



Središnja medicinska knjižnica

Petričević, Mate (2014) *Perioperacijska procjena rizika krvarenja kardiokirurških bolesnika primjenom impendacijske agregometrije i tromboelastometrije [Perioperative bleeding risk assessment in patients following cardiac surgery using whole blood impedance aggregometra and rotational thromboelastometry].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

<http://medlib.mef.hr/2096>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Mate Petričević

**Perioperacijska procjena rizika
krvarenja kardiokirurških bolesnika
primjenom impendacijske
agregometrije i tromboelastometrije**

DISERTACIJA



Zagreb, 2014.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Mate Petričević

**Perioperacijska procjena rizika
krvarenja kardiokirurških bolesnika
primjenom impendacijske
agregometrije i tromboelastometrije**

DISERTACIJA

Zagreb, 2014.

Disertacija je izrađena u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, Klinika za kardijalnu kirurgiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Voditelj rada: doc. dr. sc. Bojan Biočina

Sadržaj

Uvod:.....	1
<i>Svrha rada:</i>	4
Hipoteza:	5
Ciljevi rada:.....	6
Materijali i metode:.....	7
<i>Selekcija bolesnika:</i>	7
<i>Analiza snage testa :</i>	7
<i>Perioperacijski modalitet liječenja:</i>	10
<i>Uzorkovanje krvi:</i>	12
<i>Impedancijska agregometrija uzorka pune krvi:</i>	14
<i>Modificirana rotaciona tromboelastometrija(TEM):</i>	18
<i>Definicija i evaluacija primarnog i sekundarnog ishoda razmatranja:</i>	29
<i>Statističke metode:</i>	31
Rezultati:	32
Rasprava:	58
<i>Pregled literature:</i>	64
Zaključak:.....	68
Sažetak:	74
Summary:	76
Popis literature:	78
Biografija:.....	83

Popis oznaka i kratica:

EKC – stroj za izvantjelesni krvotok

TEM – tromboelastometrija

MEA – impedancijska agregometrija

ASA – acetilsalicilna kiselina

CLO – klopidogrel

ACT – engl. Activated coagulation time

AUC – engl. Area under curve

MCF – engl. Maximum clot firmness

CTO – engl. Chest tube output

ROC – engl. Receiver operating curve

Uvod:

Kardiokirurške operacije na otvorenom srcu uz upotrebu stroja za izvantjelesni krvotok (EKC) često su pridružene povišenom riziku krvarenja. Bolesnici koji u ranom poslijeoperacijskom tijeku dožive ekscesivno krvarenje u prsni koš vitalno su ugroženi¹.

Ekscesivno krvarenje nakon kardiokirurškog zahvata uz upotrebu EKC uređaja predstavlja važan uzrok morbiditeta i mortaliteta kardiokirurških bolesnika². Dixon i suradnici³ opisali su u recentnoj studiji iznos krvarenja na torakalne drenove nakon kardiokirurškog zahvata kao snažni i nezavisni prediktor mortaliteta kardiokirurškog bolesnika. Ekscesivno krvarenje rezultira s transfuzijom alogeničnih krvnih pripravaka što pak samo po sebi izlaže bolesnike višestrukim rizicima.⁴⁻⁶

Poremećaji hemostaze uvjetovani EKC-om imaju multifaktorijalnu etiologiju, kao što je gubitak reaktivnosti trombocita, potrošnja faktora koagulacije, hemodilucija radi ispunjavanja cijevi EKC sistema kristaloidnim otopinama⁷ itd. Izvantjelesna cirkulacija i njoj pridružena sistemska heparinizacija bolesnika mogu zajedno dovesti do brojnih abnormalnosti koagulacijskog sistema što uključuje trombocitopeniju², poremećaj funkcije trombocita^{8,9}, deficit faktora koagulacije¹⁰, prisutnost rezidualnog heparina nakon antagonizacije heparina protaminom¹¹, te fibrinolizu¹². Mikrovaskularno krvarenje uzrokovano je disfunkcionalnim trombocitima kao i nekompetentnom koagulacijskom kaskadom nakon ekspozicije EKC-u, najčešće kao posljedica kontakta krvi s stranom površinom unutar cijevi EKC sistema¹³. Trombociti izuzeti iz krvi u EKC sistemu su disfunkcionalni i shodno tome odgovorni za nastanak poslijeoperacijskog krvarenja¹³.

Unatoč ovim spoznajama, pitanje “Kako predvidjeti i prevenirati ekscesivno poslijeoperacijsko krvarenje?” predstavlja izazov. Jasna etiološka distinkcija ekscesivnog krvarenja na koagulopatijsko i uvjetovano nedostatnom kirurškom hemostazom predstavlja

izazov u suvremenoj praksi. Shodno tome, identifikacija abnormalne alteracije funkcije trombocita kao i insuficijencije procesa stvaranja krvnog ugruška prije, za vrijeme i nakon EKC-a može doprinijeti boljem razumijevanju etiologije krvarenja te diferencijaciji između koagulopatijskog (nekirurškog) krvarenja koje iziskuje administraciju prokoagulantnih krvnih pripravaka od kirurškog krvarenja koje iziskuje kirurške mjere hemostaze. U suvremenoj praksi upravljanja rizicima krvarenja nedostaju nam uređaji koji bi bili pouzdani u predikciji bolesnika koji su podložni ekscesivnom krvarenju radi poremećaja hemostaze¹⁴.

Konvencionalni laboratorijski testovi koagulacije nisu u mogućnosti predikcionirati rizik ekscesivnog krvarenja^{15, 16}. Tzv. “slijepo” ordiniranje transfuzijske terapije s raznim vrstama prokoagulantnih krvnih pripravaka i dalje je nažalost prisutno u rutinskoj kliničkoj praksi u slučajevima ekscesivnog krvarenja, a poznato je da transfuzija alogenih krvnih pripravaka izlaže bolesnike višestrukim rizicima što u konačnici osim upitne efikasnosti, sigurno poskupljuje postupak liječenja bolesnika^{4, 17-20}. Kod razmatranja predikcije rizika krvarenja kardiokirurških bolesnika od posebne je važnosti pravovremena detekcija poremećaja hemostaze, što je u slučaju konvencionalnih laboratorijskih testova neizvedivo u kontekstu vremena koje je potrebno od faze izuzimanja uzorka krvi do dobivanja rezultata. Stoga bi od posebne koristi mogli biti uređaji za procjenu funkcije trombocita te viskoelastičnih svojstava krvnog ugruška koji bi bili jednostavni za upotrebu za nelaboratorijsko osoblje te kompaktnih dimenzija što bi omogućilo korištenje u neposrednoj blizini bolesnika, dakle u operacijskoj dvorani. Ovakav pristup omogućuje skraćanje vremena od izuzeća krvi do dobivanja rezultata što u konačnici skraćuje vrijeme potrebno za donošenje odluka, vrlo bitan parametar u kardiokirurškim operacijskim zahvatima. Rotaciona tromboelastometrija u uzorku pune krvi (TEM) prikazuje viskoelastična svojstva uzorka pune krvi, tj. dinamično prikazuje proces formiranja krvnog ugruška s mogućnošću diferencijacije uloge fibrinogena i trombocita u nastanku krvnog ugruška. Spiess i suradnici¹⁹ su u retrospektivnoj studiji potvrdili kako

postupak transfuzije krvnih pripravaka navođen rezultatima tromboelastometrije dovodi do značajne redukcije u incidenciji izlaganja transfuziji krvnih pripravaka kao i redukciji incidencije re-eksploracije medijastinuma zbog ekscesivnog krvarenja¹⁹. Unatoč činjenici kako je upotreba tromboelastometrije rezultirala s redukcijom u stopi incidencije kao i količine administracije prokoagulantnih krvnih pripravaka, precizna povezanost između vrijednosti parametara rotacione tromboelastometrije i poslijeoperacijskog krvarenja ostaje nerazjašnjena. S druge strane, iako nam pruža globalni uvid u proces koagulacijske kaskade, metoda nije precizna u evaluaciji izolirane disfunkcije trombocita. Sve veći broj bolesnika izložen je blokatorima adenzin-difosfatnih receptora (npr. klopidogrel) kao i acetilsalicilnoj kiselini u prijeoperacijskoj fazi. Specifičan stupanj inhibicije trombocita ostvaren upotrebom ovih lijekova nije moguće procijeniti upotrebom TEM-a. Stoga, doima se kako bi simultana upotreba TEM-a i uređaja za agregometrijsko mjerenje funkcije trombocita omogućila kompleksan uvid u hemostatska svojstva krvi. Impedancijska agregometrija uzorka pune krvi (*engl.* Multiple electrode aggregometry -MEA) koristi uzorak pune krvi u postupku kvantifikacije agregacijske funkcije trombocita na način da se trombociti iz uzorka pune krvi zalijepe za električne elektrode kojih ima dva para, a između kojih se kontinuirano mjeri električni otpor. Impedancijska agregometrija se pokazala korisnom u predikciji kliničkog ishoda liječenja bolesnika nakon akutnog infarkta miokarda²¹. Hiperagregabilnost trombocita, detektirana uređajem impedancijske agregometrije, prediktor je tromboze koronarnih stentova^{22, 23}. Ponukani ovim vrijednim rezultatima upotrebe impedancijske agregometrije kod bolesnika s koronarnom bolesti, odlučili smo istražiti da li je moguća analogija s predikcijom opsega krvarenja nakon kardiokirurškog zahvata.

Svrha rada:

Svrha rada je utvrditi mogućnosti predikcije ekscesivnog krvarenja kod kardiokirurškog bolesnika upotrebom rotacione tromboelastometrije i impedancijske agregometrije uzorka pune krvi. Svrsihodnost ovog istraživanja proizlazi iz činjenice da eventualna mogućnost predikcije ekscesivnog krvarenja otvara mogućnosti stratifikacije bolesnika prema riziku krvarenja, planiranje individualiziranog modela ordiniranja antiagregacijskih lijekova te individualizirani model transfuzijskog liječenja prokoagulantnim krvnim pripravcima i drugim farmakološkim modelima transfuzijskog liječenja.

Hipoteza:

Hipoteza našeg istraživanja je da perioperacijskom upotrebom uređaja za tromboelastometriju i uređaja za agregometriju možemo mjerenjem kakvoće nastalog krvnog ugruška kao i mjerenjem potencijala agregacije trombocita predikcionirati bolesnike s visokim rizikom ekscesivnog krvarenja u perioperacijskom tijeku kao i bolesnike s potrebom za transfuzijom prokoagulantnih krvnih pripravaka.

Ciljevi rada:

Opći cilj rada je utvrditi da li se mjerenjem sposobnosti agregacije trombocita prije operacije, te mjerenjem sposobnosti stvaranja krvnih ugrušaka i njihove kakvoće u tijeku operacije može prepoznati skupina bolesnika u riziku ekscesivnog perioperacijskog krvarenja. Cilj je utvrditi predikcijsku sposobnost rezultata navedenih pretraga u procjeni rizika krvarenja bolesnika.

Kod specifičnih ciljeva potrebno je napomenuti kako bolesnici koji pristupaju kardiokirurškoj operaciji često prije operacije bivaju izloženi antiagregacijskoj terapiji. Stoga, doprinos antiagregacijske terapije poslijeoperacijskom krvarenju evaluirati će se upotrebom lijek specifičnih agregometrijskih testova. Hemostatske aberacije u tijeku kardiokirurškog zahvata biti će monitorirane u tri točke operacijskog zahvata. Na taj način kontinuirano mjerenje viskoelastičnih svojstava krvnog ugruška s analizom intraoperacijskih promjena svojstava ugruška evaluirati će i kvantificirati hemostatske aberacije i omogućiti korelaciju tih aberacija s poslijeoperacijskim krvarenjem.

Cilj studije je utvrditi da li konkomitantna upotreba rotacione tromboelastometrije te impedancijske agregomerije uzorka pune krvi imaju mogućnost predikcije ekscesivnog krvarenja nakon kardiokirurškog zahvata. Predmet istraživanja je i utvrditi da li postoji mogućnost predikcije bolesnika u visokom riziku za transfuzijama prokoagulantnih krvnih pripravaka, dakle potrebe za administracijom prokoagulantnih krvnih pripravaka.

Materijali i metode:

Selekcija bolesnika:

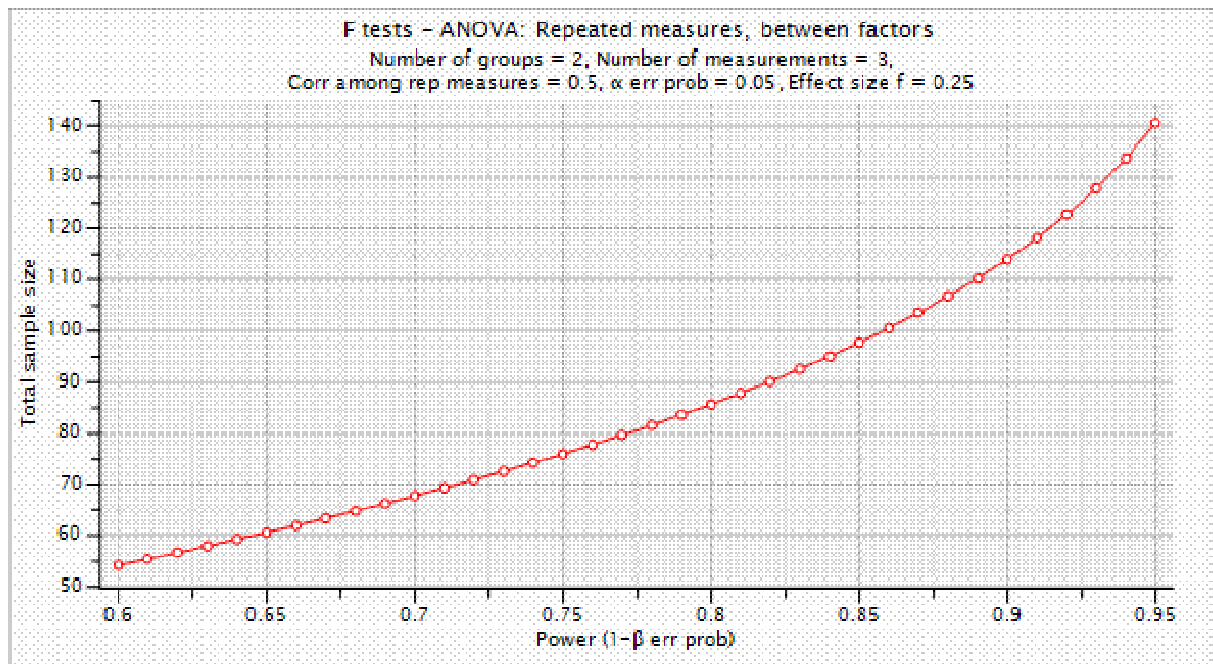
Prospektivna opservacijska studija odobrena je od strane etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Zagreb te etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanje je registrirano pri centralnom registru kliničkih istraživanja pri URL adresi “Clinical-trials.gov”, a pod identifikacijskim brojem “NCT01281397”.

U istraživanje su uključeni svi bolesnici koji se podvrgavaju elektivnoj kardiokirurškoj operaciji uz upotrebu stroja za izvantjelesni krvotok. Broj ispitanika anticipiran je upotrebom analize snage testa.

Analiza snage testa :

Analizom snage testa (Slika 1) za analizu varijance za ponavljana mjerenja pretpostavljeni su slijedeći parametri: 2 ispitivane skupine (ekscesivno krvarenje, izostanak ekscesivnog krvarenja) koje su mjerenje u 3 točke, snaga testa od 0,95, učinak veličine uzorka f od 0,25 i α razina značajnosti 0,05. Pod navedenim uvjetima najmanji potreban broj ispitanika bi iznosio 142. U analizi je korištena programska podrška G*Power v. 3.1.2.

Slika 1. Grafički prikaz analize snage testa za analizu varijance za ponavljana mjerenja.



Slične vrijednosti dobivene su kada je napravljena analiza snage testa za logističku regresiju u kojoj je pretpostavljeno da je značajna "razlika" u predviđanju, odnosno OR iznosi 2. Tada nam je za 0,95 snagu trebalo 148 ispitanika.

Nakon odobrenja etičkog povjerenstva Kliničkog Bolničkog Centra Zagreb te etičkog povjerenstva Medicinskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, uz potpisani pismeni pristanak u studiju smo uključili 148 konsekutivnih bolesnika (muškarci, $n=105$ (70.9%); žene, $n=43$ (21.9%)), koji su bili raspoređeni za elektivni kardiokirurški zahvat uz upotrebu stroja za izvantjelesni krvotok (EKC) u vremenskom periodu od Srpnja 2010 godine do Siječnja 2011 godine. Kriteriji za isključenje bolesnika iz istraživanja bili su: bolesnici mlađi od 18 godina, urgentna procedura, bolesnici koji se podvrgavaju kardiokirurškoj operaciji bez upotrebe stroja za izvantjelesni krvotok, bolesnici na antiagregacijskoj terapiji osim terapije acetilsalicilnom kiselinom (ASA) ili klopidogetrel (CLO), bolesnici s neprecizno dokumentiranom antiagregacijskom terapijom, te bolesnici koji se podvrgavaju kirurškoj re-

eksploziji uvjetovanoj ekscesivnim krvarenjem u medijastinum s identificiranom krvnom žilom kao uzrokom krvarenja, odnosno s potvrdom kirurškog tipa krvarenja.

Pažljivo smo dokumentirali vrstu i dozu prijeoperacijski ordinirane antiagregacijske terapije, te vremenski interval od zadnjeg dana ekspozicije klopidogetrelu do kirurške procedure.

U skupini ispitanika, antiagregacijska terapija je ordinirana od strane referalnog kardiologa.

Ukoliko bi bolesnici po prijemu na Kliniku za kardijalnu kirurgiju imali u terapiji

acetilsalicilnu kiselinu 100 mg, isti lijek bio bi nastavljen u istom režimu administracije sve do dana operacijskog zahvata. Ukoliko bi bolesnici bili primljeni na Kliniku za kardijalnu

kirurgiju s ordiniranom dnevnom antiagregacijskom terapijom klopidogetrelom u dozi 75 mg,

isti lijek bio bi po prijemu isključen bez obzira da li je klopidogetrel bio ordiniran u formi

antiagregacijske monoterapije ili dvojne antiagregacijske terapije s konkomitantno ordiniranom

acetilsalicilnom kiselinom. Duljina vremenskog intervala od isključenja klopidogetrela do

operacijskog zahvata varirala je interindividualno, od 2 do 8 dana. Duljina tog vremenskog

intervala ovisila je o periodu koji je protekao od vremena prijema na Kliniku za kardijalnu

kirurgiju do dana operacijskog zahvata. Bolesnici koji su primali antiagregacijsku terapiju,

istoj su bili izloženi barem deset dana prije prijema na Kliniku za kardijalnu kirurgiju.

Perioperacijski modalitet liječenja:

Svi pacijenti imali su isti tim anesteziologa i perfuzionista te su na Kliniku za kardijalnu kirurgiju primljeni barem 1 dan prije planiranog operacijskog zahvata. Kirurški postupci izvedeni su u standardiziranim tehnikama. Kirurški pristup u svim slučajevima bio je izveden kroz medijanu sternotomiju. Sva mjerenja rotacione tromboelastometrije i impedancijske agregometrije izvedena su od strane jednog istraživača, znanstvenog novaka koji nije bio direktno uključen u liječenje bolesnika. Operacijske te sestre u intenzivnoj jedinici liječenja, anesteziolozi te kirurzi koji su bili uključeni u liječenje bolesnika bili su zasljepljeni na vrijednosti rezultata testova impedancijske agregometrije i rotacione tromboelastometrije. Kao što je prethodno navedeno, kirurški postupci napravljeni su po standardiziranom modelu kirurških tehnika uz upotrebu dijatermije te koštanog voska za zbrinjavanje kirurškog krvarenja koje nije izvedivo postavljanjem hemostatskih šavova.

