postoperativnom toku bila značajno niža kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika.

Dinamika promene aktivnosti enzima PON1 i zavisnost te dinamike od primenjene operativne tehnike je grafički prikazana na Slici 34.



Slika 34. Promene aktivnosti PON1 postoperativno, u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije

Interesantno je da je uočeni postoperativni pad antioksidativnog enzima PON1 bio paralelan kod obe grupe bolesnika i da su se krive promene aktivnosti od t1 do t6 mogle u potpunosti poklopiti. Dakle ovakav model praćenja efekata veštački izazvanog akutnog stresa je bio dobro kontrolisan i stabilan, što je potvrđeno i malim brojem postoperativnih komplikacija u celoj grupi bolesnika.

4.13.2. Dinamika promena u koncentracijama ukupnih sulfhidrilnih-tiolnih grupa (tSHG)

Drugi proteinski pokazatelj antioksidativne zaštite koji smo pratili u ovoj studiji su bile ukupne sulfhidrilne-tiolne grupe (tSHG). Dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli 31.

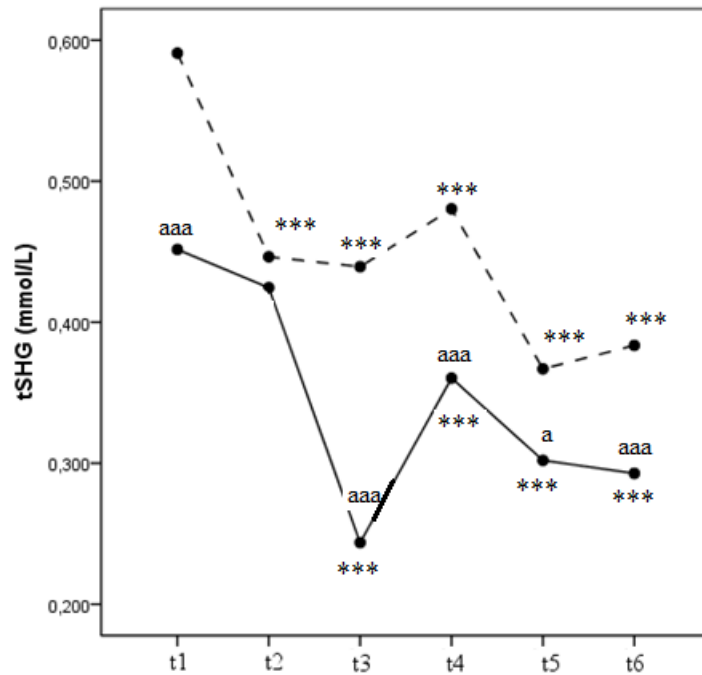
Tabela 31. Dinamika promena u koncentracijama ukupnih SH-grupa

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
tSHG/t1	0,451±0,189	0,591±0,158	<0,001
tSHG/t2	0,424±0,192	0,446±0,138	ns
tSHG/t3	0,244±0,131	0,439±0,138	<0,001
tSHG/t4	0,360±0,146	0,480±0,096	<0,001
tSHG/t5	0,302±0,140	0,367±0,114	<0,05
tSHG/t6	0,293±0,126	0,383±0,094	<0,001

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno >0,05

Kao obrazac koji se ponavljao i kod drugih markera oksidativno-stresnog statusa, tako i kod ovog antioksidansa uočavamo značajno niže koncentracije kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu, kako pre operacije tako i u ostalim posmatranim tačkama posle operacije, osim u t2-neposredno posle operacije kada značajan pad u obe grupe dovodi do izjednačavanja vrednosti u dve grupe. Prevojna tačka za OPCAB grupu, kada se posmatra promena koncentracije ukupnih sulfhidrilnih grupa, je t3-6 sati nakon završetka operacije nakon čega koncentracija ovog antioksidansa počinje da raste kod OPCAB grupe bolesnika, dok koncentracija istog parametra kod CPB grupe varira i ostaje generalno na niskom nivou do 96 sati nakon operacije.

Preciznija dinamika promene tSHG kod CPB i OPCAB grupe bolesnika je prikazana na Slici 35.



Slika 35. Promene koncentracije tSHG postoperativno (neposredno posle operacije do 96 sati), u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije

Primena ANOVE za ponovljena merenja omogućila je precizniju kvantifikaciju promena ovog parametra. Vrednosti tSHG su značajno padale kod obe ispitivane grupe bolesnika, ali je pad bio veći kod CPB grupe u celom posmatranom postoperativnom toku sa tačkom t3-6 sati nakon operacije kada je koncentracija tSHG dostigla minimum za CPB grupu. U 96. satu nakon operacije (t6) se uočava da se koncentracija ovog parametra polako revitalizuje kod OPCAB grupe bolesnika, dok se kod CPB grupe pad koncentracija ovog antioksidansa produbljuje.

4.13.3. Dinamika promena u koncentracijama totalnog antioksidativnog statusa (TAS)

Određivali smo koncentraciju totalnog antioksidativnog statusa (TAS) kao dela ukupne antioksidativne zaštite organizma i to njenog neenzimskog dela. Određivanje ovog parametra omogućava uvid u koncentraciju ukupnih redukujućih komponenti u krvi kao što

su: sulfhidrilne grupe proteina, glukoza, kreatinin, urea, mokraćna kiselina, bilirubin, antioksidativni vitamini (vitamin E, vitamin C). Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 32.

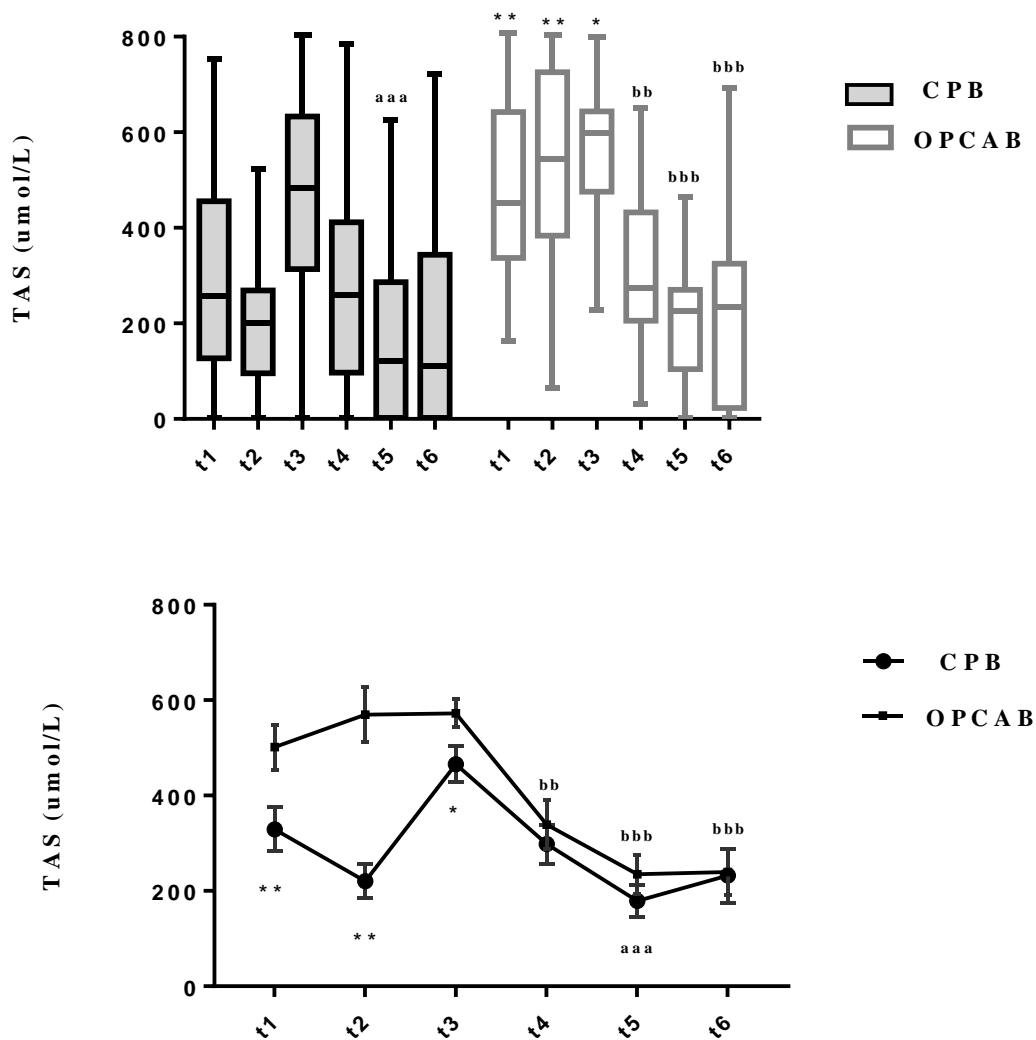
Tabela 32. Dinamika promena koncentracije totalnog antioksidativnog statusa (TAS) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike

Parametar/vreme	CPB	OPCAB	P
TAS ($\mu\text{mol/L}$)/t1	345 (185-664)	486 (340-742)	0,002
TAS ($\mu\text{mol/L}$)/t2	230 (121-305)	528 (385-669)	<0,001
TAS ($\mu\text{mol/L}$)/t3	581 (460-720)	612 (526-652)	0,047
TAS ($\mu\text{mol/L}$)/t4	331 (200 – 680)	290 (206-452)	ns
TAS ($\mu\text{mol/L}$)/t5	275 (57-513)	220 (85-323)	ns
TAS ($\mu\text{mol/L}$)/t6	232 (2-615)	223 (15-346)	ns

Medijane (25. – 75. percentil), Mann-Whitney U test, ns- nesignifikantno, bez statistički značajne razlike

Pre operacije, kao i neposredno posle završene operacije i 6 sati posle operacije CPB bolesnici imaju značajno niže koncentracije TAS-a. Preoperativni deficit ovog bitnog pokazatelja statusa antioksidativne zaštite bi mogao da ukaže na vezu sa stepenom stenozе koja je bila u proseku veća kod CPB bolesnika. Međutim, nakon operacije dinamika promene ovog parametra je različita kod dve grupe bolesnika.

Dinamika promena koncentracije totalnog antioksidativnog statusa (TAS) kod CPB i OPCAB grupe bolesnika je prikazana na Slikama 36 i 37.



Slike 36 i 37. Koncentracije totalnog antioksidantnog statusa (TAS) u CPB i OPCAB grupi bolesnika pre i posle operacije u definisanim vremenima.

*, **, *** $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ OPCAB vs. ista vremenska tačka u CPB grupi
 a, aa, aaa $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u CPB grupi (t2-t5) vs. t1
 b, bb, bbb $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u OPCAB grupi (t2-t5) vs. t1

Koncentracije TAS se snižavaju neposredno nakon operacije kod CPB bolesnika, dok se kod OPCAB grupe bolesnika povećavaju. Ovaj trend se nastavlja i do treće tačke (6 sati nakon operacije), s tim da se koncentracija ovog parametra povećava od t2-t3 i kod CPB grupe bolesnika.

4.13.4. Dinamika promena u koncentracijama superoksid-dismutaze (SOD)

Osim neenzimskih antioksidanasa određenih merenjem TAS-a, određivali smo i aktivnost bitnog antioksidativnog enzima superoksid-dismutaze (SOD), za koga se smatra da je centralni enzimski antioksidans našeg organizma.

Aktivnost antioksidativnog enzima ukupne superoksid-dismutaze (SOD), tokom tačaka ove studije, i u zavisnosti od primenjenih hirurških tretmana prikazana je u Tabeli 33.

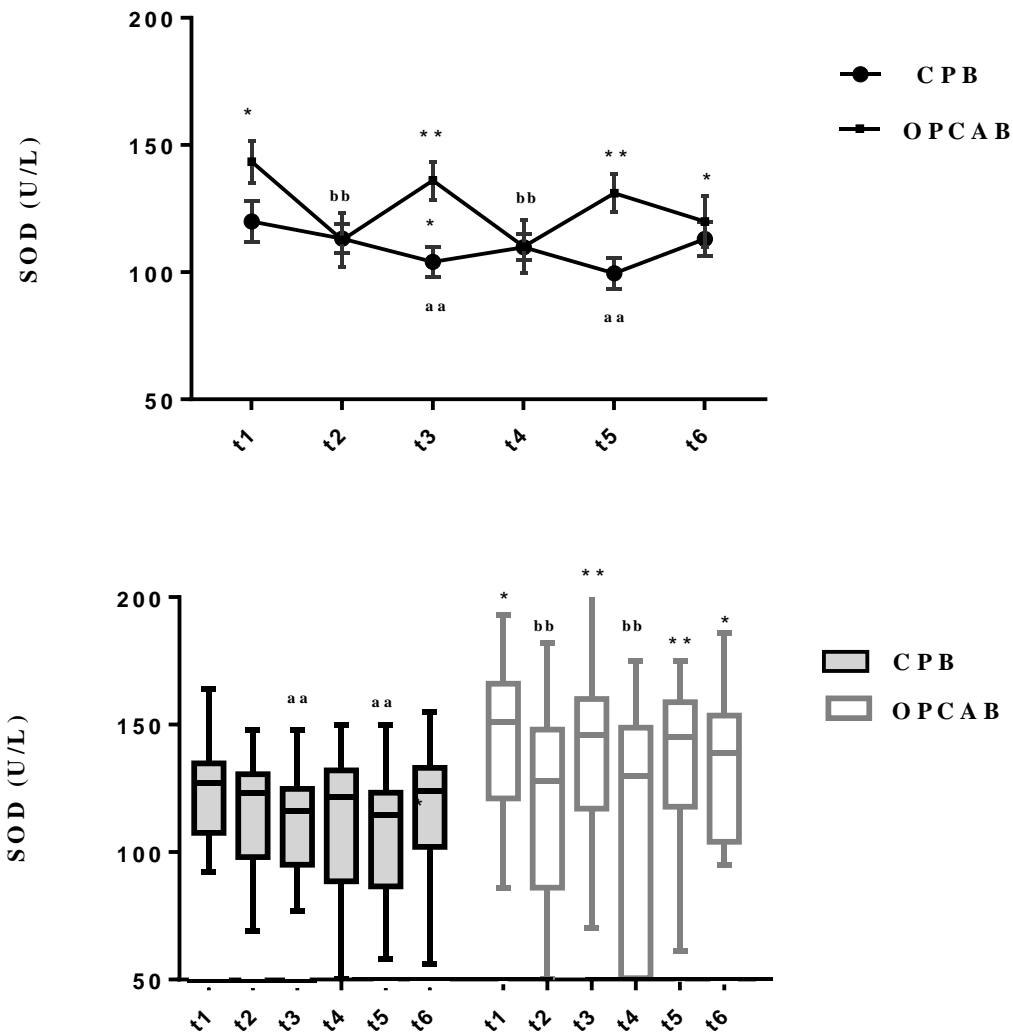
Tabela 33. Dinamika promena aktivnosti enzima superoksid-dismutaze (SOD)

Parametar/vreme	CPB	OPCAB	P
SOD (U/L)/t1	132(106-148)	147(114-170)	0,018
SOD (U/L)/t2	119(78-130)	126(72-146)	ns
SOD (U/L)/t3	123(102-131)	144(116-162)	0,002
SOD (U/L)/t4	119(74-131)	130(35-151)	ns
SOD (U/L)/t5	119(103-125)	145(114-161)	0,002
SOD (U/L)/t6	128(112-146)	138(78-153)	0,057

Medijane (25. – 75. percentil), Mann-Whitney U test, ns- nesignifikantno, bez statistički značajne razlike

Pre operacije OPCAB bolesnici imaju značajno više aktivnosti antioksidativnog enzima SOD. Kod obe grupe bolesnika se uočava pad aktivnosti u t2, neposredno po završetku operacije kada pada i većina drugih činilaca redoks sistema, iako je većina njih na strani prooksidanasa.

Dinamika promena aktivnosti enzima superoksid-dismutaze (SOD) kod CPB i OPCAB grupe bolesnika je prikazana na Slikama 38 i 39.



Slika 38 i 39. Aktivnost enzima superoksid-dismutaze (SOD) u CPB i OPCAB grupi bolesnika pre i posle operacije u definisanim vremenima

*, **, *** $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ OPCAB vs. ista vremenska tačka u CPB grupi

a, aa, aaa $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u CPB grupi (t2-t5) vs. t1

b, bb, bbb $P < 0,05$; $0,01$; $0,001$ u OPCAB grupi (t2-t5) vs. t1

4.14. INDEKSI POKAZATELJA OKSIDATIVNOG STRESA

Markeri oksidativno-stresnog statusa mereni u ovoj studiji nisu pokazali dovoljnu osetljivost, da bi se zabeležile precizne razlike u redoks ravnoteži odnosno njenom narušavanju tokom ove dve vrste kardiohirurških tehnika. Zbog toga, primenili smo

postupak računanja oksidativno-stresnih indeksa, tj. indeksa pokazatelja oksidativnog stresa. Ovaj indeks označava količnik dva oprečna pokazatelja oksidativnog stresa, od kojih je jedan prooksidans, a drugi antioksidans. Na taj način se dobija precizniji uvid u težinu oksidativno-stresnog oštećenja, kada se istovremeno sagledaju dva pokazatelja suprotnog „značenja”.

5.14.1. Indeks oksidativnog stresa lipidnog porekla–PON1/LOOH indeks

Prvi oksidativno-stresni indeks bio je PON1/LOOH indeks. Oba parametra imaju lipidno poreklo, tj. jedan je deo antioksidativne zaštite organizma a drugi produkt rane faze oksidativnog oštećenja lipida. Oni su, u nekom smislu, povezani s obzirom na to da PON1 ima funkciju da sprečava lipidnu peroksidaciju. Deficit enzima PON1 će dovesti do porasta oksidativnog oštećenja lipidnih komponenti, među njima i do porasta lipidne peroksidacije. Matematički gledano, kada je u količniku brojilac manji broj, a broj u imeniocu raste – dobijamo niži indeks. Takav indeks predstavlja lošiji status bolesnika. I obrnuto, veći broj u brojiocu a manji u imeniocu daje veći indeks. Takav indeks pokazatelja oksidativnog stresa predstavlja bolesnike koji su u boljem statusu nakon operacije. Promena PON1/LOOH indeksa u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike prikazan je u Tabeli 34.

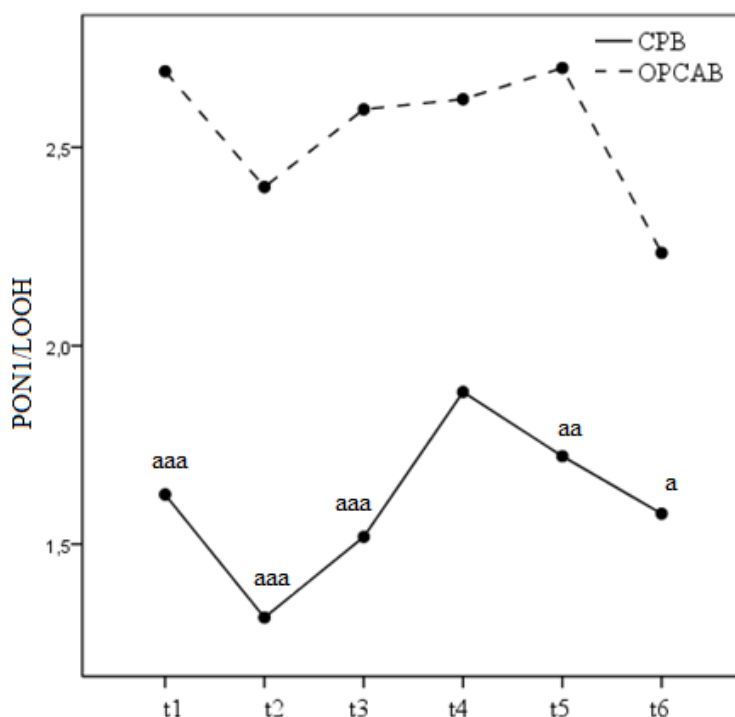
Tabela 34. Promena PON1/LOOH indeksa kod obe grupe bolesnika

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
PON/LOOH t1	1,62±1,09	2,69±1,44	<0,001
PON/LOOH t2	1,31±1,20	2,40±1,33	<0,001
PON/LOOH t3	1,52±1,51	2,60±1,33	<0,001
PON/LOOH t4	1,88±2,40	2,62±1,23	<0,05
PON/LOOH t5	1,72±1,86	2,70±1,44	<0,01
PON/LOOH t6	1,58±1,85	2,23±1,21	<0,05

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno P>0,05

Ovakvom analizom zapaža se inicijalni pad ovog pokazatelja indeksa oksidativnog stresa u t2 vremenu-neposredno posle operacije. Zatim, kod obe grupe bolesnika, indeks raste do 96 sati posle operacije kada ponovo pada. U svakoj tački je ovaj pokazatelj očuvanosti jednog dela antioksidativnog sistema značajno veći kod OPCAB u odnosu na CPB grupu bolesnika.

Na Slici 40 je prikazana dinamika promene PON1/LOOH indeksa i odnos veličina ovog parametra u dve ispitivane grupe bolesnika.



Slika 40. Promene PON1/LOOH indeksa (neposredno posle operacije do 96 sati), u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije; *, **, *** $P < 0,05, < 0,01, 0,001$ vs. bazična vrednost (pre operacije-t1).

Uočavamo da se PON1/LOOH indeks, u okviru svake grupe, nije značajno menjao u postoperativnim vremenima, niti u odnosu na startnu vrednost. Vrednosti PON1/LOOH indeksa su bile značajno niže kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu u celom postoperativnom toku, osim u t4 tački (24 sata nakon operacije).

4.14.2. Indeks oksidativnog stresa proteinskog porekla–AOPP/tSHG indeks

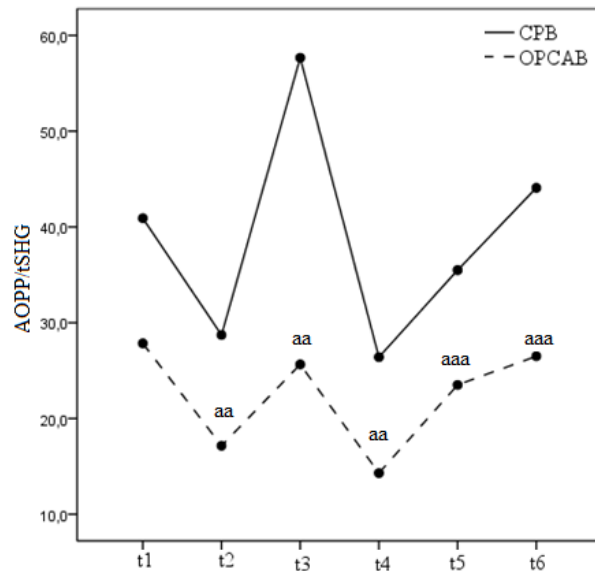
Drugi indeks pokazatelja oksidativnog stresa koji smo pratili je bio količnik AOPP i tSHG, tj. AOPP/tSHG indeks. Ovo su dva proteinska markera, od kojih je jedan pokazatelj oksidativnog oštećenja proteina a drugi pokazatelj statusa neenzimske antioksidativne zaštite. Veća nominalna vrednost ovog količnika ukazuje na lošiji oksidativno-stresni status. Promena AOPP/tSHG indeksa u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike prikazan je u Tabeli 35.

Tabela 35. Promena AOPP/tSHG indeksa kod obe grupe bolesnika

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
AOPP/tSHG t1	40,9±55,5	27,8±17,3	ns
AOPP/tSHG t2	28,7±27,7	17,1±6,5	<0,01
AOPP/tSHG t3	57,7±79,9	25,6±16,6	<0,01
AOPP/tSHG t4	26,4±24,6	14,3±7,10	<0,01
AOPP/tSHG t5	35,5±17,4	23,5±12,4	<0,001
AOPP/tSHG t6	44,1±23,8	26,5±13,8	<0,001

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno P>0,05

Promene unutar jedne operisane grupe tokom vremena nisu bile značajne ni za CPB grupu, niti za OPCAB grupu. OPCAB grupa ima značajno niže vrednosti ovog indeksa oksidativnog stresa tokom celog postoperativnog perioda. Na Slici 41 prikazane su vrednosti AOPP/tSHG indeksa.



Slika 41. Promene AOPP/tSHG indeksa (neposredno posle operacije do 96h), u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije; *,**,***P<0,05,<0,01, 0,001 vs. bazična vrednost (pre operacije-t1)

Uočava se da je oksidativni stres, ako se analizira preko AOPP/tSHG indeksa, bio značajno niži u OPCAB grupi bolesnika u odnosu na CPB grupu.

4.15. INDEKS HETEROGENOSTI ERITROCITA

Red blood cell distribution width (%)-RDW je parametar koji se dobija sa hematološkog brojača u okviru parametara kompletne krvne slike. Predstavlja meru distribucije volumena eritrocita. Ovo je računski parametar koji se dobija kao količnik standardne devijacije srednjeg volumena eritrocita (MCV, engl. Mean Corpuscular Volume) i srednje vrednosti volumena eritrocita pomnožen sa sto: $(SD\ MCV / X_{sr}MCV) \times 100 = RDW (\%)$.

4.15.1. Distribucija volumena eritrocita - RDW

Distribucija volumena eritrocita (RDW %) je poređena između CPB i OPCAB grupe bolesnika, da bi se utvrdilo da li je neki od patofizioloških mehanizama koji se razvijaju kod kardiohirurških procedura uticao na ovaj pokazatelj rizika morbiditeta i mortaliteta u dužem vremenskom periodu. Distribucija volumena eritrocira – RDW je prikazana kod obe grupe bolesnika u Tabeli 36.

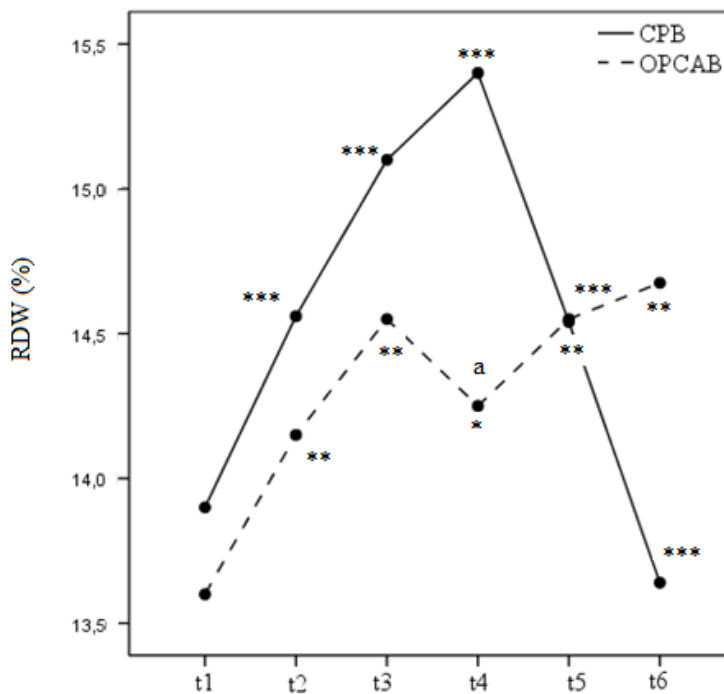
Tabela 36. Promena % distribucije eritrocita (RDW) u ispitivanim vremenima u zavisnosti od tipa primenjene hirurške tehnike

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
RDW/t1	13,9±1,9	13,7±1,2	ns
RDW/t2	14,9±2,6	14,4±1,3	ns
RDW/t3	14,7±2,0	14,4±1,1	ns
RDW/t4	15,1±2,2	14,3±1,3	0,042
RDW/t5	14,7±2,0	14,4±1,4	ns
RDW/t6	14,6±1,8	14,4±1,1	ns

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB,
ns-nesignifikantno $P>0,05$

Iz Tabele 18 se može uočiti da u postoperativnom periodu dolazi do povećanja distribucije eritrocita kod obe grupe bolesnika, ali su vrednosti veće kod CPB u odnosu na OPCAB (24 sata postoperativno razlika postaje statistički značajna). Značajno je napomenuti da su vrednosti u svim tačkama posle operacije bile veće od graničnih 14%, dok kod CPB bolesnika prosečna distribucija volumena eritrocita raste preko 15%, što je definitivni signal pokretanja patofizioloških mehanizama, koji su očigledno jači kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu.

Na slici 42 je prikazana distribucija volumena eritrocita kod dve grupe bolesnika po ispitivanim vremenima.



Slika 42. Distribucija volumena eritrocita (RDW) kod dve grupe bolesnika po ispitivanim vremenima. Promene RDW (neposredno posle operacije do 96 sati), u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije
 *, **, *** $P < 0,05, < 0,01, 0,001$ vs. bazična vrednost (pre operacije-t1), a, aa- $P < 0,05, < 0,01$
 CPB vs. OPCAB u istoj tački merenja

RDW vrednosti su se značajno povećavale u postoperativnom toku i to više kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika. Ono što je uočljivo je da nakon 24 sata kod CPB grupe dolazi do naglog skoka vrednosti ovog parametra i da se nakon toga vrednosti vraćaju na normalu. Kod OPCAB grupe nema ovako velikih porasta vrednosti, ali se nakon inicijalnog porasta u t2-t3 dolazi do blagog pada vrednosti RDW, a zatim dolazi do porasta do kraja perioda merenja.

4.16. BROJ TROMBOCITA

U ovoj studiji je praćen broj trombocita po utvrđenim vremenima postoperativno. Rezultati su prikazani u Tabeli 37 i na Slici 43.