Izvantjelesni krvotok sastoji se od “Medtronic Affinity Trillium” membranskog oksigenatora, venskog rezervoara, PVC sistema cijevi (Medtronic, Minneapolis, MN, USA) i Stockert III, te Stoeckert II roller pumpe (Stoeckert, Munich, Germany). Ciljani protok pri uspostavljenom izvantjelesnom krvotoku bio je 2.2 l/min/m^2 uz srednji tlak protoka 60 mmHg. Srce je u tijeku operacijskog zahvata zaustavljeno pomoću hladne krvne kardioplegije. Sistemska heparinizacija provodila se s ciljanim ACT (*engl. Activated Coagulation Time*) > 480 sekundi, što je kasnije praćeno s potpunom antagonizacijom heparina upotrebom protamin-sulfata u omjeru 1:1. Traneksaminska kiselina u dozi 1 g upotrebljavana je u tijeku operacije u dva vremena, pri indukciji anestezije te nakon administracije protamina. Inotropna potpora radu srca bila bi aplicirana u cilju potrebe za održavanjem indeksa rada srca iznad 2.2 l/min/m^2 . Odvajanje od stroja za izvantjelesni krvotok započelo bi nakon što bi se stabilizirao ritam rada srca po uspostavi normotermije. Kardiotomijski sukcijski sistem vraćao je krv u sistem izvantjelesnog krvotoka. Koncentrat eritrocita bio bi transfundiran ukoliko bi vrijednost

hematokrita bila ispod 20% za vrijeme izvantjelesnog krvotoka ili <25% nakon odvajanja bolesnika od sistema izvantjelesnog krvotoka, ili u slučajevima kada bi krvarenje bilo ekscesivno. Nadoknada volumena u jedinici intenzivnog liječenja ordinirala se po indikaciji ordinirajućeg anesteziologa upotrebom HAESS (*engl. hydroxyethyl starch 6% 130/0.4*) otopine te otopine Ringerovog laktata. Nadoknada koncentrita eritrocita bila je u domeni indiciranja od strane nadležnog anesteziologa u jedinici intenzivnog liječenja. Svježa smrznuta plazma bila bi transfudirana u slučajevima prolongacije protrombinskog vremena (manje od 45%), ili prema kliničkoj odluci ordinirajućeg anesteziologa. Koncentrat fibrinogena i koncentrat trombocita bili bi ordinirani u slučajevima ekscesivnog krvarenja od strane ordinirajućeg anesteziologa.

Uzorkovanje krvi:

Uzorkovanje krvi za impedancijsku agregometriju i tromboelastometriju bilo je učinjeno u tri vremenske točke na dan operacije putem centralnog venskog katetera. Uzorak krvi za impedancijsku agregometriju bio bi izdvojen u 4 ml hepariniziranu epruvetu (Lithium Heparin 68. I.U. - BD Vacutainer[®]). Uzorak krvi za testiranje rotacionom tromboelastometrijom bio bi izdvojen u 1.8 mL natrij-citrat epruvetu (0.109Molar/3.2% koncentrat citrata – BD Vacutainer[®]). Rutinski laboratorijski testovi izvođeni su na dnevnoj bazi od dana prije operacijskog zahvata do četvrtog poslijeoperacijskog dana. Sva testiranja impedancijskog agregometrijom i rotacionom tromboelastometrijom bila su izvedena od strane jednog istraživača, znanstvenog novaka na Klinici za kardijalnu kirurgiju, koji nije bio aktivno uključen u liječenja bolesnika. Uzorci krvi uzorkovani za impedancijsku agregometriju bili su odloženi 30 minuta nakon vađenja krvi te bi nakon tog perioda bio proveden agregometrijski test. Test rotacione tromboelastometrije bio je proveden odmah nakon uzorkovanja krvi u prije spomenutu vrstu epruvete. U cilju perioperacijske evaluacije funkcije trombocita te viskoelastičnih svojstava krvnog ugruška, uzorkovanje krvi s provođenjem testova impedancijske agregometrije i rotacione tromboelastometrije izvedeno je u 3 točke mjerenja:

- 1) T1 točka mjerenja predstavlja fazu indukcije anestezije. U toj vremenskoj točki hemostatska svojstva krvi su bez utjecaja kirurške nokse ili nokse uvjetovane kontaktom s stranim površinama sistema za izvantjelesni krvotok. Bolesnici se međusobno razlikuju prema načinu prijeoperacijske administracije antiagregacijskih lijekova. Detalji o administraciji prijeoperacijskih antiagregacijskih lijekova navedeni su u istraživanju te su razmatrani u kontekstu ishoda promatranja.
- 2) T2 točka mjerenja predstavlja vrijeme nakon otpuštanja aortalne klemme. U toj fazi operacijskog zahvata bolesnik je u sistemske hipotermiji pri ekstrakorporealnoj cirkulaciji.

Napominjemo kako je u ovoj fazi bolesnik pri punoj dozi sistemski apliciranog heparina. U ovoj točki se uz inherentna hemostatska svojstva razmatraju i potencijalni učinci sistema za izvantjelesni krvotok na hemostatska svojstva.

3) T3 točka mjerenja predstavlja vrijeme od 15 minuta nakon aplikacije protamina i neutralizacije protamina. U toj točki bolesnik je u normotermiji te je odvojen od stroja za izvantjelesni krvotok. Aplicirani protamin antagonizirao je sistemski heparinski učinak. U ovoj točki se uz inherentna hemostatska svojstva krvi te potencijalni učinak kontakta stranih površina sistema za izvantjelesni krvotok može uočiti i kvantificirati preciznost heparinske antagonizacije protaminom²⁴. Moguće je razlikovati eksces protamina od rezidualnog heparina te istražiti njihov odnos s rizikom ekscesivnog krvarenja²⁴.

Kao što smo već spomenuli, za istraživanje predikcije krvarenja kardiokirurških bolesnika koristili smo dvije vrste uređaja, (1) Impedancijsku agregometriju uzorka pune krvi, te (2) rotacionu tromboelastometriju.

Impedancijska agregometrija uzorka pune krvi:

Slika 2. Uređaj impedancijske agregometrije uzorka pune krvi



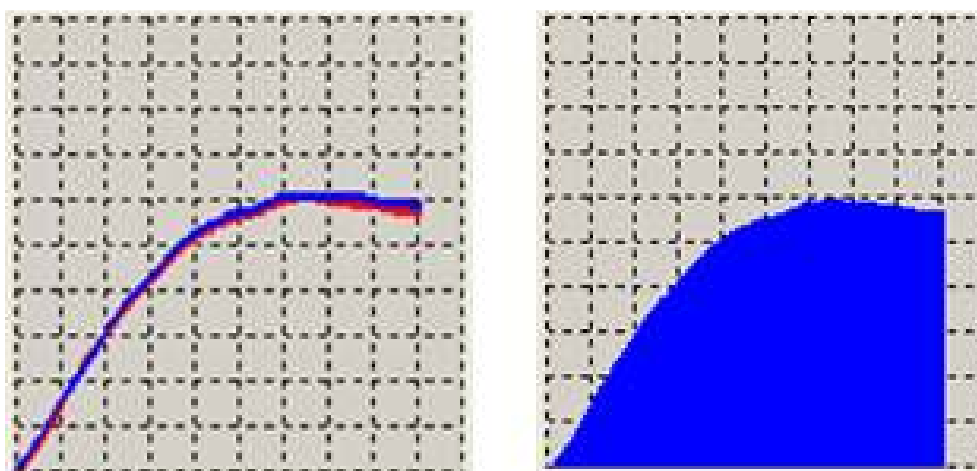
Monitoriranje uloge trombocita u patogenezi bilo krvarenja bilo neželjenih ishemijskih zbivanja iziskuje pouzdan uređaj. Uzimajući u obzir činjenicu kako je sve veći broj bolesnika izložen inhibiciji trombocita putem lijekova koji inhibitorni učinak ostvaruju djelujući na specifične receptorske ili enzimske mehanizme, razvidno je kako nam je u kliničkoj praksi

potreban uređaj koji može kvantificirati funkciju trombocita na osnovi specifičnih receptorskih ili enzimskih mehanizama. Osim toga, ovaj uređaj mora biti kompaktnih dimenzija i korisnički prilagođen kako bi ga moglo koristiti ne-laboratorijsko osoblje u operacijskoj sali, dakle u neposrednoj blizini bolesnika, tj. u neposrednoj blizini mjesta gdje se donose odluke o načinu liječenja. Poremećaj hemostaze za vrijeme kardiokirurške operacije dinamičan je proces pa i liječenje istoga mora biti dinamični i pravovremeno. Stoga ovakvi testovi bi trebali omogućiti rezultate u kratkom vremenskom periodu.

Iz razloga potrebe za kompaktnim uređajem koji bi se smjestio “uz bolesnika”, potrebe za korištenjem i od strane nelaboratorijskog osoblja kao i radi potrebe za dobivanjem rezultata u nekoliko minuta kako bi bili klinički relevantni i imali mogućnost sugeriranja pravovremenih terapijskih odluka, tehnološki razvoj iznjedrio je uređaj za impedancijsku agregometriju uzorka pune krvi (Slika 2). Tvornički naziv uređaja je Multiplate[®] (Multiplate[®] analyser, Dynabyte Medical, Munich), a naziv je deriviran iz opisa funkcije na engleskom jeziku “*Multiple platelet function analyzer*”. Iz samog naziva indikativno je kako uređaj posjeduje više kanala za mjerenje aktivnosti trombocita iz krvi. Uređaj posjeduje pet kanala za paralelna testiranja. U svaki kanal postavljaju se jednokratne čašice s dva para elektroda (duljina elektrode koja je u kontaktu s krvi je 3 mm a širina elektrode je 0.3 mm). U čašice se aplicira uzorak pune krvi kojemu je dodana fiziološka otopina kao i agonist, stimulator agregacije trombocita (tzv. reagens). U samoj čašici nalazi se mali magnet koji levitira u magnetskom polju (rotacija 800/min) te se na taj način agitiraju trombociti koji se uz pomoć agonista prilipe uz elektrode. Priljepljivanjem trombocita za elektrode povećava se električna impedancija između svakog para elektroda, a parovi međusobno služe jedan drugome kao kontrola te se elektronski i koreliraju. Odstupanje od 20% u vrijednostima dvaju parova elektroda ukazuje na nepouzdan test te potrebu za ponavljanjem istoga. Detaljan opis metode prethodno je publiciran²⁰. Ukratko, koncept impedancijske agregometrije baziran je na

činjenici kako trombociti nisu trombogeni u stanju mirovanja, ali eksponiranje receptora na njihovoj površini prilikom njihove aktivacije omogućuje njihovo “lijepljenje” za ozljeđena mjesta npr. u krvnoj žili, ali i “lijepljenje” na stranu površinu kao što su elektrode u čašici za krv. Kada se trombociti potaknuti agitiranjem magneta aktiviraju i zalijepe na elektrode, povećava se kontinuirano mjerena električna rezistencija između elektroda. Porast rezistencije između elektroda kontinuirano se mjeri i prikazuje grafički na ekranu (Slika 3). Porast impedancije između elektroda se mjeri kao površina ispod krivulje kojoj je odmak od apscise veći što je veći porast otpora na elektrodama (AUC, *engl. area under curve units*). Mjerna jedinica izražena kao površina ispod krivulje pokazala je svoju dijagnostičku snagu u procjeni funkcije trombocita^{20, 25}.

Slika 3. Grafički prikaz funkcije trombocita pomoću funkcije mjerenje površine ispod krivulje



Uzorak krvi koji se aplicira u čašicu s elektrodama sastoji se od 300 μ L uzorka antikoagulirane krvi, 288 μ L fiziološke otopine zagrijane na 37°C te 20 μ L otopine reagensa koji zapravo predstavlja agonista trombocitne agregacije. Postoji nekoliko vrsta dostupnih reagensa, no mi ćemo se fokusirati samo na one koji su bili korišteni u našem istraživanju. Trombocitna agregacija bila je mjerena kao odgovor na stimulaciju (1) arahidonskom kiselinom s finalnom koncentracijom od 0.5 mM (ASPI test – dizajniran da bi evaluirao efekt acetilsalicilne kiseline na agregaciju trombocita), (2) adenzin - difosfatom (ADP) s finalnom koncentracijom od 6.4 μ M (ADP test – dizajniran radi evaluacije efekta tienopiridina, kao što

je klopidogrel) i (3) trombinskim receptorom aktivirajućim peptidom (TRAP-6), TRAP test, 32- μM konačne koncentracije. TRAP test je senzitivn na učinak GPIIb-IIIa inhibitora, ali u odsutnosti ovih lijekova, predstavlja prirodni agregacijski potencijal trombocita.

Modificirana rotaciona tromboelastometrija(TEM):

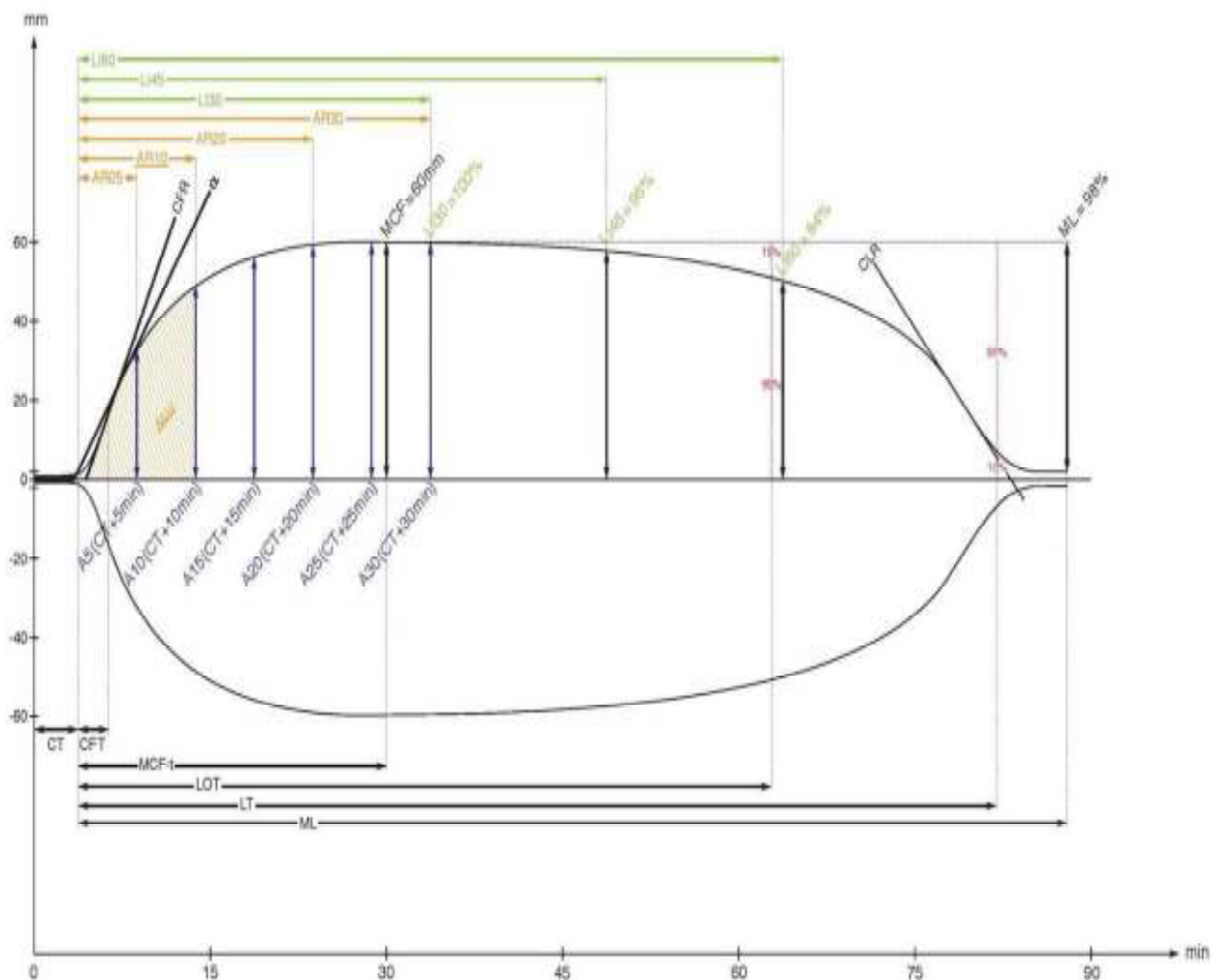
Slika 4. Uređaj za modificiranu rotacionu tromboelastometriju



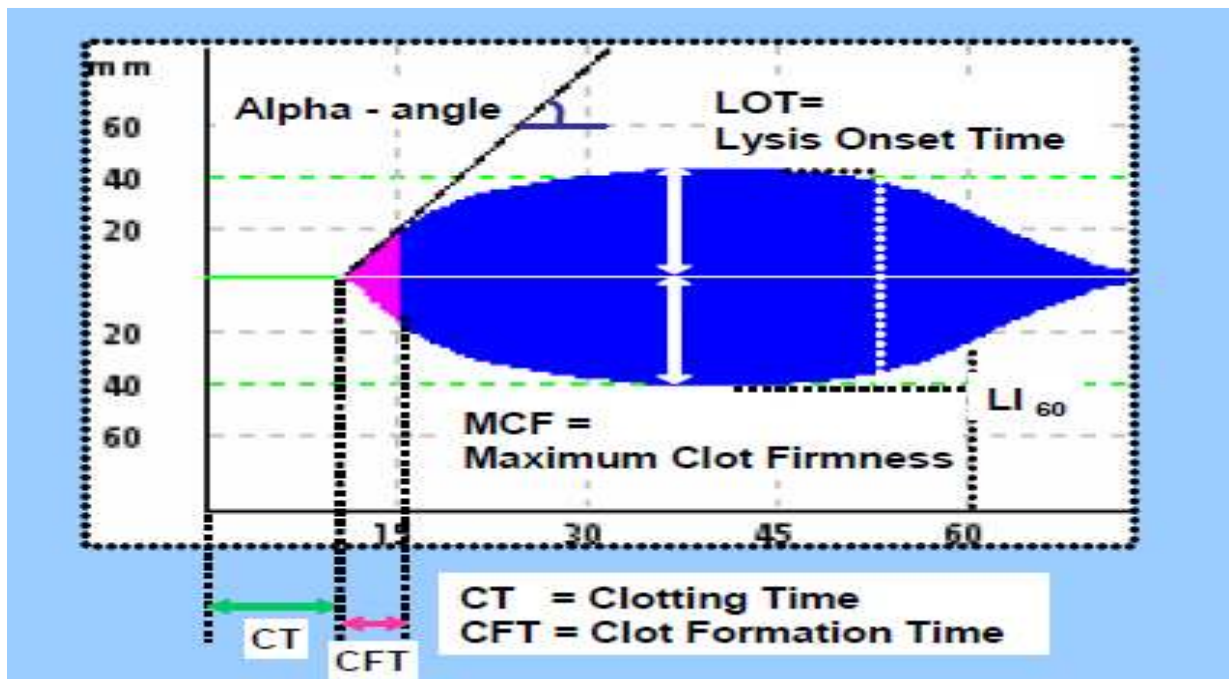
TEM uređaj je baziran na tromboelastometriji, poboljšanoj verziji klasične tromboelastografije koju je prvotno razvio Hartert s suradnicima 1948. Godine. Suvremena, unaprijeđena tromboelastometrija bazirana je na mjerenju elasticiteta krvi tj krvnog ugruška. Viskoelastična svojstva krvnog ugruška prikazuju se kontinuiranim grafičkim prikazivanjem formacije ugruška te konačno degradacije ugruška u formi vremena. Detaljan opis tehnike rotacione tromboelastometrije nadilazi predmet ove disertacije. Ukratko, uređaj (Slika 4.) posjeduje jednokratnu čašicu koja se fiksira na način da po njenoj sredini ide također jednokratan klip koji je učvršćen na permanentno oscilirajuću vertikalnu osovinu. Vertikalna osovina uglavljena je na ležajevima koji omogućuju precizno kretanje od 4.75° u oba dva smjera po vertikalnoj osi. Optički sistem (izvor svjetla + ogledalo na vrhu vertikalne osi) bilježi pokrete osovine, dakle klipića u čašici u koju se prethodno postavi uzorak krvi

antikoaguliran s citratom. Princip tromboelastometrije zasniva se na činjenici da ukoliko ne postoji formiranje ugruška uzorka krvi, pokretanje vertikalne osi, dakle kliniča u čašici nije opstruirano. Međutim, kako s vremenom dolazi do formiranja ugruška, isti se zalijepi na površinu čašice i kliniča te na taj način viskoelastična svojstva krvnog ugruška opstruiraju pokretanje vertikalne osovine. Formacija krvnog ugruška rezultira s smanjenjem amplitude oscilacije vertikalne osi te se ovaj dinamični proces prikazuje grafični na monitoru u funkciji vremena (Slika 5)

Slika 5. Grafički prikaz tromboelastometrijskog ispitivanja (tzv. TEM-ogram)



Slika 6. Shematski prikaz najvažnijih parametara rotacione tromboelastometrije



Postoji čitav niz reakcijskih krivulja i parametara u rotacionoj tromboelastometriji. Shematski prikaz najvažnijih parametara rotacione tromboelastometrije prikazan je na Slici 6, dok je tablični prikaz s akronimima i objašnjenjima pojedinih parametara prikazan u Tablici 1.

Tablica 1. Prikaz akronima i interpretacija pojedinih varijabli rotacione tromboelastometrije

Parametar	Akronim	Primarno pod utjecajem
Vrijeme zgrušavanja	CT	Aktivnost faktora koagulacije Antikoagulacijski lijekovi (npr. heparin) Trombociti Fibrinogen
Vrijeme formacije ugruška	CFT	Kinetika trombocitne i fibrinogenske polimerizacije (antikoagulacijski lijekovi)
Alfa kut	A	Kinetika trombocitne i fibrinogenske polimerizacije (antikoagulacijski lijekovi)
Maksimalna čvrstoća	MCF	Mehanička čvrstoća ugruška (trombociti, fibrinogen, faktor XIII)
A (amplituda čvrstoće ugruška nakon vremena T)	Ax	Čvrstoća ugruška nakon vremena T. Koristan i brz indikator razvoja čvrstoće ugruška, primarno pod utjecajem trombocita, fibrinogena i F XIII.
Index Lize (30 minuta nakon CT)	LI 30	Fibrinolitička aktivnost Hiperfibrinoliza (nedostatak inhibitora fibrinolize ili pretjerana fibrinoliza)

Definicija parametara rotacione tromboelastometrije:

Vrijeme zgrušavanja (CT *engl. clotting time*): Parametar koji se izražava u sekundama. Ta TEM-ogramu predstavlja vrijeme koje je potrebno da krivulja dosegne amplitudu na ordinati 2 mm od ravne linije nakon davanja reagensa. CT parametar je koristan parametar za procjenu aktivnosti parametara koji su uključeni u formaciju trombina, bilo vanjskog ili unutarnjeg puta zgrušavanja (zavisno o aktivatoru, tj. reagensu koji se koristi), kao i njihovog balansa s AT III ili lijekovima koji preveniraju generaciju trombina. Prolongiran CT parametar posljedica je manjka faktora koagulacije ili prisutnosti antikoagulantnih lijekova (npr.

heparin). Skraćeno CT vrijeme može ukazati na hiperkoagulabilno stanje. CT parametar je koristan u kliničkom donošenju odluka o potrebi nadoknade koagulacijskih faktora (npr. svježa smrznuta plazma orkoncentrati koagulacijskih faktora)

Alfa kut (*alpha angle*): Alfa kut je parametar koji je definiran odmakom od nulte apscise tangente koja prolazi od polazne točke prema točki amplitude od 2 mm od nulte ravnine (apscisa). Indirektan je pokazatelj kinetike formacije ugruška.

Maksimalna čvrstoća ugruška (MCF *engl. maximum clot firmness*): predstavlja mjeru ostvarenja najveće čvrstoće ugruška. Varijabla je definirana maksimalnom amplitudom od bazne linije (apscisa) u bilo kojem vremenu formacije ugruška. Mjerna jedinica je milimetar. Predstavlja jedan od najvažnijih parametara u tromboelastometriji. Faktori koagulacijskog procesa koji utječu na MCF parametar su : trombociti (broj i kvaliteta) , fibrinogen (concentration, ability to polymerise) , F XIII te status fibrinolize. Nedostatne vrijednosti MCF parametra mogu sugerirati transfuzijsko liječenje pomoću d-arginin-d-vazopresin (DDAVP) , fibrinogen.

A (x) parametar: Za razliku od MCF parametra koji opisuje amplitudu realizacije maksimalne čvrstoće ugruška bez obzira na vremenski period javljanja, A parametar prikazuje vrijednost amplitude u zadanom vremenskom intervalu. Drugim riječima, A parametar je ekvivalent maksimalne vrijednosti čvrstoće ugruška u određenoj vremenskoj točki. U ovisnosti o definiciji vremenske točke za prikaz vrijednosti amplitude, postoje A parametri A5, A 10 i A 30 koji prikazuju uvjetno rečeno MCF vrijednost nakon 5 , 10 odnosno 30 minuta.

Indeks lize (LI *engl Lysis index at 30 min*): ovaj parametar kvantificira proces fibrinolize ugruška i predstavlja stupanj redukcije čvrstoće ugruška nakon 30 minuta. Za napomenuti je i parametar koji prikazuje maksimalnu lizu ugruška kao kvantni prikaz omjera amplitude ugruška u fazi najmanje čvrstoće nakon ostvarene MCF vrijednosti te maksimalno ostvarene vrijednosti čvrstoće ugruška (MCF).

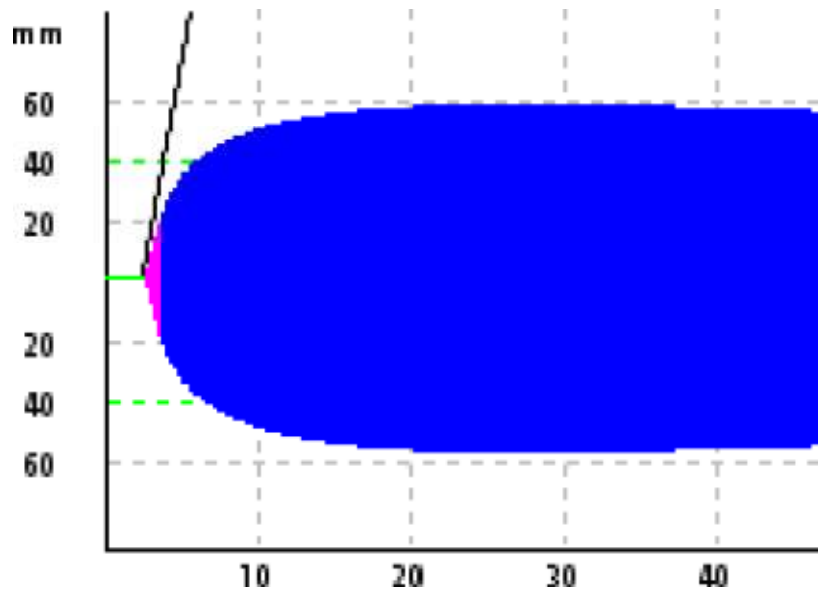
Nakon upoznavanja s različitim parametrije rotacione tromboelastometrije, objasniti ćemo uzorkovanje krvi te razlog upotrebe reagenasa koji su specifični agonisti pojedinog mehanizma koagulacije. Proces koagulacije, tj. sama hemostaza krvi u neantikoaguliranoj epruveti nije stabilan, stoga se kao optimalni stabilizator te uvjetno rečeno konzervator stabilnosti krvnog ugruška koristi citrat kao antikoagulant uzorku krvi. Osim toga, problem formacije ugruška i specifične diferencijacije poremećaja formacije ugruška ponekad je neizvedivo u fazama akutne koagulopatije gdje je inherentni potencijal formacije ugruška narušen. Posljedično, neizvediva je diferencijacija poremećaja hemostaze prema dominantnom uzroku. Stoga su u proces testiranja uključeni različiti reagensi koji imaju ulogu poticatelja specifičnog procesa koagulacije, bilo da se radi o poticateljima unutarnjeg puta, vanjskog puta zgrušavanja ili da je potrebna diferencijacija moguće uloge heparina u krvi ili pak diferencijacija uloge trombocita i(li) fibrinogena. Shodno tome, potencijal specifičnog liječenja na osnovi nalaza tromboelastometrije je ograničen na uzorcima krvi koji nemaju dodan reagens s agonističkim djelovanjem.

Sa svrhom dostupnosti različitih agonista koagulacije razvijeni su različiti reagensi tj. testovi u sklopu rotacione tromboelastometrije.

INTEM test: koristi kao reagens agonist unutarnjeg puta koagulacije. Omogućuje globalni prikaz koagulacije te je senzitivan na deficit faktora koagulacije, antikoagulacijski efekt heparina i trombinskih trombina, ulogu trombocita te fibrinogena. Ograničenje mu je nedostatak senzitivnosti na blagi stupanj deficijencije faktora koagulacije, funkcionalni defekt trombocita te antiagregacijski efekt acetilsalicilne kiseline.

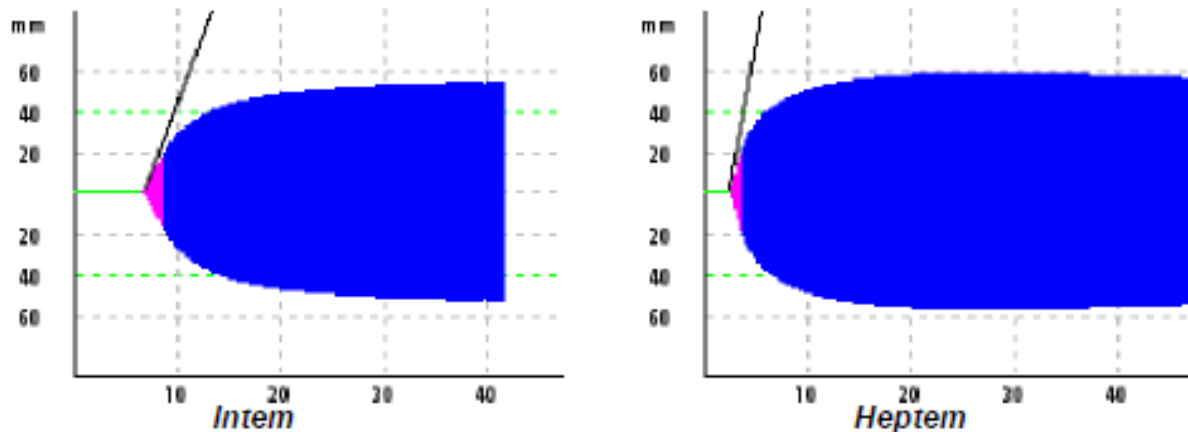
Normalni TEM-ogram INTEM testa prikazan je u Slici 7.

Slika 7. Normalan TEM-ogram u sklopu INTEM testa



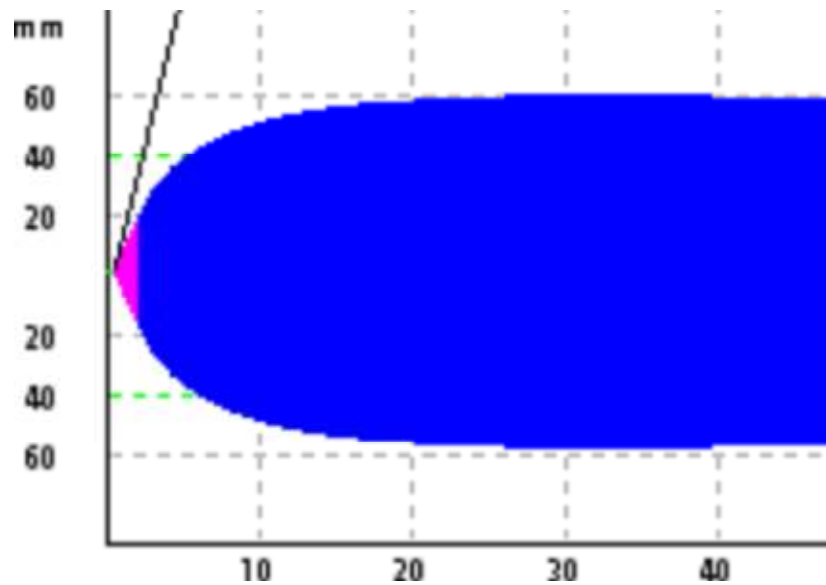
HEPTEM test je principijelno identičan INTEM testu, samo sadrži enzim heparinazu koja degradira heparin u uzorku krvi koja se analizira. Ovaj test osobito je pogodan za kardiokirurške bolesnike koji su za vrijeme trajanja ekstrakorporalne cirkulacije pri visokom stupnju antikoagulacije nefrakcioniranim heparinom. Upotreba enzima heparinaze omogućuje nam uvid u hemostatski status bolesnika koji je pri visokom stupnju antikoagulacije te na taj način kod kardiokirurškog bolesnika dobivamo podatak o tome kakva bi bila viskoelastična svojstva krvi kad bolesnik ne bi bio hepariniziran. Ovaj test je pogodan za anticipiranje poremećaja hemostaze čak i u vrijeme potpune heparinizacije nefrakcioniranim heparinom. Konkomitantna upotreba INTEM i HEPTEM testa služi nam za detekciju prisutnosti heparina u uzorku krvi. Ovom konkomitantnom primjenom moguće je osim detekcije rezidualnog heparina u krvi i upravljati antagonizacijskim menagementom heparina i protamina te na taj način izbjeći ekscesivnu administraciju protamina koji u toj specifičnoj okolnosti počinje djelovati kao antikoagulantni lijek. Prikaz konkomitantne primjene INTEM i HEPTEM testa prikazan je na slici 8.

Slika 8. Prikaz konkomitantne primjene INTEM i HEPTEM testa.



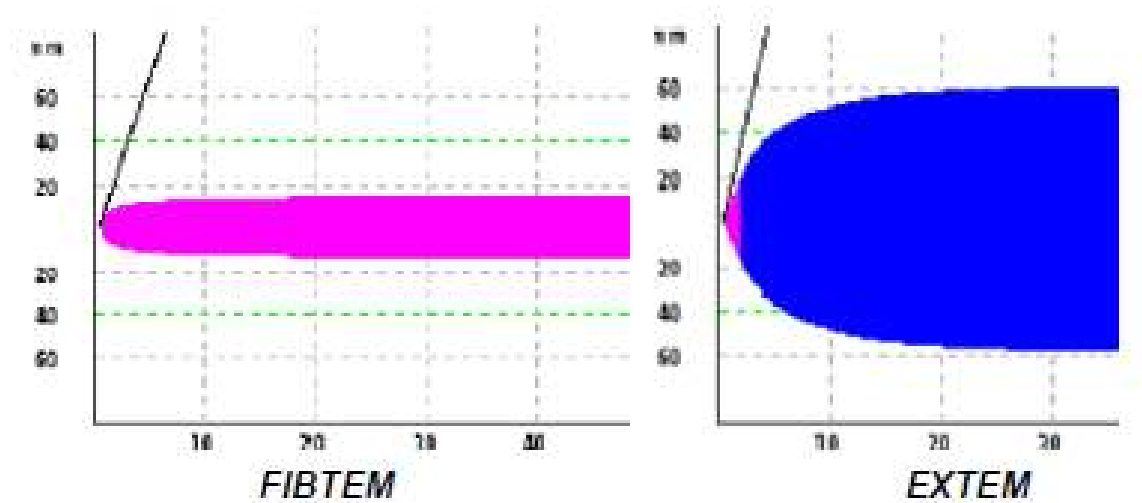
EXTEM test koristi se agonistom vanjskog puta koagulacije. Nisko je senzitivnan na učinak heparina. Senzitivnan je na deficit faktora koagulacije (faktori vanjskog puta koagulacije), na doprinos trombocita u procesu formiranja ugruška, na proces polimerizacije fibrina, deficit F XIII te hiperfibrinolizu. Nedostatak mu je što je ne-senzitivnan na učinak acetilsalicilne kiseline te još važnije učinak kumadinskih antikoagulacijskih lijekova. Nalaz EXTEM testa može biti u potpuno normalan pri vrijednostima INR-a od 3-4. S druge strane, pri vrlo visokim koncentracijama heparina može prikazati smanjene vrijednosti. Normalan TEM-ogram EXTEM testa prikazan je na Slici 9.

Slika 9. Normalan nalaz TEM-ograma za EXTEM test



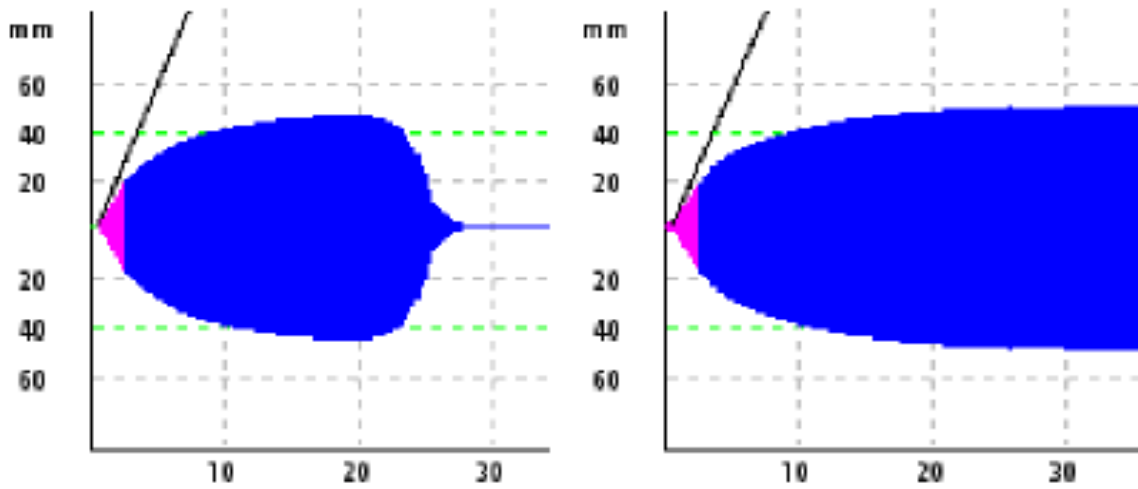
FIBTEM test u osnovi je jednak EXTEM testu. Koagulacijska je kaskada potaknuta s vanjske grane, ali u dodatku agonistu vanjskog koagulacijskog puta nalazi se citohalazin D, koji specifično inhibira funkciju trombocita. Na taj način prikazuje se TEM-ogram koji bi bio ekvivalent EXTEM TEM-ogramu kada bi se oduzela funkcija trombocita. Na taj način moguće je diferencirati relativnu ulogu trombocita te fibrinogena u procesu nastanka krvnog ugruška. Ukoliko od EXTEM testa “oduzmemo” FIBTEM test, dobijemo vrijednost specifičnog utjecaja trombocita u procesu nastanka krvnog ugruška. Konkomitantan prikaz EXTEM i FIBTEM testa prikazan je na Slici 10.

Slika 10. Prikaz konkomitantne upotrebe EXTEM i FIBTEM testa s mogućnošću jasne diferencijacije uloge trombocita i fibrinogena.



U paleti TEM testova nalazi se i APTEM test koji sadrži reagens Aprotinin, inače anti-fibrinolitičar poznat po nekad širokoj primjeni u hemostatskom menagementu kardiokirurškog bolesnika. Test se koristi simultano s EXTEM testom te u slučaju da se u EXTEM testu pojavi pad MCF vrijednosti koji sugerira nastanak fibrinolize učini se APTEM test kojim se potvrdi ili isključi hiperfibrinoliza. Slika 11. Prikazuje konkomitantnu primjenu EXTEM i APTEM testa.

Slika 11. Konkomitantna primjena EXTEM i APTEM testa.



U sklopu našeg istraživanja koristili smo se svim reagensima osim APTEM reagensa iz razloga što u sklopu rutinske kliničke prakse koristimo traneksaminsku kiselinu (antifibrinolitik) čime je mogućnost nastanka fibrinolize kod naših bolesnika svedena na minimum.

Definicija i evaluacija primarnog i sekundarnog ishoda razmatranja:

Drenaža na torakalne drenove (*engl. chest tube output – CTO*) definirana je kao primarni ishod razmatranja. U cilju precizne kvantifikacije krvarenja pažljivo smo mjerili iznos drenaže na torakalne drenove u prvih 24 sata nakon operacijskog zahvata te smo izmjereni iznos podijelili s bolesnikovom tjelesnom težinom. Početak mjerenja drenaže na torakalne drenove bio je 30 minuta nakon zatvaranja prsnog koša. Prvih 30 minuta nakon zatvaranja prsnog koša smatramo periodom stabilizacije. Sadržaj torakalnih drenova u stabilizacijskom periodu nije uključen u konačnu kvantifikaciju količine sadržaja na torakalne drenove. Taj sadržaj iz stabilizacijskog perioda može biti uzrokovan posturalnim promjenama prilikom transfera bolesnika iz operacijske sale do jedinice intenzivnog liječenja te rezidualnim volumenom tekućine koja je ostala od operacijskog zahvata prilikom ispiranja medijastinuma i postizanja hemostaze. Intraoperacijska i poslijeoperacijska potreba za transfuzijom krvnih pripravaka (koncentrat eritrocita izražen u mL, svježa smrznuta plazma izražena u mL, koncentrat fibrinogena izražen u gramima i koncentrat trombocita izražen u jedinicama koncentrata trombocita) su definirani kao sekundarna mjera ishoda. Potreba za kirurškom re-eksploracijom medijastinuma radi ekscesivnog krvarenja pomno je evidentirana skupa s bilo kojim kirurškim obrazloženjem za ekscesivno krvarenje.

Iako pojedine skupine autora predlažu definirane kriterije ekscesivnog krvarenja po iznosu drenaže na torakalne drenove¹⁶, mi smo odlučili samostalno definirati kriterij ekscesivnog krvarenja u cilju prilagođavanja iznosa CTO-a prema našoj specifičnoj kohorti. Vjerujemo kako je ovakav oblik donošenja samostalne definicije najbolji te omogućuje najpouzdanije korelacije, a u odnosu na definicije predložene od drugih autora nije iskrivljen različitim perfuzionističkim, kirurškim i anesteziološkim tehnikama opisanima od strane drugih autora. Poslijeoperacijsko krvarenje na torakalne drenove bilo je evidentirano u prvih 24 sata i

konačno podijeljeno prema bolesnikovoj težini. Bolesnici su definirani kao “ekscesivno krvareći” ukoliko je njihov iznos drenaže na torakalne drenove u prva 24 poslijeoperacijska sata iskazan u (ml/kg) nadišao 75-tu percentilu distribucije vrijednosti 24- satne drenaže u cijeloj kohorti. Sličan model definicije ekscesivnog krvarenja već je opisivao u literaturi²⁶. Vrijednosti parametara impedancijske agregometrije uzorka pune krvi te rotacione tromboelastometrije korelirani su s iznosom volumena 24 satne drenaže na torakalne drenove (ml/kg). Bolesnici su obzirom na pripadnost skupini ekscesivnog krvarenja podijeljeni u dvije skupine između kojih su se potom uspoređivale vrijednosti impedancijske agregometrije uzorka pune krvi te rotacione tromboelastometrije.