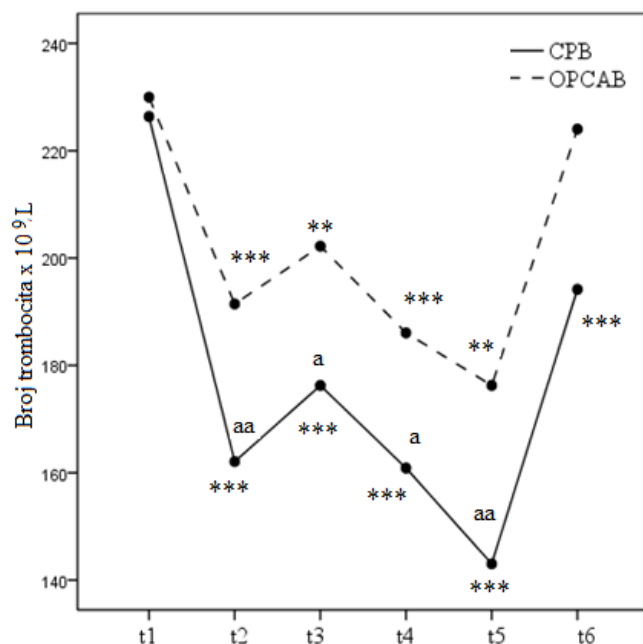
Tabela 37. Promena broja trombocita u ispitivanim vremenima kod obe grupe bolesnika

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
Broj trombocita/t1	226±65	230±54	ns
Broj trombocita/t2	162±49	191±62	<0,01
Broj trombocita/t3	176±55	202±58	<0,05
Broj trombocita/t4	161±52	186±59	<0,05
Broj trombocita/t5	143±56	176±72	<0,01
Broj trombocita/t6	194±75	224±81	0,052

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno $P>0,05$

Primenom T testa za nezavisne uzorke utvrđeno je da se broj trombocita između dve operative grupe nije značajno razlikovao. Kao posledica obe kardihirurške procedure uočava se pad broja trombocita, s tim da je taj pad bio veći kod CPB bolesnika u odnosu na OPCAB grupu bolesnika. U svim tačkama postoperativno, broj trombocita je bio značajno veći kod OPCAB grupe u odnosu na CPB grupu, osim 96 sati nakon operacije kada je razlika između dve grupe po broju trombocita bila na granici značajnosti.

Na slici 43 prikazane su vrednosti broja trombocita postoperativno kod ove grupe bolesnika.



Slika 43. Promene broja trombocita postoperativno (neposredno posle operacije do 96 sati), u odnosu na bazalni nivo pre operacije u obe grupe bolesnika; *, **, *** $P < 0,05, < 0,01, 0,001$ vs. bazična vrednost (pre operacije-t1); a, aa- $P < 0,05, < 0,01$ CPB vs. OPCAB u istoj tački merenja.

4.17. SREDNJI VOLUMEN TROMBOCITA (MPV)

Povećan preoperativni srednji volumen trombocita (engl. Mean Platelet Volume-MPV) je udružen sa neželjenim ishodima nakon koronarne hirurgije. MPV se smatra značajnim, jednostavnim, lako dostupnim, kost-efektivnim parametrom koji može da se koristi za predviđanje neželjenih postoperativnih ishoda kod bolesnika podvrgnutim kardiohirurškim operacijama¹¹⁹.

Praćenje MPV parametra je omogućilo uvid u status aktivacije trombocita tokom kardiohirurških operacija. Poređenjem vrednosti MPV u definisanim vremenima kod dve grupe bolesnika može se utvrditi da nema razlike u vrednosti MPV između dve grupe bolesnika.

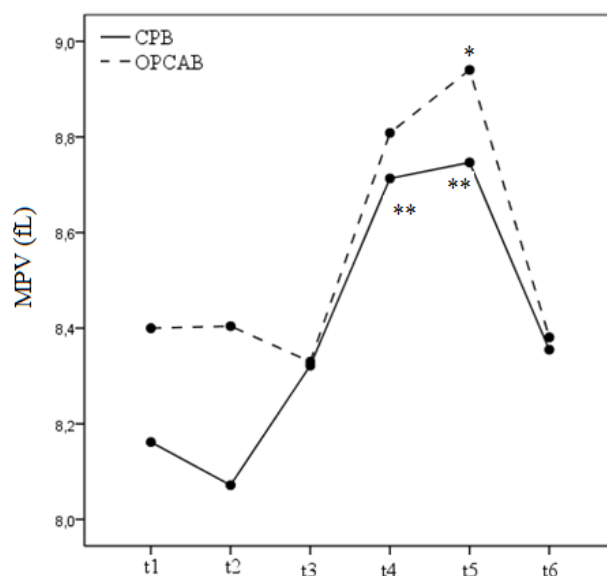
Referentni interval za MPV je 6,8 - 10,4 fL. Rezultati MPV parametara kod obe grupe bolesnika su prikazani u Tabeli 38.

Tabela 38. Promena srednjeg volumena trombocita (MPV) u ispitivanim vremenima kod obe grupe bolesnika

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
MPV/t1	8,2±0,8	8,4±1,0	ns
MPV/t2	8,1±1,0	8,4±1,3	ns
MPV/t3	8,3±1,0	8,3±1,2	ns
MPV/t4	8,7±1,1	8,8±1,3	ns
MPV/t5	8,7±1,1	8,9±1,4	ns
MPV/t6	8,4±1,0	8,4±1,0	ns

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno P>0,05

Na Slici 44 prikazane su promene MPV nakon operacije kod obe grupe bolesnika.



Slika 44. Promene MPV (neposredno posle operacije do 96 sati), u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije; *, **, ***P<0,05, <0,01, 0,001 vs. bazična vrednost (pre operacije-t1).

MPV je rastao u postoperativnom toku i to nešto malo više kod OPCAB grupe u odnosu na CPB grupu, ali bez statistički značajne razlike. U odnosu na bazalne vrednosti kod CPB grupe bolesnika, MPV je bio značajno viši u t4 i t5, ali se do 96 sati nakon operacije vraća na vrednosti bliske startnim vrednostima. Na sličan način bi se mogla opisati dinamika rasta MPV kod OPCAB grupe, s tim što je samo porast u t5 tački bio statistički značajno veći od startnih vrednosti.

4.18. INDEKSI AKTIVACIJE TROMBOCITA – RPR I MPR

4.18.1. RPR-Odnos RDW i broja trombocita (RDW to Platelet Ratio)

Ovaj izvedeni indeks odnosa distribucije volumena eritrocita (RDW) i broja trombocita (PLT) je određivan da bi se zajedno sagledale posledice hronične inflamacije na kvalitet ćelija krvi-eritrocita i broja trombocita kao bitnih faktora hemostaze. Oba hematološka parametra su pojedinačno značajni prediktori mortaliteta nakon kardiohirurških operacija, a njihov količnik je osetljiviji pokazatelj progresije inflamacije i tromboze, istovremeno. Rezultati koji se odnose na promenu RPR indeksa u postoperativnom toku kod obe grupe bolesnika prikazani su u Tabeli 39.

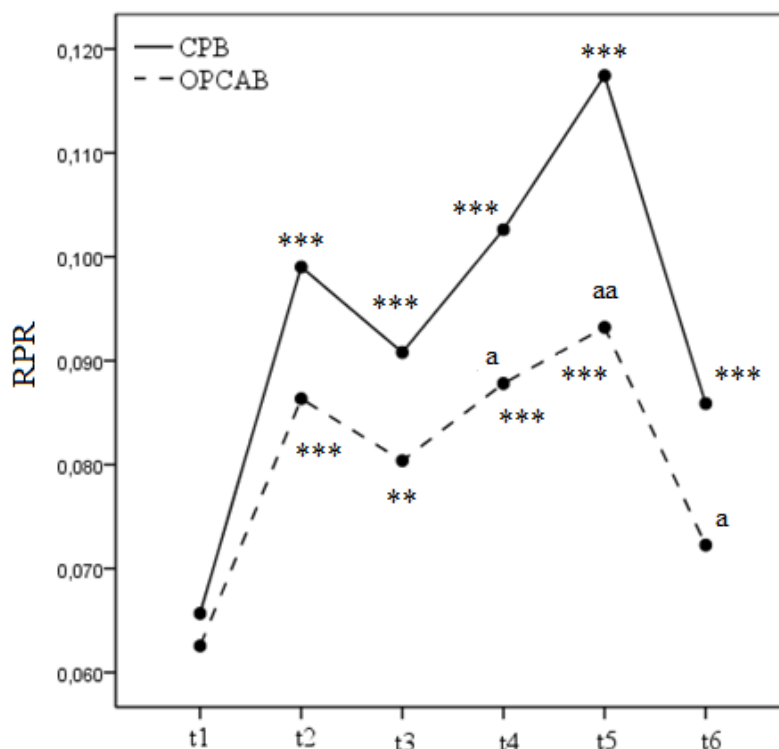
Tabela 39. Dinamika promena RPR indeksa u ispitivanim vremenima kod obe grupe bolesnika

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
RPR/t1	0,066±0,018	0,062±0,015	ns
RPR/t2	0,099±0,028	0,086±0,047	ns
RPR/t3	0,091±0,029	0,080±0,041	ns
RPR/t4	0,103±0,035	0,088±0,041	<0,05
RPR/t5	0,117±0,047	0,093±0,036	<0,01
RPR/t6	0,085±0,033	0,072±0,026	<0,05

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB, ns-nesignifikantno P>0,05

RPR indeks se značajno povećavao kod obe grupe bolesnika i to više kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu. Startne vrednosti su bile jednake, a razlika postaje značajna od 24 sata i dalje, sve do 96 sati nakon operacije. Pik vrednosti ovog indeksa u obe grupe se dostiže nakon 48 sati postoperativno, a posle toga vrednosti počinju da se snižavaju.

Grafički prikaz promene RPR indeksa je dat na Slici 45.



Slika 45. Promene RPR indeksa (neposredno posle operacije do 96 sati), u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije; *,**,*** $P < 0,05, < 0,01, < 0,001$ vs. bazična vrednost (pre operacije-t1)

Uočava se značajan porast vrednosti kod obe grupe bolesnika. Porast je veći kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu u celom posmatranom postoperativnom toku. Razlika između dve grupe bolesnika u RPR indeksu je značajna u vremenima t4-t6.

4.18.2. MPR -Odnos MPV i broja trombocita (MPV to Platelet Ratio)

MPR indeks je određivan da bi se stekao uvid u aktivaciju trombocita kakva se očekuje kod ovakvog vida manipulacije krvotokom, posebno kod CPB grupe bolesnika. Ovaj indeks je u drugim studijama već promovisan kao nezavisni prediktor kasnog mortaliteta kod bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom¹²⁰.

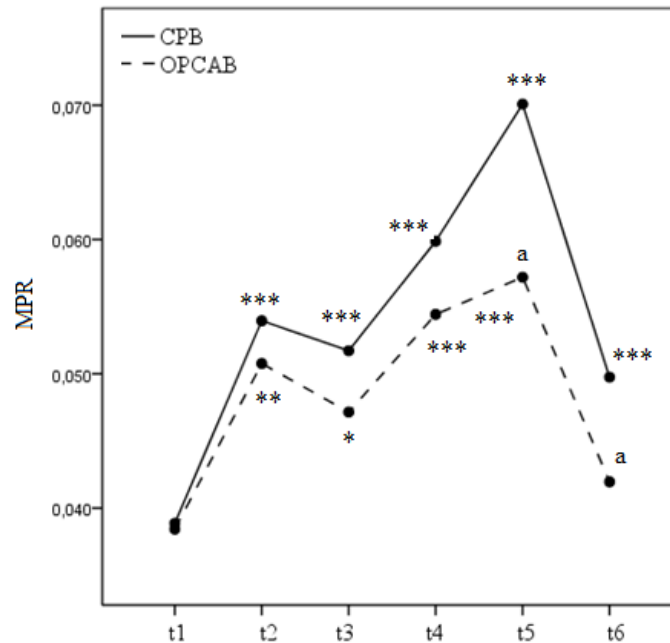
Promene u MPR indeksima u ispitivanim vremenima kod obe grupe bolesnika prikazan je u Tabeli 40.

Tabela 40. Promene u MPR indeksima kod obe grupe bolesnika

Parametar/vreme	CPB N=60	OPCAB N=47	P
MPR t1	0,039±0,010	0,038±0,011	ns
MPR t2	0,054±0,015	0,051±0,032	ns
MPR t3	0,052±0,017	0,047±0,028	ns
MPR t4	0,060±0,022	0,054±0,030	ns
MPR t5	0,070±0,028	0,057±0,022	<0,05
MPR t6	0,050±0,021	0,042±0,016	<0,05

P- T test za nezavisne uzorke CPB vs. OPCAB,
ns-nesignifikantno $P>0,05$

Ovaj pokazatelj aktivacije trombocita se povećavao u postoperativnom periodu kod obe grupe bolesnika, i to više kod CPB grupe. Razlika između CPB grupe i OPCAB grupe u vrednostima ovog pokazatelja je bila statistički značajno viša kod CPB grupe bolesnika u vremenima t5 i t6. Grafički prikaz MPR indeksa dat je na Slici 46.



Slika 46. Promene MPR indeksa (neposredno posle operacije do 96 sati), u odnosu na bazalni nivo pre operacije i poređenje dve grupe bolesnika prema tipu operacije; *, **, ***P<0,05, <0,01, 0,001 vs. bazična vrednost (pre operacije-t1)

MPR je značajno rastao kod obe posmatrane grupe bolesnika u odnosu na bazalne vrednosti. Ipak, uočava se da je porast veći kod CPB grupe i da se pik vrednosti ovog indeksa dostiže nakon 48 sati i tada razlika između dve grupe bolesnika postaje statistički značajna i perzistira do kraja perioda praćenja kada se indeks u OPCAB grupi vraća na vrednosti bliske početnim, dok u CPB grupi i dalje ostaje značajno veći u odnosu na bazalnu vrednost.

4.19. VREDNOSTI SYNTAX SKORA (SS) I PON1 U ISPITIVANIM GRUPAMA

SYNTAX skor (SYNTAX Score-SS) je određivan analizom koronarografskih snimaka i upotrebom on-line kalkulatora¹²¹ čime se stekao uvid u težinu i kompleksnost koronarne aterosklerotske bolesti i kompleksnosti aterosklerotskih plakova.

4.19.1. Vrednosti SYNTAX skora u ispitivanim grupama

Primena Shapiro-Wilk testa za proveru oblika raspodele je pokazala da SYNTAX skor ima normalnu raspodelu kod ispitanika naše studije (obe grupe bolesnika). Provera raspodele SYNTAX skora (SS) u ispitivanim grupama prikazana je u Tabeli 41.

Tabela 41. Provera raspodele SYNTAX skora (SS) po ispitivanim grupama

PARAMETAR	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	P	Statistic	df	Sig.
SYNTAX skor - Vrsta operacije						
CPB	0,093	60	0,200	0,979	60	0,382
OPCAB	0,080	47	0,200	0,988	47	0,918

U Tabeli 42 su prikazane srednje vrednosti i standardne devijacije, kao i minimalne i maksimalne vrednosti SS kod CPB i OPCAB grupe bolesnika.

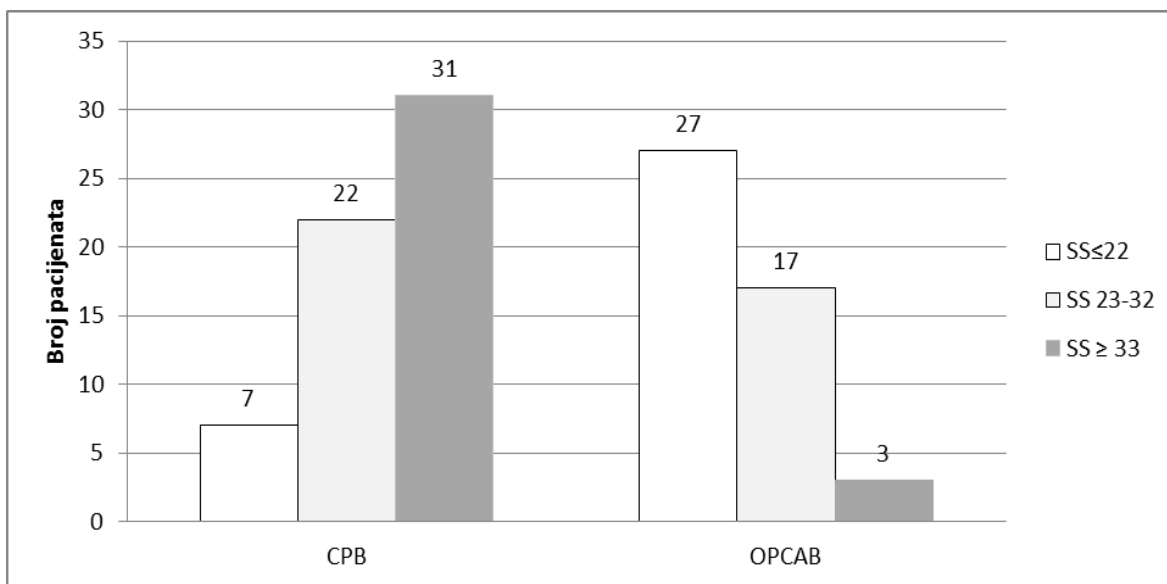
Tabela 42. Srednje vrednosti, standardne devijacije, kao i minimalne i maksimalne vrednosti SS kod obe grupe bolesnika

Parametar	CPB	OPCAB	P
SYNTAX skor	32,1±9,2	20,7±7,9	<0,001
Minimum-maksimum	8-55	3-41	/

Cut-off vrednosti SYNTAX skora (SS) prema rezultatima SYNTAX studije¹²² su:

- 0-22 - niska kompleksnost lezije
- 23-32 - srednja kompleksnost
- ≥33 - kompleksna aterosklerotska lezija

Na Slici 47 je prikazana raspodela broja bolesnika u CPB i OPCAB grupi prema broju ispitanika sa jednostavnim plakom, plakovima srednje kompleksnosti i plakovima visoke kompleksnosti.



Slika 47. Raspodela broja bolesnika po cut-off vrednostima SS ($\chi^2=34,4$, $P<0,001$).

Primenom Hi-kvadrat testa (χ^2) utvrdili smo da značajno veći broj bolesnika u grupi CPB ima kompleksni aterosklerotski plak u odnosu na OPCAB grupu.

4.19.2. Veza između aktivnosti enzima PON1 i osobina aterosklerotskog plaka procenjenog računanjem SYNTAX skora

U ovoj studiji su uočene niske aktivnosti antioksidativnog enzima paraoksonaze 1 (PON1), kako pre operacije tako i u postoperativnom toku. Smanjenje aktivnosti PON1 enzima je bilo značajno veće kod CPB grupe u odnosu na bolesnike OPCAB grupe, pri čemu treba istaći da su bolesnici iz obe grupe imali komparabilne vrednosti EuroSCORE-a [CPB-6 (3-8) i OPCAB-6 (4-9), $P>0,05$ – Tabela 7].

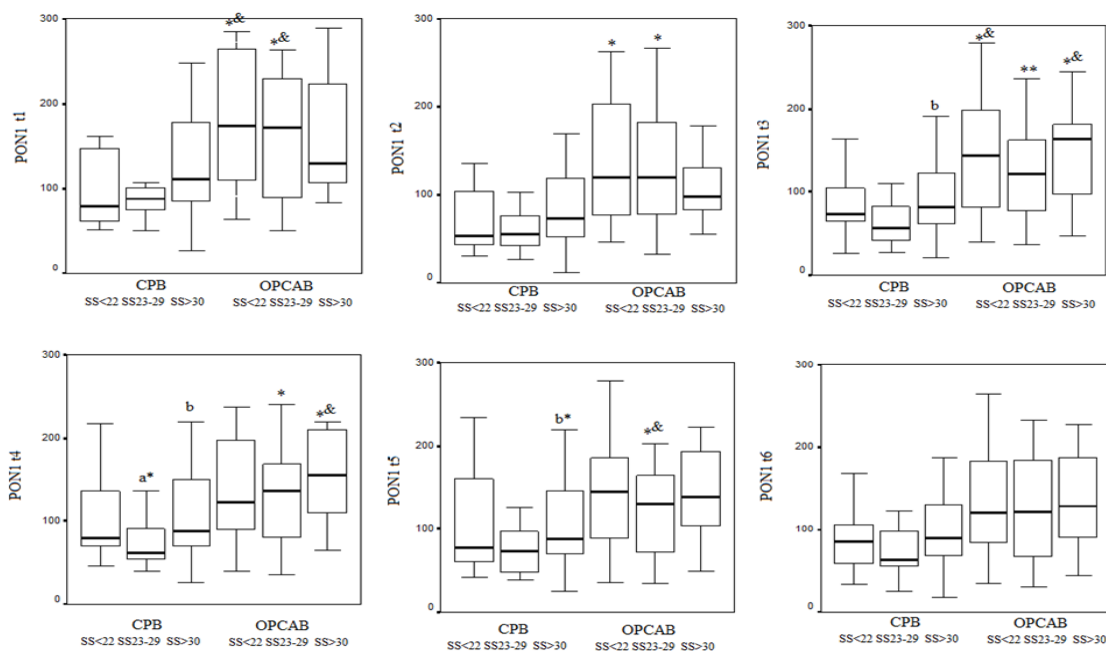
Procena udruženog delovanja okluzije koronarnih krvnih sudova procenjena preko vrednosti SYNTAX skora i tipa hirurške intervencije na aktivnost enzima PON1 u određenim tačkama izvedena je upotrebom neparametarske ANOVE (Kruskal-Wallis-ovog testa), nakon koga je primenjen neparametarski t-test – Mann-Whitney U test, čime se

precizno odredilo između kojih grupa postoji značajna razlika. Bolesnike iz obe grupe smo podelili prema tercilima SYNTAX skora (SS) za ovu grupu bolesnika, a granice tercilnih vrednosti su bile: za donji tercil-22, a za gornji-30, što je veoma blisko tercilnim cut-off vrednostima dobijenim u SYNTAX studiji¹²².

Preciznije rečeno, poređeni su bolesnici iz CPB grupe sa bolesnicima iz OPCAB grupe sa istim nivoom okluzije koronarnih krvnih sudova. Podgrupe su definisane na osnovu vrednosti SYNTAX skora na sledeći način:

1. Nizak SS-jednostavna lezija-SS ≤ 22
2. Srednji SS-srednja kompleksnost lezije-SS od 23-29
3. Visok SS-kompleksna aterosklerotska lezija (teška okluzija koronarnih krvnih sudova) ≥ 30

Rezultati ovog dela studije prikazani su na Slici 48.



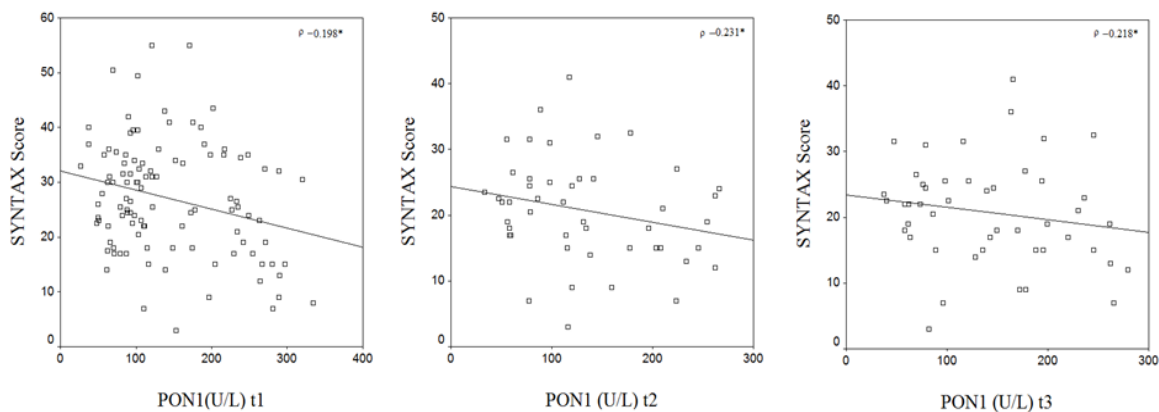
Slika 48. Aktivnost enzima PON1 (U/L) u različitim tačkama studije pre i nakon hirurške intervencije prema podgrupama dobijenim na osnovu SYNTAX skor tercilnih vrednosti (nizak $SS \leq 22$, srednji $SS 23-29$ i visok $SS \geq 30$) *, ** $P < 0,05, 0,01$ OPCAB vs. CPB sa istim nivoom SS, Kruskal-Wallis test i Mann-Whitney U test

a- razlika između grupe sa srednjim i niskim SS, b- razlika između grupe sa visokim i srednjim SS skorom.

Rezultati su pokazali značajno više aktivnosti enzima PON1 sa srednjim SS nivoom u poređenju sa CPB grupom sa istim nivoom težine plaka. Ovaj model se ponavlja u skoro svim tačkama studije i uticaj modaliteta hirurškog tretmana je potvrđen u t2 i t3 tački, kada je utvrđena najveća razlika (razlika u niskim i srednjim SS grupama, OPCAB vs. CPB– Slika 42).

Ono što je još značajnije je preliminarni nalaz ove studije koji se odnosi na blago, ali prilično konstantno, povećanje aktivnosti enzima PON1 kod osoba sa najvišim nivoom stenozе koronarnih krvnih sudova. Ovo je najočiglednije u prvim tačkama studije kod CPB grupe bolesnika. Objašnjenje ovakvog nalaza bi moglo biti u činjenici da CPB bolesnici imaju generalno viši SYNTAX skor od OPCAB bolesnika. Dakle, CPB grupa bolesnika ima težu okluziju, pa se sve promene javljaju ranije i u jasnijem obliku.

Uočena veza između stenozе koronarnih krvnih sudova i sistemske aktivnosti enzima PON1 je dalje testirana primenom Spearmanove neparametarske korelacije. Rezultati Spearmanove neparametarske korelacije su grafički prikazani na Slici 49.



Slika 49. Korelacija između aktivnosti PON1 u različitim tačkama tokom operacije i vrednosti preoperativno određenog SYNTAX skora. Spearmanov koeficijent ρ and P vrednosti ($*P < 0.05$).

SYNTAX skor (SS) je bio u značajnoj inverznoj korelaciji sa aktivnostima PON1 enzima pre operacije, kao i u dve najranije tačke postoperativno (t2 i t3). Nakon 24 sata uočava se da ova korelacija nestaje. I drugi parametri oksidativnog stresa su pokazali u određenim tačkama studije značajnu korelaciju sa SS i to na sledeći način: LOOH značajnu

pozitivnu korelaciju sa SS (t2, t4, t5), AOPP pozitivnu korelaciju (t2), dok tSHG negativnu korelaciju sa SS (t1, t3, t4).

Preciznije ispitivanje veze između stepena stenozе i aktivnosti PON1 je učinjeno primenom multiple linearne regresione analize (MLR), da bismo procenili kliničke i opšte faktore koji bi mogli da utiču na PON1 aktivnost. Početni model se sastojao od sledećih parametara: SYNTAX skor vrednost, status hipertenzije, dijabetes, periferna arterijska bolest, pušenje, porodična istorija kardiovaskularnih bolesti, akutni infarkt miokarda, hiperlipidemija, pol i godine. Ovakva selekcija je omogućila da se izabere najbolji model koji bi objasnio određeni uticaj na snižene aktivnosti PON1 kod koronarnih bolesnika generalno, kao i pod uticajem uslova pod kojima se izvode dva tipa kardiohirurških operacija (Tabele 43, 44, 45).

Tabela 43. Multipla linearna regresiona (MLR) analiza uticaja kliničkih faktora na aktivnost enzima PON1 kod svih bolesnika uključenih u studiju

Svi bolesnici PON1	Najbolji model Adj. R ²	Varijable u najboljem modelu	Nestandardizovani	95% Interval	P
			koficijent Beta (SE)	pouzdanosti za β	
t1	0,221	SYNTAX skor BMI	-3,3(0,86) 7,0 (2,3)	-5,0- -1,6 2,3 – 11,6	<0,001 0,004
t2	0,188	SYNTAX skor BMI	-3,0 (0,76) 4,1 (2,1)	- 4,5 – -1,5 0,03-8,25	<0,001 0,049
t3	0,162	SYNTAX Skor BMI	-2,62 (0,70)	-4,0 – 1,2 -0,38 –7,30	<0,001 0,076
t4	0,110	SYNTAX Skor BMI	-1,88 (0,678) 3,71 (1,85)	-3,23 – 0,56 0,013 –7,40	0,007 0,049
t5	0,158	SYNTAX Skor BMI	-2,52 (0,698) 3,62 (1,91)	-3,91 – -1,12 -0,178 –7,42	0,001 0,062
t6	0,116	SYNTAX Skor BMI	-2,06 (0,688) 3,39 (1,88)	-3,43 –0,68 -0,35 – 7,14	0,004 0,075

Tabela 44. Multipla linearna regresiona (MLR) analiza uticaja kliničkih faktora na aktivnost enzima PON1 kod CPB grupe bolesnika

CPB grupa PON1	Najbolji model Adj. R ²	Varijable u najboljem modelu	Nestandardizovani koeficijent Beta (SE)	95% Interval pouzdanosti za β	P
			t1	0,202	BMI
t2	0,266	BMI Godine	7,13 (2,21) -1,86 (0,949)	2.66-11,6 -3,78 –0,062	0,003 0,057
t3	0,153	BMI	4,97 (1,73)	1,47-8,46	0,007
t4	0,252	BMI	7,55 (1,99)	3,54 – 11,57	<0,001
t5	0,283	BMI	8,03 (1,93)	4,07-11,99	<0,001
t6	0,288	BMI Hiperlipidemija	6,74 (1,68) -23,5 (13,7)	3,34-10,15 -51,2 – -4,34	<0,001 0,095

Nestandardizovani β koeficijenti (SE), 95% Interval pouzdanosti i P vrednosti za parametre u najboljem modelu koji predviđa varijaciju u aktivnosti PON– „backward” selekcija.