Statističke metode:

Podaci će biti prikazani tablično i grafički. Napraviti će se deskriptivna statistika s mjerama centralne tendencije za kvantitativne varijable (aritmetička sredina i standardna devijacija, odnosno medijani i odgovarajući interkvartilni rasponi), dok će se kategorijske varijable prikazati kroz apsolutne frekvencije i odgovarajuće učestalosti. Smirnov-Kolmogorovljevim testom će se procjeniti normalnost raspodjele podataka, a shodno rezultatima primjeniti odgovarajući parametrijski, odnosno neparametrijski testovi.

U analizama razlika kategorijskih varijabli između ispitivanih skupina primjenit će se X^2 test.

Razlike u kvantitativnim vrijednostima između ispitivanih skupina će se analizirati nezavisnim t-testom, odnosno Mann-Whitney U testom ako raspodjela ne slijedi normalnu.

Analiza varijance za ponavljana mjerenja, odnosno Friedmanov test, u slučaju raspodjele koja ne slijedi normalnu, će se koristiti prilikom usporedbe vrijednosti dobivenih iz pojedinih mjerenja. Izračunati će se i odgovarajući koeficijenti korelacije između ispitivanih varijabli.

ROC analiza (*engl. Receiver Operating Curve*) biti će izvedena u slučajevima signifikantnih korelacija s ciljem detekcije vrijednosti parametara impedancijske agregometrije uzorka pune krvi i rotacione tromboelastometrije koji determiniraju sklonost ekscisivnom krvarenju.

U procjeni rizika za predikciju rizičnog krvarenja provest će se binarna logistička regresija.

Sve P vrijednosti manje od 0,05 će se smatrati značajnima. U analizi će se koristiti programska podrška MedCalc for Windows verzija 11.2.1 (www.medcalc.be).

Rezultati:

Svi bolesnici koji su uključeni u istraživanje otpušteni su iz bolnice. Iznos 24 satne drenaže na torakalne drenove podijeljen s tjelesnom težinom koji predstavlja vrijednost 75 percentile distribucije iznosi 12.46 ml/kg. Ta vrijednost predstavlja kriterij koji razgraničava bolesnike prema pojavnosti ekscisivnog krvarenja. Prema pojavnosti ekscisivnog krvarenja kohorta je prema kriteriju razgraničenja od 12.46 ml/kg podijeljena u dvije skupine: (a) skupina ekscisivnog krvarenja te (b) skupina bez ekscisivnog krvarenja. Bazični demografski, kirurški i bazični laboratorijski parametri prezentirani su u Tablici 2a i 2b.

Tablica 2

Bazični demografski , laboratorijski i operacijski podatci u kohorti bolesnika koja je podijeljena prema primarnom ishodu razmatranja (prisutnost ekscesivnog krvarenja).

Kontinuirane varijable su prikazane u Tablici 2a dok su kategorijske varijable prikazane u Tablici 2b.

Tablica 2a:

	24 satna drenaža (ml/kg)	N	Percentile			Mann-Whitney U
			25 th	50 th (Median)	75 th	p
Dob (godine)	<75. Percentile	111	57.00	65.00	72.00	0.536
	>75 percentile	37	52.50	69.00	73.00	
Indeks tjelesne težine (kg/m ²)	<75. Percentile	111	25.72	28.65	31.35	0.266
	>75 percentile	37	25.22	27.77	31.06	
Tjelesna površina (m ²)	<75. Percentile	111	1.83	1.99	2.13	0.136
	>75 percentile	37	1.77	1.89	2.11	
EURO score (%)	<75. Percentile	111	1.81	2.71	5.62	0.844
	>75 percentile	37	1.81	3.78	5.52	
Ejeksijska frakcija (%)	<75. Percentile	111	45.00	60.00	65.00	0.563
	>75 percentile	37	50.00	55.00	61.00	
Dani nakon isključenja klopidogrela	<75. Percentile	25	4.00	6.00	7.50	0.024
	>75 percentile	17	2.00	4.00	6.50	
Trombociti (x 10 ⁹ /l)	<75. Percentile	111	176.00	212.00	255.00	0.263
	>75 percentile	37	165.50	196.00	241.00	
Fibrinogen (g/l)	<75. Percentile	111	3.30	3.90	4.60	0.203
	>75 percentile	37	3.10	3.60	4.35	
Hemoglobin	<75. Percentile	111	121.00	133.00	145.00	0.183
	>75 percentile	37	126.00	140.00	146.00	
Hematokrit	<75. Percentile	111	0.37	0.40	0.43	0.183

	>75 percentile	37	0.38	0.42	0.44	
INR	<75. Percentile	111	0.94	0.98	1.06	0.245
	>75 percentile	37	0.93	0.96	1.01	
Aorta klemana (min)	<75. Percentile	111	49.00	67.00	88.00	0.473
	>75 percentile	37	50.00	69.00	104.50	
Vrijeme izvantjelesnog krvotoka (min)	<75. Percentile	111	74.00	96.00	126.00	0.089
	>75 percentile	37	80.50	112.00	139.50	
Ventilacija (h)	<75. Percentile	110	7.75	9.00	12.00	0.24
	>75 percentile	36	7.00	10.00	15.75	

Tablica 2b:

		24 satna drenaža (ml/kg)				Chi Square
		<75. percentile N=111		>75. percentile N=37		P
		N	%	N	%	
Spol	Muški	79	71.2%	26	70.3%	0.917
	Ženski	32	28.8%	11	29.7%	
Arterijska hipertenzija	Ne	18	16.2%	7	18.9%	0.704
	Da	93	83.8%	30	81.1%	
Diabetes mellitus	Ne	76	68.5%	27	73.0%	0.606
	Da	35	31.5%	10	27.0%	
Pušač	Ne	88	79.3%	30	81.1%	0.813
	Da	23	20.7%	7	18.9%	
Bubrežno zatajenje	Ne	109	98.2%	35	94.6%	0.242
	Da	2	1.8%	2	5.4%	
Beta blokatori	Ne	28	25.2%	7	18.9%	0.434
	Da	83	74.8%	30	81.1%	
Amjodaron	Ne	99	89.2%	33	89.2%	1
	Da	12	10.8%	4	10.8%	
Blokatori kalcijevih kanala	Ne	81	73.0%	25	67.6%	0.528
	Da	30	27.0%	12	32.4%	
Klopidogrel	Ne	86	77.5%	21	56.8%	0.015
	Da	25	22.5%	16	43.2%	
Acetilsalicilna kiselina	Ne	41	36.9%	13	35.1%	0.844
	Da	70	63.1%	24	64.9%	
Antiagregacijska terapija	Ne	35	31.5%	9	24.3%	0.406
	Da	76	68.5%	28	75.7%	
Antilipemici	Ne	28	25.2%	13	35.1%	0.243
	Da	83	74.8%	24	64.9%	
Vrsta zahvata	Izolirano koronarno premoštenje	62	55.9%	22	59.5%	0.257
	Valvularna procedura	27	24.3%	7	18.9%	
	Kombinirana procedura	11	9.9%	7	18.9%	
	Ostalo	11	9.9%	1	2.7%	
Izolirano koronarno premoštenje	Ostalo	49	44.1%	15	40.5%	0.702
	Izolirano koronarno premoštenje	62	55.9%	22	59.5%	

Razlike u kliničkim i transfuzijskim ishodima razmatranja obzirom na prisutnost ekscesivnog krvarenja prikazani su u Tablici 3.

Tablica 3:

Transfuzijski i klinički ishodi razmatranja pacijenata prema prisutnosti ekscesivnog krvarenja

		24 satna drenaža (ml/kg)				Chi square
		<75. percentile N=111		>75. percentile N=37		
		N	%	N	%	
Transfuzija svježe smrznute plazme	Ne	97	87.4%	21	56.8%	<0.001
	Da	14	12.6%	16	43.2%	
Transfuzija koncentrata eritrocita	Ne	24	21.6%	5	13.5%	0.282
	Da	87	78.4%	32	86.5%	
Transfuzija koncentrata fibrinogena	Ne	109	98.2%	28	75.7%	<0.001
	Da	2	1.8%	9	24.3%	
Transfuzija koncentrata trombocita	Ne	109	98.2%	33	89.2%	0.016
	Da	2	1.8%	4	10.8%	
30 dnevni mortalitet	Živi	110	99.1%	35	94.6%	0.092
	Umrli	1	0.9%	2	5.4%	
1 godišnji mortalitet	Živi	103	98.1%	29	87.9%	0.012
	Umrli	2	1.9%	4	12.1%	
1 godišnja rehospitalizacija	Ne	88	83.8%	27	81.8%	0.789
	Da	17	16.2%	6	18.2%	
	24 satna drenaža (ml/kg)	n	25th percentile	50th (Median)	75th percentile	Mann- Whitney U
Ventilacija (h)	<75. percentile	110	7.75	9.00	12.00	0.24
	>75. percentile	36	7.00	10.00	15.75	
Intenzivno liječenje (dani)	<75. percentile	111	2.00	2.00	3.00	0.489
	>75. percentile	37	1.00	2.00	3.50	
Poslijeoperacijska hospitalizacija (dani)	<75. percentile	111	7.00	7.00	9.00	0.84
	>75. percentile	37	6.50	7.00	10.00	

Značajnije veća proporcija bolesnika u skupini ekscesivnog krvarenja prijeoperacijski su bili izloženi klopidogrelu (43.2% vs. 22.5% , $p=0.015$, Tablica 2b). Kod bolesnika koji su bili izloženi prijeoperacijski klopidogrelu, primjetili smo kraći vremenski period od isključenja klopidogrela do operacijskog zahvata u skupini bolesnika koji su ekscesivno krvarili (4 vs. 6 dana, $p=0.024$).

Dvije podskupine kohorte razdijeljene na osnovi prisutnosti ekscesivnog krvarenja uspoređene su po kliničkim i transfuzijskim ishodima liječenja (Tablica 3.). U grupi bolesnika s prisutnim ekscesivnim krvarenjem, značajno je veća proporcija bolesnika s transfudiranom svježom smrznutom plazmom (43.2% vs. 12.6%, $p<0.001$), koncentratom fibrinogena (24.3% vs. 1.8% , $p<0.001$) i koncentratom trombocita (10.8% vs. 1.8% , $p=0.016$). Razmatrajući klinički ishod liječenja opazili smo kako je 1 godišnji mortalitet bio značajno veći u skupini bolesnika s ekscesivnim krvarenjem (12.1% vs. 1.9% , $p=0.012$).

Usporedba parametara impedancijske agregometrije uzroka pune krvi i rotacione tromboelastometrije između dvije podskupine podijeljene na osnovi prisutnosti ekscesivnog krvarenja u sve tri točke mjerenja (T1, T2 i T3) te korelacija istih s iznosom drenaže na torakalne drenove prikazana je u Tablici 4a (T1), 4b (T2) te 4c (T3).

U T1 vremenskoj točki, verificirane su signifikantne razlike između skupina na osnovi ekscesivnog krvarenja u varijabli ASPI impedancijske agregometrije (Median 20 vs. 40 AUC, $p=0.043$) te FibTEM A 20 varijabli rotacione tromboelastometrije (Median 16 vs. 18 mm, $p=0.044$) (Tablica 4a). ASPI test parametar impedancijske agregometrije uzorka pune krvi ($p=0.019$), te sljedeći parametri rotacione tromboelastometrije (InTEM A 20 , $p=0.038$; InTEM A 30, $p=0.035$; FibTEM A 10, $p=0.021$; FibTEM A 20, $p=0.01$; i FibTEM A 30, $p=0.019$) statistički značajno su korelirali s 24- satnim iznosom drenaže na torakalne drenove.

U T2 vremenskoj točki, verificirane su signifikantne razlike između skupina na osnovi ekscesivnog krvarenja u varijabli ASPI i ADP impedancijske agregometrije te sljedećim

parametrime rotacione tromboelastometrije (HepTEM, ExTEM and FibTEM). Međusobne razlike te korelacijski koeficijenti s ocjenom statističke značajnosti prikazani su u Tablici 4b. Naj snažniji prediktori povećanog rizika krvarenja bili su parametri testova impedancijske agregometrije uzorka pune krvi i rotacione tromboelastometrije izvedeni nakon aplikacije protamina, dakle u vremenskoj točki T3. Međusobne razlike te korelacijski koeficijenti s ocjenom statističke značajnosti prikazani su u Tablici 4c. U T3 vremenskoj točki, bolesnici s ekscesivnim krvarenjem imali su signifikantno niže vrijednosti ASPI test parametra impedancijske agregometrije uzorka pune krvi (median, 14 vs. 27 AUC, $p=0.004$) te ADP test parametra (median, 22 vs. 41 AUC, $p=0.002$). Isti odnosi zabilježeni su i za parametre rotacione tromboelastometrije mjerene nakon 30 minuta (A 30) za ExTEM test (53 vs. 56 mm, $p=0.005$), HepTEM test (48 vs. 52 mm, $p=0.003$) te FibTEM test (8 vs. 11 mm, $p<0.001$). Iznos 24-satne drenaže na torakalne drenove inverzno je korelirao s vrijednostima ASPI i ADP parametara impedancijske agregometrije uzorka pune krvi (ASPI test: $r=-0.236$, $p=0.004$; ADP test: $r=-0.299$, $p<0.001$), te parametrima rotacione tromboelastometrije mjerenima nakon 30 minuta (A 30; ExTEM: $r=-0.295$, $p<0.001$; HepTEM: -0.329 , $p<0.001$; FibTEM: $r=-0.377$, $p<0.001$).

U točki T3, parametri impedancijske agregometrije uzorka pune krvi te rotacione tromboelastometrije s najjačim koeficijentima korelacije prema iznosu torakalne drenaže podvrgnuti su ROC analizi u cilju detekcije maksimalnog omjera senzitivnosti i specifičnosti u detekciji ekscesivnog krvarenja. Preciznost ASPI testa impedancijske agregometrije uzorka pune krvi (AUC 0.636, $p=0.008$) prikazana je u Slici 12, preciznost ADP testa impedancijske agregometrije uzorka pune krvi (AUC 0.667, $p=0.001$) prikazana je u Slici 13. Preciznost parametra rotacione tromboelastometrije ExTEM alfa (AUC 0.691, $p<0.001$) prikazana je u Slici 14, preciznost parametra FibTEM A 30 (AUC 0.695, $p<0.001$) prikazana je na slici 15, te preciznost parametra HepTEM A 30 (AUC 0.663, $p=0.002$) prikazana je u Slici 16. Na

Klinici za kardijalnu kirurgiju rutinski koriste ACT parametar (*engl. activated coagulation time*) u monitoriranju antikoagulacije heparinom kao i u monitoriranju antagonizacije heparina protaminom. Usporedili smo vrijednost ACT-a između dvije skupine podijeljene na osnovi prisutnosti ekscesivnog krvarenja i nismo pronašli statistički značajne razlike između grupa (median 137 vs. 138 sek, $p=0.755$). U dodatku prethodnoj opservaciji, ACT parametar nije korelirao s 24 satnom drenažom na torakalne drenove (Spearman's correlation coefficient -0.002 , $p=0.976$).

Tablica 4a:

Usporedba parametara impedancijske agregometrije i rotacione tromboelastometrije između pacijanata podijeljenih na osnovi prisutnosti ekscesivnog krvarenja te korelacije parametara s 24-satnom drenažom (ml/kg). Testovi su provedeni u vremenu prije indukcije anestezije (T1).

		Prema 24 satnoj drenaži (mL/kg)						24 h drenaža mL/kg		
T1		Ekscesivno krvarenje			Nema ekscesivnog krvarenja			Mann-Whitney U p	Spearman r	P
		25th percentile	Median	75th percentile	25th percentile	Median	75th percentile	P		
ASPI (AUC)		12	20	53	21	40	67	0.043	-0.193	0.019
ADP (AUC)		57	72	89	63	77	93	0.265	-0.095	0.252
TRAP (AUC)		95	105	120	95	109	122	0.849	-0.118	0.153
EXTEM CT (sec)		60	65	71	54	60	70	0.120	0.099	0.231
EXTEM CFT (sec)		65	77	93	58	73	89	0.233	0.115	0.166
EXTEM alfa (degree)		72	76	80	73	76	80	0.701	-0.102	0.218
EXTEM A 10 (mm)		56	60	62	57	61	66	0.191	-0.150	0.069
EXTEM A 20 (mm)		62	66	68	63	67	71	0.190	-0.157	0.056
EXTEM A 30 (mm)		64	67	69	63	68	72	0.296	-0.143	0.082
INTEM CT (sec)		150	164	191	147	169	200	0.820	-0.076	0.356
INTEM CFT (sec)		63	70	79	54	65	84	0.333	0.143	0.083
INTEM ALFA (degree)		74	76	78	75	77	80	0.173	-0.151	0.066
INTEM A 10 (mm)		54	57	60	54	59	64	0.177	-0.157	0.057
INTEM A 20 (mm)		60	63	66	60	65	69	0.112	-0.171	0.038
INTEM A 30 (mm)		60	64	67	61	65	69	0.134	-0.174	0.035
FIBTEM CT (sec)		50	55	59	48	53	58	0.346	0.093	0.260
FIBTEM A 10 (mm)		13	15	19	14	17	22	0.093	-0.190	0.021
FIBTEM A 20 (mm)		14	16	20	15	18	24	0.044	-0.210	0.010
FIBTEM A 30 (mm)		14	17	20	15	19	24	0.062	-0.193	0.019

Tablica 4b:

Usporedba parametara impedancijske agregometrije i rotacione tromboelastometrije između grupa bolesnika podijeljenih na osnovi prisutnosti ekscesivnog krvarenja i korelacije parametara navedenih testova s 24 satnom drenažom na torakalne drenove (ml/kg). Testovi su provedeni za vrijeme trajanja ekstrakorporealne cirkulacije nakon otpuštanja aortalne kleme.

T2	Prema 24 satnoj drenaži (mL/kg)							24 h drenaža (mL/kg)	
	Ekscesivno krvarenje			Nema ekscesivnog krvarenja			Mann-Whitney U	Spearman r	p
	25th percentile	Median	75th percentile	25th percentile	Median	75th percentile	p		
ASPI (AUC)	4	9	13	6	15	33	0.004	-0.203	0.013
ADP (AUC)	23	30	46	29	48	67	0.002	-0.230	0.005
TRAP (AUC)	73	109	128	92	116	142	0.098	-0.130	0.115
EXTEM CT (sec)	64	73	87	66	76	90	0.609	-0.048	0.563
EXTEM CFT (sec)	114	139	165	95	118	144	0.004	0.272	0.001
EXTEM alfa (degree)	62	67	69	65	69	74	0.010	-0.245	0.003
EXTEM A 10 (mm)	41	44	48	45	49	54	0.001	-0.308	<0.001
EXTEM A 20 (mm)	48	52	56	53	57	61	0.001	-0.301	<0.001
EXTEM A 30 (mm)	50	55	59	56	59	63	<0.001	-0.311	<0.001
HEPTEM CT (sec)	187	200	221	175	200	223	0.825	0.043	0.602
HEPTEM CFT (sec)	99	130	161	84	102	124	0.001	0.261	0.001
HEPTEM ALFA (degree)	64	68	72	68	72	76	0.013	-0.199	0.015
HEPTEM A 10 (mm)	39	44	47	44	48	52	<0.001	-0.329	<0.001
HEPTEM A 20 (mm)	46	51	54	51	55	59	<0.001	-0.322	<0.001
HEPTEM A 30 (mm)	50	53	56	53	57	62	<0.001	-0.331	<0.001
FIBTEM CT (sec)	59	64	72	62	67	81	0.111	-0.154	0.061
FIBTEM A 10 (mm)	7	9	12	8	11	14	0.044	-0.236	0.004
FIBTEM A 20 (mm)	8	10	12	9	12	15	0.029	-0.223	0.007
FIBTEM A 30 (mm)	8	10	12	9	12	16	0.002	-0.282	0.001

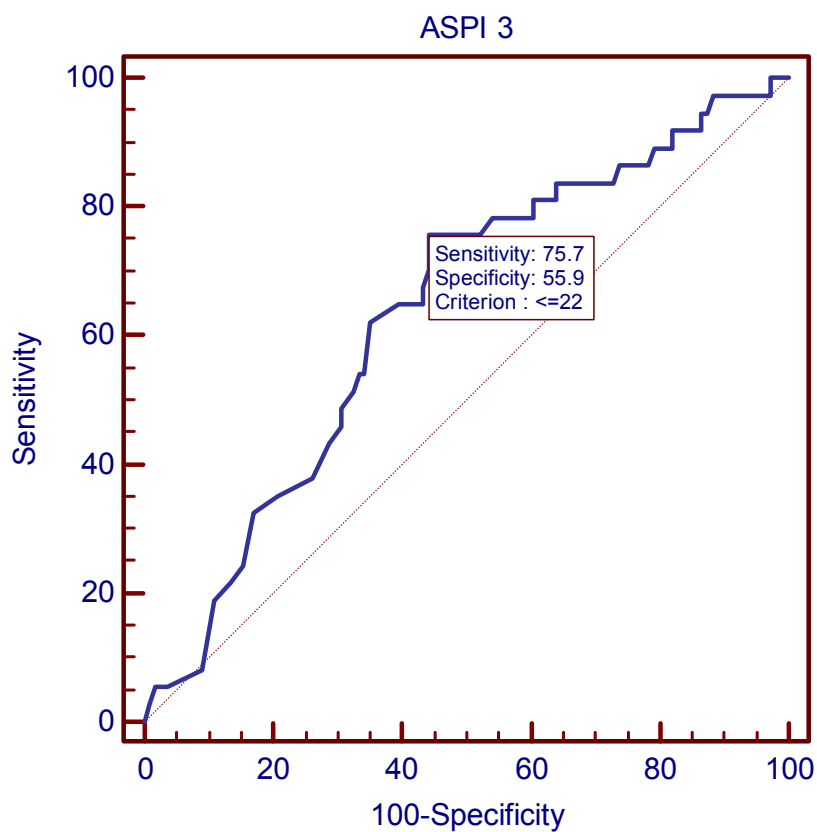
Tablica 4c:

Usporedba vrijednosti parametara impedancijske agregometrije uzorka pune krvi (Multilate) i rotacione tromboelastometrije (TEM) između dvije podskupine bolesnika alocirane prema prisutnosti ekscesivnog poslijeoperacijskog krvarenja uz prikaz korelacija s parametrom krvarenja u torakalne drenove u prva 24 sata (izraženo kroz ml/kg). Krv je uzorkovana 15 minuta nakon aplikacije protamina.

T3	Prema 24 satnoj drenaži (mL/kg)							24 h drenaža (mL/kg)	
	Ekscesivno krvarenje			Nema ekscesivnog krvarenja			Mann-Whitney U	Spearman r	p
	25th percentile	Median	75th percentile	25th percentile	Median	75th percentile	p		
ASPI (AUC)	8	14	22	10	27	51	0.013	-0.236	0.004
ADP (AUC)	15	22	36	22	41	66	0.002	-0.299	<0.001
TRAP (AUC)	78	93	113	77	103	133	0.133	-0.144	0.081
EXTEM CT (sec)	72	83	96	68	77	94	0.197	0.191	0.020
EXTEM CFT (sec)	131	166	212	105	141	172	0.005	0.271	0.001
EXTEM alfa (degree)	53	59	64	59	66	73	0.001	-0.317	<0.001
EXTEM A 10 (mm)	36	42	47	41	46	52	0.005	-0.280	0.001
EXTEM A 20 (mm)	45	51	55	49	54	60	0.005	-0.284	<0.001
EXTEM A 30 (mm)	48	53	57	52	56	61	0.005	-0.295	<0.001
HEPTEM CT (sec)	190	209	230	160	183	205	<0.001	0.348	<0.001
HEPTEM CFT (sec)	126	164	227	105	132	176	0.006	0.254	0.002
HEPTEM ALFA (degree)	55	62	66	60	67	72	0.004	-0.278	0.001
HEPTEM A 10 (mm)	33	39	43	38	43	47	0.002	-0.289	<0.001
HEPTEM A 20 (mm)	40	46	50	45	50	54	0.002	-0.322	<0.001
HEPTEM A 30 (mm)	44	48	52	47	52	55	0.003	-0.329	<0.001
FIBTEM CT (sec)	68	75	85	57	65	86	0.012	0.240	0.003
FIBTEM A 10 (mm)	5	8	9	7	9	13	0.002	-0.313	<0.001
FIBTEM A 20 (mm)	6	8	10	8	11	14	0.001	-0.354	<0.001
FIBTEM A 30 (mm)	6	8	11	8	11	14	<0.001	-0.377	<0.001

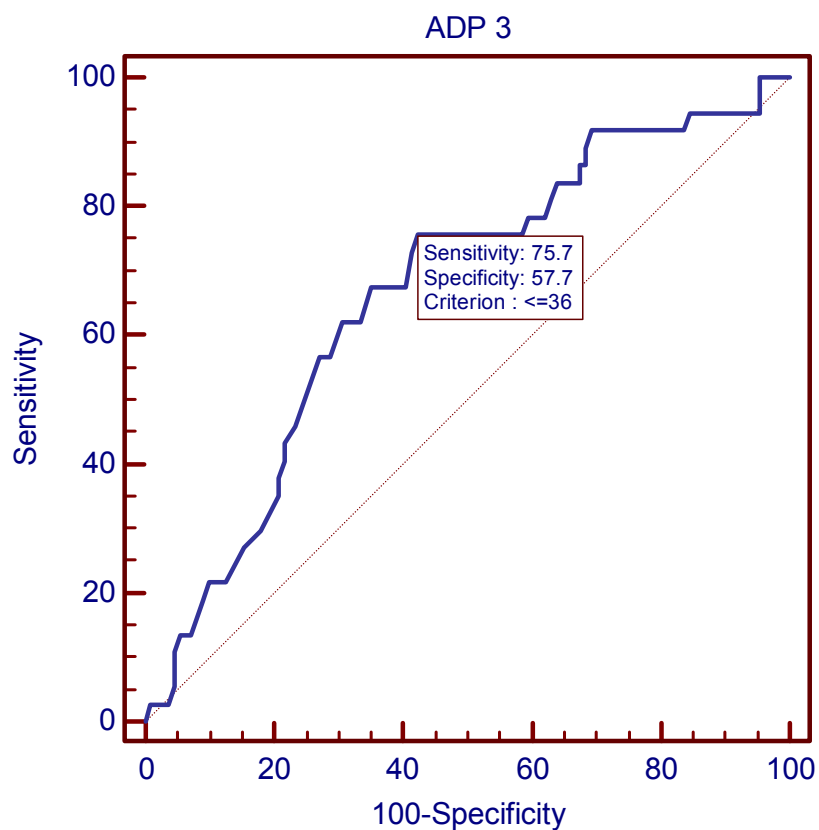
Slika 12.

ROC analiza (*engl.* Receiver operating characteristic curve analysis) izvedena radi procjene mogućnosti predikcije ekscesivnog krvarenja upotrebom Multiplate ASPI testa u vremenu nakon aplikacije protamina. Vrijednost ASPI testa koja u predikciji posjeduje najbolji omjer senzitivnosti i specifičnosti je manje ili jednako 22 (AUC (Area under the curve) 0.636. 95% Confidence Interval 0.553-0.714. $p=0.008$).



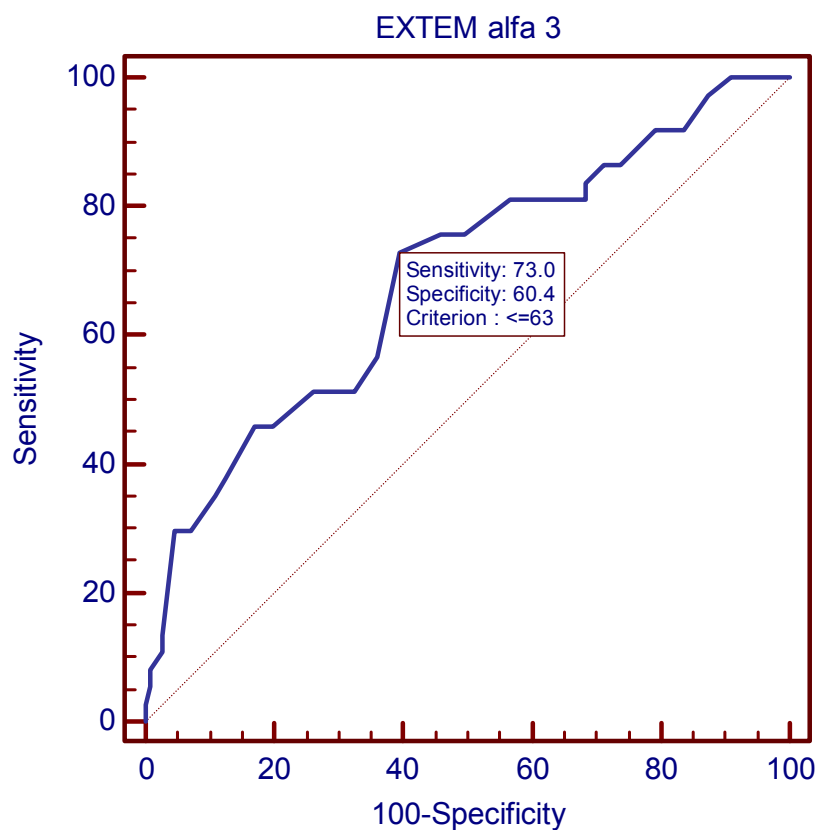
Slika 13.

ROC analiza (*engl.* Receiver operating characteristic curve analysis) izvedena radi procjene mogućnosti predikcije ekscesivnog krvarenja upotrebom Multiplate ADP testa u vremenu nakon aplikacije protamina. Vrijednost Multiplate ADP testa koja ima najbolji omjer senzitivnosti i specifičnosti u predikciji ekscesivnog krvarenja iznosi manje ili jednako 36 AUC (Area under the curve 0.667. 95% Confidence Interval 0.585-0.742. $p=0.001$).



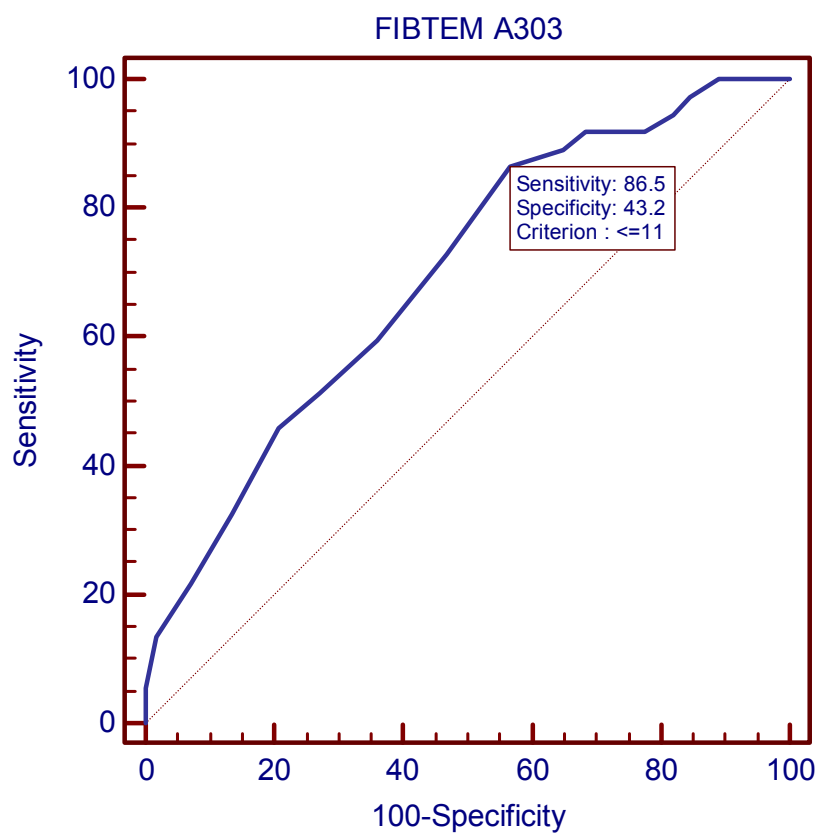
Slika 14.

ROC analiza (*engl.* Receiver operating characteristic curve analysis) izvedena radi procjene mogućnosti predikcije ekscesivnog krvarenja upotrebom TEM ExTEM testa. Vrijednost varijable alfa kuta ExTEM testa koja posjeduje najbolji omjer senzitivnosti i specifičnosti u predikciji ekscesivnog krvarenja iznosi manje ili jednako 63 stupnja (Area under the curve 0.691. 95% Confidence Interval 0.610-0.764. $p < 0.001$).



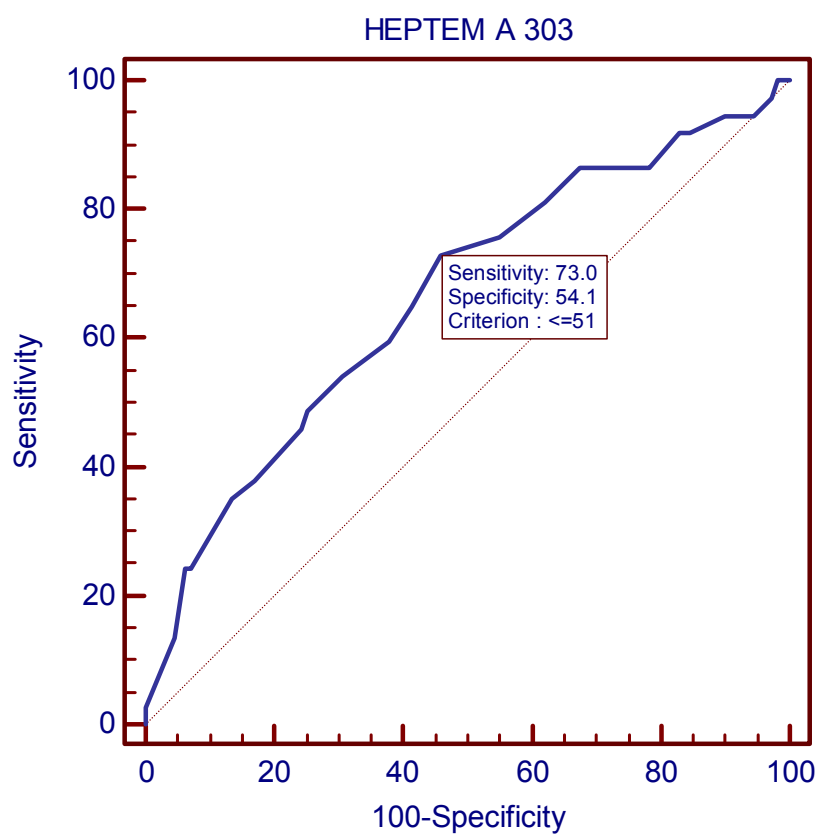
Slika 15.

ROC analiza (*engl.* Receiver operating characteristic curve analysis) izvedena radi procjene mogućnosti predikcije ekscesivnog krvarenja upotrebom TEM FibTEM testa. Vrijednost A 30 varijable FibTEM testa koja posjeduje najbolji omjer senzitivnosti i specifičnosti u predikciji ekscesivnog krvarenja iznosi jednako ili manje od 11 mm (Area under the curve 0.695. 95% Confidence Interval 0.614-0.768. $p < 0.001$).



Slika 16.

ROC analiza (*engl.* Receiver operating characteristic curve analysis) izvedena radi procjene mogućnosti predikcije ekscesivnog krvarenja upotrebom TEM HepTEM testa. Vrijednost TEM HepTEM testa koja posjeduje najbolji omjer specifičnosti i senzitivnosti u predikciji ekscesivnog krvarenja iznosi jednako ili manje 61 mm (Area under the curve 0.663. 95% Confidence Interval 0.580-0.738. $p=0.002$).



Usporedba ACT-a i INTEM-a u procjeni hemostatskih poremećaja i poslijeoperacijskog krvarenja nakon administracije protamina:

Kao što smo već opisali, ACT parametar je sastavni dio rutinskog kliničkog monitoriranja hemostatskih svojstava krvi u Klinici za kardijalnu kirurgiju KBC Zagreb. Metoda je sama po sebi stara više desetljeća (Hattersley 1966)²⁷ i u osnovi predstavlja prvi POC (*engl. Point-of-Care*) uređaj za monitoriranje koagulacijskih parametara te učinka nefrakcioniranog heparina kod bolesnika koji se podvrgavaju operacijskom zahvatu uz upotrebu stroja za izvantjelesni krvotok²⁷. U kliničku praksu ACT testiranje je prvi put uvedeno u 70-tim godinama prošlog stoljeća s ciljem upravljanja aplikacije heparinom te za upravljanje neutralizacije učinka heparina protaminom. Iako je u osnovi zamišljen kao test za prijeoperacijski probir bolesnika u riziku ekscesivnog krvarenja, danas se gotovo isključivo koristi za monitoriranje antikoagulacije heparinom za vrijeme ekstrakorporealne cirkulacije kao i za monitoriranje dostatne antagonizacije (neutralizacije) učinka heparina protaminom. Iako je danas automatizirana tehnika korištenja testa, princip opisan od strane Hattersley-a i suradnika je u osnovi ostao neizmjenjen²⁷. Za prije spomenute indikacije, ACT je najviše korišten POC uređaj²⁸. Iako je najviše upotrebljavani test u rutinskoj kliničkoj kardiokirurškoj praksi, ACT test je nisko senzitivnan hemostatski test za detekciju rezidualne heparinske antikoagulacije²⁸, kao i druge poremećaje hemostaze koji mogu voditi k ekscesivnom krvarenju kardiokirurškog bolesnika nakon operacijskog zahvata uz upotrebu stroja za izvantjelesni krvotok. Poučeni ovom činjenicom odlučili smo usporediti preciznost tj. kliničku relevantnost ACT-a u procjeni rizika ekscesivnog krvarenja usporedivši je s parametrima INTEM testa rotacione tromboelastometrije. Oba dva uspoređena parametra prikazuju u osnovi koagulacijski kapacitet unutarnjeg kompleksa koagulacijske kaskade. Razlika u parametrima ACT i INTEM između bolesnika podijeljenih na osnovi tendencije ekscesivnom krvarenju prikazane je u Tablici (5).

Tablica 5. Usporedba parametara unutarnjeg koagulacijskog puta (ACT i INTEM) između bolesnika koji su podijeljeni u dvije skupine na osnovi prisutnosti ekscesivnog krvarenja.

	Ukupna drenaža (mL)	N	Percentiles			Mann-Whitney U
			25th	50th (Median)	75th	P
INTEM CT	<75. percentile	111	171.00	194.00	214.00	0.379
	>75. percentile	37	182.00	198.00	221.00	
INTEM CFT	<75. percentile	111	98.00	124.00	165.00	0.033
	>75. percentile	37	103.50	149.00	207.50	
INTEM alfa kut (stupnjevi)	<75. percentile	111	64.00	69.00	74.00	0.016
	>75. percentile	37	56.50	65.00	72.00	
INTEM MCF	<75. percentile	111	50.00	55.00	59.00	0.017
	>75. percentile	37	46.00	51.00	57.00	
INTEM A10	<75. percentile	111	41.00	46.00	50.00	0.013
	>75. percentile	37	36.00	41.00	48.50	
INTEM A20	<75. percentile	111	48.00	53.00	57.00	0.016
	>75. percentile	37	44.00	49.00	54.50	
INTEM A30	<75. percentile	111	50.00	55.00	59.00	0.018
	>75. percentile	37	46.50	51.00	56.50	
Aktivirano vrijeme koagulacije nakon aplikacije protamina (sec)	<75. percentile	111	127.00	138.00	145.00	0.179
	>75. percentile	37	131.50	141.00	149.50	

Parametri InTEM testa su signifikantno korelirali s iznosom drenaže na torakalne drenove, za razliku od ACT parametara gdje nije bilo signifikantne korelacije (Tablica 6).

Tablica 6.