Tabela 45. Multipla linearna regresiona (MLR) analiza uticaja kliničkih faktora na aktivnost enzima PON1 kod OPCAB grupe bolesnika

OPCAB grupa PON1	Najbolji model Adj. R ²	Variable u najboljem modelu	Nestandardizovani koeficijent Beta (SE)	95% Interval pouzdanosti za β	P
			t1	0,277	Hipertenzija
t1	0,277	Periferna arterijska bolest	-67,6 (23,7)	-116,0– -19,3	0,008
		Pušenje	-55,5 (25,1)	-106,6– -4,3	0,034
		t2	0,136	Periferna arterijska bolest	-57,3 (22,8)
t3	0,292	Periferna arterijska bolest	-48,5 (20,4)	-90,2– -6,8	0,024
		Godine	-3,11(1,1)	-5,3– -0,897	0,007
t4	0,027	Periferna arterijska bolest	-28,5 (20,4)	-70,0-13,1	0,172
t5	0,131	Periferna arterijska bolest	-48,7 (21,6)	-92,6– -4,7	0,031
		Hipertenzija	-49,5 (28,6)	-107,8 – -8,8	0,093
t6	0,035	Periferna arterijska bolest	-34,8 (23,3)	-82,2 – 12,5	0,144

Nestandardizovani β koeficijenti (SE), 95% Interval pouzdanosti i P vrednosti za parametre u najboljem modelu koji predviđa varijaciju u aktivnosti PON1 – „backward” selekcija.

Kada se analiziraju rezultati dobijeni za celu grupu bolesnika, bez obzira na hiruršku opciju, MLR analiza je istakla SS i BMI kao glavne determinante aktivnosti enzima PON1. Ako se ima u vidu uočena značajna negativna korelacija između SS i aktivnosti PON1, možemo pretpostaviti da povećanje težine i kompleksnosti plaka dovodi

do snižavanja aktivnosti PON1. Ovakav nalaz važi za sve tačke studije. Ista statistička analiza primenjena na CPB grupu bolesnika je istakla BMI kao značajni prediktor aktivnosti PON1. U OPCAB grupi glavni prediktor niskih PON1 aktivnosti je prisustvo periferne arterijske bolesti.

4.20. KLINIČKA TAČNOST POJEDINIH IZABRANIH PARAMETARA OKSIDATIVNO-STRESNOG STATUSA U PREDVIĐANJU POJAVE POSTOPERATIVNIH KOMPLIKACIJA

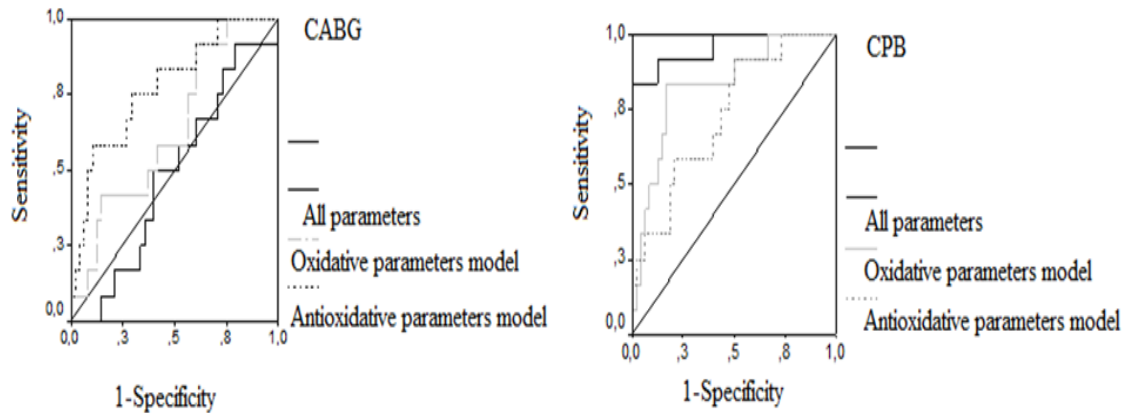
Testiranje kliničke tačnosti parametara oksidativnog stresa u predviđanju pojave kliničkih komplikacija posle operacije u celoj CABG grupi bolesnika, kao i u CPB grupi posebno je izvedeno primenom Receiver Operating Characteristic curve (ROC) analize. Kod bolesnika uključenih u ovu studiju od 15 kliničkih komplikacija (14% bolesnika), 12 komplikacija su zabeležene kod CPB grupe bolesnika (11% svih bolesnika, 80% svih komplikacija koje su zabeležene), dok su 3 komplikacije zabeležene kod OPCAB grupe (2,8% bolesnika, 20% svih komplikacija). Konstruisana su tri modela:

1. Model 1-parametri oksidativnog stresa LOOH i AOPP
2. Model 2-parametri antioksidativne zaštite PON1 i tSHG
3. Model 3-sva 4 OSS parametra integrisana primenom logističke regresione analize

ROC analiza je pokazala da Model 2 – PON1+tSHG ima dobru diskriminatornu sposobnost (AUC=0,776, P=0,003 prema Hosmer i Lemeshowim pravilima)¹²³.

U ROC analizi sprovedenoj posebno u CPB grupi (zbog najvećeg broja kliničkih komplikacija) najbolju kliničku tačnost je imao Model 3 – integrisani svi oksidativno-stresni parametri – izuzetna tačnost (AUC =0,957, P<0,001).

Grafikoni za ROC krive za različite modele i grupe bolesnika su prikazane na Slici 50, a detaljniji podaci vezani za ovu analizu prikazani su u Tabeli 46.



Slika 50. ROC krive izabranih modela parametara, OSS – testiranje njihove diskriminatorne sposobnosti da predvide postoperativne kliničke komplikacije kod svih CABG bolesnika, posebno u CPB grupi

Tabela 46. Površina ispod krive, 95% interval pouzdanosti i SE za selektovane modele parametara kod CABG bolesnika i posebno kod CPB grupe bolesnika

CABG bolesnici	AUC (SE)	P	95% interval pouzdanosti
Model LOOHAOPP	0,704 (0,066)	0,012	0,574-0,833
Model PON1tSHG	0,828 (0,050)	<0,001	0,730-0,926
Model Svi OS	0,599 (0,066)	0,222	0,469-0,728
CPB grupa			
Model LOOHAOPP	0,733 (0,077)	0,013	0,582-0,883
Model PON1tSHG	0,832 (0,065)	<0,001	0,703-0,960
Model Svi OS	0,957 (0,034)	<0,001	0,890-1,023

4.21. ANALIZA REZULTATA KVALITETA I BRZINE OPORAVKA DOBIJENIH EUROQOL-5D I EUROQOL-VAS UPITNICIMA

Ovom studijom je procenjivana brzina i kvalitet oporavka bolesnika, koji je procenjivan na osnovu veoma jednostavnih EuroQol 5-D i EuroQol-VAS upitnika¹²⁴. Takođe, analiziran je uticaj vrste operacije i starosti bolesnika na oporavak bolesnika,

dužinu boravka u bolnici i postoperativno samostalno iskazan zdravstveni status (self-reported health status). U Tabelama 47, 48, 49 je prikazan deskriptivni model za EQ-5D skor, EuroQol-VAS, kao i za postoperativne dane i starost obe ispitivane grupe bolesnika.

Tabela 47. Deskriptivni model za EQ-5D skor, EuroQol-VAS i postoperativne dane između CPB i OPCAB grupe bolesnika

Varijabla	Vrsta operacije	N	Mean	SD	F	p
EQ-5D	CPB	60	0,45	0,34	30,6	<0,001
	OPCAB	47	0,74	0,21		
VAS	CPB	60	60,4	12,3	29,6	<0,001
	OPCAB	47	72,4	12		
PO dani	CPB	60	13,7	8,96	11,6	0,001
	OPCAB	47	9,1	2,46		

U ovoj studiji pokazano je da postoji značajna razlika između u ove dve grupe bolesnika po pitanju EQ-5D skora, VAS skora i postoperativnim danima provedenim u bolnici.

Tabela 48. Deskriptivna analiza za EQ-5D skor, EuroQol-VAS i postoperativne dane između bolesnika mlađih od 65 godina u odnosu na bolesnike starije od 65 godina

Varijabla	Vrsta operacije	N	Mean	SD	F	p
EQ-5D	manje od 65 godina	50	0,68	0,25	14,4	<0,001
	više ili jednako 65 godina	57	0,49	0,36		
VAS	manje od 65 godina	50	69,3	10,3	11,8	<0,001
	više ili jednako 65 godina	57	62,2	15,1		
Postoperativni dani	manje od 65 godina	50	11,3	6,87	0,669	0,415
	više ili jednako 65 godina	57	12,2	7,73		

Više vrednosti za EQ-5D skor i VAS, kao i manji broj postoperativnih dana imali su bolesnici iz OPCAB grupe u odnosu na CPB grupu bolesnika. Takođe, pokazano je da postoji značajna razlika između bolesnika mlađih od 65 godina u odnosu na bolesnike sa 65 ili više godina starosti u EQ-5D skoru i VAS-u (Tabela 48). Između pomenutih grupa nije bilo razlike u broju postoperativnih dana provedenih na bolničkom lečenju. U odnosu na bolesnike sa 65 ili više godina starosti, bolesnici mlađi od 65 godina imali su više vrednosti za EQ-5D skor i VAS. Deskriptivna analiza prema faktoru starosti i faktoru operacije za EQ-5D, VAS i postoperativne dane prikazani su Tabeli 49.

Tabela 49. Deskriptivna analiza prema faktoru starosti i faktoru operacije za EQ-5D, VAS i postoperativne dane

Varijabla	Vrsta operacije	Starost	Mean	SD	N
EQ-5D	CPB	manje od 65 godina	0,59	0,28	30
		više ili jednako 65 godina	0,32	0,34	30
	OPCAB	manje od 65 godina	0,81	0,12	20
		više ili jednako 65 godina	0,69	0,26	27
EuroQol-VAS	CPB	manje od 65 godina	65,0	9,47	30
		više ili jednako 65 godina	55,9	13,2	30
	OPCAB	manje od 65 godina	75,8	8,16	20
		više ili jednako 65 godina	69,8	13,9	27
Postoperativni dani	CPB	manje od 65 godina	12,8	8,44	30
		više ili jednako 65 godina	14,7	9,49	30
	OPCAB	manje od 65 godina	9,15	2,18	20
		više ili jednako 65 godina	9,12	2,71	27

Pokazano je da ne postoji značajna interakcija između faktora starosti i faktora operacije u EQ-5D skoru ($F=2,1$; $P= 0,149$), VAS-u ($F= 0,44$; $P= 0,509$) i broju postoperativnih dana ($F= 0,520$; $P= 0,473$).

Univarijantnim testiranjem pokazano je da između bolesnika sa niskim rizikom za oporavak u odnosu na bolesnike sa srednjim ili visokim rizikom nema značajne razlike u distribuciji učestalosti po kategorijama operacije ($P=1,000$). Od ukupno 90 bolesnika sa srednjim ili visokim rizikom, njih 56,7% je bilo na pumpi za CPB, dok je na ukupnom broju od 15 bolesnika sa niskim rizikom, OPCAB bolesnika bilo 9 (60%). Pronađena je

značajna razlika između bolesnika sa niskim rizikom za oporavak u odnosu na bolesnike sa srednjim ili visokim rizikom u distribuciji učestalosti prema starosnim kategorijama ($P < 0,01$). Manje od 65 godina imalo je 42,2% bolesnika u grupi sa srednjim ili visokim rizikom za oporavak, dok je ova starosna kategorija u grupi sa niskim rizikom za oporavak bila zastupljena sa 80%.

Rezultati su pokazali da između bolesnika sa niskim rizikom za oporavak u odnosu na bolesnike sa srednjim ili visokim rizikom, postoji značajna razlika u EQ-5D skoru ($t = -6,151$; $P = 0,001$) i VAS-u ($t = -4,454$; $P = 0,001$), dok nije bilo razlike u broju postoperativnih dana ($t = 0,765$; $P = 0,451$). Kod bolesnika sa niskim rizikom za oporavak u odnosu na bolesnike sa srednjim ili visokim rizikom, prosečne vrednosti za obe varijable zdravstvenog statusa bile su veće: (1) za EQ-5D skor ($0,80 \pm 0,09$ vs $0,54 \pm 0,33$); (2) za VAS ($74,2 \pm 6,62$ vs $64,1 \pm 13,8$) i (3) za broj postoperativnih dana ($10,4$ dana $\pm 2,61$ dan vs $12,01$ dan $\pm 7,81$ dan).

Modelom binarne logističke regresije dobijena su tri značajna nezavisna prediktora niskog rizika oporavka (Tabele 50 i 51). Dve kategorijske varijable starost i vrsta operacije pokazale su značajnu interakciju. Bolesnici iz CPB grupe mlađi od 65 godina imali su 4,823 puta veću verovatnoću da su preoperativno ocenjeni sa niskim rizikom oporavka (Tabela 50). Takođe, verovatnoća da se preoperativno bolesnik oceni sa malim rizikom za oporavak raste 30,4 puta sa svakim povećanjem postoperativno merenog EQ-5D skora za 0,001. Bootstrapping metodom validirani su značajni prediktori logističkog modela sa biasom za kategorijske prediktore u interakciji (starost-operacija), koji je bio 0,128 i bajasom za EQ-5D skor koji je iznosio 1,181.

Tabela 50. Parametri za prediktore rizika u oporavku bolesnika i izabrani ishod u modelu binarne logističke regresije

Vrijabla	B	SE	Wald	df	p	Odds ratio	95% Confidence interval for odds ratio	
							Lower	Upper
Bolesnici mlađi od 65 godina-CPB	1,573	0,694	5,138	1	0,023	4,823	1,237	18,801
EQ-5D score	10,3	3,482	8,788	1	0,003	30402,300	33,034	27979970,237
Constant	-9,965	2,888	11,9	1	0,001	0,001		

Tabela 51. Bootstrap za prediktore rizika u oporavku bolesnika i izabrani ishod nizak rizik oporavka u modelu binarne logističke regresije

Varijabla	B	Bootstrap				
		Bias	SE	p	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
Bolesnici mlađi od 65 godina-CPB	1,573	0,128	1,029	0,009	0,265	3,543
EQ-5D score	10,3	1,181	4,364	0,004	5,076	22,5
Constant	-9,965	-1,079	3,759	0,004	-20,553	-5,706

Bolesnici iz OPCAB grupe u odnosu na CPB grupu bolesnika imaju bolji postoperativno samostalno iskazan zdravstveni status i kraći postoperativni oporavak. Takođe, bolji postoperativni samostalno iskazan zdravstveni status imaju bolesnici mlađi od 65 godina u odnosu na bolesnike sa 65 godina i više. Međutim, metoda izbora kod bolesnika mlađih od 65 godina jeste sprovođenje operacije na mašini za vantelesnu cirkulaciju zbog značajnog povećanja šanse ovih bolesnika da imaju nizak rizik oporavka. Postoperativno izmeren EQ-5D je nezavisno od metoda operacije i starosnih kategorija, značajano i snažno povezan sa niskim rizikom oporavka bolesnika.

5. DISKUSIJA

Osnovni cilj ove studije je bio procena dinamike promene parametara oksidativno-stresnog statusa (OSS) tokom dve primenjene kardiohirurške tehnike, do 96 sati nakon završetka operativnih procedura. Procena oksidativno-stresnog statusa (OSS) je izvršena određivanjem koncentracije nekoliko markera oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite: lipidnih-hidroperoksida (LOOH), produkata uznapredovale oksidacije proteina (AOPP), totalnog oksidantnog statusa (TOS), nivoa superoksid anjon radikala ($O_2^{\bullet-}$), prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB), malondialdehida (MDA), aktivnosti antioksidativnog enzima paraoksonaze 1 (PON1), koncentracije ukupnih sulfhidrilnih grupa (tSHG), koncentracije totalnog antioksidativnog statusa (TAS) i enzima superoksid-dismutaze (SOD).

Tako smo dobili uvid u oksidativno oštećenje lipida (meranjem koncentracije LOOH kao indikatora rane faze oksidativnog oštećenja i meranjem koncentracije MDA kao indikatora kasne faze oksidativnog oštećenja lipida) i indikatora oksidativnog oštećenja proteina (AOPP, marker kasnije faze oksidativnog oštećenja, kada već dolazi do modifikacije proteinskih molekula koje su obično bolje zaštićene od oksidativnih oštećenja u odnosu na druge biomolekule, pre svega u odnosu na lipide). Antioksidativnu zaštitu smo pokušali da kvantifikujemo sa aspekta njenog enzimskog porekla (enzimi PON1 i SOD) kao i sa aspekta neenzimskog porekla-ukupne sulfhidrilne grupe (tSHG) i totalnog antioksidativnog statusa (TAS). S obzirom na činjenicu da je enzim PON1 fizički smešten na HDL lipoproteinskoj čestici on ujedno predstavlja antioksidans lipidnog porekla, dok su ukupne SH grupe uglavnom proteinskog porekla, te smo tako dobili uvid i u stanje te vrste zaštite biomolekula.

Ova studija je u smislu analitike i kvantifikacije oksidativno-stresnog statusa imala kompleksnu postavku pošto je oksidativno-stresni balans kod kardiovaskularnih bolesnika narušen u dužem periodu, pa su inicijalne koncentracije/aktivnosti merenih markera odslikavale hroničnu izloženost ovih bolesnika delovanju slobodnih radikala kao posledica aterosklerotske bolesti koja je kod ovih bolesnika bila kompleksna i dostigla tačku bez

povratka. Sa druge strane, promene ove osetljive ravnoteže nakon operacije su posledica akutnog stresa izazvanog samom hirurškom procedurom. Osim toga, na stepen pojačanja oksidativnog stresa tokom kardiohirurške operacije svakako uticaja ima i primenjena operativna tehnika, kao i kvantifikacija tih promena što je i bio cilj ove studije. Jedan od ciljeva ove studije je bilo i praćenje precizne dinamike promene parametara redoks ravnoteže u dužem postoperativnom periodu, što je i postignuto izborom specifičnih vremena praćenja koja, bar prema našem saznanju nisu pokrivena ni jednom dosadašnjom objavljenom studijom iz ovog naučnog polja. Iako je pozitivan ishod on-pump aortokoronarne bypass tehnike u smislu potpune revaskularizacije miokarda na mestima postojeće stenoze dokazan u mnogim prethodnim studijama¹²⁵, ova tehnika je udružena sa pokretanjem sistemskog inflamatornog odgovora, posledične akutno-fazne reakcije, što povećava rizik od razvoja postoperativnih komplikacija. OPCAB kardiohirurška tehnika na kucajućem srcu je razvijena sa ciljem minimizacije inflamacije i indukcije sinteza proteina akutno-faznog odgovora, obzirom na to da se radi o tehnici kod koje su zaobiđeni ključni elementi CPB tehnike koji dovode do razvoja pomenutih neželjenih patofizioloških mehanizama¹²⁶. Prema podacima Američkog udruženja torakalnih hirurga (AATS) sveukupni rizik od mortaliteta nakon izvođenja ovakvih operacija smanjio se sa više od 5% (1989.g) na oko 2% (računato za period 2007.-2009.g.)¹²⁷. Zbog snažne inflamatorne reakcije praćene generisanjem slobodnih radikala, bitnih sistemskih patofizioloških mehanizama, postoji potreba da se ovi neželjeni efekti procenjuju i mere, sa ciljem njihovog ograničavanja i neutralisanja.

Kao jedan od osnovnih problema u svim hirurškim tehnikama pominje se razvoj ishemije i posledične reperfuzije nakon uspostavljanja adekvatnog protoka krvi¹²⁸. Jedan od glavnih neželjenih patofizioloških događaja uzrokovanih CPB procedurom je razvoj ishemije u trenutku plasiranja aortne kleme i davanje rastvora kardioplegije. Nakon puštanja aortne kleme i odvajanja bolesnika od CPB mašine, dolazi do razvoja reperfuzionog procesa u trenutku uspostavljanja normalnog protoka krvi¹²⁹.

Reperfuzija nastaje kao posledica nekoliko kompleksnih i nezavisnih mehanizama, koji pored ostalog uključuju i produkciju reaktivnih kiseonikovih jedinjenja, tzv. slobodnih

radikala¹³⁰ koji zbog svoje izuzetne reaktivnosti, u težnji da postignu stabilnu elektronsku strukturu napadaju susedne ćelijske i subcelularne strukture i oštećujući ih, započinju lančane reakcije stvaranja novih slobodnih radikala-reaktivnih metabolita kiseonika i azota¹³¹.

Reperfuzija dovodi i do endotelne disfunkcije, koja se ogleda u vazokonstrikciji, aktivaciji trombocita i leukocita, povećanom stvaranju prooksidanasa-činilaca oksidativnog stresa i povećanoj ekstravazaciji proteina i vode¹³².

Oksidativni stres nastaje kao rezultat disbalansa između stvorenih slobodnih radikala i komponenti antioksidativne zaštite. U nekim patofiziološkim supstratima dolazi do povećanog generisanja slobodnih radikala, dok u drugima dolazi do iscrpljivanja antioksidativne zaštite. U najvećem broju slučajeva oba mehanizma oksidativno-stresnog poremećaja teku paralelno, tako da to produbljuje i otežava nastala oštećenja različitih kompleksnih biomolekula^{133,134}.

Problem sa nastankom slobodnih radikala *in vivo* i eventualne primene antioksidanasa u cilju zaštite od nastajanja oštećenja je u tome što su slobodni radikali deo normalnog, fiziološkog sistema medijatora/modulatora normalne fiziologije ćelije, pa je bilo kakva manipulacija ovim osetljivim sistemom, u smislu primene antioksidanasa opasna, pa čak i štetna¹³⁴. Jedan od glavnih činilaca oksidativnog stresa za koji se smatra da ima centralno mesto u ovom hemijski aktivnom sistemu je superoksidni anjon, jer njega u uslovima ishemije generiše nekoliko enzimskih sistema¹³⁵. Glavno mesto i akteri nastanka reaktivnih jedinjenja kiseonika (superoksidnog anjona) su mitohondrijalni elektronski transportni lanac, endoplazmatski retikulum, enzimi NADPH oksidaza i ksantin-oksidaza.

Nastanak superoksidnog anjona u uslovima ishemije i reperfuzije do koga kod kardiovaskularnih pacijenata dovodi hroničan aterosklerotski proces na koronarnim arterijama u dužem periodu je uzrok oštećenja različitih biomolekula. U našoj aktuelnoj studiji određivali smo koncentracije lipidnih hidroperoksida kao indikatora „rane” faze oksidativnog oštećenja lipidnih molekula, mada je kod hroničnih stanja kakvo je koronarna bolest teško i neprecizno govoriti o bilo kakvoj „ranoj” fazi jer je patološki proces prisutan

u dužem vremenskom periodu. Lipidne molekule, posebno polinezasićene masne kiseline zbog prisustva većeg broja dvostrukih, nezasićenih veza i njihove lokalizacije u ćelijskim strukturama su podložne procesu lipidne peroksidacije pod uticajem superoksidnog anjona.

U našoj aktuelnoj studiji, obe grupe bolesnika su imale visoke vrednosti LOOH pre operacije, pretpostavljamo kao posledica hronične i kontinuirane produkcije slobodnih radikala u aterosklerotskom plaku. Značajno je napomenuti da su vrednosti LOOH bile značajno niže kod OPCAB grupe bolesnika u odnosu na CPB grupu, pa i pre operacije.

U postoperativnom toku smo neočekivano zabeležili pad koncentracija ovog pokazatelja oksidativnog stresa. Buffon i saradnici¹³⁶ su određivali koncentraciju LOOH kod bolesnika kojima je rađena perkutana transluminalna koronarna angioplastika, čime je kod njih izazivana kratkotrajna ishemija. LOOH je određivana u uzorcima atrijske i venske krvi sa mesta najbližih mestu ishemije i posledične reperfuzije. Ovi autori su našli da je bazalni oksidativni stres bio inverzno koreliran sa pikom povećanja koncentracije lipidnih-hidroperoksida nakon kratkotrajne ishemije. Ovu pojavu su objasnili rezultatima eksperimentalnih studija u kojima je pokazano da povećan oksidativni stres doprinosi zaštiti miokarda povećanom ekspresijom antioksidativnih enzima. U našoj studiji je ishemija bila prolongirana, kako na makro planu – posmatrajući hroničnu aterosklerozu kod ovih bolesnika-tako i na mikro planu-imajući u vidu dužinu trajanja aortokoronarne operacije. Buffon i saradnici¹³⁶ su svoje procedure sprovodili tokom 15 minuta, dok je u našoj studiji ishemija trajala 46,0 minuta.

Pretpostavili smo da je pad koncentracija ovog markera verovatno posledica aktiviranja drugih sistema i mehanizama oksidativnog oštećenja ili slika sposobnosti antioksidativnog sistema da se izbori sa nastalom „slobodno-radikalskom eksplozijom” u akutnom stanju izazvanom hirurškom traumom. CPB grupa bolesnika je očigledno lošije tolerisala ovaj oksidativno-stresni „udar” pa su njihove koncentracije LOOH perzistirale na višem nivou celim tokom praćenja.

Ovaj nalaz je bio neočekivan s obzirom na to da smo smatrali da ćemo zabeležiti porast ovog markera rane faze oštećenja lipida. Pretpostavka je da je praćen suviše rani period posle hirurškog stresa i da su se oksidativna oštećenja lipida razvila u kasnijem postoperativnom toku. Pretpostavljamo da su uočene početno visoke koncentracije LOOH nastale kao posledica hroničnog oštećenja krvnih sudova aterosklerotskim plakom, a da ovaj mehanizam oksidativnog oštećenja ne dominira u postoperativnom toku od 96 sati.

Malondialdehid (MDA) je krajnji produkt razgradnje lipidnih-hidroperoksida (LOOH) i smatra se markerom kasne faze oksidativnog oštećenja lipida. Koncentraciju malondialdehida (MDA) smo određivali kod CABG bolesnika, pre i posle operacije, sa ciljem da se provere razlike koje ove dve različite operativne tehnike dovode u nivou generisanja oksidativnog stresa.

Analizirajući dinamiku promene ovog parametra nakon operacije, kao i njegove vrednosti pre operacije, poređenjem sa vrednostima kako zdravih sredovečnih osoba i kardiovaskularnih bolesnika iz Srbije¹¹⁶ može se uočiti da su koncentracije MDA kod bolesnika iz ove studije značajno više od vrednosti referisanih u studiji Kotur-Stevuljević i saradnika¹³⁷. U pomenutoj studiji su koncentracije MDA bile kod zdravih osoba 2,91(2,32, 3,65) $\mu\text{mol/L}$, a kod koronarnih bolesnika 3,43 (2,78, 4,24) $\mu\text{mol/L}$, dok su vrednosti MDA kod bolesnika iz ove studije, pre početka operacije prosečno 5 $\mu\text{mol/L}$, a kasnije pod uticajem operacije se još i povećavaju. MDA koncentracija se ne razlikuje značajno između dve grupe bolesnika ni pre operacije, ni posle operacije, sve do 96h, ili poslednje ispitivane tačke studije kada vrednost ovog kasnog markera oksidativnog oštećenja lipida postaje značajno viši kod CPB grupe bolesnika. Ovakva dinamika je i očekivana, jer je ovo kasni marker oksidativnog oštećenja lipida. Ovo je dokaz da je vreme praćenja pojedinih faza studije dobro odabrano, jer se koncentracija MDA na kraju značajno povećala u jednoj od dve grupe koje su podvrgnute različitim operativnim tehnikama, pošto je za ovakav kasni marker potrebno duže vreme u odnosu na neke druge markere čija se koncentracija brže menja u akutnom stanju. Možemo da zaključimo da se definitivan razvoj oksidativno-

stresnog oštećenja može očekivati u prolongiranom postoperativnom periodu, dužem od 48 sati. Dalje, to ukazuje na potrebu preciznijeg praćenja bolesnika i u ovom periodu, kada može da dođe do progresije oksidativnog oštećenja koje može da dovede do razvoja komplikacija vezanih za izvođenje kardiohirurških operacija. Takođe, značajno je da je susticaj svih faktora i činilaca kako oksidativnog stresa tako i antioksidativne zaštite, neto-rezultat njihove „međusobne borbe” iskazan na kraju, kroz značajno više koncentracije MDA u CPB grupi bolesnika. Slične rezultate su dobili i Sbarouni i saradnici¹³⁸ s tim da su oni koncentracije MDA određivali 24 sata i 72 sata nakon operacije i tek u poslednjoj tački uočili značajno povećanje ovog markera lipidnog oštećenja u odnosu na vreme pre operacije. Jedina grupa koju su ovi autori analizirali bili su on-pump CABG bolesnici i kod njih je uočena korelacija MDA sa preoperativnim korelacijama osteopontina, proinflatarnog citokina, kao i sa godinama, dijabetesom i povećanjem koncentracije tropinina nakon operacije.

Preciznije promene MDA tokom kardiohirurških operacija pratili su Souza Dias i saradnici¹³⁹ i utvrđeno je da do povećanja koncentracije MDA dolazi nakon skidanja aortne kleme, a posebno nakon uspostavljanja protoka kroz graftove i reperfuzije. Autori su zaključili, da iako postoji mnogo procedura kojima se pokušava zaštita miokarda od oksidativnog oštećenja, ni jedan način nije potpuno efikasan te da do razvoja oksidativnog oštećenja ipak dolazi. Stoga je zaključeno, da je na kardiohirurzima da nađu nove načine, sredstva i lekove koji bi omogućili što adekvatnije delovanje individualne endogene antioksidativne zaštite za svakog bolesnika.

Na biohemijske procese vezane za oksidativno-stresna oštećenja utiče primarna hronična patologija, u koju je svakako uključena i inflamacija i mnogobrojni drugi tradicionalni faktori rizika za kardiovaskularne bolesti. Ove biohemijske procese moduliraju primenjene hirurške tehnike, kao odgovor organizma na njih. Reakcija akutne faze koja se burno razvija tokom operacije, kao i hemodinamske promene, promene acidobaznog statusa, promene koagulabilnosti krvi, i mnoge druge reakcije se razvijaju kao posledica hirurške traume. Iako su svi ovi procesi hemijski i analitički teško uhvatljivi, ovde je ipak na nekoliko nivoa dokazan razvoj oksidativnog oštećenja.