Usporedba korelacijskih koeficijenata parametara INTEM rotacione tromboelastometrije te aktiviranog vremena koagulacije s ukupnim iznosom drenaže na torakalne drenove (mL)

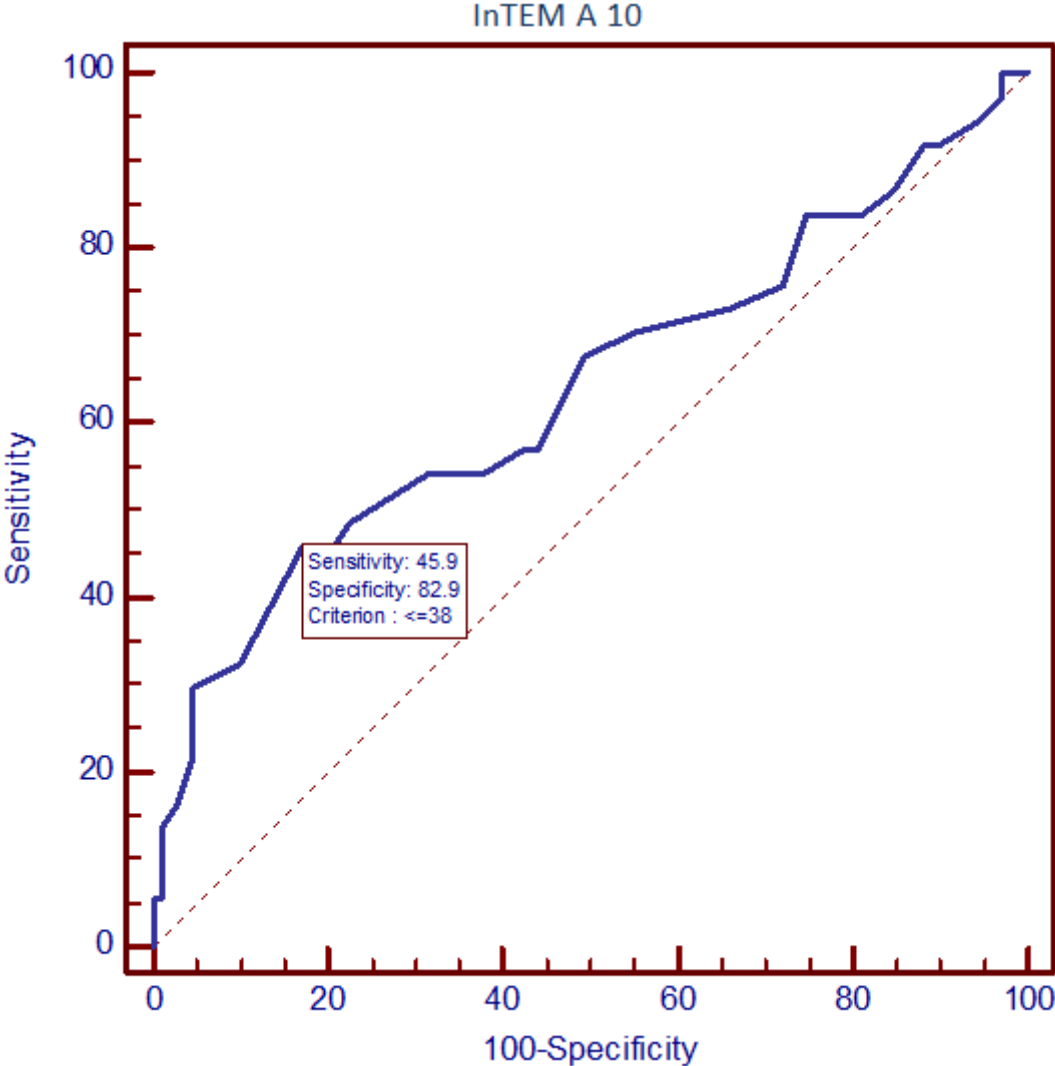
	Spearman korelacija	Ukupna drenaža (ml)
InTEM CT	Koeficijent korelacije	0.165
	P	0.045
	N	148
InTEM CFT	Koeficijent korelacije	0.164
	P	0.047
	N	148
InTEM alfa	Koeficijent korelacije	-0.199
	P	0.015
	N	148
InTEM MCF	Koeficijent korelacije	-0.193
	P	0.019
	N	148
InTEM A10	Koeficijent korelacije	-0.205
	P	0.013
	N	148
InTEM A20	Koeficijent korelacije	-0.201
	P	0.014
	N	148
InTEM A30	Koeficijent korelacije	-0.214
	P	0.009
	N	148
Aktivirano vrijeme koagulacije nakon aplikacije protamina (sek)	Koeficijent korelacije	0.053
	P	0.519
	N	148

INTEM parametri s najjačim korelacijskim koeficijentima u odnosu na iznos ukupne drenaže na torakalne drenove testirani su za svojstvo predikcije ekscesivnog krvarenja pomoću ROC analize. Rezultati ROC analize za parametre INTEM A 10 (AUC 0.636, p=0.02), INTEM A

20 (AUC 0.632, $p=0.02$) te INTEM A 30 (AUC 0.630, $p=0.02$) su prikazani u Slici 17, Slici 18 te Slici 19.

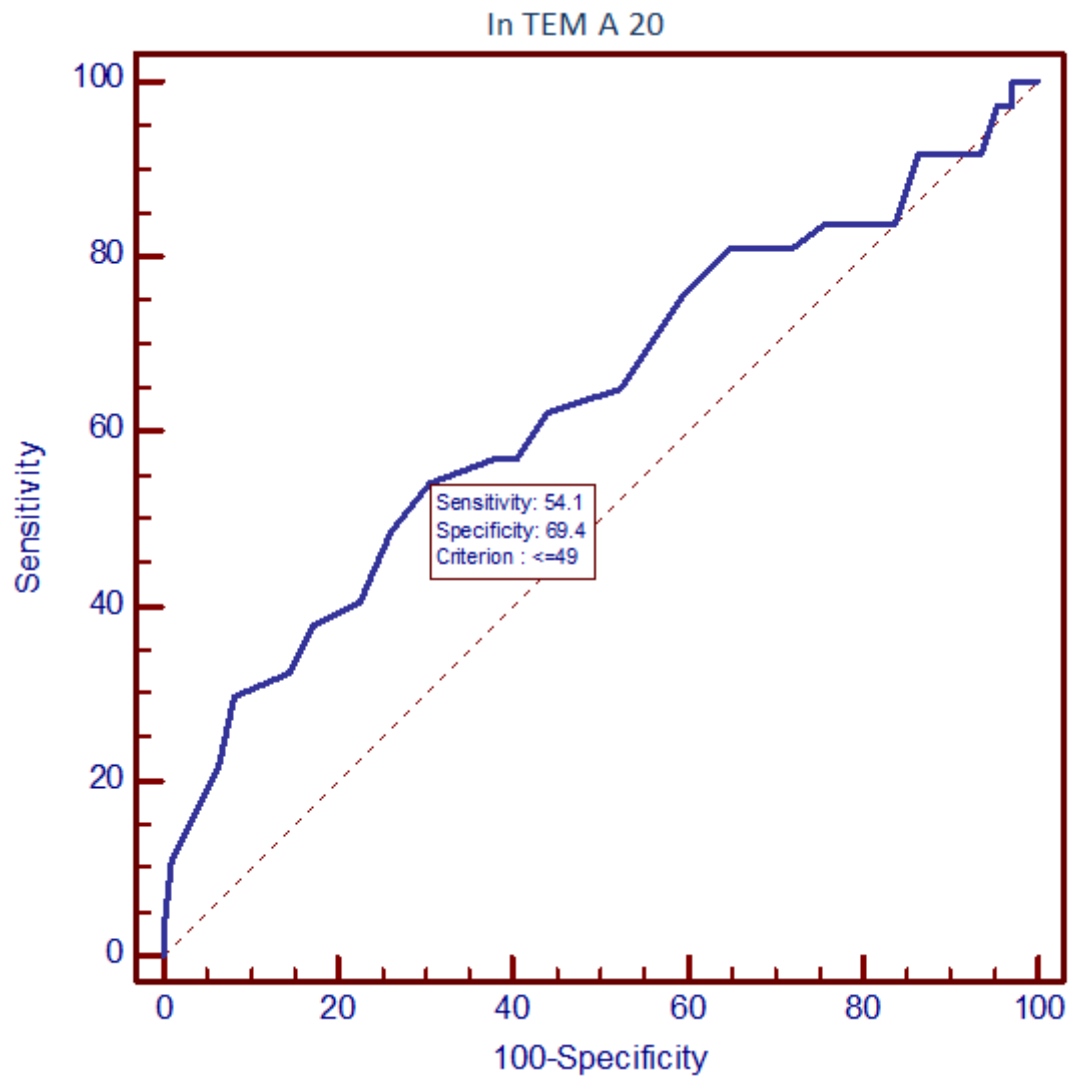
Slika 17.

ROC analiza predikcije ekscesivnog krvarenja po INTEM A 10 parametru (AUC 0.636, p=0.02)



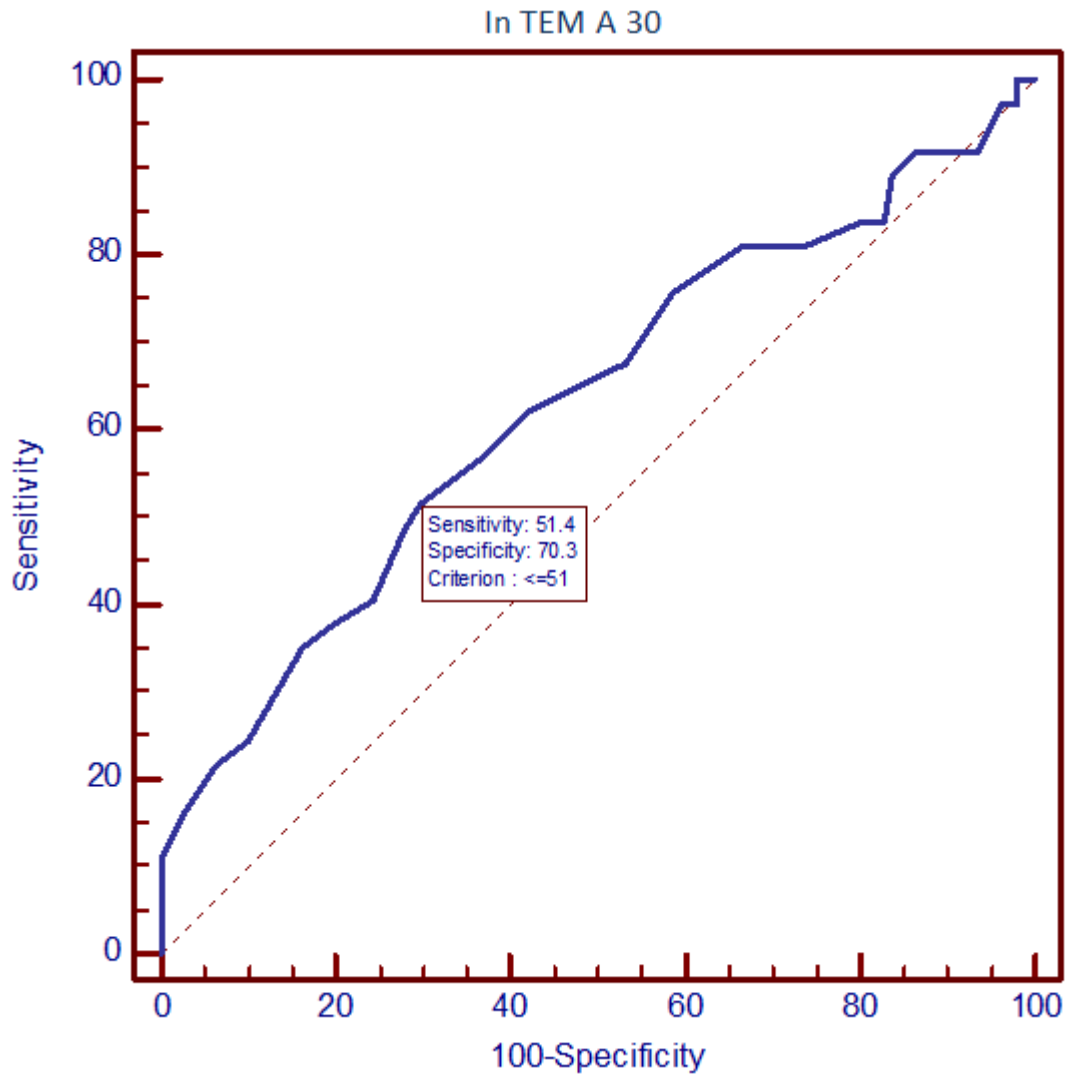
Slika 18.

ROC analiza predikcije ekscisivnog krvarenja po INTEM A 20 parametru (AUC 0.632, $p=0.02$)



Slika 19.

ROC analiza predikcije ekscesivnog krvarenja po INTEM A 30 parametru (AUC 0.630, $p=0.02$)



Rasprava:

Istraživanje provedeno na Klinici za kardijalnu kirurgiju KBC Zageb pokazalo je kako su impedancijska agregometrija uzorka pune krvi te rotaciona tromboelastometrija korisni testovi u predikciji ekscesivnog krvarenja nakon elektivnih kardiokirurških operacija.

Najsnažniji prediktori ekscesivnog krvarenja bili su testovi provedeni u točki T3 , dakle nakon aplikacije protamina. Postoji nekoliko razloga kojima bi mogli objasniti najsnažniju predikciju upravo u ovoj točki. Naime, točka T1 vremenski determinirana kao indukcija anestezije, ima mogućnost prikaza “hemostatskih” svojstava krvi u njihovom, uvjetno rečeno, nativnom stanju. Prisjetit ćemo se kako u ovoj točki nema utjecaja sistemske heparinizacije, nema potrošnje koagulacijskih faktora kroz kontakt s stranim površinama cijevi sistema za izvantjelesni krvotok te nema potencijala za neadekvatnu antagonizaciju heparina protaminom. Poremećaji hemostatskih svojstava krvi u ovoj točki mjerenja uvjetovani su primarno inherentnim hemostatskim svojstvima te činjenicom da su pojedini bolesnici u prijeoperacijskog fazi uzimali antiagregacijske lijekove.

Poremećaj hemostaze koji nastaje nakon izlaganja krvi sistemu za izvantjelesni krvotok kompleksan je, a uključuje potrošnju koagulacijskih parametara, poremećaj funkcije trombocita, hipotermiju, poremećaj hemostaze uvjetovan dilucijom (tzv. dilucijska koagulopatija) itd. Naravno da poremećaj hemostaze u osnovi podrazumijeva i kirurško krvarenje koje kasnije, a u ovisnosti o vlastitom opsegu, uvjetuje nastanak sekundarnog poremećaja hemostaze. Konvencionalni laboratorijski testovi za mjerenje parametara koagulacije nisu u mogućnosti raščlaniti patogenezu višezročne koagulopatije²⁹. Uvriježen je stav da je poremećaj funkcije trombocita najčešći uzrok koagulopatije uvjetovane kontaktom s sistemom izvantjelesnog krvotoka^{2, 30}. U odsutnosti uređaja koji može specifično po mehanizmima kvantificirati funkciju trombocita, rotaciona tromboelastometrija je

insuficijentan indikator funkcije trombocita. Naime, prilikom testiranja rotacione tromboelastometrije, moguće je kvantificirati samo doprinos trombocita u formaciji krvnog ugruška, uz opciju razlučivanja međusobnog doprinosa trombocita i fibrinogena. Specifična kvantifikacija agregabilnosti trombocita na temelju receptorskih ili drugih enzimskih mehanizama nije moguća. Stoga, konkomitantna primjena rotacione tromboelastometrije te impedancijske agregometrije uzorka pune krvi može rezultirati s najkompletnijim tj. najkompleksnijim prikazom poremećaja hemostaze kardiokirurškog bolesnika.

Posebnu pozornost treba obratiti na ulogu rotacione tromboelastometrije u procesu antagonizacije heparina protamin sulfatom. Optimalan uređaj za upravljanje doziranjem heparina kao i njegovom antagonizacijom nije do sada razvijen. Nadalje, poznato je kako su konvencionalni testovi nekompetentni u raščlanjivanju viseuzročnog poremećaja hemostaze²⁹ osobito upravljanja reverzije sistemske antikoagulacije. Uzimajući u obzir činjenicu kako je pravovremena ali prije svega i precizna procjena antagonizacije heparina protaminom osobito važna odlučili smo se na usporedbu ACT parametra i INTEM parametra rotacione tromboelastometrije. Oba dva parametra prikazuju funkcionalnost unutarnjeg puta zgrušavanja. Mjerenje oba dva parametra učinili smo 15 minuta nakon aplikacije protamina. Prilikom usporedbe korelacije između parametra ACT te INTEM s opsegom krvarenja došli smo do spoznaje kako INTEM parametar, ali ne i ACT, statistički značajno korelira s opsegom krvarenja nakon kardiokirurškog zahvata. O kliničkoj relevantnoj superiornosti INTEM parametra u odnosu na ACT parametar govori sama korelacijska razlika, međutim spomenuti ćemo još nekoliko prednosti koje posjeduje INTEM test u odnosu na ACT test: (1) ACT test nije u stanju diskriminirati bolesnike s i bez ekscesivnog krvarenja, te nema mogućnost korelacije s kvantificiranim opsegom krvarenja tj. opservirana korelacija nije bila statistički signifikantna. U dodatku ovome, za napomeniti je kako je uloga ACT-a u mjerenju antikoagulacije pri visokom stupnju antikoagulacije upitna. Za napomenuti je kako su Metz i

suradnici⁴³ objavili da monitoriranja ACT-a i održavanje njegove antikoagulacijske vrijednosti nije bilo potrebno ukoliko bi se aplicirala doza od 300 jedinica/kg intravenskog heparina prije započinjanja s ekstrakorporealnom cirkulacijom⁴³. Za razliku od ACT-a čija je upotreba za vrijeme visokog stupnja antikoagulacije upitna, rotaciona tromboelastometrija s konkomitantnom primjenom INTEM i HEPTEM testa pouzdan je dijagnostički alat za potvrdu visokog stupnja antikoagulacije. (2) Jedna od prednosti INTEM-a u odnosu na ACT je i u području antagonizacije heparina protaminom. Dok su Murray i suradnici²⁸ u svom istraživanju pokazali kako ACT nije vrlo osjetljiv na niske koncentracije heparina koje mogu rezidualno zaostati nakon antagonizacije istog s protaminom, Mittermayr i suradnici²⁴ opisali su tromboelastometriju kao vrijedan dijagnostički aparat u upravljanju heparin-protamin antagonizacije²⁴. Koristeći CT parametar rotacione tromboelastometrije, autori su prikazali kako tromboelastometrija može biti korištena u distinkciji prisutnosti heparinskog suviška u odnosu na suvišak protamina. U našoj studiji INTEM CT parametar značajno je korelirao s drenažom na torakalne drenove. Iako statistički signifikantna, korelacija je relativno slaba ($p=0.045$), fokusirajući CT parametar mahom na upravljanje heparin-protamin antagonizacije u slučajevima visokih vrijednosti CT parametara. (3) Hemostatske promjene nakon izvantjelesne cirkulacije imaju višezročnu etiologiju zbog velikog broja komponenti koje su uključene u koagulacijski mehanizam. Rotaciona tromboelastometrija, za razliku od ACT-a osigurava složen uvid u hemostatska svojstva, omogućujući na taj način detekciju predominantnijeg uzroka poremećaja hemostaze. (4) Upotreba rotacione tromboelastometrije u upravljanju rizikom krvarenja i transfuzijom krvnih pripravaka dovodi do smanjenja prevalencije ekscesivnog krvarenja uz dodatno smanjenje potrošnje prokoagulantnih krvnih pripravaka¹⁹. Ipak, uloga tromboelastometrije u modeliranju kliničkog, te transfuzijskog ishoda liječenja bolesnika trebala bi u cilju utvrđivanja uzročno posljedične povezanosti biti evaluirana kroz prospektivni randomizirani pokus. U našem istraživanju, promatrani INTEM

parametri značajno su korelirali s totalnim iznosom drenaže na torakalne drenove. Uz mogućnost upotrebe pri heparin-protamin antagonizaciji, parametri rotacione tromboelastometrije omogućuju ciljano transfuzijsko liječenje. Ovakav model upravljanja hemostazom ima smisla, posebno u slučajevima kada su izmjerene vrijednosti parametara rotacione tromboelastometrije ispod vrijednosti delinacije ekscesivnog krvarenja po ROC analizi. Razmatrajući model optimizacije antagonizacije heparina protaminom, mi predlažemo sljedeći algoritam hemostaze. Kod bolesnika s visokim INTEM CT parametrima predlažemo konkomitantno korištenje INTEM i HEPTEM testa s modelom antagonizacije kakav je predložen od strane Mittermayr-a i suradnika²⁴. HEPTEM test može se koristiti kako bi se prikazala prisutnost heparina i njegovog učinka na hemostatska svojstva putem komparacije s INTEM parametrima. Ukoliko se krvarenje uočava nakon INTEM-HEPTEM vođene adekvatne antagonizacije heparina protaminom i ukoliko parametri INTEM testa padaju ispod delinacijske vrijednosti određene ROC analizom, potrebno je razmotriti ciljano ordiniranje prokoagulantnih krvnih pripravaka. U tim slučajevima, pored INTEM testa potrebno je koristiti i EXTEM i FIBTEM test kojim se dodatno verificiraju svojstva vanjskog puta zgrušavanja. Kod EXTEM testa može se uočiti nedostatak faktora koagulacije te poremećaj funkcije trombocita u formaciji krvnog ugruška. FIBTEM test je u osnovi identičan EXTEM testu samo posjeduje citohalazin D koji specifično paralizira trombocite te na taj način omogućuje verifikaciju uloge fibrinogena u formaciji krvnog ugruška. Konkomitantna primjena ovih dvaju testova omogućuje diferencijalnu dijagnostiku poremećaja formacije ugruška na dominantan poremećaj funkcije trombocita te dominantan poremećaj funkcije polimerizacije fibrinogena u formaciji krvnog ugruška. Ugrušak u FIBTEM testu formiran je samo na osnovi doprinosa polimerizacije fibrinogena u procesu stvaranja ugruška. Razlika MCF parametra EXTEM testa te MCF parametra FIBTEM testa predstavlja amplitudu u čvrstoći ugruška koja je nastala isključivo na osnovi doprinosa trombocita. Ukoliko u

FIBTEM testu imamo normalne vrijednosti, proces polimerizacije fibrinogena kao i formacija fibrinske mreže je normalna. Ukoliko u ovakvom koagulacijskom statusu imamo snižene vrijednosti MCF parametara EXTEM testa, metodom dedukcije utvrđujemo poremećaj funkcije trombocita što nadalje sugerira mogućnost transfuzije trombocita. Naravno, ukoliko su vrijednosti MCF parametara u FIBTEM testu ispod normalnih vrijednosti, u transfuzijskom liječenju bolesnika prokoagulantnim krvnim pripravcima potrebno je razmotriti ordiniranje koncentrata fibrinogena. Zaključno, naša radna grupa sugerira da bolesnici s vrijednostima INTEM testa ispod vrijednosti razgraničenja za rizik ekscesivno krvarenje su u visokom riziku krvarenja te je indicirana upotreba ostalih reagens testova rotacione tromboelastometrije. Na taj način, rano prepoznat rizik za ekscesivno krvarenje iziskuje složen pristup u procjeni hemostatskih svojstava i posljedičnog rizika krvarenja. Međutim, ekscesivno krvarenje pri normalnim nalazima rotacione tromboelastometrije implicira kirurško krvarenje te se ne bi smjelo empirijski ordinirati prokoagulantne krvne pripravke kao što su svježa smrznuta plazma, koncentrat fibrinogena te koncentrat trombocita. S druge strane, izmjerene vrijednosti rotacione tromboelastometrije koje su iznad linije razgraničenja tendencije ekscesivnom krvarenju ne pretpostavljaju kako bolesnik neće sigurno krvariti, već usmjeravaju na razmatranje kako u slučajevima ekscesivnog krvarenja treba obratiti pozornost na kirurški tip krvarenja. U cilju prevencije ekscesivnog poslijeoperacijskog krvarenja na torakalne drenove, hemostatske intervencije s pravovremenim i ciljanim ordiniranjem prokoagulantnih krvnih pripravaka treba biti razmotreno. Konkomitantna primjena INTEM i HEPTEM testa omogućuje preciznu detekciju niskih do umjerenih koncentracija heparina²⁴. Prema tome, upotreba testa rotacione tromboelastometrije omogućuje liječnicima kako detekciju, tako i prevenciju ekscesivne administracije protamina koja nastaje kao posljedica empirijske ili pak administracije protamina zasnovane na vrijednostima ACT testa. Nadalje, ukoliko perzistiraju poremećaji hemostaze nakon što se

adekvatno titrira heparin/protamin, dodatnom upotrebom EXTEM i FIBTEM tst može se detektirati poremećaj hemostaze, ukoliko isti perzistira. Ovi testovi mogu biti vrlo korisni, osobito kod bolesnika koji razvijaju poremećaj hemostaze nakon izlaganja krvi sistemu za izvantjelesni krvotok. U ovakvim slučajevima, detekcija poremećaja hemostaze kao i diferencijalna dijagnostika priležućeg mehanizma poremećaja hemostaze mogu voditi k ciljanom ordiniranju svježe smrznute plazme, koncentrata fibrinogena , ili pak koncentrata trombocita. Dokazano je kako ovakav ciljani model transfuzije krvnih pripravaka vodi k pozitivnim kliničkim ishodima liječenja¹⁹ i manjoj stopi incidencije ekscesivnog krvarenja, manjoj količini ordinirane transfuzije krvnih pripravaka te posljedično, manjoj stopi neželjenih ishoda liječenja povezanih s transfuzijom krvnih pripravaka.

U predmetnom istraživanju, liječnici operateri i nadležni anesteziolozi bili su zasljepljeni za vrijednosti testova za poremećaj hemostaze te su stoga ordinirali krvne pripravke na temelju konvencionalnih laboratorijskih testova te na osnovi kliničke iskustvene procjene. U prospektivnoj studiji, ordiniranje prokoagulantnih krvnih pripravaka je modeliralo opseg krvarenja na torakalne drenove. Ova redukcija krvarenja dovodi do redukcije stupnja korelacije između opsega krvarenja te parametara testova za poremećaj hemostaze, dakle smanjuje se stopa senzitivnosti te povećava broj lažno pozitivnih nalaza. U svakom slučaju, dizajn istraživanja je prilagođen uobičajenoj kliničkoj praksi te , obzirom na opservacijski karakter studije i etički prihvatljiv model istraživanja omogućuje najbolji mogući, a kliničko izvediv, model predikcije rizika krvarenja kardiokirurškog bolesnika.

U predmetnom istraživanju došli smo do, na prvi pogled, paradoksalnog rezultata. Bolesnici koji su ekscesivno krvarili , primili su veću količinu prokoagulantnih krvnih pripravaka.

Postoji više razloga za ovaj fenomen koji je nelogičan obzirom da bi očekivali da primjena prokoagulantnih krvnih pripravaka reducira kvantum opsega krvarenja. Prije svega, jedan od razloga za ovakve rezultate može se pronaći u vremenu ordiniranja prokoagulantnih krvnih

pripravaka. Dakle , prokoagulantni krvni pripravci ordinirani su empirijski , a ne pravovremeno i ciljano. Ordiniranje krvnih pripravaka u vremenu nakon što je očito ekscesivno krvarenje , rijetko popravlja „hemostatska“ svojstva krvi , a češće se radi o nadoknadi već izgubljenih svojstava koji su izgubljeni samim krvarenjem , a koji nisu etiološki dio samog procesa krvarenja.

Pregled literature:

Dosada su publicirane i pozitivne i negativne studije koje su istraživale mogućnost predikcije krvarenja kardiokirurških bolesnika upotrebom tromboelastometrije te agregometrije.

Essel i suradnici³¹ usporedili su konvencionalnu tromboelastometriju s konvencionalnim laboratorijskim testovima koagulacijskih parametara. I dok su parametri , vrijeme krvarenja i broj trombocita imali senzitivnost sličnu tromboelastometriji, veća specifičnost je zabilježena kod tromboelastometrije. U ovom radu autori su naveli bitan podatak koji će se kasnije često reproducirati u transfuzijskom algoritmu liječenja kardiokirurških bolesnika. Naime, bolesnici s poremećajem hemostaze verificiranim tromboelastometrijom su u povišenom riziku krvarenja³¹ , međutim ekscesivno krvarenje praćeno tromboelastometrijskim parametrima u granicama referalnih vrijednosti implicira kirurško krvarenje te se u takvim slučajevima ne bi smjelo osloniti na slijepo ordiniranje prokoagulantnih krvnih pripravaka³¹. S radom Esela i suradnika³¹ razvijena je ideja ciljanog transfuzijskog liječenja kod poremećaja hemostaze uz prethodnu potrebu jasne distinkcije kirurškog i krvarenja uzrokovanog poremećajem hemostaze³¹.

Analizirajući bolesnike koji su se podvrgnuli operaciji koronarnog premoštenja Ti i suradnici¹⁶ su pronašli umjerenu korelaciju između parametara tromboelastometrije s jedne strane te s druge strane gubitka krvi i potrebama za transfuzijom krvnih pripravaka kod bolesnika u riziku ekscesivnog krvarenja¹⁶. Jedan od glavnih nedostataka ovog znanstvenog rada je činjenica da su samo bolesnici podvrgnuti operaciji koronarnog premoštenja bili

uključeni u istraživanje¹⁶. Operacija koronarnog premoštenja razlikuje se od drugih kardiokirurških operacija po dužini trajanja ekstrakorporealne cirkulacije, dobi bolesnika te prijeoperacijskom kliničkom statusu. Mengistu i suradnici prikazali su u svom istraživanju da su bolesnici koji su imali potrebu za transfuzijama krvnih pripravaka imali zabilježene niže vrijednosti ADP receptorske aktivnosti trombocita u usporedbi s netransfudiranim bolesnicima, dok tromboelastometrijski parametri nisu pokazali značajne razlike u tom smislu¹⁴. Ovi rezultati mogu se objasniti činjenicom kako je u predikciji ekscesivnog krvarenja teško napraviti jasnu stratifikaciju prije samog operacijskog zahvata. Ukoliko je moguće napraviti ikakvu stratifikaciju, onda je to izvedivo s testovima koji mjere funkciju trombocita. Bolesnici se u prijeoperacijskoj fazi mogu međusobno razlikovati prema izloženosti antiagregacijskim lijekovima. Stoga, procjena rizika krvarenja može biti moguća ukoliko kvantificiramo funkciju trombocita prije operacijskog zahvata i dokažemo korelaciju testova funkcije trombocita s opsegom perioperacijskog krvarenja. Naša iskustva ponešto su drugačija od onih Mengistua i suradnika¹⁴. Uspoređujući bolesnike prema potrebi za transfuzijom krvnih pripravaka u prijeoperacijskoj fazi, nismo zabilježili razlike u vrijednostima agregometrijskih parametara³² što nije u skladu s rezultatima Mengistu i suradnika¹⁴. Međutim, u istoj fazi mjerenja (T1) parametri INTEM, EXTEM i FIBTEM bili su značajno niži kod bolesnika koji su iziskivali transfuzijsko liječenje³². Međutim, fenomen sličan ovom opisanom kod Mengistu i suradnika¹⁴ opisali smo u prethodnom istraživanju naše istraživačke grupe³³. U skupini od 211 bolesnika koji su se podvrgnuli operaciji koronarnog premoštenja utvrdili smo kako su bolesnici koji su transfuzijski liječeni imali zabilježene značajno niže vrijednosti parametara impedancijske agregometrije³³. Osim toga, parametri impedancijske agregometrije senzitivni za učinak aspirina i klopidozela signifikantno su korelirali s opsegom krvarenja na torakalne drenove³³. Ovu opazajnu razliku između naših dvaju istraživanja možemo objasniti činjenicom kako smo u prvom istraživanju uključili

bolesnike koji su bili podvrgnuti samo operaciji koronarnog premoštenja³³. Ta je subpopulacija kardiokirurških bolesnika učestalije prijeoperacijski podvrgnuta antiagregacijskom liječenju s većim udjelom bolesnika koji su recentno prijeoperacijski izloženi dvojnjoj antiagregacijskoj terapiji³³. Forrestier i suradnici opisali su niže vrijednosti adenzin-di-fostat receptorske trombocitne aktivnosti kod bolesnika koji su imali tendenciju ekscesivnom krvarenju nakon kardiokirurškog zahvata³⁴. Slične rezultate s prijeoperacijskim mjerenjima prikazali smo u jednom od naših istraživanja na kohorti bolesnika koji su se podvrgavali operaciji koronarnog premoštenja³³. U istraživanju koje je predmet ove disertacije uočili smo sličan trend, ali kod intraoperacijskih mjerenja u T2 točki (Spearman $r = -0.230$, $p=0.005$) i T3 točki (Spearman $r = -0.299$, $p<0.001$), dok prijeoperacijska mjerenja (vremenska točka T1) vrijednost parametara ADP testa nije statistički značajno korelirala s opsegom krvarenja na torakalne drenove. Ray i suradnici opisali su u svom istraživanju ekscesivno krvarenje kod bolesnika s smanjenom agregabilnošću trombocita³⁵. Ovi rezultati su samo donekle slični rezultatima našeg istraživanja. Prijeoperacijske vrijednosti agregabilnosti trombocita u T1 vremenskoj točki bile su značajno niže u ASPI testu (Median 20 vs. 40 AUC, $p=0.043$), ali ne i u ADP i TRAP testu.

Za razliku od prije spomenutih studija koje su opisivale, poput naše, pozitivne rezultate, pronašli smo u literaturi i studije koje su publicirale negativne rezultate u prikazu predikcije krvarenja upotrebom uređaja za mjerenje koagulacijskih i agregacijskih parametara. Nutall i suradnici opisali su međuodnos tromboelastometrijskih parametara i opsega krvarenja nakon ekstrakorporealne cirkulacije³⁶. Vrijednosti tromboelastometrijskih parametara koje su bile u najvećoj mjeri senzitivne i specifične u distinkciji bolesnika s i bez ekscesivnog krvarenja bile su u rasponu normalnih vrijednosti³⁶. Ozbiljniji nedostatak ovog istraživanja³⁶ bila je činjenica kako su bolesnici okarakterizirani kao ekscesivno krvareći na osnovi subjektivne procjene anesteziologa i kirurga. Uz činjenicu kako su zabilježene vrijednosti koje su činile

distinkciju bolesnika po riziku krvarenja bile u rasponu referentnih vrijednosti za napomenuti je kako nije postojala značajna statistička korelacija između parametara tromboelastometrije i iznosa krvarenja na torakalne drenove³⁶. Dorman i suradnici nisu uspjeli prikazati statistički značajnu korelaciju između parametara tromboelastografije i opsega krvarenja³⁷. Sličan neuspjeh predikcije krvarenja, te nedostatka statistički značajne korelacije parametara tromboelastometrije i poslijeoperacijskog opsega krvarenja opisan je od strane Wang i suradnika³⁸. Ostrowski i suradnici opisali su korelaciju između parametara prijeoperacijske tromboelastometrije i potrošnje krvnih pripravaka³⁹, međutim nije bilo statistički signifikantne korelacije između tromboelastografije te iznosa drenaže na torakalne drenove³⁹. Cammerer i suradnici²⁶ korisili su rotacionu tromboelastometriju i impedancijsku agregometriju uzorka pune krvi u predikciji poslijeoperacijskog krvarenja kardiokirurškog bolesnika²⁶. Stratifikacija bolesnika prema riziku krvarenja bila je moguća na osnovi parametra maksimalne čvrstoće krvnog ugruška (MCF) te alfa kuta koji je parametar dinamike procesa polimerizacije u formaciji krvnog ugruška, ali niska pozitivna prediktivne vrijednost nije dopustila kliničku primjenjivost²⁶.

Zaključak:

U cilju prevencije ekscesivnog poslijeoperacijskog krvarenja trebalo bi razmotriti konkomitantnu primjenu impedancijske agregometrije uzorka pune krvi i rotacione tromboelastometrije. Konkomitantna primjena ovih uređaja omogućuje višeslojnu mogućnost sprečavanja ekscesivnog krvarenja. Prije svega, moguće je pravovremeno detektirati bolesnike koji su u visokom stupnju inhibicije trombocita zbog prijeoperacijske terapije antiagregacijskim lijekovima. Na ovaj način moguće je temeljem ovih testova prijeoperacijski pravovremeno isključiti antiagregacijske lijekove. Osim upravljanja načinom ordiniranja antiagregacijskih lijekova u prijeoperacijskom periodu mogućnosti sprečavanja ekscesivnog krvarenja pružaju se i u tijeku samog operacijskog zahvata na otvorenom srcu uz upotrebu stroja za izvantjelesni krvotok. Naime, prijeoperacijska antiagregacijska terapija samo jednim dijelom uzrokuje poremećaj hemostaze kod kardiokirurškog bolesnika. Daljnji poremećaj hemostaze nastaje pri protoku krvi kroz uređaj za izvantjelesni krvotok. U tom periodu pokazali smo da je moguće predikcionirati ekscesivno krvarenje što nam omogućava višestruku kliničku korist. Prije svega moguća je stratifikacija bolesnika prema riziku krvarenja što dalje konsekventno omogućuje daljnje postupke zbrinjavanja ekscesivnog krvarenja. Naime, ukoliko je vrijednost parametara rotacione tromboelastometrije u vrijednostima koje sugeriraju normalna hemostatska svojstva, a prisutna je klinička sumnja na rizik ekscesivnog krvarenja, krvarenje je vjerojatno kirurški uvjetovano, dakle potrebne su kirurške mjere hemostaze. Ukoliko pak imamo vrijednosti rotacione tromboelastometrije koje ukazuju na poremećaj hemostaze i poremećaj viskoelastičnih svojstava krvnog ugruška, potrebno je transfuzijsko liječenje kojim će se optimizirati hemostatska svojstva krvi. Naime, kao što smo u sekciji “Materijali i Metode” prethodno opisali, prema nalazima rotacione tromboelastometrije i impedancijske agregometrije uzorka pune krvi moguće je raslojiti poremećaj hemostaze prema najprominentnijem uzroku. Prije svega moguće je detektirati

poremećaj funkcije trombocita i u slučaju koagulopatije utvrditi da li je poremećaj formacije ugruška prije svega uvjetovan poremećajem trombocita ili pak fibrinogena. S druge strane, moguće je utvrditi i relativni nedostatak faktora koagulacije, a osim toga i poremećaj hiperfibrinolize. Posebna vrijednost konkomitantne primjene ovih testova krije se u činjenici kako diferencijalna dijagnostika poremećaja hemostaze može usmjeriti transfuzijsko liječenje. Pomoću gore spomenutih testova moguće je ordinirati specifičnu terapiju prokoagulantnim krvnim pripravcima kao što su svježa smrznuta plazma, koncentrat trombocita, koncentrat fibrinogena itd. Ciljanom primjenom prokoagulantnih krvnih pripravaka moguće je s manjim dozama usmjerenima k dominantnom uzroku poremećaja hemostaze optimizirati hemostatska svojstva krvi pri tom izbjegavajući ekscesivnu "slijepu" nadoknadu prokoagulantnim krvnim pripravcima. Implementacija funkcionalnih testova hemostaze dovodi do redukcije u potrošnji krvnih pripravaka^{19, 40} što je osobite važnosti uzimajući u obzir opće poznate neželjene nus- učinke transfuzije prokoagulantnim krvnim pripravcima.

Usporedba rezultata različitih istraživanja moguća je samo na načelnoj osnovi. Naime, u različitim istraživanjima koristili su se različiti uređaji za tromboelastometriju koji, iako su u osnovi vođeni identičnim principom, metodološki se ne mogu poistovjetiti. Osim toga, različiti autori koristili su različite stimulse (agoniste) koagulacijskog procesa. Stoga su sve usporedbe među rezultatima istraživanja aproksimativne i upućuju na općenite zaključke. Osim toga vrijedno je spomenuti činjenicu kako u literaturi ne postoji egzaktna definicija ekscesivnog krvarenja^{41, 42}. Naime, u različitim opisanim istraživanjima opisane su različite definicije ekscesivnog krvarenja. Definicija ekscesivnog krvarenja je nažalost kompleksna i zasada ne postoji literaturni konsenzus oko uniformizirane definicije ovog pojma. Nažalost, jedini zajednički nazivnik svim definicijama jest činjenica da su bolesnici u toj definiciju uistinu klinički bili izloženi značajnom krvarenju. Nedostatak jedinstvene vrijednosti koja bi bila općenito primjenjena nadalje smanjuje precizne usporedbe rezultata istraživanja. U našem

istraživanju definirali smo krvarenje na način da smo iznos volumena na torakalne drenove podijelili s tjelesnom težinom bolesnika³². Raspon izmjerenih vrijednosti percentilno je podijeljen te su bolesnici s više od 75 – te percentile iznosa krvarenja na torakalne drenove ocijenjeni kao ekscesivno krvareći. Ovakav način definicije krvarenja univerzalno je primjenjiv, a uzima u obzir i značajne antropometrijske razlike među kohortama različitih istraživanja. Jedan od potencijalnih razloga zbog čega je teško uniformizirati definiciju ekscesivnog krvarenja leži u činjenici da je krvarenje u statističkom smislu kontinuirana varijabla i može se staviti u kontekst razmatranja distribucije vrijednosti, ali i u kontekst kliničkog ili transfuzijskog ishoda liječenja. U svakom slučaju, potrebno je razgraničavanje krvarenja jednom arbitrarnom vrijednosti koja arteficialno jednu kontinuiranu varijablu dijeli na dva razreda (ekscesivno i ne-ekscesivno krvarenje). Kao parametar primarnog ishoda razmatranja odlučili smo se na opseg krvarenja prikazan kroz volumen krvi na torakalnim drenovima. Ti i suradnici¹⁶ opisali su kompleksnost mjerenja količine krvarenja nakon kardiokirurškog zahvata kao i nedostatke krvarenja na torakalne drenove kao primarne mjere ishoda¹⁶. Tekućina koja se drenira na torakalne drenove (pleuralni i medijastinalni drenovi) sastoji je od mješavine tekućina sačinjenih od stvarne krvi i fiziološke otopine koja zaostane nakon ispiranja pleuralnih šuplina i medijastinuma. Navedena tekućina se sukcijom odstrani u velikoj mjeri prije zatvaranja toraksa, međutim teoretski je moguće da određeni volume tekućine zaostane i nakon zatvaranja toraksa. S druge strane osim, krvi i fiziološke otopine, sadržaj tekućine sadrži i u određenoj mjeri transudat. Naime, udio transudate u dekompenzacijskim izljevima je kudikamo veći, dok je udio istog u sadržaju poslijeoperacijske drenaže na torakalne drenove simboličan u ranom poslijeoperacijskom period, ali svakako vrijedan spomena u teoretskoj špekulaciji. S druge strane bolesnik ne krvari samo u medijastinum ili pleuru već i na rezne rubove poslijeoperacijskih rana (sternotomijske, mjesta postavljanja drena, mjesta ekstirpacije vene saphenae magnaе) . Iznos

tog krvarenja nije uračunat u kalkulacije zbog objektivnih problema u kvantifikaciji istog. U dodatku prethodnim opservacijama potrebno je spomenuti kako se krvarenje u torakalnim drenovima sastoji od dvije etiološke komponente : 1. Kirurškog krvarenje te 2. Koagulopatijskog krvarenja. Prisutnost kirurškog krvarenja metodološki predstavlja ograničenje u razmatranju senzitivnosti , a posebno specifičnosti navedenih dijagnostičkih testova. U kliničkim uvjetima nismo bili u prilici ostvariti metodološki idealan scenarij te smo bili primorani testove za mjerenje poremećaja hemostaze korleirati s krvarenjem kao primarnim ishodom razmatranja sačinjenim od kirurškog i koagulopatijskog krvarenja u različitim omjerima. Ovi argumenti mogu sigurno u određenoj mjeri objasniti zabilježene relativno niske vrijednosti specifičnosti navedenih testova u ROC analizi. Stoga pozivamo na oprez u iščitavanju nalaza testova. Naime, ukoliko bolesnik ima izmjerenu vrijednost testa impedancijske agregometrije uzorka pune krvi te rotacione tromboelastometrije koje su iznad onih definiranih ROC analizom, vrlo je vjerojatno da bolesnik neće krvariti radi hemostatskog poremećaja. Međutim, ne možemo zaključiti da bolesnik neće uopće krvariti jer je nemoguće na osnovi navedenih testova determinirati rizik pojave kirurškog krvarenja. Zaključno, unatoč nalazima impedancijske agregometrije uzorka pune krvi i rotacione tromboelastometrije koji su u granicama definirano normalnih vrijednosti, bolesnik i dalje može biti u visokom riziku za ekscesivno krvarenje, ovog puta kirurškog tipa. Stoga u slučajevima bolesnika koji krvare s normalnim nalazima funkcionalnih testova hemostaze posebnu pozornost treba obratiti na kirurško krvarenje kao i činjenicu da se takav oblik krvarenja može zaustaviti isključivo kirurškim metodama hemostaze. U aktualnom istraživanju, započeli smo s mjerenjem drenaže na torakalne drenove nakon tzv stabilizacijskog perioda od 30 minuta nakon zatvaranja prsnog koša. Sadržaj na torakalnim drenovima u tom periodu može biti uvjetovan posturalnim promjenama prilikom transferiranja bolesnika iz operacijske dvorane prema jedinici intenzivnog liječenja, ili tekućinom koja je zaostala prilikom ispiranja toraksa u fazi

hemostaze i toaleta medijastinuma. S druge strane, za predikciju krvarenja koristili smo mjerenje krvarenja u prvih 24 sata nakon operacijskog zahvata. Sadržaj na drenove nakon 24 sata ima značajno veći rizik da bude uvjetovan kirurškim krvarenjem (ispali klip s arterije ili vene) te transudatom te ga nismo smatrali krvarenjem zbog hemostatskog poremećaja.