Prema Kutuku i saradnicima¹⁴⁰ peroksidacija lipida i inflamacija su udruženi procesi uključeni u razvoj ateroskleroze. Prva „tačka preseka” njihovog delovanja je nuklearni transkripcioni faktor NF-κB. Poznato je da aktivacija ovog transkripcionog faktora indukuje ekspresiju mnogih citokina i ćelijskih adhezivnih molekula uključenih u proces aterogeneze. Ulazak monocita u subendotelni prostor i njihova transformacija u makrofage je esencijalan proces za inicijaciju stvaranja aterosklerotskog plaka, a baš taj inicijalni događaj omogućava delovanje pomenutog transkripcionog faktora. Dalje, progresija lezije je potencirana procesom lipidne peroksidacije i simultanom sekrecijom inflamatornih medijatora koje sekretuju makrofagi (utkivljeni monociti) subendotelno. Stocker i Keany¹⁴¹ su predložili hipotezu koja bi mogla da objasni razvoj ateroskleroze po kojoj se intravaskularno događa „oksidativni odgovor na inflamaciju”. Veza između markera oksidativnog stresa i inflamacije je eksplicitno dokazana u studiji na bolesnicima sa angiografski dokazanom koronarnom arterijskom bolešću¹³⁷. U istoj studiji je pokazano da su superoksidni anjon i MDA, kao glavna komponenta koja nastaje u najvećoj koncentraciji nakon inicijalnog raspada lipidnih hidroperoksida, značajni prediktori koronarne arterijske bolesti, ali da nisu nezavisni od činitelja inflamacije.

Iz ove studije mogu se izvući sledeći zaključci vezani za produkciju MDA:

1. Red veličine vrednosti ovog krajnjeg produkta razgradnje lipidnih-hidroperoksida, zbog čega se smatra kasnim markerom oksidativnog oštećenja biomolekula, izmeren u ovoj studiji je bio i nekoliko puta veći od gornje granice referentnih vrednosti (0,1-1,1 μmol/L kod zdravih osoba u poređenju sa 4-6 μmol/L izmerenih kod KVB u različitim tačkama studije).

2. Kod CPB grupe bolesnika uočavamo značajan porast koncentracije MDA 48 sati odnosno 96 sati nakon operacije. Kasno povećanje ukazuje da je nastao kao posledica razgradnje drugih brže i ranije stvorenih prooksidansa i da je bilo potrebno neko vreme da bi se generisala merljiva koncentracija MDA, kao markera kasne faze oštećenja.

3. Kod OPCAB grupe bolesnika u postoperativnom periodu koncentracije MDA ostaju na početnom bazalnom nivou, koji je posledica hronične aterosklerotske bolesti ili

postojanja drugih faktora rizika koji takođe generišu stvaranje slobodnih radikala. Smatramo da perzistiranje MDA kod OPCAB grupe bolesnika na početnom nivou ukazuje na generalno bolje mehanizme antioksidativne zaštite kod ovih bolesnika, ali i pretpostavljamo manji uticaj operativne tehnike na generisanje oksidativnog stresa.

4. Pretpostavka o manjem uticaju OPCAB tehnike na generisanje oksidativnog stresa u odnosu na CPB tehniku je potvrđena nalazom značajno viših MDA koncentracija MDA 96 sati nakon završetka operacije kod CPB u odnosu na OPCAB grupu bolesnika.

Centralnu ulogu u oksidativno-stresnim procesima ima superoksidni anjon, koji zbog prisustva nesporenog elektrona spada u slobodne radikale. Izuzetno je reaktivan i toksičan za kompartimente u kojima se stvara¹⁴². Stvaranje superoksidnog anjona (O_2^-) je deo normalnih metaboličkih procesa i deo odbrane organizma. Otkriven je kao deo procesa tzv. „oksidativne eksplozije” u kome ćelije bele krvne loze pod katalitičkim delovanjem enzima NADPH-oksidade generišu velike količine ovog za bakterije smrtonosnog anjona¹⁴³. Zatim je u endotelnim ćelijama krvnih sudova otkrivena ista familija NADPH-oksida, pa se pretpostavilo da bi na taj način generisan superoksidni anjon mogao imati ulogu u razvoju ateroskleroze, tim pre što je metodama imunohistohemije jasno utvrđeno njegovo fizičko prisustvo u aterosklerotskom plaku¹⁴⁴.

Aktivnost enzima NADPH-oksidade je diktirana, između ostalog, i različitim faktorima rizika za razvoj ateroskleroze. Studija Sorescu i saradnika¹⁴⁵ je imala za cilj utvrđivanje precizne intracelularne lokalizacije superoksidnog anjona u aterosklerotskom plaku.

Utvrđeno je da je u zdravim koronarnim arterijama superoksidni anjon homogeno dispergovan u intimi, mediji i adventiciji. U arterijama zahvaćenim aterosklerozom postoji još jedna intenzivna zona gde se nalazi superoksidni anjon u tzv. „ramenu plaka” („shoulder region of the plaque”), koja je u isto vreme bogata i makrofagama i α -aktinom.

Za potrebe ove studije određivana je brzina generisanja superoksidnog anjona u krvi bolesnika pre operacije, kao i u zadatim vremenima postoperativno i to u podgrupama u zavisnosti od dve operativne tehnike. Interesovalo nas je da li je koncentracija ovog centralnog i najznačajnijeg slobodnog radikala različita kod dve grupe bolesnika tokom definisanih vremena, kao i da li nakon operacije dolazi do njegovog značajnog povećanja i u kom vremenu.

Ako posmatramo medijane vrednosti brzine generisanja superoksidnog anjona možemo uočiti da su bolesnici iz OPCAB grupe imali više vrednosti ovog parametra u odnosu na CPB grupu bolesnika. Međutim, primena t testa za nezavisne uzorke je pokazala da uočena razlika nije statistički značajna. Ovo je posledica velikih raspona u vrednosti ovog parametra posebno unutar jedne grupe bolesnika, između različitih tačaka studije. Interesantna je dinamika promene ovog parametra, posebno kod OPCAB grupe bolesnika. Superoksidni anjon pada u prvoj tački posle operacije u odnosu na vrednost pre operacije. Obzirom na to da u prve dve tačke posle operacije dolazi do porasta TAS-a, kao sveobuhvatnog markera antioksidativnog statusa bolesnika, jasno je zašto superoksidni anjon pada u prvoj tački i postaje neutralisan od strane moćnih reducenasa našeg organizma. Ovi reducensi se aktiviraju u ovakvom akutnom stanju, da bi kompenzovali velike količine slobodnih radikala koji se nekontrolisano generišu. Dinamika promene ovog oksidativnog markera je slična i u CPB grupi, ali je porast koji se uočava u kasnijim tačkama studije mirniji, manje buran u odnosu na ono što se može uočiti kod OPCAB grupe. Možemo pretpostaviti da se superoksidni anjon ($O_2\bullet^-$) generisao najviše tokom same operacije u zavisnosti od primenjenih egzogenih stimulacija, koje su deo svake od dve hirurške tehnike. Studija na CABG bolesnicima je pokazala da tokom hirurške revaskularizacije miokarda dolazi do moćne stimulacije polimorfonuklearnih leukocita da produkuju superoksidni anjon i da posredničku ulogu u tom procesu ima endotelin-1¹⁴⁶. Utvrđeno je da su glavni izvori superoksidnog anjona u krvnim sudovima enzimi NADPH oksidaze i ksantin-oksidaza i da je produkcija ovog slobodnog radikala posredovana angiotenzinom II¹⁴⁷.

U studiji Moltera i saradnika je praćeno generisanje superoksidnog anjona tokom CABG operacija u 12 taćaka, preoperativno i do 24h posle uspostavljanja protoka to jest trenutka reperfuzije. Utvrđeno je da do maksimalnog generisanja superoksidnog anjona dolazi 20-60 minuta nakon uspostavljanja protoka (reperfuzije), a da nakon 90 minuta dolazi do znaćajnog pada u produkciji ovog prooksidansa¹⁴⁸.

Za produkciju i brzinu generisanja superoksidnog anjona ($O_2\bullet^-$) u ovoj studiji moće se zakljućiti sledeće:

1. Poređenjem vrednosti ovog centralnog prooksidansa kod kardiovaskularnih bolesnika sa referentnim vrednostima dobijenim kod velikog broja zdravih osoba uoćava se da je pre poćetka operacije nivo nešto iznad gornje granice referentnih vrednosti (65-150 $\mu\text{mol NBT}/\text{min}/\text{L}$ kod zdravih osoba u odnosu na 78-230 kod bolenika ućesnika ove studije).
2. U t2 ove studije se uoćava pad koncentracije superoksidnog anjona a zatim porast koji perzistira do kraja studije, kada vrednosti prevazilaze i 2-3 puta referentni nivo.
3. Vrednosti su nekoliko puta više kod OPCAB grupe kada se porede sa referentnim opsegom, što znaći da je ovaj parametar reagovao tek u kasnijim fazama postoperativnog toka, ili se njegovo generisanje nastavljalo i u kasnijim fazama studije, pošto verujemo da je i tokom same operacije njegova koncentracija morala biti visoka. Dinamika promene ovog parametra zavisi od više faktora. Prvo, njega generišu enzimi koji su deo imunskog sistema našeg organizma, koje pokreće inflamatorna reakcija, a zatim i izoforme istih enzima prisutnih u endotelnim ćelijama kada dođe do oštećenja endotela. Takođe, moramo da uzmemo u obzir da je endotel u operativni proces stupio kao već donekle disfunkcionalan zbog same prirode bolesti. Sa druge strane, do njegovog oštećenja je sigurno dolazilo tokom hirurške manipulacije na samim krvnim sudovima.

4. Vrednosti superoksidnog anjona izmerene u ovoj studiji se nisu razlikovale kod dve grupe bolesnika, pretpostavljamo zato što su visoke vrednosti ovog parametra već dostignute i operativna procedura nije značajnije uticala na povećanje ovog centralnog oksidansa.
5. Vrednosti ovog parametra su se menjale paralelno sa promenom TOS, što ukazuje da bi isti ili slični mehanizmi mogli da dovedu do generisanja obe vrste prooksidanasa, odnosno da je sudbina stvorenog superoksidnog anjona bila vezana za oksidativno oštećenje lipidnih struktura što smo mi i merili kao povećanje TOS (lipidni-hidroperoksidi i H₂O₂).

Kao i u slučaju LOOH i koncentracije markera oksidativnog oštećenja proteina AOPP su padale posle operacije u odnosu na startne vrednosti (Tabele 23, 24 i Slike 16, 17). Vrednosti AOPP su bile komparabilne kod dve grupe bolesnika pre operacije, prse i čemu se uočava trend ka višim vrednostima kod OPCAB grupe bolesnika. Nakon operacije koncentracije ovog markera padaju i to više kod OPCAB grupe nego kod CPB grupe. Očigledno je da je ovo kasni marker oksidativnog oštećenja i njegova precizna promena nije mogla da bude detektovana u postoperativnom toku od 96 sati, kada dominiraju brzi mehanizmi oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite kao dela akutno-faznog odgovora. Pretpostavljamo da novosintetisani proteinski činioci akutno-faznog odgovora svojim specifičnim zaštitnim funkcijama ne podležu tako jednostavno oksidativnim promenama, kao proteini koji dominiraju u krvi u fiziološkim uslovima. Poznato je da se usled sinteze specifičnih aktera akutnog odgovora suprimira sinteza albumina i drugih negativnih reaktanata akutne faze. Supresija odnosno pad koncentracije albumina je mnogo veći, nego što bi se očekivalo od same blokade sinteze na nivou jetre. Pretpostavlja se da dolazi i do njegovog brzog katabolizma da bi se obezbedio aminokiselinski „pool” za sintezu specifičnih proteina, aktera ovog odgovora organizma na stres kakav sigurno postoji tokom kardiohirurške operacije. Sa druge strane, postoji mogućnost ekstravazacije albumina u situaciji kada je povećana propustljivost krvnih sudova u akutnoj fazi hirurške traume. Sve

ovo navodi na pretpostavku da u trenutku akutnog događaja nije bilo dovoljno inertnog proteinskog materijala koji bi se slobodno-radikalnim mehanizmom oštetiio unutar krvnih sudova i to u toj meri da bi te promene bile merljive u cirkulaciji tokom 96 sati. Studija Lianga i saradnika¹⁴⁹ je utvrdila značajno povećanje AOPP kod bolesnika sedmog dana nakon kardiohirurške operacije i to samo kod onih koji su kao postoperativnu komplikaciju razvili teško akutno bubrežno oštećenje.

Kao jednu od sveobuhvatnih mera jačine oksidativnog stresa koji se generiše, kako usled aterosklerotskog procesa, tako i usled uslova tokom operacije koristili smo određivanje koncentracije totalnog oksidantnog statusa (TOS) ili potencijala kojim se mogu odrediti zbirno koncentracije u tom trenutku u krvi generisanog vodonik-peroksida i lipidnih-hidroperoksida.

Možemo uočiti da su koncentracije TOS, u svim tačkama gde je postojala statistički značajna razlika između dve grupe bolesnika (pre operacije, 6 sati, 24 sata i 48 sati posle operacije) u korist prooksidanasa, bile više kod OPCAB grupe u odnosu na CPB grupu. Dinamika promene ovog oksidativnog markera je brza i mi smo merili zapravo ono što se dešavalo posle samog operativnog procesa i upotrebe pumpe za CPB (koja je glavni generator prooksidanasa), kada verovatno ovi procesi jenjavaju ili bar nisu merljivi preko TOS-a. Kod CPB grupe uočavamo inicijalno povećanje koncentracije TOS, neposredno nakon operacije, zatim pad 6 sati nakon operacije. Nakon toga postoji mali, ali konstantan porast do 96 sati kada je praćenje završeno. Kod OPCAB grupe, nakon inicijalnog pada neposredno po završetku operacije, smenjuju se u svakoj drugoj tački praćenja porast i pad. Ipak, unutar svake od dve grupe bolesnika uočena promena TOS-a nije bila statistički značajna.

Ipak, ovaj parametar ne može odvojeno da se posmatra od promene TAS parametra, jer su po svojoj prirodi ova dva sveobuhvatna parametra suprotstavljeni jedan drugom i možda se geneza jednog od njih potencira aktuelnim statusom onog drugog. Kunt i saradnici¹⁵⁰ su određivali parametre OSS kod bolesnika tokom CABG operacije, od kojih je

jedan deo operacija izvršen upotrebom CPB pumpe. Utvrdili su značajno povećanje oksidativno-stresnog indeksa (količnik između TOS i TAS) i značajan pad totalnog antioksidantnog kapaciteta (ekvivalent TAS-u koji smo mi merili). Ovakav nalaz OS markera u krvi bolesnika tokom operacije su objasnili uticajem vremena upotrebe CPB pumpe i vremena potrebnog za formiranje anastomoza, kao i niskom ejectionom frakcijom bolesnika, odnosno insuficijencijom leve komore. Autori predlažu suplementaciju bolesnicima koji su određeni za CABG operaciju, antioksidativnim vitaminima C i E. Veglia i saradnici¹⁵¹ su računali OXY-SCORE kao razliku između standardizovanih vrednosti ukupnih oksidanasa i standardizovanih vrednosti ukupnih antioksidanasa, kao zbirni indeks OSS i to kod dve grupe CABG bolesnika (CPB i OPCAB). Utvrdili su da CPB bolesnici imaju značajno veći indeks oksidativnog stresa u odnosu na OPCAB bolesnike. OXY-SCORE indeks je približno jednak nuli kod zdravih osoba, kada su koncentracije oksidanasa i antioksidansa u krvi praktično izjednačene, tj. kada se nalaze u ravnoteži¹⁵². Isti autori¹⁵¹ su pratili i dinamiku promene ovog indeksa tokom nekoliko faza operativnog procesa. OXY-SCORE se značajno povećavao kod CPB grupe bolesnika sa maksimalnom vrednošću tokom hirurške procedure (tačka u kojoj u našoj studiji nije uzimana krv bolesnicima), sa oštrim padom na kraju hirurške procedure, koji je praćen daljim smanjenjem, kao što se dešava i sa većinom prooksidanasa. Međutim, za razliku od pojedinačnih antioksidanasa, ovaj zbirni marker oksidativno-stresnih promena je ostao iznad bazičnih vrednosti i do 24 sata nakon završetka operacije.

Proksidativno-antioksidativni balans (PAB) je parametar koji se određuje kao deo oksidativno-stresnog statusa i predstavlja meru koncentracija oksidanasa tipa vodonik-peroksida u antioksidativnom okruženju, što predstavlja na neki način realnu situaciju kakva postoji u svakom živom organizmu u ma kakvom stanju da se on nalazi. Ovaj parametar prikazuje realnu situaciju ili sposobnost antioksidativnog sistema da neutrališe prooksidanse koji se svakodnevno stvaraju u organizmu kao deo fizioloških metaboličkih procesa, a utoliko više u patološkim stanjima. Dakle, očekivano je da i u stanju zdravlja postoji mala, tolerabilna količina prooksidanasa koju merimo preko koncentracije vodonik-

peroksida PAB metodom. Međutim, u različitim bolestima ova aktivnost se povećava pa se mogu u zavisnosti od statusa bolesti mogu naći i visoke koncentracije ovog parametra.

U ovoj studiji, PAB se nije značajno razlikovao kod CPB i OPCAB grupe bolesnika ni u jednoj od posmatranih tačaka. Tokom ispitivanog perioda dolazilo je do porasta PAB-a i to više kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika. Pretpostavljamo da se u akutnom stanju do kakvog dolazi tokom CABG hirurgije razvijaju i potenciraju mnogi zaštitni mehanizmi koji neutrališu vodonik-peroksid, glavnu komponentu PAB aktivnosti, pa se ne uočava neki veliki porast ovog parametra. PAB se u ranijoj studiji kod bolesnika sa akutnim ishemijskim moždanim udarom pokazao kao značajan prediktor ishoda bolesti, odnosno bio je značajno veći na početku studije kod bolesnika koji su umrli u ranom periodu nakon hospitalizacije¹⁵³. U radu Hamidi Alamdari i saradnika¹⁰⁷ (koji su formulisali i optimizovali ovaj test za merenje oksidativno-stresne ravnoteže) je utvrđena veza između nivoa PAB i angiografskog nalaza odnosno broja koronarnih krvnih sudova zahvaćenih hemodinamski značajnom stenozom. Oni su našli značajnu pozitivnu korelaciju sa drugim faktorima rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti, kao što su sistolni i dijastolni krvni pritisak, pušenje, koncentracija glukoze natašte¹⁵⁴. PAB je predložen kao parametar za procenu rizika od razvoja neželjenih kardiovaskularnih događaja od strane Rahsepar i saradnika¹⁵⁵. U njihovoj studiji je dokazana inverzna veza između PAB-a i ejskione frakcije leve komore srca.

Posmatranjem prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB) u ovoj studiji može se zaključiti:

1. Poređenjem sa vrednostima kod zdravih osoba (referentni opseg 45-75 U/L) kod kardiovaskularnih bolesnika merili smo dvostruko više vrednosti ovog pokazatelja prooksidativnih procesa u realnom, antioksidativnom okruženju.
2. Poređenjem CPB i OPCAB vrednosti ovog parametra uočava se da nije bilo statistički značajne razlike.

3. Kod CPB grupe bolesnika je promena koncentracije ovog parametra dinamičnija nego u OPCAB grupi bolesnika. Nakon početnog pada u t2 (nakon davanja protamin-sulfata) dolazi do značajnog rasta do kraja praćenja (96h), tako da su vrednosti PAB na kraju studije značajno više od startnih vrednosti kod CPB grupe.
4. Kod OPCAB grupe bolesnika uočavamo takođe značajan pad u t2, možda i zbog davanja protamina koje je jedinjenje sa jakim redukcionim sposobnostima, a zatim do blagog povećanja posle 24 sata. Međutim, uočeno povećanje nije bilo statistički značajno.
5. OPCAB grupa bolesnika je bolje održavala redoks ravnotežu, bar prema koncentraciji ovog bitnog ravnotežnog parametra.

Aktivnost enzima paraoksonaze (PON1) je bila značajno niža kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika pre operacije. U postoperativnom toku kod obe grupe bolesnika aktivnost ovog zaštitnog enzima se značajno smanjivala i bila u celom postoperativnom toku značajno niža kod CPB u odnosu na OPCAB bolesnike. Obzirom na to da je nakon operacije ova razlika postala veća u odnosu na razliku u bazalnim vrednostima možemo da pretpostavimo da je to posledica primenjene operativne tehnike. Interesantno je uočiti da je aktivnost ovog enzima, za razliku od nekih drugih markera kardiovaskularnog stresa izazvanog hirurškom procedurom, nastavila da konstantno pada do poslednje tačke u kojoj su bolesnici praćeni, tj. do 96 sati nakon operacije. Ovaj podatak ukazuje na potrebu da se praćenje aktivnosti ovog enzima nastavi i u dužem periodu, bar dok su bolesnici hospitalizovani. Po potrebi, praćenje vrednosti PON1 može se nastaviti i na kontrolnim pregledima, za bolesnike kod kojih nije počeo opravak aktivnosti ovog bitnog činioca antioksidativne zaštite organizma.

Interesantno je da je uočeni postoperativni pad antioksidativnog enzima PON1 bio paralelan u obe grupe bolesnika (CPB i OPCAB) i da su se krive promene aktivnosti od t1

do t6 mogle u potpunosti poklopiti. Dakle ovakav model praćenja efekata veštački izazvanog akutnog stresa je bio dobro kontrolisan i stabilan, što je potvrđeno i malim brojem postoperativnih komplikacija u celoj grupi bolesnika.

Distribucija aktivnosti enzima PON1 za populaciju Srbije i to kod zdravih sredovečnih osoba i bolesnika sa angiografski dokazanom koronarnom arterijskom bolešću je objavljena 2006.godine¹⁵⁶. Poređenjem vrednosti PON1 dobijene u toj studiji i aktivnosti PON1 u našoj studiji možemo videti da su aktivnosti naših OPCAB bolesnika pre operacije komparabilne sa vrednostima iz pomenute studije, a značajno niže od PON1 aktivnosti zdravih osoba u populaciji Srbije. Ovaj podatak ukazuje da je dugotrajan aterosklerotski proces iscrpeo ovaj bitan mehanizam antioksidativne zaštite. Bolesnici iz CPB grupe su u startu imali niže aktivnosti enzima PON1. Smanjivanje aktivnosti enzima PON1 posle operacije je bilo progresivnije kod CPB bolesnika. Dobijene vrednosti su kod CPB grupe bolesnika bile u pojedinim postoperativnim vremenima (neposredno i 6 sati nakon operacije) slične vrednostima viđenim kod bolesnika u studiji sa akutnim ishemijskim moždanim udarom¹⁵³, što ukazuje na to da akutno stanje kakvo je hirurška intervencija iscrpljuje ovaj antioksidativni enzim, utoliko više ukoliko je procedura agresivnija.

Koncentracije ukupnih sulfhidrilnih grupa (tSHG) merene u ovoj studiji su bile značajno niže kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika, kako pre operacije tako i u ostalim posmatranim tačkama posle operacije, osim u t2-neposredno posle operacije kada značajan pad u obe grupe dovodi do izjednačavanja vrednosti u dve grupe. Uočava se da CPB grupa bolesnika lošije toleriše oksidativno-stresni udar, pa su kod njih koncentracije ukupnih sulfhidrilnih grupa značajno niže u odnosu na vrednosti kod OPCAB bolesnika. Sličan deficit SH-grupa je uočen u pomenutoj studiji kod bolesnika sa akutnim moždanim udarom, gde su najniže vrednosti tSHG utvrđene kod bolesnika koji su umrli u ranom periodu posle prijema u bolnicu¹⁵³. Kao jedan od neposrednih uzroka smrti tih bolesnika navode se komplikacije u radu srca i pluća, pa je jasno da je isti ili sličan patofiziološki supstrat dirigovao uočene promene oksidativno-stresnog statusa u našoj

sadašnjoj studiji. Pretpostavljamo da je uzrok ovakvog nalaza generalizovana ateroskleroza koja, možda u različitoj meri, ali verovatno po istom obrascu pogađa sve krvne sudove u telu.

Određivali smo koncentraciju totalnog antioksidativnog statusa (TAS) kao dela ukupne antioksidativne zaštite organizma i to njenog neenzimskog dela. Određivanje ovog parametra omogućava uvid u koncentraciju ukupnih redukujućih komponenti u krvi, kao što su: sulfhidrilne grupe proteina, glukoza, kreatinin, urea, mokraćna kiselina, bilirubin, antioksidativni vitamini (vitamin E, vitamin C).

Pre operacije, kao i neposredno posle završene operacije (6 sati), CPB grupa bolesnika je imala značajno niže koncentracije TAS-a. Preoperativni deficit ovog bitnog pokazatelja statusa antioksidativne zaštite bi mogao da ukáže na vezu sa stepenom stenozе koja je bila u proseku veća kod CPB grupe bolesnika. Međutim, nakon operacije dinamika promene ovog parametra je različita kod ove dve grupe bolesnika. TAS pada neposredno nakon operacije kod CPB grupe, dok se kod OPCAB grupe bolesnika povećava. Ovaj trend se nastavlja i do treće tačke (6 sati), s tim da se koncentracija ovog parametra povećava od t2-t3 i kod CPB bolesnika. Ovo ukazuje na pokušaj organizma da neutrališe generisane slobodne radikale i to kompenzatornim povećanjem redukujućih supstrata. Poznato je da u akutnom stanju raste koncentracija glukoze, bilirubina, a u zavisnosti od funkcije bubrega mogu se povećati i koncentracije uree, kreatinina i mokraćne kiseline i da u nekom trenutku doprinesu povećanju koncentracije TAS-a. Sa druge strane, koncentracija albumina kao najveće frakcije ukupnih proteina, značajno pada. Stoga je očekivan pad TAS-a koji se vidi u kasnijim vremenima (t4-t6) kod obe grupe bolesnika, kada promene vezane za koncentraciju albumina progrediraju. U tim vremenima, kada je dolazilo do značajnog pada ovog antioksidativnog markera, nije bilo značajne razlike u koncentraciji TAS između CPB i OPCAB grupa bolesnika.

Već je pomenuto da je u drugim studijama dokazan pad totalnog antioksidativnog statusa (kapaciteta) kod bolesnika podvrgnutih CABG hirurgiji¹⁵⁰. Ranije je utvrđeno da

tokom CABG operacija u vreme pika ishemije-neposredno pre uklanjanja aortne klem dolazi do oštrog pada redukovanog glutaciona i da se taj pad koncentracije GSH produbljuje u periodu posle uspostavljanja reperfuzije, što utiče na oporavak miokarda nakon reperfuzije¹⁵⁷. Redukovani glutation je deo totalnog antioksidantnog statusa, koji smo mi merili u plazmi, i pokazatelj je direktnog uticaja ishemijsko-reperfuzionog oštećenja na status antioksidanasa u krvi bolesnika.

Međutim, neki autori su utvrdili da tokom CABG operacija dolazi (bar u periodu od 24 sata) do porasta totalnog antioksidativnog kapaciteta (TAS), koje je direktno povezano sa povećanjem koncentracije bilirubina, ureje i albumina u tom periodu¹⁵⁸. Sa druge strane, Cavalca i saradnici¹⁵⁹ dokazuju veći pad totalnog antioksidantnog statusa kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika. U jednoj novijoj studiji na CABG bolesnicima, precizno je praćena promena oksidanto-antioksidantnog balansa merenjem parametara TOS, TAS i njihovog odnosa (OSI indeks). Pomenuti parametri su određivani preoperativno, 20 minuta nakon plasiranja aortne klem (pik ishemije), a zatim od 30. minuta do 48 h nakon uspostavljanja reperfuzije. Autori su uočili značajno povećanje TOS i OSI, i to 30 minuta nakon uspostavljanja reperfuzije, dok se koncentracija TAS nije menjala u odnosu na bazalne vrednosti¹⁶⁰.

Posmatrajući vrednosti TAS i TOS u ovoj studiji i vršeći njihovu uporednu analizu, može se zaključiti sledeće:

1. TAS i TOS su parametri oksidativno-stresnog statusa koji odlikavaju trenutnu redoks ravnotežu u cirkulaciji bolesnika. Uočava se, ako se napravi uporedna analiza njihovih vrednosti, da su se ponašali kao dva tasa iste vage-u tački u kojoj se koncentracija jednog od dva suprotstavljena OS markera poveća – drugog se smanji i obratno.
2. Poređenjem koncentracija TOS, u preoperativnom i u postoperativnom toku, sa referentnim vrednostima dobijenim na velikoj populaciji zdravih osoba uočava se da su vrednosti kod kardiovaskularnih ispitanika ove studije i više od dva puta veće u pojedinim tačkama studije i skoro dva puta veće pre operacije.

Dakle, bazalne vrednosti ovog pokazatelja prooksidativnih procesa u cirkulaciji kod obe grupe bolesnika su već znatno veće od vrednosti koje se sreću kod zdravih osoba i ovo je posledica hroničnih procesa koji su se razvijali i trajali kod ovih bolesnika tokom dužeg niza godina.

3. Zbog toga nije neobičan nalaz da se vrednosti TOS nisu značajno menjale tokom ispitivanih vremena u odnosu na startne vrednosti ni kod CPB ni kod OPCAB grupe bolesnika. Jedan od razloga je da je organizam već generisao maksimalne količine prooksidanasa ovog tipa, čime se, u uslovima dugogodišnjeg razvoja procesa ateroskleroze, pokreću zaštitni mehanizmi koji pokušavaju da ograniče potencijalna oštećenja od stvorenih prooksidanasa. Svakako da je jedan od mehanizama zaštite bio i njihovo uklanjanje.
4. Vrednosti TOS su u nekoliko tačaka bile više kod OPCAB u odnosu na CPB grupu bolesnika. TOS je mera ukupne koncentracije lipidnih-hidroperoksida i vodonik-peroksida i smatramo da je dinamika generisanja ovog parametra takva da se on najviše stvarao u intraoperativnom periodu (mi nismo merili u tom periodu OS parametre), a u trenutku posle završetka operacije su se aktivirali homeostatski mehanizmi zaštite koji su uspevali da neutrališu bar deo prooksidansa generisanih kao posledica hirurške traume i specifičnosti svake operativne tehnike.
5. Paralelno sa nalazom značajno viših koncentracija TOS kod OPCAB grupe bolesnika u nekoliko tačaka studije je potrebno analizirati nalaz značajno viših koncentracija TAS, kao opšteg neenzimskog zaštitnog antioksidansa. TAS predstavlja, hemijski gledano, zbir svih redukujućih jedinjenja u krvi, tj. „prvu liniju odbrane” u cirkulaciji.
6. Iz prethodnog zaključka proističe pretpostavka da su bolesnici iz OPCAB grupe, bar u smislu svog oksidativno-stresnog statusa, funkcionisali na višem nivou koncentracija supstrata koji bi mogli da se iskoriste za generisanje bilo prooksidanasa bilo antioksidanasa.

7. Poređenjem koncentracije TAS izmerenih kod kardiovaskularnih bolesnika sa referentnim vrednostima za ovaj parametar, odnosno vrednostima koje se sreću kod zdravih osoba uočava se da je koncentracija ovog antioksidansa čak i nekoliko puta niža od onih kod zdravih osoba (200-600 $\mu\text{mol/L}$ kod kardiovaskularnih bolesnika u odnosu na 900-1400 $\mu\text{mol/L}$ kod zdravih osoba). Ovaj podatak ukazuje da je organizam ovih hroničnih bolesnika, iscrpljen dugotrajnim aterosklerotskim procesom nesposoban za potpunu i adekvatnu zaštitu od oksidativno-stresnih procesa.
8. Pretpostavljamo da smo paralelnim merenjem ova dva, hemijski gledano, suprotstavljena činioca oksidativnog stresa u stvari pratili neko „steady state” njihovih koncentracija (ili „stanje ravnoteže”).

Osim neenzimskih antioksidanasa određenih merenjem TAS-a, određivali smo i aktivnost bitnog antioksidativnog enzima superoksid-dismutaze (SOD), za koga se smatra da je centralni enzimski antioksidans našeg organizma¹⁴². Enzim superoksid-dismutaza (SOD) katalizuje reakciju dismutacije superoksidnog anjona, neutrališući njegov prooksidativni potencijal. Međutim, u toj reakciji se stvara vodonik-peroksid koji nije hemijski gledano slobodni radikal, ali učestvuje u reakcijama radikalskog tipa i u prisustvu tranzicionih metala se dekomponuje do hidroksilnog anjona i hidroksilnog radikala, toksičnog i oštećujućeg prooksidansa. Zbog toga antioksidativni sistem raspolaže serijom drugih antioksidativnih enzima, čije se reakcije nadovezuju jedna na drugu, sa ciljem efikasnog neutralisanja stvorenih prooksidanasa bilo u fiziološkim procesima, bilo u patološkim stanjima. Ti enzimi su pre svega glutathion-peroksidaza, katalaza i glutathion-reduktaza¹⁴³. Pre operacije, OPCAB grupa bolesnika je imala značajno više aktivnosti SOD antioksidativnog enzima. Ovaj nalaz možemo da povežemo sa njihovim boljim statusom u pogledu aterosklerotskog plaka, odnosno prosečno nižih vrednosti SYNTAX skora kod OPCAB grupe bolesnika u odnosu na CPB grupu. Veza između klinički i angiografski potvrđene koronarne ateroskleroze i značajno nižih aktivnosti plazmatske i eritrocitne SOD,

u odnosu na zdrave osobe, je utvrđena u grupi koronarnih bolesnika jedne domaće studije¹³⁷. U našoj studiji kod obe grupe bolesnika se uočava pad aktivnosti u t2, neposredno po završetku operacije, kada pada i većina drugih činilaca redoks sistema, iako je većina njih na strani prooksidanasa. Moguće objašnjenje ovog nalaza bi bilo da u trenutku neposredno nakon davanja protamin-sulfata dolazi do pada oksidanasa, zbog uticaja ovog proteinskog jedinjenja sa visokim sadržajem aminokiselina arginina i cisteina i njenih SH-grupa. Ovi jaki reducensi mogu brzo da neutrališu slobodne radikale na koje u cirkulaciji naidu, a mi to merimo kao smanjenje koncentracija prooksidanasa. Smanjenje prooksidanasa je onda praćeno i smanjenjem endogenih antioksidanasa (SOD, TAS) i to posebno kod CPB grupe bolesnika, koja prima i veće doze protamin-sulfata. Aktivnost ovog antioksidativnog enzima se vraća na vrednosti koje se mogu porediti sa početnim vrednostima brže kod OPCAB grupe (nakon 48 sati posle operacije), u odnosu na CPB grupu bolesnika gde se revitalizacija ove enzimske aktivnosti uočava tek 96 sati posle završetka operacije. Studija sprovedena 2009.godine, koja je imala sličnu koncepciju kao i ova studija, je utvrdila kompenzatorno povećanje aktivnosti enzima SOD i GPx 4 sata nakon završetka operacije i to značajno više kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika¹⁶¹. Objašnjenje ovakvog nalaza je bilo da su CPB bolesnici izloženi većem oksidativnom stresu, pa je i indukcija zaštitnih mehanizama kod ovih bolesnika bila veća. Slične rezultate su dobili Gonenc i saradnici. Oni su pokazali povećanje SOD aktivnosti i konstatovali da je povećanje aktivnosti SOD bilo izraženije kod CPB grupe bolesnika, zbog veće izloženosti oksidativnom stresu tokom operacije¹⁶².

Posmatranjem aktivnosti SOD u ovoj studiji može se zaključiti sledeće:

1. Aktivnost ovog antioksidativnog enzima izmerenog pre operacije je bila u granicama referentnog opsega za zdravu populaciju (90-180 U/L). Ovo je u skladu sa rezultatima drugih studija, koje su uglavnom kod kardiovaskularnih bolesnika nalazile kompenzatorno povećanje aktivnosti ovog centralnog enzima antioksidativne zaštite.

2. Uočavamo značajno veću aktivnost ovog enzima kod OPCAB grupe bolesnika u odnosu na CPB grupu, što ukazuje na očuvanije mehanizme antioksidativne zaštite i/ili manju ugroženost od same operativne procedure.
3. Aktivnost SOD kod obe grupe bolesnika se smanjuje u postoperativnom toku, ali manje kod OPCAB grupe i kod iste grupe se brže vraća na vrednosti komparabilne bazalnim vrednostima (posle 48 sati).
4. Kod CPB grupe bolesnika aktivnost SOD značajnije pada u postoperativnom toku i sporije se vraća na nivo pre operacije (posle 96 sati), što ukazuje na verovatan uticaj operacije, koja je dodatno uticala na sniženje aktivnosti/trošenje ovog antioksidativnog enzima.

Ishemijom modifikovani albumin (IMA) je serumski biomarker srčane ishemije i parameter koji ima potencijal da omogući procenu rizika za razvoj akutnog koronarnog sindroma. Ishemijom modifikovani albumin (IMA) se produkuje u cirkulaciji u uslovima kada dolazi do razvoja ishemije. Ishemija dovodi do hemijske promene u molekuli albumina i to N-terminalnog regiona polipeptidnog lanca albumina u uslovima endotelne ili ekstracelularne hipoksije, acidoze i povećanog generisanja slobodnih radikala¹⁶³.

Tokom infarkta miokarda, u uslovima pojačane sistemske ishemije, se njegova koncentracija povećava. Karakteristično je da povećanje koncentracije IMA prethodi nekrozi srčanog mišića. Zbog toga bi bilo značajno određivati ovaj rani marker miokardne ishemije u svim uslovima, posebno u pretećem akutnom stanju kakvo je infarkt miokarda^{164,165,166}.

Ovaj marker je korišćen za rano otkrivanje nekroze miokarda, koja se dešava nakon CABG operacija^{167,168,169}.

Metoda dobro definisana i odobrena od strane FDA (American Food and Drug Administration) kao serumski biomarker srčane ishemije ili tzv. ACB test (albumin-cobalt-binding assay) i zasniva se na metodi koju je formulisao Bar-Or¹⁰⁹. Iako je metoda dobro

definisana, nemogućnost njegove standardizacije (njegova koncentracija se izražava u jedinicama apsorbanse – ABSU) i činjenica da se ovom metodom ne meri sama koncentracija IMA već „pozadinska reakcija”, tj. ona reakcija koja se odvija utoliko više između soli kobalta i ditiotretiol reagensa ukoliko je manje intaktnog albumina, koji je jedini sposoban za reakciju sa solima kobalta, čini da ova metoda nije potpuno pouzdana i da na njenom razvoju još treba raditi. Svakako je značajno, i pored nesavršenosti metode, određivati koncentraciju ovog parametra kako kod zdravih osoba tako i u uslovima ishemije, kakvi svakako postoje kod kardiovaskularnih bolesnika koji su učesnici ove studije.

Bolesnici iz CPB grupe su imali više koncentracije IMA pre operacije, ali ta razlika je bila na granici statističke značajnosti. Međutim, ovaj nalaz je bio u skladu sa njihovim prosečno većim SYNTAX skorom. Kod iste grupe bolesnika, u drugoj tački studije, nakon davanja protamin-sulfata dolazi do značajnog porasta koncentracije IMA u odnosu na stanje pre operacije i to je tačka u kojoj kod ove grupe bolesnika IMA dostiže maksimum. Do kraja posmatranog perioda, u CPB grupi bolesnika, IMA ostaje povišena iznad startnih vrednosti, a svakako iznad vrednosti od 0,400, koje po rezultatima različitih studija ukazuju na značajnu ishemiju¹⁰⁹. Kod OPCAB grupe bolesnika vrednosti IMA opadaju u drugoj tački a zatim blago rastu, dostižući maksimum 6 sati nakon završetka operacije i nakon toga ostaju na tom nivou. Vrednosti IMA kod OPCAB grupe bolesnika tokom postoperativnog toka dostižu preoperativne vrednosti izmerene kod CPB grupe bolesnika od 0,455 ABSU, što govori u prilog većoj ishemiji koja se razvija usled upotrebe pumpe za CBP. Pored uočene razlike u koncentraciji IMA između CPB i OPCAB grupa bolesnika, u kasnijem toku studije ta razlika nije bila statistički značajna.

Iz svega gore navedenog može se zaključiti:

1. Prema rezultatima drugih studija granicom za postojanje ishemije smatra se vrednost od 0,400 ABSU; vrednosti izmerene kod bolesnika učesnika ove studije su bile iznad te granice

2. Uočena je značajno niža koncentracija IMA kod OPCAB grupe bolesnika u odnosu na CPB grupu bolesnika pre operacije i odmah nakon završetka operacije.
3. Vrednost IMA raste tokom postoperativnog perioda praćenog u ovoj studiji, ali ta razlika ni u CPB ni u OPCAB grupi nije bila statistički značajna. Pretpostavljamo da smo mogli da pratimo kontrolisanu ishemiju u postoperativnom toku, a da nismo imali uvid u pik ishemije koji se događao tokom operacije, te da bi nam tek taj podatak dao odgovor koliko jedna odnosno druga tehnika ugrožavaju bolesnika tokom hirurške procedure-u smislu same ishemije i posledične reperfuzije.

Merili smo nekoliko markera oksidativno-stresnog statusa da bismo procenili nivo oksidativnog oštećenja uzrokovanog dvema različitim hirurškim procedurama. Neki od markera su bili proteinske prirode-AOPP i tSHG, a druga dva lipidne prirode-PON1 i LOOH. Sa druge strane, LOOH i AOPP nastaju kao posledica oksidativnog oštećenja biomolekula slobodnim radikalima, dok su tSHG i PON1 deo antioksidativnog sistema organizma. Izbor parametara je izveden na osnovu prethodnog iskustva učesnika studije u analitici oksidativnog stresa vezanog za koronarnu bolest. Posebno je značajno bilo da se odredi precizan tok njihove promene pod uticajem hirurških uslova primenjenih u uslovima studije i tokom produženog postoperativnog perioda (do 96 sati), jer takvih podataka još uvek nema u dostupnoj literaturi.

Prema prirodi ovih parametara i kompleksnosti mi smo izračunali indekse, odnosno njihove odnose kao AOPP/tSHG i PON1/LOOH kao dva para proteinskih odnosno lipidnih jedinjenja.

Sa druge strane, parovi u oksidativno-stresnim indeksima su izabrani tako da jedan elemenat iz para reflektuje prooksidativnu aktivnost, a drugi antioksidativnu prirodu. Tako smo dobili mnogo precizniji uvid u oksidativno-stresne promene, dva pregledna parametra i

jasnija markera oksidativnog stresa, koji imaju potencijal da objasne trenutno stanje bolesnika uzrokovano jednom od kardiohirurških tehnika, ali i dugotrajnim posledicama aterosklerostke bolesti.

Indeks koji odlikava pooksidativne procese, AOPP/tSHG se nije značajno razlikovao pre operacije između dve grupe bolesnika (CPB i OPCAB grupa); nakon inicijalnog pada u ranoj postoperativnoj fazi zapaža se veći porast u CPB grupi ($P < 0,05$ vs. OPCAB grupa), tj. 6 sati nakon završetka operacije. Dinamika promene ovog indeksa je bila slična u obe grupe bolesnika, ali ipak značajno veća u svakoj tački kod CPB grupe bolesnika u odnosu na OPCAB grupu, sve do kraja perioda praćenja. Slične rezultate su dobili Gonenc i saradnici¹⁷⁰. Oni su merili nivo proteinskih karbonila i dobili niži nivo oksidativnog stresa kod OPCAB grupe u odnosu na CPB grupu bolesnika. Matata i saradnici¹²⁵ su zaključili da proteini nisu ugroženi anestezijom niti hirurškom procedurom, već samo indukcijom CPB. Koncentracije proteinskih karbonila su ostale nepromenjene tokom ishemija-reperfuzija reakcije u OPCAB grupi iste studije. Dobro je poznato da se CPB tehnika karakteriše jačom aktivacijom hemostatskih i inflamatornih mehanizama, primarno kao posledica direktne interakcije cirkulišućih komponenti sistema hemostaze i pumpe za CPB. Sistemska heparinizacija, hemodilucija i hipotermija utiču značajno na ova dva značajna homeostatska mehanizma, što se povezuje sa nastajanjem oksidativnog stresa. Značajni porast oksidativnog oštećenja proteina se može objasniti padom enzimske antioksidativne zaštite koja je povezana sa enzimom HDL lipoproteinske čestice – PON1. Značajno je naglasiti da je jači pad aktivnosti ovog enzima, koji je uzrokovan lipidnom peroksidacijom uočen kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika. Bhattacharyya i kolege¹⁷¹ su dokazali da PON1 može značajno da utiče na sistemski oskidativni stres u organizmu, i time uspostavili mehaniscističku vezu između PON1, aterosklerotske bolesti i njenih akutnih komplikacija. Oni su našli direktnu vezu između PON1 QQ192 genotipa i povećane verovatnoće da će bolesnici imati operaciju ugradnje aortokoronarnog bajpasa. Samara¹⁷² je našla negativnu korelaciju između ukupnog serumskog homocisteina i HDL-C nivoa u grupi bolesnika na odeljenju kardiološke intenzivne nege, što govori o štetnom delovanju oksidativnog stresa na HDL lipoproteinske

čestice odnosno aktivnost enzima PON1 u akutnom koronarnom događaju. Studija Bicera i saradnika¹⁷³ je pokazala povećane koncentracije MDA u on-pump grupi (CPB grupa) bolesnika u periodu od 30 minuta do 24 sata posle operacije. MDA je indikator kasne faze oksidativnog oštećenja i može se porediti sa LOOH koji su mereni u našoj studiji, koji prethode stvaranju MDA. Autori su pretpostavili da je kontakt krvi sa nefiziološkim površinama prvi okidač inflamacije i posledičnog povećanja oksidativnog stresa u uslovima primene pumpe za CPB. Za razliku od toga Stevanović i saradnici¹⁷⁴ su pokazali komparabilne nivoe oksidativnog stresa i IL-6, kao i jednake nivoe smanjenja selena kod CPB grupe u poređenju sa OPCAB grupom. Oni su pretpostavili da je hirurška trauma mnogo važnija nego upotreba CPB mašine, ali mehanizam još uvek nije razjašnjen.

Uzroci anizocitoze (širokog spektra volumena eritrocita prisutnih u cirkulaciji) mogu biti različite forme anemije, posebno mikrocitne sa deficijencijom gvožđa, talasemije, velikog gubitka krvi, skorih transfuzija, hemolize, inflamacija. Sva ova stanja mogu da modifikuju oblik eritrocita i time da povećaju RDW.

U studiji Felkera i saradnika¹⁷⁵ je utvrđena veza između visokih RDW vrednosti i morbiditeta odnosno mortaliteta kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom. Tonelli je u svojoj studiji 2008. našao vezu između visokih vrednosti RDW i hronične inflamacije koja je dokazani faktor rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti¹⁷⁶. Vrednosti RDW u svim tačkama posle operacije su veće od graničnih 14% kod OPCAB grupe bolesnika, dok kod CPB bolesnika prosečna distribucija volumena eritrocita raste preko 15%, što je definitivni signal pokretanja patofizioloških mehanizama, koji su očigledno jači kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika.

Trombociti imaju značajnu ulogu u hemostazi, posebno nakon kardiohirurških intervencija. Povećano krvarenje posle takvih operacija dovodi do povećane potrebe za transfuzijom, što povećava postoperativni rizik od morbiditeta i mortaliteta¹⁷⁷. Heparinom-

indukovana trombocitopenija (HIT) predstavlja snažan protrombotički imunim sistemom posredovani poremećaj koji nastaje kao posledica upotrebe CPB¹⁷⁸.

Velike količine nefrakcionisanog heparina se daju bolesnicima tokom CPB, što dovodi do razvoja heparinom indukovane trombocitopenije (HIT) kod 25-50% bolesnika tokom prvih 5-10 postoperativnih dana¹⁷⁹. Kardiohirurške procedure su značajan faktor rizika za razvoj prolazne trombocitopenije, koja može biti indukovana hemodilucijom i aktivacijom trombocita koja nastaje zbog kontakta krvi sa neendotelizovanom površinom sistema creva za CPB. Zbog toga je praćenje promene broja trombocita postoperativno, kao i zapažanje dinamike promene ovog hematološkog parametra, deo standardnog postoperativnog kardiohirurškog praćenja da bi se u ranoj fazi sprečila pojava HIT-e.

U našoj studiji bolesnici iz dve grupe se nisu značajno razlikovali po broju trombocita pre operacije. Pad trombocita se uočava kod obe grupe postoperativno, s tim da je pad značajno veći kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu. Ova uočena razlika se gubi na kraju praćenja-96 sati postoperativno, jer se vrednosti postupno vraćaju na startne vrednosti, ali sporije kod CPB grupe bolesnika.

Povećan preoperativni srednji volumen trombocita (MPV) je udružen sa neželjenim ishodima nakon hirurške revaskularizacije miokarda. MPV se smatra značajnim, jednostavnim, lako dostupnim, „kost-efektivnim” parametrom koji može da se koristi za predviđanje neželjenih postoperativnih ishoda kod bolesnika podvrgnutih kardiohirurškim operacijama¹⁸⁰. MPV vrednosti se nisu razlikovale kod ove dve grupe bolesnika, s tim da je porast u odnosu na bazalne vrednosti u svakoj grupi bio veći kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu, što ukazuje da je kod CPB grupe bolesnika ipak dolazilo do veće aktivacije trombocita, usled većeg broja inflamatornih i endotelinih faktora koji su mogli da interaguju sa trombocitima i da ih „senzibiliju” za aktivaciju.

RPR indeks je izvedeni indeks odnosa distribucije volumena eritrocita i broja trombocita. RPR indeks je određivan da bi se zajedno sagledale posledice hronične inflamacije na kvalitet ćelija krvi – eritrocita i broja trombocita, kao bitnih faktora hemostaze. Oba hematološka parametra su pojedinačno značajni prediktori mortaliteta

nakon kardiohirurških operacija, a njihov količnik je osetljiviji pokazatelj progresije inflamacije i tromboze, istovremeno.

RPR indeks se značajno povećavao kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika. Startne vrednosti su bile jednake, a razlika postaje značajna od 24 sata i dalje, do 96 sati nakon operacije. Pik vrednosti ovog indeksa u obe grupe se dostiže nakon 48 sati postoperativno, a posle toga vrednosti počinju da se snižavaju. Normalna stimulacija trombocita je udružena sa promenom redoks statusa. Međutim, stanja sa uznapredovalim oksidativno-stresnim odgovorom, kao što je situacija u zidu aterosklerotskim plakom zahvaćenog krvnog suda, može biti pokretač tromboze. Poznato je da trombociti proizvode superoksidni anjon i u isto vreme, on može da dovede do agregacije trombocita¹⁸¹. Značajnije je još da tokom procesa ateroskleroze postoji neadekvatna produkcija antiagregatornih faktora kao što su NO i prostaciklin¹⁸². Pumpa za CPB indukuje reverzibilnu disfunkciju trombocita, u pogledu produženja vremena krvarenja i razvoja hiperfibrinolize, i ovi neželjeni efekti se vraćaju u normalu 24-48 sati nakon operacije¹⁸³. Sa druge strane, stres koji se razvija tokom upotrebe pumpe za CPB se nadovezuje na generalni stres uzrokovan hirurškom procedurom per se i to „gura” hemostatski sistem u protrombotskom pravcu¹⁸⁴. Precizna ravnoteža između protrombogenih i antitrombogenih mehanizama rezultuje i određuje trenutni hemostatski status bolesnika. Naši rezultati pokazuju značajno povećanje RPR indeksa kod obe grupe bolesnika sa najvećim skokom 48 sati posle operacije, kod obe grupe. U istoj tački se javlja najveća statistički značajna razlika između CPB i OPCAB grupe bolesnika. Ta razlika se može objasniti istovremenim povećanjem RDW i padom broja trombocita. Oba fenomena su izraženija kod CPB grupe bolesnika. Pusuroglu i saradnici¹⁸³ su objavili rezultate prema kojima je RPR indeks značajan prediktor mortaliteta, pojave neželjenih kardiovaskularnih događaja, reinfarkta, srčane insuficijencije i šoka kod bolesnika sa akutnim infarktom miokarda sa elevacijom ST segmenta. Oni su objavili cut-off vrednost ovog parametra od 0,061 za svoju grupu bolesnika, kao vrednost iznad koje se povećava verovatnoća za mortalitet vezan za kardiovaskularne bolesti u narednoj godini. U našoj populaciji bolesnika, u obe ispitivane grupe ovaj indeks je još u startu, pre operacije bio viši od 0,061, a nakon operacije je kod

CPB grupe bolesnika dostigao skoro dvostruke vrednosti i u odnosu na start i u odnosu na referisane vrednosti u pomenutoj studiji¹⁸⁵. Lippi¹⁸⁶ je utvrdio da inflamacija povećava RDW inhibicijom eritropoetina i to bi moglo da objasni povećanu sintezu medijatora iz kostne srži. Li i saradnici¹⁸⁵ su dobili slične rezultate i povezali povećan RDW sa Framingham skorom rizika u grupi bolesnika sa koronarnom arterijskom bolešću¹⁸⁷. Berliner i saradnici¹⁸⁸ su pretpostavili da povećanje RDW nastaje kao posledica povećanja uključenosti hemodinamske i oksidativno-stresne komponente u pogoršanje koronarne arterijske bolesti.

Drugi indeks aktivacije trombocita, MPR, pokazuje značajan porast posle operacije, sa oštrijim skokom kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu bolesnika, zbog značajnijeg pada trombocita u ovoj grupi bolesnika. Unal i saradnici¹⁷⁹ su utvrdili vezu između nivoa MPV i neželjenih događaja kod bolesnika podvrgnutih revaskularizaciji miokarda uz pomoć pumpe za CPB. MPV je indikator veličine trombocita i statusa njihove aktivacije, a ti procesi se odvijaju paralelno. Povećanje trombocita može da predvidi trombotski događaj u sklopu kardiovaskularnih bolesti. Jedna novija studija¹⁸⁹ je pratila vrednost ovog indeksa u grupi bolesnika sa ciljem razdvajanja bolesnika sa sepsom i SIRS-om. U toj studiji su zabeležene vrednosti ovog indeksa kod bolesnika sa sepsom, koje su bile reda veličine kod naše CPB grupe bolesnika. Tokom upotrebe CPB cirkulišući „pul“ trombocita se smanjuje zbog dilucije, adhezije, agregacije, razgradnje i trošenja na mestu stvaranja mikrotrombova. Dostupni trombociti se sastoje od malog broja morfološki normalnih trombocita, trombocita sa formiranim pseudopodama, novih i većih trombocita koji potiču od megakariocita¹⁹⁰, parcijalno ili potpuno degranuliranih trombocita, fragmenata membrane trombocita i trombocitnih mikročestica. Većina trombocita izgleda da ima normalnu strukturu, ali se vreme krvarenja povećava i ostaje produženo tokom nekoliko sati nakon davanja protamina. Funkcionalnost cirkulišućih trombocita tokom i rano posle CPB je smanjena. Aktivacija trombocita podrazumeva da im se povećava površina, oblik im se menja od diskoidalnog u sferični, sa postepenim nastankom pseudopodija, što utiče na volumen tih ćelija. Oba procesa, koji su karakteristika hirurških procedura a posebno

upotrebe pumpe za CPB, ishemija i reperfuzija, imaju štetne efekte jer indukuju stvaranje slobodnih radikala sa istovremenim iscrpljivanjem mehanizama antioksidativne zaštite.

Izračunavani SYNTAX skor (SS) za sve bolesnike je pokazao značajno više vrednosti od graničnih vrednosti od 23 poena, što se smatra granicom između niskog i srednjeg SS¹²². Ovaj nivo SS (23 poena) se uzima i kao cut-off vrednost na osnovu koje bi trebalo da se donese odluka o primeni odgovarajućeg tretmana (PCI ili CABG). Rezultati SYNTAX studije su potvrdili da bolesnici sa kompleksnom aterosklerotskom bolešću koja je kvantifikovana računanjem SS iznad 23 poena bi trebalo da budu podvrgavani isključivo CABG proceduri¹²².

Neočekivani nalaz ove studije je snižavanje koncentracije dva markera oksidativnog stresa (LOOH i AOPP). Uočena je razlika između CPB i OPCAB grupe tako da je oksidativni stres uvek viši kod CPB grupe bolesnika. Ako se pretpostavi da bolesnici imaju bar u izvesnoj meri očuvane sposobnosti antioksidativne zaštite, koje bi mogle da budu indukovane u ovakvoj vrsti akutne traume, razlika u markerima oksidativnog stresa tokom ispitivanih vremena (uvek značajno više kod CPB grupe u odnosu na OPCAB grupu) mogla bi da se objasni ozbiljnijom situacijom kod CPB bolesnika ili njihovom sniženom sposobnošću da adekvatno odgovore na oksidativno-stresni izazov.

Nekoliko istraživačkih grupa je potvrdilo da lipidni-peroksidi stvoreni tokom CABG operacija u određenoj meri podležu „rekaciji β -isećanja”, u prisustvu prelaznih metala koji dovode do njihove razgradnje¹⁴³. Ovaj proces rezultuje stvaranjem isparljivih jedinjenja koja se iz organizma, gotovo istovremeno po stvaranju, izbacuju izdisanjem. Ovi podaci su dobijeni u nekoliko pomenutih „point-of-care” istraživanja koja su uključivala CABG bolesnike^{148,149}. Rezultati prethodnih studija mogu da objasne, bar delimično, rezultate ove aktuelne studije. Neočekivani pad LOOH koncentracije, je najverovatnije posledica njegove brze dekompozicije u gasovite komponente, a možda i nekoliko stabilnih komponenti, koje nisu određivane u ovoj studiji^{191,192,193}. Cristescu i saradnici¹⁹³ su merili promene koje se dešavaju u realnom vremenu tokom različitih faza jednog ili drugog tipa

operacije u izdahnutom vazduhu. Preciznije, merili su etilen u izdahnutom vazduhu tokom više faza CPB ili OPCAB operacije. Na osnovu njihovih rezultata, glavno povećanje koncentracije etilena u izdahnutom vazduhu se uočava u fazi sternotomije, pa zatim kao posledica upotrebe dijatermije. Veća koncentracija ovog gasa se može izmeriti 10-20 minuta nakon početka operacije, što bi ukazivalo da bi povećanje koncentracije LOOH moralo da prethodi povećanju gasovitih ugljovodnika u izdahnutom vazduhu. Parametri oksidativnog stresa određivani u ovoj studiji su mereni u krvi bolesnika, a takođe i vreme uzorkovanja je bilo različito, pa je to verovatno razlog zbog čega nisu primećene ovakve fine promene. Pomenuta studija¹⁹³ je paralelno pratila promene gasovitih ugljovodnika kod dva tipa operacija. Uočeno je da uslovi kod CPB operacija dovode do izdisanja veće količine gasova, ali tokom kraćeg vremena u skladu sa specifičnostima hirurške procedure. Veličina stvaranja gasovitih komponenti tokom glavne hirurške faze (nakon faze pripreme), je bila slična kod obe vrste operacija, ali je upotreba pumpe za CPB dovodila do više pikova u stvaranju etilena, tj. u mnogo više faza operativnog procesa se stvaraju lipidni peroksidi u poređenju sa procedurama kod OPCAB hirurgije. Ove činjenice se uklapaju i u rezultate ove studije koji se tiču višeg oksidativnog stresa i iscrpljenije antioksidativne zaštite kod CPB grupe bolesnika .

Produkti uznapredovale oksidacije proteina, AOPP kao mera oksidacije proteina, uglavnom albumina¹⁰⁴ i njihovo određivanje se koristi kao mera inflamacije i oksidativnog stresa, ali prvenstveno kod bubrežnih bolesnika. Dinamika povećanja AOPP može da se prati tokom CABG procedure, ali to zavisi od bubrežne funkcije bolesnika. Povećanje AOPP je dobar prediktor razvoja akutnog bubrežnog oštećenja, kao posledica hirurške intervencije¹⁹⁴. Takođe treba pomenuti da je promena ovog parametra sporija u poređenju sa drugim markerima oksidativnog stresa, tako da ovde nije utvrđeno eventualno povećanje koncentracije ovog markera proteinskog oksidativnog oštećenja, jer koronarni bolesnici uključeni u ovu studiju nisu imali bubrežnu insuficijenciju niti su razvili ni jedan značajni problem vezan za rad bubrega tokom ili posle operacije. Sa druge strane, koncentracija albumina se smanjuje kako se razvija reakcija akutne faze, jer je on negativan reaktant

akutne faze¹⁹⁵ i to bi mogao da bude glavni razlog zašto je ovde uočen pad koncentracije AOPP, umesto njegovog povećanja.

U nekoliko studija je dokazana veza niskih PON1 aktivnosti i razvoja koronarne arterijske bolesti^{195,196}, a jedna od njih je rađena na populaciji bolesnika iz Srbije¹⁵⁶.

Rezultati koji razmatraju kompleksnost plaka (merenog preko SS) i hirurški modalitet (CPB ili OPCAB) su otkrili udruženo delovanje ove dve specifičnosti aktuelne studije, u svetlu sniženja aktivnosti PON1 kod CPB grupe bolesnika sa uznapređovalom stenozom (srednji nivo – 22-29 SS poena) u poređenju sa OPCAB grupom bolesnika sa istim nivoom stenozе. Ovo je ubedljiv podatak za prve dve tačke studije nakon završetka operacije, jer su to dve najranije tačke nakon završetka operacije (do 6 sati nakon operacije), pa se pretpostavlja da bi taj rezultat morao da bude u bliskoj vezi sa primenjenom hirurškom tehnikom. Sličnu vezu između aktivnosti i koncentracije PON1 i koronarne arterijske bolesti je utvrdio Graner sa saradnicima¹⁹⁷.

Interesantan nalaz ovog dela studije je snižavanje aktivnosti enzima PON1 u skladu sa povećanjem kompleksnosti plaka koronarnih krvnih sudova poredeći nizak i srednji nivo SS. U CPB grupi je uočeno blago povećanje kod osoba sa visokim SS, odnosno kod osoba sa klinički najtežom stenozom jedne ili više koronarnih arterija, procenjenom računanjem preko SYNTAX skora. Ovaj nalaz je bio jasan kod CPB grupe kod početne faze studije (t1), dok je takav nalaz uočen kod OPCAB grupe od 6. sata nakon operacije (t3). Ovo vreme je, u stvari, deo ranog postoperativnog perioda, kada je pad u aktivnosti PON1 najizraženiji kod ove grupe bolesnika.

Može se pretpostaviti da bi ovakav model promene aktivnosti PON1 mogao, bar jednim delom, da bude posledica formiranja kolateralne cirkulacije u slučaju izrazito okludiranih koronarnih krvnih sudova, u situaciji kada u dužem periodu nije bilo mogućnosti za prirodno obezbeđivanje protoka krvi do određenih delova miokarda.

Dakle, ovaj intrigantan nalaz povećanja aktivnosti PON1 u situaciji kada je došlo do skoro potpune okluzije koronarnih arterija bi se mogao objasniti formiranjem kolateralnih

krvnih sudova kao prirodnog procesa stvaranja novih „pomoćnih” krvnih sudova, što smanjuje ishemiju miokarda i tako „štiti” aktivnost ovog antioksidativnog enzima. Imajući u vidu da je PON1 skoro ekskluzivno fizički vezan za HDL lipoproteinske čestice i da je čvrsto povezan za prisustvo Apo A-I na ovim česticama, niska PON1 aktivnost kod koronarnih bolesnika je u stvari dokaz poremećenih antiaterogenih potencijala HDL čestica u sklopu udružene koronarne bolesti i sistemske niskostepene hronične inflamacije¹⁹⁸. Akutna sistemska inflamacija uzrokuje čak i veći poremećaj sastava HDL čestica. Snižavanjem sinteze Apo A-I dolazi do povećanja sinteze i koncentracije serumskog amiloida A (SAA), koji dodatno zamenjuje Apo A-I sa HDL lipoproteina i time onemogućava aktivaciju PON1¹⁹⁹. Wysocka i saradnici²⁰⁰ su našli vezu između visokih aktivnosti enzima PON1 sa smanjenom verovatnoćom za razvoj neželjene srčane insuficijencije nakon CABG operacije. Ovo je zaključak koji se odnosio na prolongirani period posle operacije, tako da se slična situacija može samo pretpostaviti za aktuelnu studiju koja je trajala relativno kratko (do 96 sati nakon operacije). Aktivnosti enzima PON1 objavljene u pomenutom radu²⁰⁰ su bile znatno iznad vrednosti u ovoj studiji, što bi moglo da ukaže na iscrpljene antioksidativne mehanizme kod bolesnika ove studije i moguću pretnju od razvoja postoperativnih komplikacija. Ovakvi rezultati ukazuju na potrebu brižljivog praćenja bolesnika kod kojih je izmerena najniža aktivnost PON1 (granica donjeg tercila kod CPB grupe je bila 52 U/L, a 85 U/L kod OPCAB grupe u t2 tački studije). Ovakvo niske tercilne vrednosti ukazuju da postoji veliki poremećaj u mehanizmu delovanja ovog zaštitnog enzima. Ovakav red veličine aktivnosti enzima PON1 je zabeležen kod grupe bolesnika sa ishemijskim moždanim udarom, u trenutku hospitalizacije¹⁵³.

Vrednost SYNTAX Score-a (SS) je značajno i inverzno povezana sa aktivnošću PON1 na početku studije, kao i u ranoj postoperativnoj fazi. Uočene korelacije su nestale 24 sata posle završene operacije, verovatno zbog aktivacije drugih homeostatskih faktora koji mogu da utiču na aktivnost PON1. Spearmanova neparametarska korelacija je ukazala na vezu između SS i drugih parametara oksidativno-stresnog statusa u pojedinim tačkama studije (pozitivna korelacija LOOH i AOPP, a negativna sa tSHG). Ova korelacija između

markera oksidativnog stresa i preoperativnih vrednosti SS ukazuje na generalnu vezu između težine aterosklerotskog plaka i redoks disbalansa, kao dva bitna faktora u procesu razvoja ateroskleroze. Kada je analizirana cela grupa bolesnika, bez obzira na hirurški modalitet, multipla linearna regresiona analiza je istakla SYNTAX skor i BMI kao glavne determinante aktivnosti PON1. Ako se ima u vidu značajna negativna korelacija između SS i PON1, može se pretpostaviti da povećanje težine/kompleksnosti aterosklerotskog plaka dovodi do smanjenja aktivnosti ovog zaštitnog enzima. MLR je ovakvu pravilnost pokazala u svim tačkama studije. Ista statistička analiza je u izolovanoj grupi CPB bolesnika pokazala da je glavni faktor koji određuje nisku PON1 aktivnost BMI, odnosno stepen njihove gojaznosti. Gojaznost je dokazani faktor rizika za razvoj ateroskleroze, prema rezultatima drugih studija, povezan sa inflamacijom, oksidativnim stresom i insuficijencijom PON1^{201,202}. Ferreti²⁰³ je pokazala viši nivo lipidnih-hidroperoksida (LOOH) i nižu PON1 aktivnost kod gojaznih osoba u odnosu na normalno uhranjene, što je bilo povezano sa izraženijom inflamacijom i fizičko-hemisjnim promenama na HDL lipoproteinskim česticama. Kod OPCAB bolesnika MLR analiza je ubedljivo istakla prisustvo periferne arterijske bolesti kao značajnog pratioca njihove osnovne koronarne bolesti, kao glavnog faktora koji utiče na varijabilnost u aktivnosti PON1 pod uticajem hirurškog tretmana, kako pre operacije, tako i u postoperativnom toku. Pasqualini i saradnici²⁰⁴ su objasnili vezu između PON1 i periferne arterijske bolesti kao posledicu uticaja PON1 na endotel, verovatno preko zaštite, odnosno povećanja dostupnosti azot-monoksida (NO). Mnoge naučne grupe širom sveta proučavaju ulogu oksidativnog stresa u patogenezi različitih bolesti, pa i ateroskleroze, pa ipak do danas nema potpunog slaganja o značaju i ulozi analitike oksidativnog stresa u realnoj, svakodnevnoj kliničkoj praksi, kao ni definitivne procene korisnosti određivanja parametara oksidativno-stresnog statusa (OSS).

Menadžment eksczesnog perioperativnog krvarenja često zahteva reoperaciju i praćen je povećanim, a često i neadekvatnim davanjem produkata krvi. U nekim bolnicama 25% svih produkata krvi upotrebljenih za bolesnike se utroši za operacije na otvorenom srcu i zato je neophodna saradnja između stručnjaka iz oblasti kardiohirurgije, hematologije

i tranfuziologije da bi se minimizirala potreba za reoperacijama. Pod ekscenim krvarenjem se smatra situacija u kojoj je bolesniku tokom i nakon operacije dato 10 i više jedinica transfuzije krvi²⁰⁵. U aktuelnoj studiji broj datih jedinica krvi se kretao od 0-13, s tim da treba naglasiti da je samo jedan bolesnik dobio 13 jedinica krvi i da je taj bolesnik iz CPB grupe. Ostali bolesnici su dobijali maksimalno 7 jedinica krvi. Dakle, izuzimajući pomenutog bolesnika za ostale bolesnike se može reći da nisu spadali u grupu bolesnika sa ekscenim perioperativnim krvarenjem. Ova studija je pokazala da trećina OPCAB bolesnika nije dobijala transfuziju i da je taj procenat značajno veći nego kod CPB grupe bolesnika (samo 3% bolesnika ove grupe nije dobijalo transfuziju). Veći broj jedinica transfuzije krvi (3 i više) je dobijao značajno manji procenat OPCAB u odnosu na CPB bolesnike.

Krvarenje usled upotrebe pumpe za CPB ima kompleksne uzroke vezane za proces hemostaze, tehničke varijacije tokom hirurške procedure i mnoge druge varijable koje se teško kontrolišu tokom ovog tipa operacije (efekat anestezije i drugih farmakoloških agenasa, sastav „priminga”, hemodilucija, hipotermija, tip oksigenatora, upotreba transfuzije). Od svih nabrojanih faktora smatra se da je privremeni gubitak funkcije trombocita klinički najznačajniji proces. Ovaj prolazni gubitak funkcije trombocita se događa kod svih CPB bolesnika, pa ipak do ozbiljnijeg krvarenja dolazi kod malog broja bolesnika. Nije moguće u potpunosti predvideti kod kojih će bolesnika doći do hemoragijskih komplikacija, ali je poznato da je produžena upotreba pumpe za CPB sigurno bitan faktor rizika.

Neki autori predlažu rutinsku upotrebu dezmpresin-acetata da bi se smanjilo postoperativno krvarenje i potreba za transfuzijom. Međutim, zaključci novije meta-analize²⁰⁶ ne podržavaju ovakav stav, jer je generalni zaključak da upotreba dezmpresina ne smanjuje značajno rizik od postoperativnog krvarenja kod bolesnika na CPB. Međutim upotreba ovog agensa je opravdana kod bolesnika koji su primali aspirin (preparate acetilsalicilne kiseline) u period 7 dana pre operacije, kod bolesnika koji su na CPB pumpi bili duže od 140 minuta i kod bolesnika kod kojih je dokazana disfunkcija trombocita.

Rezultati ove studije pokazuju signifikantno manja postoperativna krvarenja i manje količine ordinirane transfuzije krvi kod OPCAB grupe bolesnika. Slične rezultate pokazuju i mnoge meta-analize multicentričnih randomizovanih studija^{207,208}. Činjenica je da uticaj na postoperativnu krvnu sliku ima izbor operativne tehnike. Sa jedne strane, poznato je da na vrednosti eritrocita, hemoglobina i hematokrita utiču upotreba pumpe za CPB, kao i intraoperativna i postoperativna hemodilucija. Sa druge strane, veći stepen oksidativnog stresa i veća koncentracija zaostalih slobodnih radikala nakon upotrebe pumpe za CPB dovode do cepanja membrane eritrocita i njihovog pada u krvnoj slici. Smatra se da 30% ordinirane transfuzije deplazmatisanih eritrocita biva uništeno zaostalim cirkulišućim slobodnim radikalima, unutar prvih 24 sata od ordiniranja transfuzije.

Svakako da transfuzija krvi nije benigna i sa sobom nosi određene opasnosti. Svako ordiniranje transfuzije krvi nosi sa sobom oslobađanje proinflamatornih medijatora i citokina, koji imaju imunosupresivna svojstva. Zbog toga se smatra da je ordiniranje transfuzija krvi udruženo sa povećanim rizikom od infekcija rane, sepsom, respiratornom insuficijencijom i disfunkcijom bubrega^{209,210,211,212}, što povećava operativni mortalitet i morbiditet i smanjuje dugoročno preživljavanje²¹³.

Zbog svega gore navedenog, o izboru operativne tehnike kod koronarnih bolesnika treba voditi računa, pogotovo kada se radi o starijim bolesnicima.

Tokom trajanja CPB pluća se snabdevaju krvlju putem bronhijalne cirkulacije, dok je protok kroz plućnu arteriju minimalan ili potpuno odsutan. Upotreba pumpe za CPB dovodi do sistemskog inflamatornog odgovora u većoj meri, što dovodi do povećavanja plućnog kapilarnog permeabiliteta i intersticijalne tečnosti. Sa jedne strane, hemodilucija, sniženi plazma-onkotski pritisak i privremeno povećavanje plućnog venskog pritiska i pritiska u levoj pretkomori može dovesti do povećavanja ekstravaskularne tečnosti u plućima^{214,215}. Mikroembolusi²¹⁶ i cirkulišući ćelijski, vazoaktivni i citotoksični medijatori inflamatornog odgovora^{217,218,219} dospevaju u plućnu cirkulaciju preko bronhijalnih arterija tokom odvajanja bolesnika od pumpe za CPB. Ove citotoksične supstance povećavaju

kapilarni permeabilitet pluća, perivaskularni edem i bronhijalnu sekreciju, što verovatno utiče na promene u sastavu plućnog surfaktanta²²⁰. Kombinacija povećane količine intersticijalne tečnosti i bronhijalne sekrecije, kao i poremećen plućni surfaktant i komorbiditet bolesnika smanjuju plućnu komplijansu i funkcionalni rezidualni kapacitet, što dovodi do povećanja disajnog rada²²¹. Sve ove promene udružene sa mogućnošću nastanka regionalne atelektaze i povećanja fiziološkog AV šanta u plućima dovode do pada parcijalnog pritiska kiseonika (PaO_2), što dovodi do prologiranog trajanja mehaničke ventilacije.

U ovoj studiji, dužina trajanja mehaničke ventilacije (vreme intubacije) u neposrednom postoperativnom toku pokazuje statistički značajnu razliku u korist OPCAB procedura, što se poklapa sa ranijim studijama^{222,223}. Na ove činjenice ukazuje i podatak da je jedan bolesnik iz OPCAB grupe ekstubiran na operacionom stolu, a da pri tome nije korišćena visoka torakalna periduralna anestezija sa analgosedacijom.

Svakako da se u ovoj studiji može govoriti i o proceni dežurnog anesteziologa kada će bolesnika odvojiti od aparata za mehaničku ventilaciju. Međutim, slobodna procena anesteziologa na osnovu kliničkih parametara se podjednako odnosi na obe grupe bolesnika. Činjenice govore da su kraće vreme provedeno na mehaničkoj ventilaciji imali bolesnici iz OPCAB grupe. Svakako da fiziološki (pulzatilni) protok krvi kroz pluća, manji oksidativni stres i inflamatorni odgovor imaju uticaja na dužinu mehaničke ventilacije kod OPCAB grupe bolesnika.

Izbor operativne tehnike treba imati u vidu kod bolesnika sa plućnim komorbiditetom, starijih i gojaznih bolesnika.

Kliničko stanje bolesnika ima najviše uticaja na vreme provedeno na Odeljenju kardiohirurške intenzivne nege. Sa jedne strane, gore navedeni podaci o količini izgubljene krvi i trajanju mehaničke ventilacije utiču na vreme boravka na Odeljenju intenzivne nege. Svakako da na dužinu boravka na Odeljenju intenzivne nege utiču i upotreba inotropne

potpore, hemodinamika bolesnika, kao i klinička procena anesteziologa. U našoj studiji dužina boravka na Odeljenju intenzivne nege je kraća kod bolesnika iz OPCAB grupe, što pokazuju i meta analize multicentričnih randomizovanih studija^{207,208,224}.

U dužini trajanja postoperativne hospitalizacije bolesnika najveći broj studija pokazao je prednost OPCAB hirurugije^{223,225,226,227,228}. U našoj studiji raspon broja postoperativnih dana kod OPCAB grupe bolesnika provedenih u bolnici je značajno manji od CPB grupe bolesnika. Iako na broj postoperativnih intrahospitalnih dana utiče i politika bolnice da se bolesnici ne otpuštaju kući dok im se ne skinu konci, činjenice govore da su se bolesnici iz OPCAB grupe brže oporavljali i bivali ranije otpušteni iz bolnice. Na ove činjenice neposredan uticaj ima kvalitet i brzina oporavka bolesnika procenjenih EuroQol upitnikom 7 dana nakon operacije.

Svakako da broj provedenih postoperativnih dana ima uticaja na cenu lečenja, što će biti tema jedne od naših budućih studija. Na ovo ukazuju i studije Puškaša²²³ i Van Dijka²²⁹. Stoga je više nego jasna politika pojedinih privatnih kardiohirurških ustanova u Evropi da koronarne bolesnike operišu OPCAB tehnikom u preko 90% slučajeva.

Obzirom na to da broj provedenih dana u bolnici posle operacije ima uticaja na cenu lečenja, a da je u ovoj studiji utvrđeno da se broj postoperativnih dana kod dve grupe bolesnika značajno razlikuje, otvaraju se nova pitanja i mogućnosti za farmakoekonomsku evaluaciju svake od dve analizirane hirurške procedure. Cilj ovakve analize bi bila procena odnosa troškova i efekta koji određena tehnika ima na zdravstveno stanje i ishod primenjenih terapijskih opcija kod bolesnika, uzimajući u obzir specifičnost stanja svakog bolesnika. Na osnovu toga bi mogao da se kreira algoritam, koji bi omogućio donošenje najsvrsishodnije odluke u datoj kliničkoj situaciji.

Oksidativni stres ima direktan uticaj na kvalitet i brzinu oporavka organizma. Najbolji primer za ovo su fizička opterećenja koje trpe profesionalni sportisti i brzina njihovog oporavka nakon fizičkog opterećenja. Jedna od inicijalnih ideja ove studije je bila

da se pored bihemijskih pokazatelja oksidativnog stresa prati i klinički oporavak bolesnika. Ranije studije su se bavile brzinom i kvalitetom oporavka i života mesec dana i godinu dana nakon operacije^{229,230,231}. U tim studijama je konstatovano da nema statistički značajne razlike u kvalitetu života kod ove dve grupe bolesnika, mesec dana i godinu dana nakon operativnog lečenja. Autora ove studije je zanimao intrahospitalni kvalitet i brzina oporavka kod ove dve grupe bolesnika. Ova studija je koristila veoma jednostavan EuroQol upitnik, na koji su bolesnici odgovarali sedmog postoperativnog dana. Studija je pokazala brži i kvalitetniji oporavak kod OPCAB grupe bolesnika. Obzirom na rezultate jedne studije, rezultati ove studije nisu iznenađujući kada je oporavak bolesnika u pitanju u periodu praćenja od 7 dana nakon operativnog lečenja. Obzirom da je jedna od hipoteza ove studije bila da fiziološki protok krvi kod OPCAB procedura predstavlja osnov za smanjenu pojavu ishemijsko-reperfuzionih oštećenja (oksidativnog stresa), ova studija je pokazala da OPCAB grupa bolesnika ima kvalitetniji oporavak nakon hirurške revaskularizacije miokarda, naročito kada se porede stariji bolesnici i bolesnici sa višim prediktivnim mortalitetom.

Uzimajući u obzir kriterijume za isključivanje iz studije, postoperativne komplikacije i njihova distribucija po grupama je očekivana (12 komplikacija kod CPB grupe, 3 kod OPCAB grupe bolesnika). Najveći broj komplikacija se odnosio na pleuralne izlive i plitke infekcije operativnih rana na nozi i sternumu, što se može dovesti u vezu sa pokretanjem inflamatorne kaskade i oksidativnog stresa kod CPB grupe bolesnika, kao i pokretanja ovih kaskada usled same hirurške traume. Veliki broj meta analiza multicentričnih randomizovanih studija govore u prilog ovoj konstataciji^{207,208,224}.

Ova studija je nedvosmisleno pokazala veći stepen oksidativnog stresa kod CPB grupe bolesnika u odnosu na OPCAB grupu bolesnika. Takođe, studija je pokazala i kraće vreme boravaka na Odeljenju intenzivne nege i kraće vreme provedeno u bolnici nakon operacije kod OPCAB grupe bolesnika, što je u vezi sa bržim oporavkom OPCAB grupe

bolesnika. Svakako da na sve gore navedeno imaju uticaj i manje količina krvarenja i manja količina ordinirane transfuzije krvi kod OPCAB bolesnika, kao i kraće vreme provedeno na respiratoru.

Jedna od glavnih ideja studije je bila sagledavanje biohemijskih pokazatelja oksidativnog stresa u svetlu kliničkih parametara kod OPCAB hirurgije, kao i primena rezultata ove studije u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Sa tim u vezi, osnovna ideja i koncept studije su bili vezani za reevaluaciju indikacija kod hirurške revaskularizacije miokarda u smislu svakodnevne rutinske primene OPCAB procedura, kao metode izbora. Kada se gledaju rezultati ove studije per se, moglo bi se reći da OPCAB hirurgija može predstavljati svakodnevnu i jedinu metodu izbora prilikom hirurške revaskularizacije miokarda u najvećem broju slučajeva, tj. da je OPCAB modalitet lečenja poželjan kod svakog bolesnika. Međutim, ova studija se nije bavila prohodnošću graftova u kraćem i dužem vremenskom periodu, kao i stopom neuroloških i kardiovaskularnih komplikacija kod OPCAB hirurgije. Mnoge savremene multicentrične studije pokazale su nešto slabiju prohodnost graftova kod OPCAB grupa bolesnika u odnosu na CPB grupe bolesnika. Jedna od tih studija ukazuje na slabiju prohodnost i arterijskih i venskih graftova, kao i neadekvatnu revaskularizaciju miokarda kod OPCAB grupe bolesnika²³². Isto tako, jedna velika randomizovana studija na 2.203 bolesnika prikazala je lošiju prohodnost graftova u periodu praćenja od jedne godine kod OPCAB grupe bolesnika u odnosu na CPB grupu bolesnika (82.6% vs. 87.8%, $P < 0.01$), dok nije bilo statistički značajnije razlike u kognitivnim i neurofiziološkim funkcijama kod ove dve grupe bolesnika²³³. Još jedna velika meta studija na 10.716 bolesnika je pokazala da ne postoji gotovo nikakav signifikantan benefit od OPCAB hirurgije u pogledu mortaliteta, perioperativnog infarkta i CVI. Takođe, ova studija navodi bolje dugoročno preživljavanje kod CPB grupe bolesnika²³⁴.

Korist od OPCAB hirurgije kod starijih bolesnika još uvek nije u potpunosti razjašnjena. Jedna studija kod 2.539 randomizovanih bolesnika starosti od 75 godina i više, pokazala je da nema statistički značajnije razlike u pogledu mortaliteta, CVI, perioperativnog infarkta i reoperacija kod dve grupe bolesnika u periodu praćenja unutar

jednog meseca i jedne godine²³⁵. Studija koja je pratila 4.752 bolesnika iz 79 centara i 19 zemalja pokazala je da nema statistički značajne razlike u pogledu kvaliteta života i kognitivnih funkcija na otpustu iz bolnice, nakon mesec dana i nakon godinu dana praćenja²³⁶.

Sa druge strane, jedna velika meta studija na velikom broju bolesnika ističe prednosti OPCAB hirurgije, bar kada je u pitanju kraći vremenski interval praćenja bolesnika²³⁷. U ovoj studiji se ističu prednosti OPCAB hirurgije kada su u pitanju mortalitet, transfuzije krvi, CVI, prolongirana mehanička ventilacija, infekcije operativne rane, inotropna potpora, bubrežna insuficijencija i upotreba intraaortne balon pumpe (IABP). Isto tako, Puskas i saradnici su u studiji na 14.766 konsekutivnih bolesnika istakli prednosti OPCAB hirurgije kod visoko rizičnih bolesnika²³⁸.

Sve gore navedeno navodi na zaključak da OPCAB hirurgija ima mesta u svakodnevnoj kliničkoj praksi, ali najviše kada se radi o teškim bolesnicima sa visokim prediktivnim mortalitetom (EuroSCORE preko 5), kao i kod starih bolesnika, kod kojih se ne očekuje duži životni vek. Isto tako, OPCAB hirurgija je rezervisana kod bolesnika sa lošim kvalitetom aorte kod kojih postoji opasnost od mogućih neuroloških komplikacija. Bolesnike kod kojih se očekuje duži životni vek, kao i bolesnike sa niskim i srednjim EuroSCORE–om treba podvrgavati revaskularizaciji miokarda uz pomoć pumpe za CPB.

6. ZAKLJUČCI

1. Sagledavajući biohemijske pokazatelje oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite organizma, ova studija je nedvosmisleno pokazala veći stepen oksidativnog stresa kod CPB grupe bolesnika u odnosu na OPCAB grupu bolesnika.
2. Posmatrajući kliničke pokazatelje, studija je pokazala kraće vreme boravka na Odeljenju intenzivne nege i kraće vreme provedeno u bolnici nakon operacije kod OPCAB grupe bolesnika, što je u vezi sa kvalitetnijim i bržim oporavkom OPCAB grupe bolesnika. Svakako da na gore navedeno imaju uticaj manja količina krvarenja, manja količina ordinirane transfuzije, kao i kraće vreme provedeno na respiratoru kod OPCAB grupe bolesnika.
3. Jedna od glavnih ideja studije je bila sagledavanje biohemijskih pokazatelja oksidativnog stresa u svetlu kliničkih parametara kod OPCAB hirurgije, kao i primena rezultata ove studije u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Obzirom da se ova studija nije bavila dužinom trajanja i prohodnošću graftova, perioperativnim infarktima i neurološkim komplikacijama, a analizirajući najnovije multicentrične studije može se izvesti zaključak da OPCAB hirurgija treba da bude rezervisana za bolesnike sa visokim prediktivnim mortalitetom (EuroSCORE preko 5), za starije bolesnike kod kojih se ne očekuje duži životni vek, kao i za bolesnike sa lošim kvalitetom aorte kod kojih se mogu očekivati neurološke komplikacije porekla ushodne aorte.
4. Kod mlađih bolesnika, kod kojih se očekuje duži životni vek, kao i kod bolesnika sa niskim i srednjim prediktivnim mortalitetom, standardna hirurška revaskularizacija miokarda uz pomoć pumpe za CPB ostaje terapija izbora, bar kada je hirurgija u pitanju.
5. Sa druge strane, ova studija je nedvosmisleno pokazala veći oksidativni stres, kao i neželjenu aktivaciju trombocita kod CPB grupe bolesnika. Treba

napomenuti da su se komplikacije, iako male, javljale uglavnom u CPB grupi bolesnika. Pokazatelji oksidativnog stresa, kao i indeksi oksidativnog stresa i aktivacije trombocita, ukoliko se zajedno mere, mogu imati dobru kliničku tačnost u predviđanju nastanka mogućih hirurških komplikacija.

7. LITERATURA

1. Grundy SM: Cholesterol and coronary heart disease. A new era. JAMA 256 1986; (20):2849-2858
2. Gibbon JH. Artificial maintenance of circulation during experimental occlusion of pulmonary artery. Arch Surg 1937; 34:1105-31.
3. Stoney WS. Evolution of cardiopulmonary bypass. Circulation. 2009;119(21):2844-53.
4. Gibbon JH. Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. Minn Med. 1954;37:171–185.
5. Andreasen AT, Watson F. Experimental cardiovascular surgery. Br J Surg. 1952;39:548 –551.
6. Lillehei CW, Cohen M, Warden HE, Varco RL The direct-vision intracardiac correction of congenital anomalies by controlled cross circulation: results in 32 patients with ventricular septal defects, tetralogy of Fallot, and atrioventricular communis defects. Surgery 38:11, 1955
7. Miller WG. King of Hearts: The True Story of the Maverick Who Pioneered Open-heart Surgery. New York, NY: Crown; 2000:150.
8. Cooley DA. A tribute to C. Walton Lillehei, the "Father of open heart surgery". Tex Heart Inst J. 1999;26(3):165-6.
9. DeWall RA, Gott VL, Lillehei CW, Read RC, Varco RL, Warden HE. Total body perfusion for open cardiectomy utilizing the bubble oxygenator: physiologic responses in man. J Thorac Cardiovasc Surg. 1956; 32:591– 603.
10. Dang NC, Widmann WD, Hardy MA. C. Walton Lillehei, MD, PhD: a father of open-heart surgery. Curr Surg. 2003 May-Jun;60(3):292-5.
11. Konstantinov IE: Robert H. Goetz: The surgeon who performed the first successful clinical coronary artery bypass operation. Ann Thorac Surg 2000; 69:1966.
12. Kolessov VL. Mammary artery coronary anastomosis as method of treatment for angina pectoris. J Thorac Cardiovasc Surg 1967; 54:535-544.

13. Favalaro RG: Saphenous vein autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion:operative technique. *Ann Thorac Surg* 1968;5:334-9.
14. Langer L. Die foramina thabesu in Herten des Menschen. *Sitzungsberichte Akad Wiss Wien* 1880; 82:25-9.
15. Francois-Frank CE. Signification physiologicue de la resection du sympathique dans la maladie de besedow, l-epilepsie, l-idiotie et le glaucome. *Bull Acad Med Paris* 1899; 41:656-94.
16. Jonnesco T. Angine de poitrine guerie par la resection du sympathique cervicothoracique. *Bull Acad Med Paris* 1920; 84:93-102.
17. Kocher A. Ueber morbus Basedowi. *Mitt Grenzgeb Med Chir* 1901; 1:1-13.
18. Carrel A. On the experimental surgery of the thoracic aorta and heart. *AM J Surg* 1910; 52:83-95.
19. Carrel A. Ultimate result of aortic transplantation. *J Exp Med* 1912; 15:389-92.
20. Beck CS, Grisworld RA. Pericardiectomy in the treatment of the Pick syndrome; Experimental and clinical observations. *Arch Surg* 1930; 21: 1064-71.
21. Moritz AR, Hudson CL, Orgain ES. Augmentation of the extracardiac anastomoses of the coronary arteries through pericardial adhesions. *J Exp Med* 1932; 56:927-31.
22. Beck CS, Tichy VL, Moritz AR. Production of a collateral circulation to the heart. *Proc Soc Exp Biol Med* 1935; 32:759-61.
23. Beck CS. Development of new blood suplly to heart by operation. *Ann Surg* 1935; 102:801-13.
24. Vineberg AM. Development of anastomosis between coronary vessels and transplanted internal mammary artery. *Can Med Assoc J* 1946; 55: 117-9.
25. Sones FM, Shirey EK. Cine Coronary Arteriography. *Mod Conc Cardiovasc Dis* 1962; 31:735-8.
26. Murray G, Porcheron R, Hilario J, Roschlau W. Anastomosis of a systemic artery to the coronary artery. *Can Med Assoc J* 1954; 71:594-7.

27. May AM. Coronary endarterectomy: curettement of coronary arteries in dogs. *Am J Surg* 1957; 93:969-73.
28. Senning A. Strip-graft technique. *Acta Chir Scand* 1959; 118:81-5.
29. Sabiston DC. The William F.Reinhoff,Jr Lecture.The coronary circulation. *Bull J Hopkins Hosp* 1974; 134:314-29.
30. Kolessov VI, Potashov LV. Operations on the coronary arteries. *Exp Chir Anaesth* 1965; 10:3-8.
31. Effler DB, Favaloro RG, Groves LK. Coronary artery surgery utilizing saphenous vein graft techniques: clinical experience with 224 operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1970; 59:147-54.
32. Johnson WD, Flemma RJ, Lepley D Jr. Direct coronary surgery utilizing multiple-vein bypass grafts. *Ann Thorac Surg.* 1970 May; 9(5):436-44.
33. Carpentier A, Guermontprez JL, Deloche A, Frechette C, DuBost C. The aorta-to-coronary radial artery bypass graft. A technique avoiding pathological changes in grafts. *Ann Thorac Surg.* 1973 Aug;16(2):111-21.
34. Pym J, Brown PM, Charrette EJ, Parker JO, West RO. Gastroepiploic-coronary anastomosis. A viable alternative bypass graft. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1987 Aug;94(2):256-9.
35. Borst C, Jansen EWL, Tulleken CAF, et al. Coronary artery bypass grafting without CPB and without interruption of native coronary flow using a novel anastomosis site restraining device („Octopus”). *J Am Coll Cardiol* 1996; 27:1356-1364.
36. Rivetti LA, Gandra SAM. Initial experience using an intraluminal shunt during revascularisation of the beating heart. *Ann Thorac Surg* 1997;63:1742-1747.
37. Čepelak I. Slobodni radikali i antioksidansi u: Čvorišćec D, Čepelak I. *Medicinska biokemija, Medicinska naklada, Zagreb, 2009; 638-648.*
38. Sies H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am J Med* 1991; 91(3): S31-S38.
39. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine.* Oxford, UK: Oxford University Press, 1999.

40. Jones DP. Redefining Oxidative Stress. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2006; 8(9-10):1865-1879
41. Rimbach G, Hohler D, Fischer A, et al. Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Arch Tierernahr* 1999; 52(3):203-22.
42. Leewebburgh C, Hansen PA, Holloszy JO, et al. Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radic Biol Med* 1999; 27:186-92.
43. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood* 1998; 92: 3007-17.
44. Kurzelewski M, Czarnowska E, Beresewicz A. Superoxide and nitric oxide-derived species mediate endothelial dysfunction, endothelial glycocalyx disruption, enhanced neutrophil adhesion in the post-ischemic guinea-pig heart. *J Physiol Pharmacol* 2005; 56:163-178.
45. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007; 87:315-424.
46. Kotsonis P, Frey A, Fröhlich LG, et al. Autoinhibition of neuronal nitric oxide synthase: distinct effects of reactive nitrogen and oxygen species on enzymic activity. *Biochem J* 1999; 340: 745-52.
47. Jenkins RR. Free radical chemistry: relationship to exercise. *Sports Med* 1988; 5: 156-170.
48. Sen CK, Packer L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J* 1996; 10: 709-20.
49. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)*. 2006; 30 (3): 400-418.
50. Stadtman ER, Levine RL. Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899: 191-208.
51. Levine RL. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging and disease. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 790-796.

52. Piwowar A. Advanced oxidation protein products. Part II. The significance of oxidation protein products in the pathomechanism of diabetes and its complications. *Pol Merkur Lekarski*. 2010;28: 227-30.
53. Wallace SS. Biological consequences of free radical-damaged DNA bases. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1-14.
54. Das KC, Lewis-Molock Y, White CW. Elevation of manganese superoxide dismutase gene expression by thioredoxin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17: 713-726.
55. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 2000; 58: 1025-1033.
56. Antunes F, Derick H, Cadenas E. Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H₂O₂ detoxification in in vivo conditions. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1260-1267.
57. Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45; identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem* 1993; 21: 871-879.
58. Richter R, Furlong CE. Determination of paraoxonase (PON1) status requires more than genotyping. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 745-753.
59. Humbert R, Adler DA, Distechi CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet* 1993; 3: 73-76.
60. Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Durrington PN. Alloenzymes of paraoxonase and effectiveness of high-density lipoproteins in protecting low-density lipoprotein against lipid peroxidation. *Lancet* 1997; 349: 851-852.
61. Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radical Biol Med* 2005; 38: 153-163.
62. Kotur-Stevuljevic J, Memon L, Stefanovic A, Spasic S, Spasojevic-Kalimanovska V, et al. Correlation of oxidative stress parameters and

- inflammatory markers in coronary artery disease patients. *Clin Biochem.* 2007; 40: 181-187.
63. Kotur-Stevuljevic J, Spasic S, Stefanovic A, Zeljkovic A, Bogavac-Stanojevic N, Kalimanovska-Ostric D, Spasojevic-Kalimanovska V, et al. Paraoxonase-1 (PON1) activity, but not PON1(Q192R) phenotype, is a predictor of coronary artery disease in a middle-aged Serbian population. *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44(10): 1206-1213.
 64. Chauhan A, Chauhan V, Brown WT, Cohen I. Oxidative stress in autism: increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin - the antioxidant proteins. *Life Sci* 2004;75: 2539 - 2549.
 65. Boyd D, Vecoli CC, Belcher DM, Jain SK, Drysdale JW. Structural and functional relationships of human ferritin H and L chains deduced from cDNA clones. *J Biol Chem* 1985;260 : 11750-11761.
 66. Meneghini R. Iron homeostasis, oxidative stress and DNA damage. *Free Radic Biol Med* 1997;23:783-792.
 67. Arosio P, Levi S. Ferritin, iron homeostasis, and oxidative damage. *Free Radic Biol Med* 2002;33: 457-463.
 68. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 653S-69S
 69. Evans WJ. Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr* 2000; 72 (S): 647-652.
 70. Packer L. Vitamin C and redox cyclic antioxidants. In: Packer L. and Fuchs J, ed. *Vitamin C in health and disease.* New York Marcel Dekker Inc, 1997: 95-121.
 71. Witt EH, Reznick AZ, Viguie CA, et al. Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *J Nutr* 1992; 122 (3 Suppl.):766-773.
 72. Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr* 2001 ;20: 591-598.
 73. Packer L.(ed). Carotenoids. *Metabolism, Genetics and Biosynthesis. Methods in Enzymology, Part B* 1993;214:1-468. Academic Press Inc. New York.

74. Kaur H, Hallivvell B. Action of biologically-relevant oxidizing species upon uric acid: identification of uric acid oxidation products. *Chem-Biol Interactions* 1990;73: 235-247.
75. Sevanian A, Davies KJA, Hochstein P. Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. *Am J Clin Nutr* 1991 ;54: 1129S-1134S.
76. Davies KJA, Sevanian A, Muakkassah-Kelly SF, et al. Uric acid-iron ion complexes: a new aspect of the antioxidant functions of uric acid. *Biochem J* 1986;235: 747-754.
77. Yesikaya A, Yegin A, Ozdem S, et al. The effect of bilirubin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in cumene hydroperoxide-treated erythrocytes. *Int J Clin Lab Res* 1998,28:230-234.
78. Lee WH Jr, Krumhaar D, Fonkalsrud EW, et al: Denaturation of plasma proteins as a cause of morbidity and death after intracardiac operations. *Surgery* 1961; 50:1025.
79. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, et al: Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med* 1981; 304:497.
80. Wachtfogel YT, Kucich U, Greenplate J, et al: Human neutrophil degranulation during extracorporeal circulation. *Blood* 1987; 69:324.
81. Edmunds Jr LH. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998; 66:S12-6.
82. Tocci MJ, Schmidt JA: Interleukin-1: structure and function, in Remick DG, Friedland JS (eds): *Cytokines in Health and Disease*, 2nd ed. New York, Marcel Dekker, 1997; p 1.
83. Wewers MD: Cytokines and macrophages, in Remick DG, Friedland JS (eds): *Cytokines in Health and Disease*, 2nd ed. New York, Marcel Dekker, 1997; p 339.
84. Downing SW, Edmunds Jr LH. Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1992; 54:1236-43.

85. Kappelmayer J, Bertiabei A, Edmunds Jr LH et al. Tissue factor is expressed on monocytes during simulated extracorporeal circulation. *Circ Res* 1993; 72:1075-81.
86. Lehrer RI, Ganz T: Biochemistry and function of monocytes and macrophages, in Beutler E, Coller BS, Lichtman MA, et al (eds): *Williams Hematology*, 6th ed. New York, McGraw-Hill, 2001; p 865.
87. Wachtfogel YT, Kucich U, Greenplate J, et al: Human neutrophil degranulation during extracorporeal circulation. *Blood* 1987; 69:324.
88. Downing SW, Edmunds LH Jr: Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1992; 54:1236.
89. Ember JA, Jagels MA, Hugli TE: Characterization of complement anaphylatoxins and their biological responses, in Volankis JE, Frank MM (eds): *The Human Complement System in Health and Disease*. New York, Marcel Dekker, 1998; p 241.
90. Babior BM: Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med* 2000; 109:33.
91. Lima Rde C. Some technical considerations on the prevention of bleeding caused by sutures in the posterior pericardium in off-pump coronary artery bypass operations. *Ann Thorac Surg*. 2004 Sep;78(3):1130.
92. Arai H, Mizuno T, Yoshizaki T, Itoh F, Oi K, Someya T, Tanaka H, Sunamori M. A new multi-suction cardiac positioner for multivessel off-pump coronary artery bypass grafting. *Innovations (Phila)* 2006; 1(3):126-130.
93. Shennib H, Lee AGL, Akin J. Safe and effective method of stabilization for coronary artery bypass grafting on the beating heart. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 988-92.
94. Trendelenburg F. Ueber Blasenscheidenfisteloperationen und ueber Beckenhochlagerung bei operationen in der Bauchhoehle. *Samml Klin Vortrage* 1890; 355(109):3373-92.
95. Hu Z, Zhao G, Xiaio Z et al. Different responses of cerebral vessels to -30 degrees head-down tilt in humans. *Aviat Space Environ Med* 1999; 70(7):674-80.

96. Katkov VE, Chestukhin VV, Rumiantsev VV et al. Pressure in the jugular vein and right atrium and the cerebral hemodynamics of the healthy human being exposed to postural effects. *Kosm Biol Avakosm Med* 1981; 15(5):49-53.
97. Terai C, Anada H, Matsushima S et al. Effects of mild Tredelenburg on the central hemodynamics and internal jugular velocity, cross-sectional area, and flow. *Am J Emerg Med* 1995; 13(3):255-8.
98. Bondar RL, Dunphy PT, Moradshahi P et al. Cerebrovascular and cardiovascular responses to graded tilt in patients with autonomic failure. *Stroke* 1997; 28(9):1677-85.
99. Cartier R. Principles of stabilization and hemodynamics in OPCAB surgery in Cartier R.: *Off-Pump Coronary Artery Bypass Surgery*; 1st edition, Taylor & Francis, 2004; p 36.
100. Dürreleman N, Cartier R. Indications and surgical strategies for OPCAB in Cartier R.: *Off-Pump Coronary Artery Bypass Surgery*; 1st edition, Taylor & Francis, 2004; p 56.
101. Dagenais F, Cartier R. Pulmonary hypertension during beating heart coronary surgery: Intermittent inferior vena cava snaring. *Ann Thorac Surg* 1999; 68:1094-95.
102. Arab K, Steghens JP. Plasma lipid hydroperoxides measurement by an automated xylenol orange method. *Analytical Biochemistry* 2004; 325:158 – 16.
103. Selmeçi L, et al. Advanced oxidation protein products (AOPP) for monitoring oxidative stress in critically ill patients: a simple, fast and inexpensive automated technique . *Clinical Chemistry & Laboratory Medicine* 2005; 43(3): 294 – 297.
104. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996 May; 49(5):1304-13.
105. Erel O; A new automated method for measuring total oxidant status; *Clinical biochemistry* 2005; 38:1103-1111.

106. Auclair C, Voisin E. Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenwald RA, editor. CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. Boca Raton, FL: CRC Press; 1985. p. 123–132.
107. Alamdari DH, Paletas K, Pegiou T, et al. Novel assay for the evaluation of prooxidant-antioxidant balance, before and after antioxidant vitamin administration in type II diabetes patients. *Clinic Biochem* 2007; 40:248-254.
108. Girotti MJ, Khan N, McLellan BA. Early measurement of systemic lipid peroxidation products in plasma of major blunt trauma patients. *J Trauma* 1991 ;31: 32-35.
109. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV: A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia: a preliminary report. *J Emerg Med* 2000, 19:311-315.
110. Christenson RH, Duh SH, Sanhai WR, Wu AHB, Holtman V, Painter P, Branham E, Apple FS, Murakami MA, Morris DL. Characteristics of an albumin cobalt binding test for assessment of acute coronary syndrome patients: a multicenter study. *Clin Chem* 2001; 47(3):464-470.
111. Richter R, Furlong CE. Determination of paraoxonase (PON1) status requires more than genotyping. *Pharmacogenetics* 1999 ; 9: 745 – 753.
112. Ellman E. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1959; 82(1): 70 – 77.
113. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004;37(4):277–85.
114. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972;247: 3170-3175.
115. Dolan P. Modeling Valuations for EuroQol Health States. *Medical Care* 1997; 35(11): 1095–1108. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/3767472>
116. Bland JM, Altman DG. Statistics notes: transformations, means and confidence intervals. *BMJ* 1996; 312: 1079-1080.

117. <http://www.euroscore.org/calcold.html>
118. <http://www.euroscore.org/calc.html>
119. Unal EU, Ozen A, Kocabeyoglu S, Durukan AB, Tak S, Songur M, et al. Mean platelet volume may predict early clinical outcome after coronary bypass grafting. *J Cardiothorac Surg* 2013; 8: 91.
120. Bolat I, Akgul O, Cakmak HA1, Pusuroglu H, Somuncu U, Ozbey S, Ornek V, Erturk M, Gul M. The prognostic value of admission mean platelet volume to platelet count ratio (MPV/Plt) in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Kardiol Pol.* 2015 Sep 14.
121. <http://www.syntaxscore.com/calc2/start.htm>
122. Serruys PW, Onuma Y, Garg S, Sarno G, van den Brand M, Kappetein AP, Van Dyck N, Mack M, Holmes D, Feldman T, Morice MC, Colombo A, Bass E, Leadley K, Dawkins KD, van Es GA, Morel MA, Mohr FW. Assessment of the SYNTAX score in the Syntax study. *EuroIntervention.* 2009 May;5(1):50-6.
123. Hosmer D, Lemeshow S, Sturdivant RX. *Applied Logistic Regression.* 3rd ed. New York,NY: John Wiley & Sons Inc 2013.
124. Rabin R, de Charro F. EQ-5D: a measure of health status from the EuroQol Group. *Ann Med.* 2001; 33(5): 337-43.
125. Matata BM, Sosnowski AW, Galinanes M. Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation. *Ann Thorac Surg* 2000; 69:785-91.
126. Filsoufi F, Adams DH. Surgical approaches to coronary artery disease. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2002;4:55-63.
127. STS National Database Executive Summary 4th Q 2009 Data. Accessed on March31,2010at<http://www.sts.org/documents/pdf/ndb2010/20094thHarvestExecutiveSummary.pdf>.
128. Ferguson BT. Ischemia/reperfusion injury in coronary artery bypass grafting: Time to revisit? *J Thor Cardiovasc Surg* 2011; 141(1): 1-2.

129. Biglioli P, Cannata A, Alamanni F, Naliato M, Porqueddu M, Yanobini M, et al. Biological effects of off-pump coronary artery surgery: focus on inflammation, hemostasis and oxidative stress. *Eur J Cardio-Thorac* 2003 Aug; 24(2): 260-9.
130. Subodh V, Fedak PV, Weisel RD, Butany J, Rao V, Maitland A, Li RK, Dhillon B, Yau TM. Fundamentals of Reperfusion Injury for the Clinical Cardiologist *Circulation* 2002; 105: 2332-2336.
131. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 4. Oxford: Clarendon; 2007.
132. Verma S, Fedak PWM, Weisel R, Butang J, Rao V, Maitland A, et al. Fundamentals of reperfusion injury for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002; 105: 2332-2336.
133. Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MD, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Review. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007;39:44–84.
134. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Review. *Physiol. Rev.* 2002;82:47–95.
135. Trachootham D, Alexandre J, Huang P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat Rev Drug Discov.* 2009 Jul; 8(7):579-91
136. Buffon A, Santini SA, Ramazzotti V, Rigattieri S, LiuzzoG, Biasucci LM, Crea F, Giardina B, Maseri A. Large, sustained cardiac lipid peroxidation and reduced antioxidant capacity in the coronary circulation after brief episodes of myocardial. *J American College of Cardiology* 2000; 35 (3):633-9.
137. Kotur-Stevuljevic J, Memon L, Stefanovic A, Spasic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Bogavac-Stanojevic N, Kalimanovska-Ostic N, Jelić-Ivanovic Z, Zunic G. Correlation of oxidative stress parameters and inflammatory markers in coronary artery disease patients. *Clinical Biochemistry* 40 (2007) 181–187.)

138. Sbarouni E, Georgiadou P, Mihas C, Chaidaroglou A, Degiannis D, Voudris V. Malondialdehyde kinetics following coronary artery bypass grafting and its relation to osteopontin. *European Surgery* 2014; 46(4): 165-168.)
139. Dias AE, Melnikov P, C nsolo LZ. Oxidative stress in coronary artery bypass surgery. *Braz J Cardiovasc Surg.* 2015 Aug;30(4):417-24
140. Kutuk O, Basaga H. Inflammation meets oxidation: NF- κ B as a mediator of initial lesion development in atherosclerosis. *Trends Mol Med* 2003; 9(12):549–57.
141. Stocker R, Keaney JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;84:1381–478.
142. Trachootham D, Alexandre J, Huang P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat Rev Drug Discov.* 2009 Jul;8(7):579-91
143. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals In Biology And Medicine*, 4th Ed.; Oxford University Press: Oxford, UK, 1987.
144. Sz cs K, Lass gue B, Sorescu D, Hilenski LL, Valppu L, Couse TL, Wilcox JN, Quinn MT, Lambeth JD, Griendling KK. Upregulation of Nox-based NAD(P)H oxidases in restenosis after carotid injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Jan;22(1):21-7.
145. Sorescu D, Weiss D, Lass gue B, Clempus RE, Sz cs K, Sorescu GP, Valppu L, Quinn MT, Lambeth JD, Vega JD, Taylor WR, Griendling KK. Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis. *Circulation.* 2002 Mar 26;105(12):1429-35.
146. Bugajski P, Kalawski R, Baliński M, Wysocki H, Olszewski R, Szczepanik A, Siminiak T. Plasma-mediated stimulation of neutrophil superoxide anion production during coronary artery bypass grafting: role of endothelin-1. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1999 Jun;47(3):144-7.
147. Berry C, Hamilton CA, Brosnan MJ, Magill FG, Berg GA, McMurray JJ, Dominiczak AF. Investigation into the sources of superoxide in human blood

- vessels: angiotensin II increases superoxide production in human internal mammary arteries. *Circulation*. 2000 May 9;101(18):2206-12.
148. Molter GP, Silomon M, Bauer C, Ziegeler S, Soltesz S. Effects of hyperoncotic or hypertonic-hyperoncotic solutions on polymorphonuclear neutrophil count, elastase- and superoxide-anion production: a randomized controlled clinical trial in patients undergoing elective coronary artery bypass grafting. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2007 Aug;51(7):914-21.
 149. Liang X, Chen Y, Zhuang J, Zhang M, Xiong W, Guo H, Jiang F, Hu P, Guo D, Shi W. Advanced oxidation protein products as prognostic biomarkers for recovery from acute kidney injury after coronary artery bypass grafting. *Biomarkers*. 2012 Sep;17(6):507-12.
 150. Kunt AS, Selek S, Celik H, Demir D, Erel O, Andac MH. Decrease of total antioxidant capacity during coronary artery bypass surgery. *Mt Sinai J Med*. 2006 Sep;73(5):777-83.
 151. Veglia F, Werba JP, Tremoli E, Squellerio I, Sisillo E, Parolari A, Minardi F, Cavalca V. Assessment of oxidative stress in coronary artery bypass surgery: comparison between the global index OXY-SCORE and individual biomarkers. *Biomarkers*. 2009 Nov;14(7):465-72.
 152. Veglia F, Cighetti G, De Franceschi M, Zingaro L, Boccotti L, Tremoli E, Cavalca V. Age- and gender-related oxidative status determined in healthy subjects by means of OXY-SCORE, a potential new comprehensive index. *Biomarkers*. 2006 Nov-Dec;11(6):562-73.
 153. Kotur-Stevuljevic J, Bogavac-Stanojevic N, Jelic-Ivanovic Z, Stefanovic A, Gojkovic T, Joksic J, Sopic M, Gulan B, Janac J, Milosevic S. Oxidative stress and paraoxonase 1 status in acute ischemic stroke patients. *Atherosclerosis*. 2015 Jul;241(1):192-8.
 154. Alamdari DH, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, Parizadeh MR, Moohebbati M, Ghafoori F, Kazemi-Bajestani SM, Paletas K, Pegiou T, Koliakos G. Prooxidant-antioxidant balance as a new risk factor in patients with

- angiographically defined coronary artery disease. *Clin Biochem.* 2008 Apr;41(6):375-80.
155. Rahsepar AA, Mirzaee A, Moodi F, Moohebbati M, Tavallaie S, Eshraghi A, Alavi MS, Khorashadizadeh F, Pourghadamyari H, Paydar R, Amini M, Khojasteh R, Mousavi S, Sahebi M, Ghayour-Mobarhan M, Ferns GA. Prooxidant-antioxidant balance and oxidized LDL antibody level values and cardiac function in patients with coronary artery disease. *Cardiology.* 2012;122(4):203-9.
156. Kotur-Stevuljević J, Spasić S, Stefanović A, Zeljković A, Stanojević-Bogavac A, Kalimanovska-Oštrić D, Spasojević-Kalimanovska D, Jelić-Ivanović Z. Paraoxonase-1 (PON1) activity, but not PON1 Q192R phenotype, is a predictor of coronary artery disease in a middle-aged Serbian population. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44(10): 1106-1113.
157. Carlucci F, Tabucchi A, Biagioli B, Simeone F, Scolletta S, Rosi F, Marinello E. Cardiac surgery: myocardial energy balance, antioxidant status and endothelial function after ischemia-reperfusion. *Biomed Pharmacother.* 2002 Dec;56(10):483-91.
158. Hallioglu J; Ates Y; Tuzuner F, Canakci N, Bugdayci G. Total antioxidant status evaluated by Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) in CABG patients. *Anesthesia & Analgesia:* 1998; 86(2)-208.
159. Cavalca V, Sisillo E, Veglia F, Tremoli E, Cighetti G, Salvi L, Sola A, Mussoni L, Biglioli P, Folco G, Sala A, Parolari A. Isoprostanes and oxidative stress in off-pump and on-pump coronary bypass surgery. *Ann Thorac Surg.* 2006 Feb;81(2):562-7.
160. Mentese U, Dogan OV, Turan I, Usta S, Dogan E, Mentese SO, Demir S, Ozer T, Aykan AC, Alver A. Oxidant-antioxidant balance during on-pump coronary artery bypass grafting. *ScientificWorldJournal.* 2014.
161. Chandrasena G, Peiris H, Waikar HD. Biochemical changes associated with reperfusion after off-pump and on-pump coronary artery bypass graft surgery. *Ann Clin Lab Sci.* 2009 Fall;39(4):372-7

162. Gönenç A, Hacısevki A, Bakkaloğlu B, Soyağır A, Torun M, Karagöz H, Simşek B. Oxidative stress is decreased in off-pump versus on-pump coronary artery surgery. *J Biochem Mol Biol*. 2006 Jul 31;39(4):377-82.
163. Erturk E, Cekic B, Geze S, Kosucu M, Coskun I, Eroglu A, Ulusoy H, Mentese A, Karahan C, Kerimoglu S: Comparison of the effect of propofol and N-acetyl cysteine in preventing ischaemia-reperfusion injury. *Eur J Anaesthesiol* 2009, 26(4):279-84.)
164. Bar-Or D, Winkler JV, Vanbenthuysen K, Harris L, Lau E, Hetzel FW: Reduced albumin -cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin. *I Am Heart J* 2001, 141:985-991.
165. Sinha M, Roy D, Gaze D, Collinson P, Kaski JC: Role of 'ischemia modified albumin', a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes. *Emerg Med J* 2004, 21:29-34.
166. Peacock F, Morris DL, Anwaruddin S, Christenson RH, Collinson PO, Goodacre SW, Januzzi JL, Jesse RL, Kaski JC, Kontos MC, Lefevre G, Mutrie D, Sinha MK, Uettwiller-Geiger D, Pollack CV: Meta-analysis of ischemiamodified albumin to rule out acute coronary syndromes in the emergency department. *Am Heart J* 2006, 152:253-262.
167. Kanko M, Yavuz S, Duman C, Hosten T, Oner E, Berki T. Ischemia-modified albumin use as a prognostic factor in coronary bypass surgery. *J Cardiothorac Surg*. 2012 Jan 5;7:3.
168. Thygesen K, Alpert JS, White HD: On behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. *Eur Heart J* 2007, 28:2525-2538.
169. Bar-El Y, Adler Z, Kophit A, Kertzman V, Sawaed S, Ross A, Cohen O, Milo S: Myocardial protection in operations requiring more than 2 h of aortic cross-clamping. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999, 15:271-5.

170. Gonenc A, Hacisevki A, Griffiths HR, Torun M, Bakkaloglu B, Simsek B. Free radical reaction products and antioxidant capacity in beating heart coronary artery surgery compared to conventional bypass. *Biochemistry (Moscow)* 2011; 76(6): 677-685.
171. Bhattacharyya T, Nicholls SJ, Topol EJ, Zhang R, Yang X, Schmitt D, et al. Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. *JAMA* 2008; 299(11): 1265-1267.
172. Samara I, Karikas GA, Kalkani E, Tzimogianni A, Bournousouzis N, Fytou-Pallikari A. Negative correlations of serum total-homocysteine and HDL-c levels in ICU patients. *Health Science Journal* 2010;4(3):189-192.
173. Bicer M, Senturk T, Yanar M, Tutuncu A, Yilmaztepe Oral A, Ulukaya E, Serdar Z, et al. Effects of off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: apoptosis, inflammation and oxidative stress. *Heart Surg Forum* 2014; 17(5): 1-6.
174. Stevanovic A, Coburn M, Menon A, Rossaint R, Heyland D, Schälte G, et al. The importance of intraoperative selenium blood levels on organ dysfunction in patients undergoing off-pump cardiac surgery: a randomised controlled trial. *PloS One*.2014 Aug 13; 9(8).
175. Felker GM, Allen LA, Pocock SJ, et al. CHARM Investigators. Red cell distribution width as a novel prognostic marker in heart failure: data from the CHARM Program and the Duke Databank. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:40–47. 8.
176. Tonelli M, Sacks F, Arnold M, Moye L, Davis B, Pfeffer M, for the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Trial Investigators. Relation between red blood cell distribution width and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation*. 2008;117:163–168.
177. Vivacqua A, Koch CG, Yousuf AM, Nowicki ER, Houghtaling PL, Blackstone EH, et al. Morbidity of bleeding after cardiac surgery: Is it blood transfusion, reoperation for bleeding, or both? *Ann Thorac Surg* 2011;91:1780-90.

178. Vivacqua A, Koch CG, Yousuf AM, Nowicki ER, Houghtaling PL, Blackstone EH, et al. Morbidity of bleeding after cardiac surgery: Is it blood transfusion, reoperation for bleeding, or both? *Ann Thorac Surg* 2011;91:1780-90.
179. Unal EU, Ozen A, Kocabeyoglu S, Durukan AB, Tak S, Songur M, et al. Mean platelet volume may predict early clinical outcome after coronary bypass grafting. *J Cardiothorac Surg* 2013; 8: 91-98.
180. Freedman JE. Oxidative stress and platelets. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2008; 28: s11-s16.
181. Harker LA, Malpass TW, Branson HE, Hessel EA, Slichter SJ. Mechanism of abnormal bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass: acquired transient platelet dysfunction associated with selective α – granule release. *Blood* 1980; 56: 824-834.
182. Dixon B, Santamaria J, Campbell D. Coagulation activation and organ dysfunction following cardiac surgery. *Chest* 2005; 128: 229–36.
183. Pusuroglu H, Cakmak HA, Akgul O, Erturk M, Surgit O, Akkaya E, et al. The prognostic value of admission red cell distribution width-to-platelet ratio in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Rev Port Cardiol* 2015; 34(10): 597-606.
184. Lippi G, Targher G, Montagnana M, Salvagno GL, Zoppini G, Guidi GC. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in a large cohort of unselected outpatients. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 628-632.
185. Li W, Li G, Wang M, Ge X, Li F, Huang B, et al. Association between red cell distribution width and the risk of heart events in patients with coronary artery disease. *Exp Ther Med* 2015; 9: 1508-1514.
186. Lippi G, Targher G, Montagnana M, Salvagno GL, Zoppini G, Guidi GC. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in a large cohort of unselected outpatients. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 628-632.

187. Ates S, Oksuz H, Dogu B, Bozkus F, Ucmak H, Yanit F. Can mean platelet volume and mean platelet volume/ platelet count ratio be used as a diagnostic marker for sepsis and systemic inflammatory response syndrome? *Saudi Med J* 2015; Vol. 36 (10): 1186-1190
188. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation and genetics. *Circulation* 1995; 91: 2488-2496.
189. Ates S, Oksuz H, Dogu B, Bozkus F, Ucmak H, Yanit F. Can mean platelet volume and mean platelet volume/ platelet count ratio be used as a diagnostic marker for sepsis and systemic inflammatory response syndrome? *Saudi Med J* 2015; Vol. 36 (10): 1186-1190
190. Zilla P, Fasol R, Groscurth P, et al. Blood platelets in cardiopulmonary bypass operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 97: 379.
191. Kazui M, Andreoni KA, Norris EJ, Klein AS, Burdick JF, Beattie C, Sehnert SS, Bell WR, Bulkley GB, Risby TH. Breath ethane: a specific indicator of free-radical-mediated lipid peroxidation following reperfusion of the ischemic liver. *Free Radical Biology & Medicine* 1992; 13:509-515.
192. Andreoni KA, Kazui M, Cameron DE, Nyhan D, Sehnert SS, Rohde CA, Bulkley GB, Risby TH. Ethane: a marker of lipid peroxidation during cardiopulmonary bypass in humans. *Free Radic Biol Med* 1999; 26 (3-4): 439 – 445.
193. Cristescu SM, Kiss R, Hekkert S, Dalby M, Harren FJ, Risby TH, Marczin N. Real-time monitoring of endogenous lipid peroxidation by exhaled ethylene in patients undergoing cardiac surgery. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*.2014 Oct 1; 307(7): L509–15.
194. Liang X, Chen Y, Zhuang J, Zhang M, Xiong W, Guo H, Jiang F, Hu P, Guo D, Shi W. Advanced oxidation protein products as prognostic biomarkers for recovery from acute kidney injury after coronary artery bypass grafting. *Biomarkers*. 2012 Sep; 17(6): 507-12.

195. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999;340 (6):448-54.
196. Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yamell J, Azam N, Watt M, Mackness M. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* 2003;107(22): 2775-9.
197. Granér M, James RW, Kahri J, Nieminen MS, Syväne M, Taskinen MR. Association of paraoxonase-1 activity and concentration with angiographic severity and extent of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(12): 2429-35.
198. La Du BN. Future studies of low-activity PON1 phenotype subjects may reveal how PON1 protects against cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(8): 1317– 8.
199. Getz GS, Reardon CA. SAA, HDL biogenesis, and inflammation. *J Lipid Res* 2008; 49(2): 269-70.
200. Wysocka A, Cybulski M, Berbeć H, Wysokiński A, Stążka J, Zapolski T. Prognostic value of paraoxonase 1 in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery. *Med Sci Monit.* 2014; 20:594-600.
201. Thomas-Moya E, Gomez-Perez Y, Fiol M., Gianotti M, Llado I, Proenza AM. Gender related differences in paraoxonase 1 response to high-fat diet-induced oxidative stress. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16(10): 2232-8.
202. Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Bicchiera V. HDL-paraoxonase and membrane lipid peroxidation: a comparison between healthy and obese subjects. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18(6): 1079–84.
203. Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Grugni G, Bicchiera V. Altered inflammation, paraoxonase-1 activity and HDL physicochemical properties in obese humans with and without Prader-Willi syndrome. *Dis Model Mech* 2012; 5(5): 698-705.
204. Pasqualini L, Cortese C, Marchesi S, Siepi D, Pirro M, Vaudo G, Liberatoscioli L, Gnasso A, Schillaci G, Mannarino E. Paraoxonase-1 activity modulates

- endothelial function in patients with peripheral arterial disease. *Atherosclerosis* 2005; 183(2): 349-54.
205. Woodman RC, Harker LA. Bleeding Complications Associated With Cardiopulmonary Bypass. *Blood* 1990; 76(9): 1680-1697.
206. Wademan BH, Galvin SD. Desmopressin for reducing postoperative blood loss and transfusion requirements following cardiac surgery in adults. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2014 Mar;18(3):360-70.
207. Beattie S, Wijeyesundera D, Djaiani G, et al: Off-pump coronary artery surgery for the reduction of perioperative mortality and morbidity: A meta-analysis. *Anesth Analg* 2004; 98:SCA114.
208. Reston JT, Tregear SJ, Turkelson CM: Meta-analysis of short-term and midterm outcomes following off-pump coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2003; 76:1510.
209. Chelemer SB, Prato BS, Cox PM Jr, O'Connor GT, Morton JR. Association of bacterial infection and red blood cell transfusion after coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 2002;73:138–42.
210. Leal-Noval S, Rincon-Ferrari MD, Garcia-Curiel A, et al. Transfusion of blood components and postoperative infection in patients undergoing cardiac surgery. *Chest* 2001;119:1461–8.
211. Habib RH, Zacharias A, Engoren M. Determinants of prolonged mechanical ventilation after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1996;62:1164–71.
212. Franssen E, Maessen J, Dentener M, Senden N, Buurman W. Impact of blood transfusions on inflammatory mediator release in patients undergoing cardiac surgery. *Chest* 1999;116:1233–9.
213. Engoren MC, Habib RH, Zacharias A, Schwann TA, Riordan CJ, Durham SJ. Effect of blood transfusion on long-term survival after cardiac operation. *Ann Thorac Surg* 2002;74:1180–6.

214. Maggart M, Stewart S. The mechanisms and management of noncardiogenic pulmonary edema following cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1987; 43:231.
215. Lloyd J, Newman J, Brigham K: Permeability pulmonary edema: diagnosis and management. *Arch Intern Med* 1984; 144:143.
216. Allardyce D, Yoshida S, Ashmore P: The importance of microembolism in the pathogenesis of organ dysfunction caused by prolonged use of the pump oxygenator. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1966; 52:706.
217. Royston D, Fleming JS, Desai JB, et al: Increased production of peroxidation products associated with cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 91:759.
218. Craddock PR, Fehr J, Brigham KL, et al: Complement and leukocyte-mediated pulmonary dysfunction in hemodialysis. *N Engl J Med* 1977; 296:769.
219. Hammerschmidt DE, Stroncek DF, Bowers TK, et al: Complement activation and neutropenia during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1981; 81:370
220. McGowan FX, del Nido PJ, Kurland G, et al: Cardiopulmonary bypass significantly impairs surfactant activity in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106:968.
221. Oster JB, Sladen RN, Berkowitz DE: Cardiopulmonary bypass and the lung, in Gravlee GP, Davis RF, Kurusz M, Utley JR (eds): *Cardiopulmonary Bypass: Principles and Practice*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000; p 367.
222. Wijeyesundera DN, Beattie WS, Djaiani G, Rao V, Borger MA, Karkouti K, Cusimano RJ. Off-pump coronary artery surgery for reducing mortality and morbidity: meta-analysis of randomized and observational studies. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Sep 6;46(5):872-82.
223. Puskas JD, Williams WH, Mahoney EM, Huber PR, Block PC, Duke PG, Staples JR, Glas KE, Marshall JJ, Leimbach ME, McCall SA, Petersen RJ, Bailey DE, Weintraub WS, Guyton RA. Off-pump vs conventional coronary

- artery bypass grafting: early and 1-year graft patency, cost, and quality-of-life outcomes: a randomized trial. *JAMA*. 2004 Apr 21;291(15):1841-9.
224. Puskas J, Cheng D, Knight J, et al: Off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting: A meta-analysis and consensus statement from the 2004 ISMICS consensus conference. *Innovations* 2005; 1:3.
225. Patel NC, Grayson AD, Jackson M, Au J, Yonan N, Hasan R, Fabri BM; North West Quality Improvement Programme in Cardiac Interventions. The effect off-pump coronary artery bypass surgery on in-hospital mortality and morbidity. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2002 Aug;22(2):255-60.
226. Racz MJ, Hannan EL, Isom OW, Subramanian VA, Jones RH, Gold JP, Ryan TJ, Hartman A, Culliford AT, Bennett E, Lancey RA, Rose EA. A comparison of short- and long-term outcomes after off-pump and on-pump coronary artery bypass graft surgery with sternotomy. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Feb 18;43(4):557-64.
227. Magee MJ, Jablonski KA, Stamou SC, Pfister AJ, Dewey TM, Dullum MK, Edgerton JR, Prince SL, Acuff TE, Corso PJ, Mack MJ. Elimination of cardiopulmonary bypass improves early survival for multivessel coronary artery bypass patients. *Ann Thorac Surg*. 2002 Apr;73(4):1196-202; discussion 1202-3.
228. Angelini GD, Taylor FC, Reeves BC, Ascione R. Early and midterm outcome after off-pump and on-pump surgery in Beating Heart Against Cardioplegic Arrest Studies (BHACAS 1 and 2): a pooled analysis of two randomised controlled trials. *Lancet*. 2002 Apr 6;359(9313):1194-9.
229. Van Dijk D, Nierich AP, Eefting FD, et al. The Octopus Study: rationale and design of two randomized trials on medical effectiveness, safety and cost-effectiveness of bypass surgery on the beating heart. *Control Clin Trials*. 2000;21:595– 609.
230. Van Dijk D, Jansen EW, Hijman R, Nierich AP, Diephuis JC, Moons KG, Lahpor JR, Borst C, Keizer AM, Nathoe HM, Grobbee DE, De Jaegere PP, Kalkman CJ; Octopus Study Group. Cognitive outcome after off-pump and on-

- pump coronary artery bypass graft surgery: a randomized trial. *JAMA*. 2002 Mar 20;287(11):1405-12.
231. Lamy A, Devereaux PJ, Prabhakaran D, Taggart DP, Hu S, Paolasso E, Straka Z, Piegas LS, Akar AR, Jain AR, Noiseux N, Padmanabhan C, Bahamondes JC, Novick RJ, Vaijyanath P, Reddy SK, Tao L, Olavegogeoascoechea PA, Airan B, Sulling TA, Whitlock RP, Ou Y, Pogue J, Chrolavicius S, Yusuf S; CORONARY Investigators. Effects of off-pump and on-pump coronary-artery bypass grafting at 1 year. *N Engl J Med*. 2013 Mar 28;368(13):1179-88.
 232. Hattler B, Messenger JC, Shroyer AL, Collins JF, Haugen SJ, Garcia JA, Baltz JH, Cleveland JC Jr, Novitzky D, Grover FL; Veterans Affairs Randomized On/Off Bypass (ROOBY) Study Group. Off-Pump coronary artery bypass surgery is associated with worse arterial and saphenous vein graft patency and less effective revascularization: Results from the Veterans Affairs Randomized On/Off Bypass (ROOBY) trial. *Circulation*. 2012 Jun 12;125(23):2827-35.
 233. Shroyer AL, Grover FL, Hattler B, Collins JF, McDonald GO, Kozora E, Lucke JC, Baltz JH, Novitzky D; Veterans Affairs Randomized On/Off Bypass (ROOBY) Study Group. On-pump versus off-pump coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med*. 2009 Nov 5;361(19):1827-37.
 234. Møller CH, Penninga L, Wetterslev J, Steinbrüchel DA, Gluud C. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting for ischaemic heart disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Mar 14;3.
 235. Diegeler A, Börgermann J, Kappert U, Breuer M, Böning A, Ursulescu A, Rastan A, Holzhey D, Treede H, Rieß FC, Veeckmann P, Asfoor A, Reents W, Zacher M, Hilker M; GOPCABE Study Group. Off-pump versus on-pump coronary-artery bypass grafting in elderly patients. *N Engl J Med*. 2013 Mar 28;368(13):1189-98.
 236. André Lamy, M.D., P.J. Devereaux, M.D., Ph.D., Dorairaj Prabhakaran, M.D., David P. Taggart, Ph.D., Shengshou Hu, M.D., Ernesto Paolasso, M.D., Zbynek Straka, M.D., Leopoldo S. Piegas, M.D., Ahmet Ruchan Akar, M.D., Anil R. Jain, M.D., Nicolas Noiseux, M.D., Chandrasekar Padmanabhan, M.D., Juan-

Carlos Bahamondes, M.D., Richard J. Novick, M.D., Prashant Vaijyanath, M.D., Sukesh Kumar Reddy, M.D., Liang Tao, M.D., Pablo A. Olavegogeochea, M.D., Balram Airan, M.D., Toomas-Andres Sulling, M.D., Richard P. Whitlock, M.D., Yongning Ou, M.Sc., Janice Pogue, Ph.D., Susan Chrolavicius, B.A., and Salim Yusuf, D.Phil., for the CORONARY Investigators* Effects of Off-Pump and On-Pump Coronary-Artery Bypass Grafting at 1 Year. *N Engl J Med* 2013; 368:1179-1188.

237. Kuss O, von Salviati B, Börgermann J. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: a systematic review and meta-analysis of propensity score analyses. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010 Oct;140(4):829-35, 835.e1-13
238. Puskas JD, Thourani VH, Kilgo P, Cooper W, Vassiliades T, Vega JD, Morris C, Chen E, Schmotzer BJ, Guyton RA, Lattouf OM. Off-pump coronary artery bypass disproportionately benefits high-risk patients. *Ann Thorac Surg.* 2009 Oct;88(4):1142-7.

PRILOZI

Prilog br.1–EuroQol upitnik



Upitnik o zdravlju

(Serbian version)

Molimo Vas da obeležavanjem jedne kockice u svakoj od donjih grupa izaberete izjavu koja najbolje opisuje Vaše zdravstveno stanje danas.

Pokretljivost

- Nemam problema sa kretanjem
- Imam nekih problema pri kretanju
- Vežan sam za postelju

Briga o sebi

- Nemam problema sa brigom o sebi
- Imam nekih problema pri pranju i oblačenju
- Nisam u stanju da se sam operem ili obučem

Uobičajene aktivnosti (*npr. posao, učenje, kućni poslovi, porodične ili slobodne aktivnosti*)

- Nemam problema sa obavljanjem svojih uobičajenih aktivnosti
- Imam nekih problema u obavljanju svojih uobičajenih aktivnosti
- Nisam u stanju da obavljam svoje uobičajene aktivnosti

Bol/Nelagodnost

- Ne osećam bol ili nelagodnost
- Osećam umeren bol ili nelagodnost
- Osećam krajnji bol ili nelagodnost

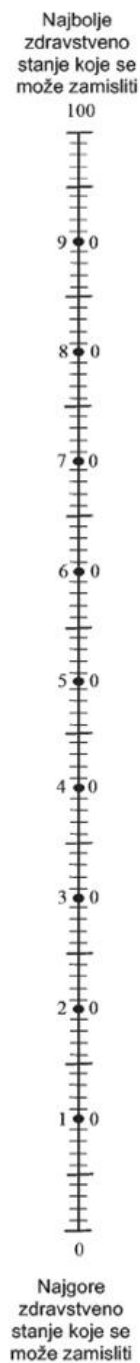
Briga/Potištenost

- Nisam brižan(a) ili potišten(a)
- Umereno sam brižan(a) ili potišten(a)
- Krajnje sam brižan(a) ili potišten(a)

Da bismo pomogli ljudima da iskažu koliko je dobro ili loše njihovo zdravstveno stanje, nacrtali smo skalu (koja liči na termometar) na kojoj je najbolje stanje koje se može zamisliti označeno sa 100 a najgore stanje koje se može zamisliti označeno sa 0.

Želeli bismo da nam na skali pokažete koliko je Vaše zdravstveno stanje danas dobro ili loše, po Vašem mišljenju. Molimo Vas da to učinite povlačenjem crte od donje crne kockice u kojoj piše "Vaše zdravstveno stanje danas" do bilo koje tačke na skali koja najbolje opisuje koliko je Vaše zdravstveno stanje danas dobro ili loše.

**Vaše
zdravstveno
stanje
danas**



SPISAK SKRAĆENICA

AATS-American association for thoracic surgery ili američko udruženje grudnih hirurga

ABSU-Absorbance unit ili jedinica absorbance

ACB test-Albumin-cobalt-binding assay

ACC-Aortic cross-clamp ili aortna klema

ACE-Angiotensin-converting enzyme inhibitor

ACT-Activated clotting time

ACx-Arterija cirkumfleksa ili circumflex artery

ALT-Alanin-amino transferaza

ANOVA-Analiza varijanse

AOPP-Advanced oxidation protein products ili produkti uznapredovale oksidacije proteina

AST-Aspartat-amino transferaza

AUC-Area under the curve

BMI-Body mass index ili indeks telesne mase

BSA-Body surface area ili površina tela

CABG-Coronary artery bypass grafting

CI-Confidence interval ili interval poverenja

CK-Creatin kinase ili kreatin kinaza

CK-MB-Creatin kinase myocardial band ili kreatin kinaza izoenzim MB

COPD-Chronic obstructive pulmonary disease ili hronična opstruktivna bolest pluća

CPB-Cardiopulmonary bypass ili pumpa za kariopulmonalni bajpas ili pumpa za ekstrakorporalnu cirkulaciju (pumpa za vantelesnu cirkulaciju)

CRP-C-reactive protein ili C-reaktivni protein

CVI-cerebrovascular insult ili moždani udar

CVK-Centralni venski kateter

DHLA-Dihidrolipoinjska kiselina

DMSO-Dimetil-sulfoksid

DNK-Dezoksiribonukleinska kiselina

D1- prva dijagonalna arterija ili diagonal branch

EDTA-Etilen diamin tetra sirćetna kiselina

EuroSCORE-European system for cardiac operative risk evaluation ili skor očekivanog mortaliteta nakon kardiohirurških operacija

EQ-5D-Euroqol five dimensions questionnaire ili euroqol upitnik o kvalitetu i brzini oporavka

EQ-VAS-Euroqol visual analogue scale ili euroqol vizuelna analogna skala od 0-100

FDA-American food and drug administration ili američka agencija za lekove i hranu

GPX-Glutation peroksidaza

HDL-High density lipoprotein ili lipoprotein velike gustine

HIT-Heparin induced thrombocytopenia ili heparinom indukovana trombocitopenija

HO[•]-Hidroksil radikal

HOCl-Hipohlorna kiselina

H₂O₂-Vodonik peroksid

ICU- Intensive care unit ili jedinica intenzivne nege

IL-Interleukin

IMA-Ischemia modified albumin ili ishemijom modifikovani albumin

KSR-Kiseonični slobodni radikali

LAD-Left anterior descending artery ili prednja descendenta arterija

LDL-Low density lipoprotein ili lipoprotein male gustine

LIMA-Left internal mammary artery ili leva unutrašnja sisna arterija

LOOH-Lipid hydroperoxides ili lipidni-hidroperoksidi

LVEF-Left ventricular ejection fraction ili ejekciona frakcija leve komore srca

MCV-Mean corpuscular volume ili srednji volumen eritrocita

MDA-Malondialdehid

MIDCAB-Minimally invasive direct coronary artery bypass ili minimalno invazivna revaskularizacija miokarda

MLR-Multiple linear regression ili multipla linearna regresija

MPR-MPV to platelet ratio ili odnos (indeks) srednjeg volumena trombocita i broja trombocita

MPV-Mean platelet volume ili srednji volumen trombocita

NADPH-Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat oksidaza

NBT-Nitroblue tetrazolium hlorid

NO[•]-Azotmonoksid radikal

NO₂[•]-Azotdioksid radikal

OAD-Oral antidiabetic drugs ili oralni antidijabetični lekovi

OETA-Opšta endotrahealna anestezija

OIN-Odeljenje intezivne nege

OM-Obtuse marginal branch ili obtusus marginalis ili tupa ivična grana arterije cirkumflekse

ONOO[•]-Peroksinitrit

OPCAB-Off-pump coronary artery bypass ili aortokoronarni bajpas bez upotrebe pumpe za vantelesnu cirkulaciju ili aortokoronarni bajpas na kucajućem srcu

OSI-Oxidative stress index ili zbirni indeks oksidativnog stresa

OXY-Score-Skor oksidativnog stresa

O_2^{\bullet} -Superoksidni anjon radikal

1O_2 -Singletni kiseonik

O_3 -Ozon

PAB-Prooksidativno-antioksidativni balans

PCI-Percutaneous coronary intervention ili perkutana koronarna intervencija

pCO_2 -Parcijalni pritisak ugljen-dioksida

PD-Posterior descending artery ili zadnja descendentna arterija kao grana desne koronarne arterije

PL-Posterolateral branch ili posterolateralna grana desne koronarne arterije ili ACx

PLT-Platelet ili broj trombocita

PON- Paraoxonase ili humana serumska paraoksonaza

pO_2 -Parcijalni pritisak kiseonika

PTFE-Politetrafluoro-etilen

RCA-Right coronary artery ili desna koronarna arterija

RDW- Red blood cell distribution width

RIND-Reversible ischemic neurologic deficit ili reverzibilni ishemijski neurološki deficit

RNS-Reactive nitrogen species ili slobodni radikali azota

RO^{\bullet} -Aloksi radikal

ROC- Receiver operating characteristic ili tzv. ROC kriva

ROO^{\bullet} -Peroksi radikal

$ROOH^{\bullet}$ -Hidroperoksi radikal

ROS-Reactive oxygen species ili reaktivna jedinjenja kiseonika

RPR- RDW to platelet ratio ili odnos (indeks) distribucije volumena eritrocita i broja trombocita

RS-Tili radikal

RSS-Reactive sulfur species ili slobodni radikali sumpora

SE- Standard error

SD-Standard deviation ili standardna devijacija

SIRS-Systemic inflammatory response syndrome ili sindrom sistemskog inflamatornog odgovora

SOD-Superoksid-dismutaza

SPECT-Single photon emission computed tomography ili perfuziona scintigrafija miokarda

SS-SYNTAX skor

STEMI-ST segment elevation myocardial infarction ili infarkt miokarda sa elevacijom ST segmenta

SYNTAX Score-Synergy between percutaneous coronary intervention with Taxus and Cardiac Surgery Score

TAS-Totalni antioksidativni status

TBARS-Thiobarbituric acid reactive substances

TEE-Transezofagealna ehokardiografija

TIA-Transient ischemic attack ili tranzitorni ishemijski atak

T-L-Termino-lateralna anastomoza

TMB-Tetrametil-benzidin

TNF-Tumor necrosis factor ili faktor tumorske nekroze

TOS-Totalni oksidantni status

T-T-Termino-terminalna anastomoza

tSHG- Total sulfhydryl group ili ukupne tiolne,sulfhidrilne grupe

VCI-vena cava inferior ili donja šuplja vena

BIOGRAFIJA AUTORA

Dr Petar Vukićević je rođen 1971. godine u Beogradu, gde je završio osnovnu školu i treću beogradsku gimnaziju. Medicinski fakultet je upisao 1993. godine. Diplomirao je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2000. godine sa prosečnom ocenom 8,18.

Nakon završenih osnovnih studija radio je kao lekar-volonter na Klinici za pedijatrijsku kardiohirurgiju „Instituta za majku i dete” u Novom Beogradu. Od 2001. godine je zaposlen na Klinici za kardiohirurgiju Instituta za kardiovaskularne bolesti Kliničkog centra Srbije. Specijalizaciju iz opšte hirurgije započeo je 2001. godine na Medicinskom fakultetu u Beogradu, a 2006. godine je položio specijalistički ispit iz opšte hirurgije sa odličnim uspehom.

Magistarsku tezu pod nazivom „Carpentier rigidni ring ili biodegradabilni ring u hirurškom lečenju mitralne valvule” odbranio je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 28.06.2010. godine i stekao zvanje magistra medicinskih nauka (Mentor Prof.dr.Miljko Ristić i članovi komisije: Prof. dr Živan Maksimović, Prof. dr Milan Petrović, Prof. dr Bogoljub Mihajlović).

Subspecijalizaciju iz kardiohirurgije je upisao 2008. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a 2010. godine položio subspecijalistički ispit sa ocenom 10 (deset), nakon čega je 01.04.2011. godine odbranio rad uže specijalizacije pod nazivom „Komparativna analiza korišćenja rigidnog prstena i biološki razgradljivog prstena u hirurškom lečenju degenerativne bolesti mitralne valvule” pred Komisijom Prof.dr.Miljko Ristić, Prof.dr.Milan Petrović, Prof.dr.Dušan Velimirović (Mentor Prof.dr.Dušan Velimirović) i stekao zvanje subspecijaliste kardiohirurgije.

Edukaciju iz rekonstruktivne hirurgije aortnog korena i aortnog zaliska (Valve Sparing Procedure), kao i revaskularizacije miokarda na kucajućem srcu završio (Off-Pump Coronary Artery Bypass–OPCAB) u Štutgartu kod Prof.Wolfganga Hemera i prof.Nicolasa

Dola iz Lajpciga (Department for Cardiac Surgery, University Hospital of Stuttgart, Germany; Sana Herzchirurgie Stuttgart, Germany)

Kao stipendista švajcarske humanitarne fondacije „Srce za sve” i pod pokroviteljstvom NJKV Princeze Katarine Karađorđević, 2009. godine radio i edukovao se na Univerzitetnoj Klinici u Ženevi. Edukaciju u Ženevi iz oblasti rekonstrukcija mitralnog zaliska i urođenih srčanih mana uspešno završio kod Prof.dr.Afksendios Kalangosa (Division of Cardiovascular Surgery, University Hospitals of Geneva, Switzerland; Hôpitaux Universitaires de Geneve, Service de chirurgie cardio-vasculaire, Swiss).

U periodu između 2010 i 2011. godine radio na prvoj privatnoj Klinici za kardiohirurgiju u Srbiji - Kliničko-bolnički centar „Beogradski”. Prvi je srpski kardiohirurg koji je uradio aortkoronarni bajpas, rekonstrukcije mitralnog zaliska i aortnog korena, kao i hirurške revaskularizacije na kucajućem srcu u istoriji privatne kliničke prakse u Srbiji.

Tokom 2011. i 2012. godine pohađao COMVAR i CARVAR Akademiju (savremeni pristupi rekonstruktivnom lečenju aortnog i mitralnog zaliska) u Seulu (Južna Koreja) kod Prof.Meong Gun Songa (Department of Cardiothoracic Surgery, Konkuk University Hospital, Seoul, South Korea)

CARVAR Academy-Comprehensive Aortic Root and Valve Repair-A Novel Technique Approach

COMVAR Academy-Comprehensive Mitral Valve Repair-A Novel Technique Approach

Unazad 7-8 godina rutinski radi rekonstruktivne operacije na mitralnom zalisku putem resekcionih procedura ili implantacije neohordi, rekonstrukcije aortnog korena i aortnog zaliska (Valve sparing procedure), rekonstrukcije leve komore kod postinfarktних aneurizmi komore (Dorova procedura), kao i totalne revaskularizacije miokarda na kucajućem srcu (OPCAB).

Od 2011. godine zaposlen na Klinici za kardiohirurgiju VMA.

Posедује znanje engleskog jezika.

Oženjen, otac troje dece.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Mr sci med dr Petar Vukićević

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„UTICAJ RAZLIČITIH OPERATIVNIH TEHNIKA TOKOM HIRURŠKE
REVASKULARIZACIJE MIOKARDA NA OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDATIVNU
ZAŠTITU”

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

Potpis doktoranda

U Beogradu, 25.05.2016.g.



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Petar Vukićević

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada „UTICAJ RAZLIČITIH OPERATIVNIH TEHNIKA TOKOM HIRURŠKE
REVASKULARIZACIJE MIOKARDA NA OKSIDATIVNI STRES I
ANTIOKSIDATIVNU ZAŠTITU”

Mentor Doc.dr.Aleksandar Mikić

Potpisani Mr sci med dr Petar Vukićević

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

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

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

U Beogradu, 25.05.2016.g.

Potpis doktoranda


Prilog 3.

Izjava o korišćenju

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

„UTICAJ RAZLIČITIH OPERATIVNIH TEHNIKA TOKOM HIRURŠKE REVASKULARIZACIJE MIOKARDA NA OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDATIVNU ZAŠTITU“

koja je moje autorsko delo.

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

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

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

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

U Beogradu, 25.05.2016.g.

Potpis doktoranda