Dotičući se transudata u sadržaju drenova moramo naglasiti kako je sadržaj na torakalnim drenovima cijelo vrijeme monitoriranja bio promatran od strane grupe istraživača, nije imao makroskopske elemente transudata te je porast sadržaja na torakalne drenove bio uvijek pridružen s pripadajućim padom u vrijednosti hemoglobina što je indikativno za krvarenje. Osim toga, volumna nadoknada je po protokolu anesteziološke službe bila restriktivna te smatramo da ovakvim restriktivnim oblikom nadoknade volumena nismo smanjivali nivo albumina na razinu koja bi bila povezana s značajnim padom u koloidno-osmotskom tlaku kod bolesnika kod kojih su prijeoperacijski izmjerene normalne vrijednosti proteina (mjerenje razine proteina je standardan panel prijeoperacijskih laboratorijskih testova, za razliku od albumina). Obzirom na prospektivni opservacijski karakter istraživanja, liječnici kirurzi i anesteziolozi koji su skrbili o bolesnicima bili su zasljepljeni na vrijednosti impedancijske agregometrije uzorka pune krvi i rotacione tromboelastometrije te se shodno tome, nadoknada prokoagulantnih krvnih pripravaka provodila na temelju kliničke prosudbe i nalaza konvencionalnih laboratorijskih pretraga, a u skladu s najboljom dostupnom rutinskom kliničkom praksom. S druge strane, upravo nadoknada krvnih pripravaka ordinirana u sklopu rutinske kliničke prakse, remeti idealni eksperimentalni model predikcije krvarenja i smanjuje svakako opseg krvarenja, kao i proporciju bolesnika s ekscisivnim krvarenjem. Ova redukcija primarnog ishoda razmatranja nadalje smanjuje stupanj korelacije između volumena krvarenja na torakalne drenove i parametara impedancijske agregometrije uzorka pune krvi te rotacione tromboelastometrije povećavajući na taj način broj bolesnika s lažno-pozitivnim rezultatima, i

smanjujući senzitivnost impedancijske agregometrije uzorka pune krvi te rotacione tromboelastometrije.

Konačno, impedancijska agregometrija uzorka pune krvi te rotaciona tromboelastometrija korisne su u razlikovanju bolesnika prema prisutnosti ekscesivnog krvarenja i osiguravaju signifikantne korelacije s krvarenjem na torakalne drenove. Kao što smo prethodno spomenuli, vrijednosti iznad „cut-off“ vrijednosti ne impliciraju kako bolesnik neće krvariti, te u slučaju pojave krvarenja treba posebnu pozornost obratiti kirurškom uzroku krvarenja.

Upravljanje rizikom krvarenja s pravovremenim i ciljanim liječenjem prokoagulantnim krvnim pripravcima na temelju nalaza impedancijske agregometrije uzorka pune krvi te rotacione tromboelastometrije trebalo bi biti analizirano u kontekstu kliničkog ishoda liječenja kao što su mortalitet, stopa ekscesivnog krvarenja te potreba za transfuzijom.

Sažetak:

Uvod

Ekscesivno krvarenje nakon kardiokirurških zahvata rizični je faktor za nastanak neželjenih ishoda liječenja. Razlikovanje između bolesnika koji krvare radi kirurških razloga od onih kod kojih je krvarenje uvjetovano poremećajem hemostaze predstavlja izazov u svakodnevnoj praksi. Cilj studije je ispitati mogućnost predikcije ekscesivnog krvarenja upotrebom uređaja za procjenu funkcije trombocita te svojstava krvnog ugruška.

Metode

Prospektivna opservacijska studija uključila je 148 bolesnika (od čega je 43 ženskog spola) Ekscesivno krvarenje karakterizirano je kao krvarenje koje nadilazi 75.-tu percentilu distribucije torakalne drenaže u prva 24 sata. Impedancijska agregometrija (MEA, s ASPI, ADP te TRAP testom) i rotaciona tromboelastometrija (TEM, s ExTEM, HepTEM i FibTEM testovima) izvedeni su u tri vremenske točke: prijeoperacijski (T1), za vrijeme ekstrakorporalne cirkulacije (T2) te nakon aplikacije protamina (T3). Primarni ishod razmatranja je drenaža na torakalne drenove dok je sekundarna mjera ishoda transfuzija krvnih produkata te 30 – dnevni i jednogodišnji mortalitet.

Rezultati

Testovi izvedeni nakon aplikacije (T3) protamina bili su najbolji prediktori ekscesivnog krvarenja. Bolesnici koji su ekscesivno krvarili imali su u točki T3 značajno niže vrijednosti MEA ASPI testa (median, 14 vs. 27 AUC, $p=0.004$) i ADP testa (median, 22 vs. 41 AUC, $p=0.002$) kao i vrijednosti TEM testova iskazane u maksimalnoj čvrstoći ugruška nakon 30 minuta (iskazana u mm) (MCF 30) za ExTEM (53 vs. 56 mm, $p=0.005$), HepTEM (48 vs. 52 mm, $p=0.003$) i FibTEM (8 vs. 11 mm, $p<0.001$) testove. Drenaža na torakalne drenove u prva 24 sata inverzno je korelirala s MEA parametrima (ASPI test: $r=-0.236$, $p=0.004$; ADP

test: $r=-0.299$, $p<0.001$), i parametrima rotacione tromboelastometrije TEM MCF 30 (ExTEM: $r=-0.295$, $p<0.001$; HepTEM: -0.329 , $p<0.001$; FibTEM: -0.377 , $p<0.001$).

Zaključak:

Istraživanje je potvrdilo MEA i TEM kao korisne uređaje u predikciji ekscesivnog krvarenja.

U cilju prevencije ekscesivnog krvarenja nakon operacije, pravovremeno i ciljano liječene temeljeno na nalazima MEA i TEM uređaja trebalo bi biti razmotreno u svakodnevnoj kardiokirurškoj praksi.

Summary:

Perioperative bleeding risk assessment in patients following cardiac surgery using whole blood impedance aggregometry and rotational thromboelastometry

Introduction

Excessive bleeding after cardiopulmonary bypass (CPB) is risk factor for adverse outcomes after elective cardiac surgery (ECS). Differentiating between patients who bleed due to surgical issues and those whose excessive chest tube output (CTO) is due to coagulopathy, remains challenging. Bedside suitable tests to identify hemostatic disturbances and predict excessive bleeding are desirable. The study sought to evaluate prediction of excessive bleeding after ECS using two bedside suitable devices for platelet function and viscoelastic blood clot properties assessment.

Methods

We enrolled 148 patients (105 male and 43 female) undergoing ECS in a prospective observational study. Patients were characterized as bleeders if their 24 hour CTO exceeded the 75th percentile of distribution. Multiple electrode aggregometry (MEA, with ASPI, ADP and the TRAP test) and rotational thromboelastometry (TEM, with ExTEM, HepTEM and FibTEM test), were performed at three time points: preoperatively (T1), during CPB (T2), and after protamine administration (T3). The primary endpoint was CTO and the secondary endpoint was administration of blood products, 30-day and 1 year mortality.

Results

The best predictors of increased bleeding tendency were the tests performed after protamine administration (T3). At T3, patients characterized as bleeders had significantly lower MEA ASPI (median, 14 vs. 27 AUC, $p=0.004$) and ADP test values (median, 22 vs. 41 AUC, $p=0.002$) as well as TEM values expressed in maximum clot firmness after 30 min (MCF 30) for ExTEM (53 vs. 56 mm, $p=0.005$), HepTEM (48 vs. 52 mm, $p=0.003$) and FibTEM (8 vs.

11 mm, $p < 0.001$) test. 24 hour CTO inversely correlated with both the MEA (ASPI test: $r = -0.236$, $p = 0.004$; ADP test: $r = -0.299$, $p < 0.001$), and TEM MCF 30 (ExTEM: $r = -0.295$, $p < 0.001$; HepTEM: -0.329 , $p < 0.001$; FibTEM: -0.377 , $p < 0.001$) test values.

Conclusion

Our study showed that MEA and TEM are useful methods for prediction of excessive bleeding after ECS. In order to prevent excessive postoperative CTO, hemostatic interventions with timely and targeted blood component therapy according to MEA and TEM results should be considered.

Mate Petričević

Godina 2014

Popis literature:

1. Fergusson DA, Hebert PC, Mazer CD, Fremes S, MacAdams C, Murkin JM, et al. A comparison of aprotinin and lysine analogues in high-risk cardiac surgery. *N Engl J Med*. 2008; **358**(22): 2319-31.
2. Woodman RC, Harker LA. Bleeding complications associated with cardiopulmonary bypass. *Blood*. 1990; **76**(9): 1680-97.
3. Dixon B, Santamaria JD, Reid D, Collins M, Rechnitzer T, Newcomb AE, et al. The association of blood transfusion with mortality after cardiac surgery: cause or confounding? *Transfusion*. 2012.
4. Practice Guidelines for blood component therapy: A report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy. *Anesthesiology*. 1996; **84**(3): 732-47.
5. Lackritz EM, Satten GA, Aberle-Grasse J, Dodd RY, Raimondi VP, Janssen RS, et al. Estimated risk of transmission of the human immunodeficiency virus by screened blood in the United States. *N Engl J Med*. 1995; **333**(26): 1721-5.
6. Tremolada F, Chiappetta F, Noventa F, Valfre C, Ongaro G, Realdi G. Prospective study of posttransfusion hepatitis in cardiac surgery patients receiving only blood or also blood products. *Vox Sang*. 1983; **44**(1): 25-30.
7. Fries D, Streif W, Haas T, Kuhbacher G. [Dilutional coagulopathy, an underestimated problem?]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*. 2004; **39**(12): 745-50.
8. Edmunds LH, Jr., Ellison N, Colman RW, Niewiarowski S, Rao AK, Addonizio VP, Jr., et al. Platelet function during cardiac operation: comparison of membrane and bubble oxygenators. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1982; **83**(6): 805-12.

9. Harker LA, Malpass TW, Branson HE, Hessel EA, 2nd, Slichter SJ. Mechanism of abnormal bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass: acquired transient platelet dysfunction associated with selective alpha-granule release. *Blood*. 1980; **56**(5): 824-34.
10. Mammen EF, Koets MH, Washington BC, Wolk LW, Brown JM, Burdick M, et al. Hemostasis changes during cardiopulmonary bypass surgery. *Semin Thromb Hemost*. 1985; **11**(3): 281-92.
11. Gundry SR, Drongowski RA, Klein MD, Coran AG. Postoperative bleeding in cardiovascular surgery. Does heparin rebound really exist? *Am Surg*. 1989; **55**(3): 162-5.
12. Tanaka K, Takao M, Yada I, Yuasa H, Kusagawa M, Deguchi K. Alterations in coagulation and fibrinolysis associated with cardiopulmonary bypass during open heart surgery. *J Cardiothorac Anesth*. 1989; **3**(2): 181-8.
13. Rinder CS, Bohnert J, Rinder HM, Mitchell J, Ault K, Hillman R. Platelet activation and aggregation during cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology*. 1991; **75**(3): 388-93.
14. Mengistu AM, Wolf MW, Boldt J, Rohm KD, Lang J, Piper SN. Evaluation of a new platelet function analyzer in cardiac surgery: a comparison of modified thromboelastography and whole-blood aggregometry. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2008; **22**(1): 40-6.
15. Spiess BD, Tuman KJ, McCarthy RJ, DeLaria GA, Schillo R, Ivankovich AD. Thromboelastography as an indicator of post-cardiopulmonary bypass coagulopathies. *J Clin Monit*. 1987; **3**(1): 25-30.
16. Ti LK, Cheong KF, Chen FG. Prediction of excessive bleeding after coronary artery bypass graft surgery: the influence of timing and heparinase on thromboelastography. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2002; **16**(5): 545-50.
17. Goodnough LT, Soegiarso RW, Birkmeyer JD, Welch HG. Economic impact of inappropriate blood transfusions in coronary artery bypass graft surgery. *Am J Med*. 1993; **94**(5): 509-14.

18. Nightingale CH, Robotti J, Deckers PJ, Allmendinger PD, Lowe R, Low HB. Quality care and cost-effectiveness. An organized approach to problem solving. *Arch Surg*. 1987; **122**(4): 451-6.
19. Spiess BD, Gillies BS, Chandler W, Verrier E. Changes in transfusion therapy and reexploration rate after institution of a blood management program in cardiac surgical patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1995; **9**(2): 168-73.
20. Toth O, Calatzis A, Penz S, Losonczy H, Siess W. Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thromb Haemost*. 2006; **96**(6): 781-8.
21. Milicic D, Lovric D, Skoric B, Narancic-Skoric K, Gornik I, Sertic J. Platelet response to standard aspirin and clopidogrel treatment correlates with long-term outcome in patients with acute ST-elevation myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2011; **153**(2): 227-9.
22. Milicic D, Skoric B, Lovric D. Drug-specific thienopyridine resistance in patient with recurrent coronary stent thrombosis. *J Invasive Cardiol*. 2009; **21**(8): E157-60.
23. Skoric B, Milicic D, Lovric D, Gornik I, Skoric KN, Sertic J. Initial patency of the infarct-related artery in patients with acute ST elevation myocardial infarction is related to platelet response to aspirin. *Int J Cardiol*. 2010; **140**(3): 356-8.
24. Mittermayr M, Margreiter J, Velik-Salchner C, Klingler A, Streif W, Fries D, et al. Effects of protamine and heparin can be detected and easily differentiated by modified thrombelastography (Rotem): an in vitro study. *Br J Anaesth*. 2005; **95**(3): 310-6.
25. Calatzis A WB, Krueger. A new approach to platelet function analysis in whole blood-the multiplate analyzer. *Platelets*. 2004.; **15**: 479-517.
26. Cammerer U, Dietrich W, Rampf T, Braun SL, Richter JA. The predictive value of modified computerized thromboelastography and platelet function analysis for postoperative blood loss in routine cardiac surgery. *Anesth Analg*. 2003; **96**(1): 51-7, table of contents.

27. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. *Jama*. 1966; **196**(5): 436-40.
28. Murray DJ, Brosnahan WJ, Pennell B, Kapalanski D, Weiler JM, Olson J. Heparin detection by the activated coagulation time: a comparison of the sensitivity of coagulation tests and heparin assays. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1997; **11**(1): 24-8.
29. Paparella D, Brister SJ, Buchanan MR. Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. *Intensive Care Med*. 2004; **30**(10): 1873-81.
30. Harker LA. Acquired disorders of platelet function. *Ann N Y Acad Sci*. 1987; **509**: 188-204.
31. Essell JH, Martin TJ, Salinas J, Thompson JM, Smith VC. Comparison of thromboelastography to bleeding time and standard coagulation tests in patients after cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1993; **7**(4): 410-5.
32. Petricevic M, Biocina B, Milicic D, Konosic S, Svetina L, Lekic A, et al. Bleeding risk assessment using whole blood impedance aggregometry and rotational thromboelastometry in patients following cardiac surgery. *J Thromb Thrombolysis*. 2013.
33. Petricevic M, Biocina B, Milicic D, Konosic S, Ivancan V, Milosevic M, et al. Bleeding risk assessment using multiple electrode aggregometry in patients following coronary artery bypass surgery. *J Thromb Thrombolysis*. 2013; **35**(1): 31-40.
34. Forestier F, Coiffic A, Mouton C, Ekouevi D, Chene G, Janvier G. Platelet function point-of-care tests in post-bypass cardiac surgery: are they relevant? *Br J Anaesth*. 2002; **89**(5): 715-21.
35. Ray MJ, Marsh NA, Hawson GA. Relationship of fibrinolysis and platelet function to bleeding after cardiopulmonary bypass. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1994; **5**(5): 679-85.
36. Nuttall GA, Oliver WC, Ereth MH, Santrach PJ. Coagulation tests predict bleeding after cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1997; **11**(7): 815-23.

37. Dorman BH, Spinale FG, Bailey MK, Kratz JM, Roy RC. Identification of patients at risk for excessive blood loss during coronary artery bypass surgery: thromboelastography versus coagulation screen. *Anesth Analg*. 1993; **76**(4): 694-700.
38. Wang JS, Lin CY, Hung WT, O'Connor MF, Thisted RA, Lee BK, et al. Thromboelastogram fails to predict postoperative hemorrhage in cardiac patients. *Ann Thorac Surg*. 1992; **53**(3): 435-9.
39. Ostrowsky J, Foes J, Warchol M, Tsarovsky G, Blay J. Plateletworks platelet function test compared to the thromboelastograph for prediction of postoperative outcomes. *J Extra Corpor Technol*. 2004; **36**(2): 149-52.
40. Royston D, von Kier S. Reduced haemostatic factor transfusion using heparinase-modified thrombelastography during cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth*. 2001; **86**(4): 575-8.
41. Reinhofer M, Brauer M, Franke U, Barz D, Marx G, Losche W. The value of rotation thromboelastometry to monitor disturbed perioperative haemostasis and bleeding risk in patients with cardiopulmonary bypass. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2008; **19**(3): 212-9.
42. Nielsen VG. A comparison of the Thrombelastograph and the ROTEM. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2007; **18**(3): 247-52.
43. Metz S, Keats AS. Low activated coagulation time during cardiopulmonary bypass does not increase postoperative bleeding. *Ann Thorac Surg*. 1990; **49**(3): 440-4.

Biografija:

Mate Petričević

Datum i mjesto rođenja: 23.10.1981. Split , Hrvatska

Adresa i mjesto stanovanja: Zlatarska 14/a ; 10000 Zagreb

E-mail adresa : petricevic.mate@gmail.com

Tel: 01/2367529

Fax: 01/2367531

GSM: 098/1754592

Obrazovanje (kronološki od novijeg k starijem datumu):

2009.- Poslijediplomski doktorski studij, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

2000.-2006. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, na kojem sam diplomirao (28.09.2006.) sa ocjenom odličan i odličnim ukupnim prosjekom.

1996.-2000. IV.Gimnazija “Marko Marulić” (Opći smjer) u Splitu, koju završavam sa izvrsnim uspjehom te sam oslobođen mature.

1988.-1996. Osnovna škola “Trstenik” u Splitu, koju završavam s izvrsnim uspjehom

Radno iskustvo (kronološki od novijeg k starijem datumu):

Od 15. Siječnja 2011. Godine zaposlen sam kao specijalizant na Klinici za kardijalnu kirurgiju Kliničkog bolničkog Centra Zagreb

Od 01. Siječnja 2009. godine zaposlen sam kao znanstveni novak na Klinici za kardijalnu kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb, u sklopu projekta “Hemostatski menadžment visokorizičnog kardiokirurškog bolesnika”, šifra projekta 214-1980976-0974. Voditelj projekta: prof.dr. Bojan Biočina

20. veljače 2008. godine nakon uspješno završenog pripravničkog staža propisanog za doktore medicine-pripravnike položio sam stručni ispit pred ispitnom komisijom Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske