

# Test primarne hemostaze u procjeni rizika krvarenja i učinkovitosti transfuzija koncentrata trombocita u kardiokirurških bolesnika

---

**Bogdanić, Dejana**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:084715>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-29**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



**dabar**

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Dejana Bogdanić**

**TEST PRIMARNE HEMOSTAZE U PROCJENI RIZIKA KRVARENJA  
I UČINKOVITOSTI TRANSFUZIJA KONCENTRATA TROMBOCITA  
U KARDIOKIRURŠKIH BOLESNIKA**

**Doktorska disertacija**

**Split, 2017.**

Rad je izrađen u Centru za transfuzijsku medicinu i Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje Kliničkog bolničkog centra Split.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Nenad Karanović

## **ZAHVALA**

Neizmjernu zahvalnost upućujem svom mentoru prof. dr. sc. Nenadu Karanoviću na pomoći, potpori i strpljenju tijekom provođenja istraživanja.

Zahvaljujem članovima povjerenstva – prof. dr. sc. Srđani Čulić, doc. dr. sc. Slavici Dajak i doc. dr. sc. Mladenu Carevu na vrijednim savjetima i pažljivom čitanju teksta ovog rada.

Veliku zahvalnost upućujem mojoj obitelji na strpljenju i ljubavi.

# SADRŽAJ

## POPIS KRATICA

<b>1.</b>	<b>UVOD</b>	<b>1</b>
<b>1.1.</b>	<b>Hemostaza</b>	<b>1</b>
1.1.1.	Primarna hemostaza	1
1.1.2.	Sekundarna hemostaza	2
1.1.3.	Stanični model zgrušavanja	3
1.1.4.	Fibrinoliza	5
<b>1.2.</b>	<b>Trombociti</b>	<b>6</b>
1.2.1.	Struktura trombocita	7
1.2.2.	Uloga trombocita u procesu hemostaze	8
<b>1.3.</b>	<b>Krvarenje i hemostaza u kardiokirurškim operacijama</b>	<b>11</b>
1.3.1.	Hemostaza u kardiokirurškim operacijama s korištenjem izvantjelesnog krvotoka	11
1.3.2.	Hemostaza u kardiokirurškim operacijama bez korištenja izvantjelesnog krvotoka	12
1.3.3.	Učinak antiagregacijske terapije na hemostazu u kardiokirurških bolesnika	13
1.3.3.1.	Acetilsalicilna kiselina	13
1.3.3.2.	Klopidogrel	14
<b>1.4.</b>	<b>Transfuzije krvnih pripravaka u kardiokirurških bolesnika</b>	<b>15</b>
1.4.1.	Transfuzije koncentrata trombocita u kardiokirurških bolesnika	16
1.4.1.1.	Procjena učinkovitosti transfuzija koncentrata trombocita	17
1.4.2.	Transfuzija koncentrata eritrocita u kardiokirurških bolesnika	17
1.4.3.	Transfuzija svježe smrznute plazme u kardiokirurških bolesnika	18
<b>1.5.</b>	<b>Laboratorijski testovi u praćenju hemostaze u kardiokirurških bolesnika</b>	<b>18</b>
1.5.1.	PFA-100 metoda	19
1.5.2.	PFA-100 metoda u kardiokirurških bolesnika	20

1.5.2.1.	PFA-100 metoda u procjeni rizika krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka	21
1.5.2.2.	PFA-100 metoda u procjeni učinkovitosti transfuzija koncentrata trombocita u kardiokirurških bolesnika	22
<b>2.</b>	<b>CILJ RADA I HIPOTEZE</b>	<b>24</b>
<b>3.</b>	<b>ISPITANICI I POSTUPCI</b>	<b>26</b>
<b>3.1.</b>	<b>Ispitanici</b>	<b>26</b>
3.1.1.	Hodogram – PFA-100® u procjeni rizika krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka u kardiokirurških bolesnika	28
3.1.2.	Hodogram – CADP-CT u procjeni učinkovitosti transfuzija trombocita u kardiokirurških bolesnika	29
<b>3.2.</b>	<b>Postupci</b>	<b>30</b>
3.2.1.	Perioperacijski postupak	29
3.2.2.	Uzorkovanje krvi	30
3.2.3.	Statistička raščlamba	31
<b>4.</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>33</b>
<b>5.</b>	<b>RASPRAVA</b>	<b>51</b>
<b>6.</b>	<b>ZAKLJUČAK</b>	<b>58</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURA</b>	<b>60</b>
<b>8.</b>	<b>SAŽETAK</b>	<b>69</b>
<b>9.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>71</b>
<b>10.</b>	<b>ŽIVOTOPIS</b>	<b>73</b>

## POPIS KRATICA

AA	arahidonska kiselina (engl. <i>arachidonic acid</i> )
ACC/AHA	Američko udruženje kardiologa (engl. <i>The American College of Cardiology/American Heart Association</i> )
ACT	aktivirano vrijeme zgrušavanja (engl. <i>Activated Coagulation Time</i> )
ADP	adenozin difosfat (engl. <i>Adenosine Diphosphate</i> )
AHTR	akutna hemolitička transfuzijska reakcija
aPTV	aktivirano pacijalno tromboplastinsko vrijeme
ASK	acetilsalicilna kiselina
ATP	adenozin trifosfat (engl. <i>Adenosine Triphosphate</i> )
CABG	premosnica koronarne arterije (engl. <i>Coronary Artery Bypass Graft</i> )
CADP	kolagen i ADP (engl. <i>Collagen and ADP</i> )
CCI	korigirani poslijetransfuzijski porast broja trombocita (engl. <i>corrected platelet count increment</i> )
CEPI	kolagen i adrenalin (engl. <i>Collagen and Epinephrine</i> )
CLO	klopidogrel (engl. <i>Clopidogrel</i> )
COX	ciklooksigenaza (engl. <i>Cyclo-Oxygenase</i> )
CPB	izvantjelesni krvotok (engl. <i>Cardiopulmonary Bypass</i> )
CT	vrijeme zatvaranja (engl. <i>Closure Time</i> )
DHTR	odgođena hemolitička transfuzijska reakcija (engl. <i>Delayed Hemolytic Transfusion Reaction</i> )
DTS	gusti tubularni sustav (engl. <i>Dense Tubular System</i> )
EDRF	endotelni relaksirajući čimbenik (engl. <i>Endothelial Derived Relaxing Factor</i> )
F	čimbenik (engl. <i>Factor</i> )
FFP	svježe smrznuta plazma (engl. <i>Fresh Frozen Plasma</i> )
FL	fosfolipid
FNHTR	febrilna nehemolitička transfuzijska reakcija
GFR	procjena glomerularne filtracije (engl. <i>Glomerular Filtration Rate</i> )
GM-CSF	čimbenik stimulacije granulocitno makrofagnih kolonija (engl. <i>Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor</i> )
GP	glikoprotein
Hb	hemoglobin
HLA	sustav antigena tkivne snošljivosti (engl. <i>Human Leukocyte Antigen</i> )

HMWK	kininogen visoke molekularne težine (engl. <i>High Molecular Weight Kininogen</i> )
Htc	hematokrit
IAT	inducirana agregacija trombocita
IL	interleukin
JIL	jedinica intenzivnog liječenja
KE	koncentrat eritrocita
KT	koncentrat trombocita
NO	dušični oksid (engl. <i>Nitric Oxide</i> )
NPV	negativna prediktivna vrijednost
NSAID	nesteroidni protuupalni lijek (engl. <i>Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug</i> )
OCS	otvoreni kanikularni sustav (engl. <i>Open Canicular System</i> )
PAF	trombocitni aktivirajući čimbenik (engl. <i>Platelet Activated Factor</i> )
PAI	inhibitor aktivatora plazminogena (engl. <i>Plasminogen Activator Inhibitor</i> )
PAR	proteazom aktivirani receptori (engl. <i>Protease Activated Receptor</i> )
PFA-100 <sup>®</sup>	analizator funkcije trombocita (engl. <i>Platelet Function Analyser<sup>®</sup>-100</i> )
PF4	trombocitni čimbenik 4 (engl. <i>Platelet Factor 4</i> )
PGI <sub>2</sub>	prostaglandin (engl. <i>Prostaglandin I<sub>2</sub></i> )
PLT	trombociti (engl. <i>Platelet</i> )
POC	uz krevet bolesnika (engl. <i>Point-of-Care</i> )
PPV	pozitivna prediktivna vrijednost
PV	protrombinsko vrijeme
RANTES	regulator ekspresije i sekrecije aktiviranih T limfocita (engl. <i>Regulated On Activation Normal T Cell Expressed and Secreted</i> )
RBC	crvene krvne stanice (engl. <i>Red Blood Cells</i> )
ROTEM	rotacijska tromboelastometrija
SCF	čimbenik stimulacije matičnih stanica (engl. <i>Stem Cell Factor</i> )
SSP	svježe smrznuta plazma
TACO	transfuzijom uzrokovano preopterećenje cirkulacije (engl. <i>Transfusion-Associated Circulatory Overload</i> )
TEG	tromboelastografija
TF	tkivni čimbenik (engl. <i>Tissue Factor</i> )
tPA	tkivni aktivator plazminogena (engl. <i>Tissue Plasminogen Activator</i> )
TPO	trombopoetin

TRALI transfuzijom uzrokovano akutno oštećenje pluća (engl. *Transfusion Related Acute Lung Injury*)

TRIM transfuzijom inducirana imunomodulacija (engl. *Transfusion Induced Immunomodulation*)

TT transfuzija trombocita

TV-GVHD transfuzijom uzrokovana reakcija transplantata protiv primatelja (engl. *Transfusion-Associated Graft Versus Host Disease*)

TxA<sub>2</sub> tromboksan A<sub>2</sub>

vWF von Willebrandov čimbenik (engl. *von Willebrand Factor*)



# 1. UVOD

## 1.1. Hemostaza

Hemostaza je fiziološki proces zaustavljanja krvarenja na mjestu ozljede stijenke krvne žile s ciljem održavanja stabilnog krvnog protoka u cirkulaciji. Zaustavljanje krvarenja je složen proces uvjetovan međusobnim djelovanjem vaskularnih mehanizama, cirkulirajućih trombocita, koagulacijskih proteina i fibrinolitičkog sustava. Endotelne stanice krvnih žila imaju važnu ulogu u održavanju stabilne hemostaze. Prilikom ozljede krvne žile nastaje refleksna vazokonstrikcija glatke muskulature i smanjeni protok krvi, kontaktna aktivacija trombocita i čimbenika koagulacije u cirkulaciji. Posljedica oštećenja je izlaganje subendotelno kolagena i fibronektina trombocitima iz cirkulirajuće krvi. U endotelnim stanicama se sintetiziraju i iz njih oslobađaju slijedeći čimbenici: von Willebrandov čimbenik (engl. *von Willebrand Factor* - vWF), tkivni faktor (engl. *Tissue Factor* - TF), aktivatori plazminogena, antitrombin (AT), trombomodulin i angiotenzin 2. Formiranje krvnog ugruška sastavljenog od trombocita i fibrina rezultat je primarne i sekundarne hemostaze. Nakon zarastanja ozljede fibrinolitički sustav otapa ugrušak <sup>1,2</sup>.

### 1.1.1. Primarna hemostaza

Tri ključne faze procesa primarne hemostaze su:

1. Adhezija trombocita
2. Aktivacija trombocita
3. Agregacija trombocita

Adhezija je vezivanje trombocita preko specifičnih glikoproteinskih (GP) receptora (integrini) membrane trombocita za vWF i kolagen. Cirkulirajući vWF se na jednom kraju molekule veže za subendotelni kolagen, a na drugom za GPIb/IX na membrani trombocita stvarajući most između stijenke krvne žile i trombocita.

Nadalje, nastaje aktivacija trombocita, odnosno otpuštanja citoplazmatskih iona kalcija koji omogućuju sekreciju trombocitnih  $\alpha$ -granula i gustih granula. P-selektin kojeg luče  $\alpha$ -granule

uzrokuje adheziju monocita i granulocita na aktivirane trombocite, a guste granule otpuštaju adenozin difosfat (engl. *Adenosine Diphosphate* - ADP). ADP preko trombocitnog receptora P2Y<sub>1</sub> oslobađa fosfolipazu A<sub>2</sub> na membrani fosfolipida. To omogućava otpuštanje arahidonske kiseline (engl. *Arachidonic Acid* - AA) koja pomoću ciklooksigenaze-1 (COX-1) stvara tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) koji potiče agregaciju trombocita.

Za vrijeme agregacije trombociti otpuštaju adenozin trifosfat (engl. *Adenosine Triphosphate* - ATP) i serotonin. ATP potiče daljnju trombocitnu agregaciju i dolazak novih trombocita na mjesto ozljede, a serotonin potiče vazokonstrikciju. Fosfolipid na membrani trombocita postaje dostupan i osigurava mjesto za fibrin i formiranje ugruška<sup>3</sup>.

### **1.1.2. Sekundarna hemostaza**

Sekundarna hemostaza je niz reakcija plazmatskog sustava zgrušavanja koje rezultiraju stvaranjem fibrinskog ugruška. Odvija se vanjskim i unutarnjim putem koagulacije. Plazmatski čimbenici zgrušavanja sudjeluju u stvaranju trombina, koji pretvara fibrinogen u fibrin. Ugrušak se pomoću fibrina učvršćuje, a fibrin se iz njega širi i fiksira hemostatski čep.

Unutarnji se put koagulacije aktivira povezivanjem koagulacijskih proteina sa subendotelnim vezivnim tkivom. Na unutarnjem putu zgrušavanja F XII, kininogen visoke molekularne mase (engl. *High Molecular Weight Kininogen* - HMWK), prekalikrein i aktivirani čimbenik (engl. *Factor* - F) XI (F XIa) pretvaraju F IX u F IXa. Potom se F IXa veže za FVIIIa i prokoagulatni fosfolipid (nalazi se na površini aktiviranih trombocita i tkivnih stanica) u kompleks koji aktivira F X.

Vanjski put koagulacije se pokreće izravno kad ozljeda krvne žile omogući kontakt krvi i TF-a na membranama stanica. Pokreće se stvaranje kompleksa koji aktiviraju F XI i F IX. Za urednu hemostazu potrebno je aktiviranje F X i pri vanjskom i unutarnjem putu koagulacije. Oba puta koagulacije ne djeluju odvojeno jedan od drugoga već su svi čimbenici zgrušavanja u određenoj interakciji.

Aktiviranje unutarnjeg ili vanjskog puta pokreće zajednički put zgrušavanja koji rezultira nastankom fibrinskog ugruška.

Proces se odvija u tri faze:

1. Stvaranje aktivatora protrombina na površini aktiviranih trombocita i tkivnih stanica
2. Protrombinski aktivator cijepa protrombin na trombin i ostatni fragment
3. Trombin potiče stvaranje fibrinskih polimera iz fibrinogena te aktivira F XIII, enzim koji katalizira stvaranje čvrstih veza između molekula fibrina te F VIII i F XI.

Rezultat je stvaranje stabilnog fibrinskog ugruška. Ugrušak sadržava fibrin kao proizvod sekundarne hemostaze i nakupinu trombocita kao proizvod primarne hemostaze. Koagulacijski čimbenici koji sudjeluju u sekundarnoj hemostazi su: prekursori enzima – zimogeni, kofaktori, kalcij ( $\text{Ca}^{++}$ ) i fosfolipidi (FL). U zimogene ubrajamo čimbenike II, VII, IX, X, XI, XII i prekalikrein. Kofaktori su čimbenik V, VIII, TF i HMWK.

Prirodno zgrušavanje se odvija pretežno vanjskim putem. Za većinu reakcija pri stvaranju trombina potrebni su ioni kalcija. Čimbenici zgrušavanja koji ovise o vitaminu K (II, VII, IX, X) ne mogu se sintetizirati u dovoljnoj količini ni vezati za fosfolipidne površine bez posredovanja<sup>4</sup>.

Rezultati novijih istraživanja ovog vitamina zagovaraju novi model zgrušavanja takozvani stanični model zgrušavanja<sup>4,5</sup>.

### **1.1.3. Stanični model zgrušavanja**

Stanični model zgrušavanja s ciljem stvaranja ugruška na mjestu ozljede krvne žile ima tri faze.

Prva je faza inicijacije u kojoj se cirkulirajućoj krvi izlažu stanice koje nose TF. Fibroblasti u subendotelnom matriksu izražavaju TF. U određenim uvjetima kao u sepsi i prisustvu endotoksina, endotelne stanice i mononukleari mogu vrlo brzo početi izražavati TF. Čimbenik VII u cirkulaciji se brzo veže za TF koji je dio stanične membrane. Spajanje TF-a i čimbenika VII u kompleks aktivira čimbenik X kao i čimbenik IX. Ako se čimbenik Xa odvoji od stanice inaktivira ga AT i inhibitor puta TF. Na stanici se nalazi mala količina trombina koja je nastala aktivacijom čimbenika Xa u kompleksu s čimbenikom Va.

U drugoj fazi zgrušavanja ili amplifikaciji aktivirani trombociti oslobađaju čimbenik V iz  $\alpha$ -granula koji je samo djelomično aktiviran. Čimbenik V se kompletno aktivira djelovanjem trombina ili čimbenika Xa. Trombin također cijepa čimbenik VIII od vWF i aktivira ga. Na

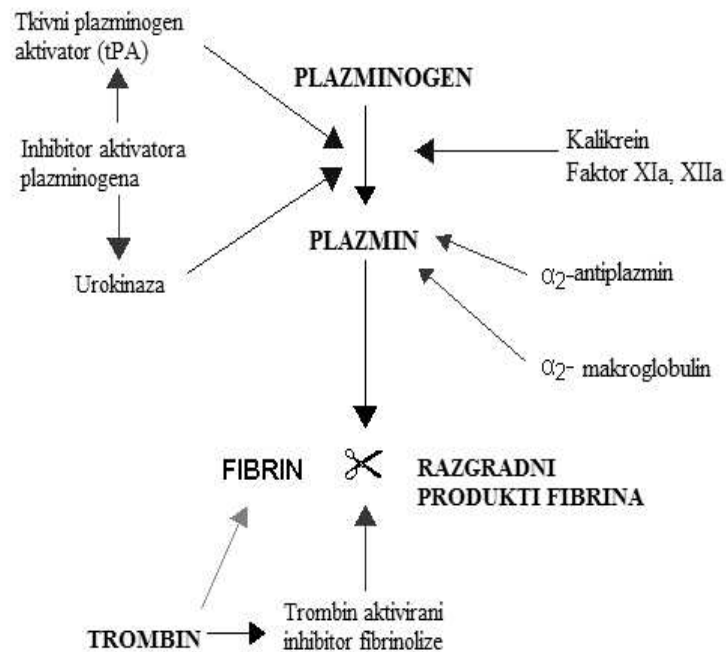
površini trombocita nalaze se aktivirani čimbenik V i VIII spremni za olakšanu generaciju velike količine trombina.

U trećoj fazi zgrušavanja ili propagaciji čimbenik IX dolazi krvlju na aktivirani trombocit i veže se s čimbenikom VIII u kompleks VIIIa/IXa. Taj kompleks aktivira čimbenik X koji s čimbenikom Va čini protrombinski kompleks. On započinje brzu generaciju trombina potrebnu za stvaranje ugruška.

Elementi procesa hemostaze koji uspostavljaju ravnotežu su trombociti, čimbenici zgrušavanja, endotel, kao i inhibicijski mehanizmi agregacije trombocita, zgrušavanja i proces fibrinolize.

#### 1.1.4. Fibrinoliza

Stvaranje i otapanje fibrina su procesi koji moraju biti u ravnoteži kako bi omogućili održavanje hemostatskog čepa, popravak oštećene stijenke krvne žile i kasnije održavanje cirkulacije. Fibrinolitički sustav otapa fibrin pomoću proteolitičkog enzima zvanog plazmin. Fibrinolizu pokreću aktivatori plazminogena, koje oslobađaju stanice žilnog endotela.



Slika 1. Proces fibrinolize - Prikaz stimulacije tkivnim plazminogen aktivatorom (tPA), urokinazom, kalikreinom, F XIa, XIIa i inhibicije (trombinom aktivirani inhibitor fibrinolize,  $\alpha$ -antiplazmin,  $\alpha$ -makroglobulin) fibrinolize.

Plazminogen se zajedno s aktivatorima veže za fibrin. Aktivatori kataliziraju cijepanje plazminogena, čime nastaje plazmin. Plazmin razgrađuje fibrin i otpušta u krvotok topive produkte njegove razgradnje. U aktivatore plazminogena ubrajamo tkivni aktivator plazminogena (engl. *tissue Plasminogen Activator* - tPA), podrijetlom iz endotelnih stanica i urokinazu. Streptokinaza, bakterijski proizvod, koji se u tijelu normalno ne nalazi, još je jedan snažan aktivator plazminogena.

Proces fibrinolize usporavaju inhibitori aktivatora plazminogena (engl. *Plasminogen Activator Inhibitor* - PAI) i inhibitori samog plazmina. PAI-1 inaktivira urokinazu i tPA, a otpuštaju ga stanice žilnog endotela i aktivirani trombociti. Glavni inhibitor plazmina je  $\alpha$ <sub>2</sub>-antiplazmin,

koji inaktivira slobodni plazmin ubrzo po napuštanju ugruška. Osim toga, prigodom zgrušavanja F XIIIa križno veže neke molekule  $\alpha_2$ -antiplazmina za fibrin, čime se smanjuje pretjerana aktivnost plazmina u koagulumu. Urokinaza i tPA se brzo razgrađuju u jetri, što je dodatna zaštita od pretjerane fibrinolize.

U kontroli zgrušavanja sudjeluju i inaktiviranje prokoagulantnih enzima te uklanjanje aktiviranih čimbenika zgrušavanja <sup>5</sup>.

U normalnim fiziološkim uvjetima hemostaza je osjetljiva ravnoteža između patološkog stanja hiperkoagulabilnosti i hipokoagulabiliteta cirkulirajuće krvi, a ključnu ulogu u procesu hemostaze imaju trombociti.

## 1.2. Trombociti

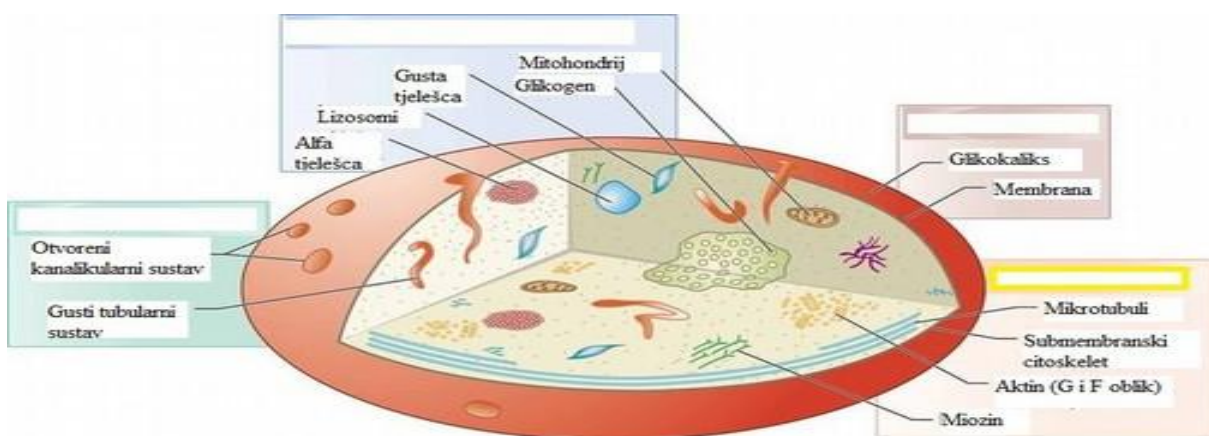
Trombociti su diskoidne stanice bez jezgre, promjera 2-3  $\mu\text{m}$ . Cirkuliraju u krvi 7-10 dana prije nego ih makrofazi odstrane. Nastaju u koštanoj srži fragmentiranjem citoplazme zrelih megakariocita, a iz jednog megakariocita nastaje 2000 - 3000 trombocita. Njihovo nastajanje pod kontrolom je trombopoetina (TPO), hormona koji se uglavnom stvara u jetri i bubregu, ali i mnogih drugih citokina, kao što su interleukin (IL)-3, čimbenik stimulacije granocitno makrofagnih kolonija (engl. *Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor* - GM-CSF), čimbenik stimulacije matičnih stanica (engl. *Stem Cell Factor* - SCF), IL-1 $\alpha$  i IL-11.

Megakariociti su poliploidne hematopoetske stanice koje nastaju iz pluripotentne matične stanice, zajedničke ishodišne stanice za mijeloidnu i limfoidnu lozu. Pluripotentna matična stanica diferencira se u nezrele prethodne stanice mijelopoeznog i limfopoeznog sustava čijom proliferacijom i sazrijevanjem nastaju funkcionalno zrele krvne stanice: eritrociti, granulociti, monociti, limfociti T i B, NK stanice i trombociti. Najvažniji proliferacijski čimbenik koji regulira trombocitopoezu je trombopoetin <sup>6</sup>.

### 1.2.1. Struktura trombocita

Strukturno se trombociti sastoje od četiri cjeline s određenom funkcionalnom aktivnošću. Tako razlikujemo: membranski sustav, perifernu i strukturalnu zonu, citoplazmatsku zonu s granulama i organelama.

Membranski sustav čine dva važna sustava membrana, a to su otvoreni kanalikularni sustav (engl. *Open Canalicular System* - OCS) i gusti tubularni sustav (engl. *Dense Tubular System* - DTS), koji reguliraju unutarstaničnu koncentraciju kalcija koja je važna za regulaciju metabolizma trombocita i njihovu aktivaciju.



Slika 2. Struktura trombocita

(Preuzeto iz: <https://www.studyblue.com/notes/n/platelets/deck/2298597> – prevedeno na hrvatski jezik – SLIKA KAO U IZVORNIKU)

Periferna zona sastoji se od fosfolipidne membrane, koja je s vanjske strane prekrivena pahuljastim omotačem - glikokaliksom, a s unutarnje tankom submembranoznom regijom. Glikokaliks sadrži glikoproteine, proteine i mukopolisaharide koji služe kao receptori za tvari male molekulske mase (ADP, serotonin, acetil-kolin, prostaglandin) i kao receptori za makromolekule, trombin, fibrinogen, vWF, kolagen i čimbenike koagulacije V i VIII. Glikokaliks sadrži 30-ak GP od kojih su za funkciju trombocita najvažniji GP Ib, Iib i IIIa.

GP Ib je receptor za vWF i nekovalentno je vezan s GP V i GP IX. Funkcija GP V nije poznata, ali se zna da njegov nedostatak nije povezan s pojavom krvarenja, dok je kompleks GP Ib/IX odgovoran za adheziju trombocita prilikom oštećenja krvne žile.

GP IIb i IIIa tvore kompleks (GP IIb/IIIa) koji je receptor za fibrinogen. Kompleks GP IIb/IIIa odgovoran je za agregaciju trombocita.

Fosfolipidna membrana trombocita sadrži i nezasićenu masnu arahidonsku kiselinu (engl. *Arachidonic Acid* - AA), koja je snažan prekursor agregacije trombocita i konstrikcije krvnih žila.

Strukturalna zona sastoji se od mikrotubula povezanih u mrežu proteina čija funkcija je održavanje diskoidne strukture neaktiviranih trombocita kao i omogućavanje promjena u obliku trombocita nakon aktivacije.

Zona organela sastoji se od mitohondrija, glikogenskog dijela koji sudjeluje u metaboličkim aktivnostima trombocita i četiri vrste granula (gusta tijela, alfa granule, lizosomalne granule i mikroperoksisomi), koje služe kao skladišta proteina i drugih tvari važnih za funkciju trombocita.

Gusta tijela dobila su naziv po najvećoj gustoći granula vidljivih elektronskim mikroskopom. Ona sadrže medijatore važne za funkciju trombocita koji nisu proteini: ADP, ATP, kalcijeve ione i serotonin. ADP u gustim tijelima služi kao pohrana energije za reakcije agregacije trombocita.

Alfa granule najbrojnije su od svih granula i sadrže dvije grupe proteina. Prvu grupu čine proteini koji su slični proteinima plazme, a sintetiziraju se u megakariocitu za vrijeme trombocitopoeze (vWF i čimbenik V). Drugu grupu čine proteini koji se apsorbiraju iz plazme na razini megakariocita i odlažu se u  $\alpha$ -granule za vrijeme trombocitopoeze (fibrinogen, imunoglobulini i albumin) kao i mnogi drugi proteini kao što su PF4,  $\beta$ -tromboglobulin, PAI, fibronektin, vitronektin i trombospondin <sup>7</sup>.

### **1.2.2. Uloga trombocita u procesu hemostaze**

Najznačajnija fiziološka funkcija trombocita je aktivno sudjelovanje u svim fazama hemostaze putem fizikalno kemijskih procesa te oslobađanjem i aktivnošću trombocitnih

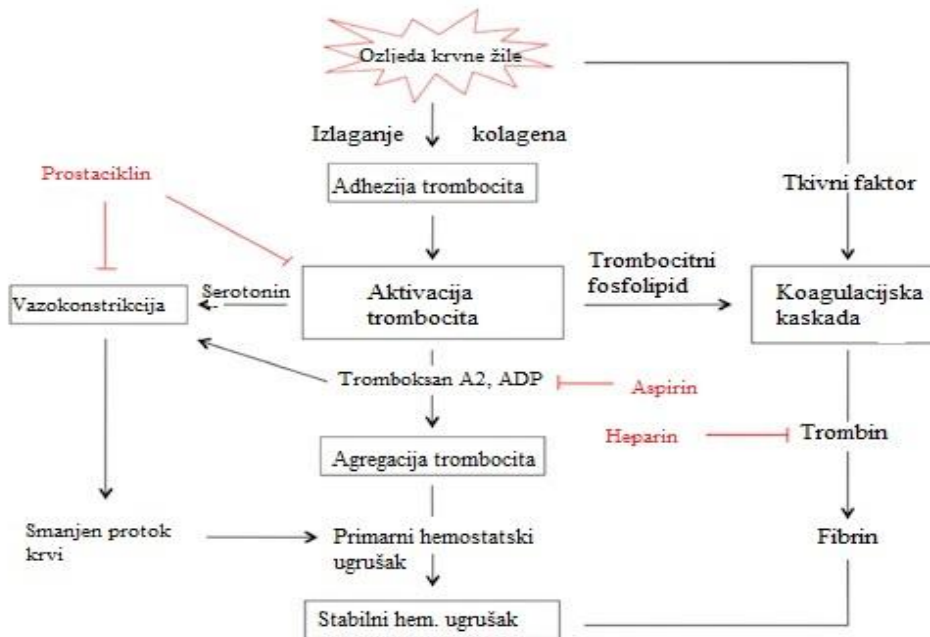


medijatora. Pored toga, trombociti imaju ulogu i u procesima održavanja integriteta endotela, fagocitoze, detoksikacije organizma i staničnom transportu. Endotelne stanice u fiziološkim uvjetima posjeduju mehanizme kojima se spriječava adhezija, aktivacija i agregacija trombocita. U navedene mehanizme ubrajamo djelovanje elektrostatskih sila i sintezu medijatora od strane intaktnog endotela, kao što su dušični oksid (engl. *Nitric Oxide* - NO), endotelni relaksirajući čimbenik (engl. *Endothelial Derived Relaxing Factor* - EDRF), prostaglandin (engl. *Prostaglandin I<sub>2</sub>* - PGI<sub>2</sub>) i enzim ADP-aza. U endotelnim stanicama sintetizira se i trombocitni aktivirajući čimbenik (engl. *Platelet Activated Factor* - PAF), koji ostaje vezan za membranu endotela i stimulira aktivaciju trombocita. Zahvaljujući navedenim mehanizmima, trombociti ne adheriraju za stijenu intaktne krvne žile, niti ih aktivira vaskularni endotel. U uvjetima disfunkcije endotela, npr. u pušača, dijabetičara, hipertoničara ili bolesnika s hiperkolesterolemijom, smanjena je sinteza inhibitora agregacije trombocita, što s oštećenjem endotela (mehaničkim, kemijskim, imunološkim mehanizmima) potiče interakciju trombocita s endotelnim i subendotelnim strukturama i posljedičnu adheziju, aktivaciju i agregaciju trombocita<sup>8</sup>.

Iako trombociti imaju središnju ulogu u primarnoj, značajni su i u sekundarnoj hemostazi gdje osiguravaju fosfolipidnu površinu za odvijanje nekoliko ključnih koagulacijskih reakcija. Oba procesa odvijaju se paralelno, s tim što u arterijskoj cirkulaciji dominira proces aktivacije trombocita (primarna hemostaza), a u venskoj proces koagulacije (sekundarna hemostaza).

Snažni induktori agregacije trombocita (kolagen, trombin) stvaraju signalne molekule u količini koja je dovoljna za podsticanje kompletnog odgovora trombocita. Slabiji induktori (ADP, adrenalin i TxA<sub>2</sub>) izazivaju promjenu oblika trombocita i/ili ekspresiju fibrinskih receptora te parcijalno aktiviraju trombocite. Tijekom promjene oblika trombocita nastaje ekspresija i strukturne promjene specifičnih trombocitnih receptora među kojima je najvažniji integrin glikoprotein I**IIb/IIIa** (GP I**IIb-IIIa**). Promjena ovih receptora omogućuje vezivanje molekula fibrinogena sa stvaranjem mostova između trombocita. U procesu adhezije i agregacije trombocita značajna je uloga vWF-a. Cirkulirajući vWF se na jednom kraju molekule veže za subendotelni kolagen, a na drugom za GP I**b/V/IX** na membrani trombocita stvarajući most između krvne žile i trombocita. Agregaciju trombocita potiče vezivanjem za GP I**b/IIIa** receptor<sup>9,10</sup>.

Nakon aktivacije trombocita slijedi sekrecijski odgovor, odnosno nastaje degranulacija trombocita i oslobađanje supstanci iz granula. U gustim granulama nalaze se aktivatori trombocita (ADP, TXA<sub>2</sub>), diacilglicerol, inozitol trifosfat, ATP, serotonin, joni Ca<sup>2+</sup> i Mg<sup>2+</sup>. Trombociti iz svojih granula oslobađaju kemokine, IL-8, regulator ekspresije i sekrecije aktiviranih T limfocita (engl. *Regulation on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted* - RANTES) koji potiču kemotaksiju monocita, neutrofila i limfocita T.



Slika 3. Uloga trombocita u hemostazi (Preuzeto iz: <http://www.sharinghealth.ca/biology/hemostasis.html> – prevedeno na hrvatski jezik – SLIKA KAO U IZVORNIKU

Anionski fosfolipidi, koji su na neaktivnim trombocitima smješteni na unutrašnjoj strani membrane u tijeku aktivacije prelaze na vanjsku stranu membrane i predstavljaju podlogu za aktivaciju sekundarne hemostaze. Njihova je uloga da omoguće vezanje FVa i FVIIIa, a time i pretvaranje protrombina u trombin, kao i FX u FXa.

Nastali trombin se veže na površinu neaktiviranih trombocita preko najmanje tri receptora: GP Iba, proteazom aktivirani receptori (engl. *Protease-Activated Receptor* - PAR) 1 i PAR 4 uzrokujući na taj način njihovu aktivaciju. Nakon aktivacije, trombociti izlučuju hemostatski aktivne tvari među kojima su i četiri čimbenika zgrušavanja koji su pohranjeni u α-granulama

i citoplazmi trombocita. To su fibrinogen, FV, FXI i FXIII i oni izravno sudjeluju u nastanku stabilnog fibrinskog ugruška<sup>11,12</sup>.

### **1.3. Krvarenje i hemostaza u kardiokirurškim operacijama**

Ozbiljno intraoperacijsko i poslijeoperacijsko krvarenje je komplikacija kardiokirurških zahvata i rezultira povećanim pobolijevanjem i smrtnošću. Krvarenje je uzrokovano s više čimbenika i na njega utječu kirurški razlozi kao i poremećaj hemostaze. Krvarenje kao rezultat poremećaja hemostaze ne može se popraviti kirurškim zahvatom, već transfuzijama krvnih pripravaka<sup>13</sup>.

Kardiokirurške operacije s korištenjem izvanvntjelesnog krvotoka (engl. *Cardiopulmonary Bypass* - CPB) mogu značajno poremetiti hemostazu što se manifestira koagulopatijom različitog stupnja. Operacije bez korištenja CPB-a rezultiraju bolje očuvanom hemostazom<sup>14</sup>.

#### **1.3.1. Hemostaza u kardiokirurškim operacijama s korištenjem CPB**

CPB osigurava sistemsku perfuziju i oksigenaciju za vrijeme nefunkcionalnosti srca i pluća u otvorenim operacijama na srcu. Različite modifikacije omogućavaju operateru korištenje mnogih operacijskih tehnika i smanjenje nuspojava. Kontakt krvi sa stijenkama vntjelesnog krvotoka rezultira aktivacijom brojnih sustava uključujući koagulacijski sustav i aktivaciju komplementa. Posljedice ovog kontakta su stvaranje trombina, otpuštanje proupalnih citokina i sistemski upalni odgovor. Nastaje adhezija, aktivacija i agregacija trombocita, kao i leukocitna adhezija i aktivacija koje mogu utjecati na plućnu i renalnu disfunkciju i izazvati generalizirana kapilarna oštećenja.

Unatoč primjerenoj heparinizaciji CPB je mogući aktivator koagulacijskog sustava sa stvaranjem čimbenika Xa i trombina. Koagulopatija se razvija zbog dva osnovna razloga:

1. aktivacija trombocita i fibrinolitičkog sustava
2. dilucija faktora koagulacije i trombocita<sup>15-17</sup>

Na trombocitnu funkciju, osim izravnog učinka CPB-a utječu sistemski heparinizacija i dilucijska koagulopatija<sup>18,19</sup>. Dilucijska koagulopatija je posljedica nadoknade cirkulirajućeg volumena tekućinama koje ne sadrže adekvatnu količinu čimbenika zgrušavanja te stoga brzo smanjuju prokoagulantni potencijal. Hemodilucija smanjuje količinu trombocita u cirkulirajućoj krvi za 30 - 50 %. Na stupanj dilucijske koagulopatije značajno utječe vrsta i

količina infundirane tekućine. Koloidne otopine (hidroksietil škrob, dekstran, želatina) remete funkciju trombocita, inhibiraju polimerizaciju fibrina te uzrokuju stečenu von Willebrandovu bolest. Nadoknada volumena hipertoničnom otopinom natrijevog klorida pojačava krvarenje zbog snažnog antikoagulantnog i antitrombocitnog učinka <sup>20</sup>.

Zahvati na srcu se rade u umjerenj (28°C - 32°C) ili dubokoj hipotermiji (18°C - 20°C). Umjerenja hipotermija smanjujući adhezivnost i agregaciju uzrokuje disfunkciju trombocita, dok značajna hipotermija odgađa stvaranje trombocita i stimulira fibrinolizu. S obzirom da se standardni koagulacijski laboratorijski testovi kao što su protrombinsko vrijeme (PV) i aktivirano pacijalno trombolastinsko vrijeme (aPTV) izvode uz korekciju temperature na 37°C, oni u hipotermiji nemaju vrijednost u dijagnostici koagulacijskog poremećaja <sup>21-23</sup>.

U bolesnika operiranih uz korištenje izvantjelesnog krvotoka primarna hemostaza je poremećena većim dijelom zbog učinka vanjskih čimbenika (mehaničko oštećenje, hemodilucija, pothlađivanje, utjecaj heparina i protamina) na funkciju trombocita.

### **1.3.2. Hemostaza u kardiokirurškim operacijama bez korištenja izvantjelesnog krvotoka**

Zbog nuspojava izvantjelesnog krvotoka razvile su se tehnike bez pumpe (*off-pump*) kardiokirurške operacije kada se kompletna revaskularizacija odvija bez korištenja CPB-a. Takve operacije imaju bolje očuvanu perioperacijsku hemostazu s obzirom na nedostatak aktivacije trombocita i hemodilucije u odnosu na operacije s korištenjem CPB-a. Razlozi za krvarenje u ovih bolesnika su slabija funkcionalnost trombocita zbog prethodne primjene antiagregacijske terapije i dugotrajne terapije koronarne bolesti, perioperacijsko korištenje otopina za nadoknadu volumena i krvnih pripravaka, antikoagulacijski učinak heparina te predoziranje protaminom <sup>24-29</sup>. Protamin se koristi za reverziju učinka heparina. Vrlo je važno ispravno doziranje, jer premala doza ostavlja rezidualni heparin, a prevelika može i sama poremetiti zgrušavanje krvi zbog antitrombocitnog učinka. Na formiranje trombocitnog ugruška utječe u značajnoj mjeri koncentracija i funkcija vWF-a. Funkcija vWF-a je promijenjena pod utjecajem visokog tlaka u krvnim žilama kod kardiovaskularnih bolesti <sup>30</sup>. U bolesnika s koronarnom bolesti postoji disfunkcija endotela, ali i poremećaj cirkulacije na razini epikardnih arterija i mikrocirkulacije. Ne možemo zanemariti i odgovor sustava hemostaze na operacijski stres u kojem je poremećena ravnoteža agregacijskih i antiagregacijskih mehanizama, kao i koagulacijskog i fibrinolitičkog sustava. Poremećaj

hemostaze je prisutan u određenoj mjeri i u bolesnika koji se operiraju bez korištenja CPB-a s posljedično dugoročnijim učinkom od mehaničkog i kratkotrajnog učinka izvantjelesnog krvotoka.

### **1.3.3. Učinak antiagregacijske terapije na hemostazu u kardiokirurških bolesnika**

Najčešće izvođene operacije u kardiokirurgiji su aortokoronarno premoštenje (engl. *Coronary Artery Bypass Graft - CABG*) i operacije srčanih zalistaka. S obzirom na različitu etiologiju bolesti terapija prije operacije je različita. Najčešće korištena antiagregacijska terapija u bolesnika s koronarnom bolesti srca su preparati acetilsalicilne kiseline (ASK), te klopidoarel (engl. *Clopidogrel - CLO*)<sup>31,32</sup>.

#### **1.3.3.1. Acetilsalicilna kiselina**

ASK djeluje na ciklooksigenazu (COX) koja ima dvije izoforme, COX-1 i COX-2. COX-1 izoforma je ključna za agregaciju trombocita te generira nastanak  $TxA_2$ .  $TxA_2$  se otpušta iz aktiviranih trombocita te inducira daljnju aktivaciju trombocita pozitivnom povratnom spregom. Učinkom ASK-a na COX-1 nastaje acetiliranje serinskog ostatka u sredini molekule šta onemogućava vezanje supstrata tj. molekule AA. Navedeno sprječava pretvorbu AA u prostaglandin  $G_2$  i potom u prostaglandin  $H_2$ , iz kojeg djelovanjem enzima tromboksan sintetaze  $A_2$  nastaje  $TxA_2$ . Stvaranje  $TxA_2$  je ireverzibilno inhibirano i trajanje inhibicijskog učinka je u vremenskom razdoblju životnog vijeka trombocita (10-12 dana). Nakon jedne doze ASK-a od 100 mg potrebno je približno 10-12 dana kako bi se razina  $TxA_2$  u krvi vratila na predterapijsku vrijednost. Istraživanja su pokazala da značajno poboljšanje trombocitne funkcije koje nastupa 3 dana nakon zadnje doze ASK-a (vrijeme potrebno za regeneraciju 50 % trombocita u cirkulaciji) rezultira u normalizaciji vremena krvarenja i nivoa  $TxA_2$ <sup>33</sup>. Pojedina istraživanja sugeriraju postojanje bolesnika s naglašenim odgovorom na uobičajenu dozu ASK-e odnosno "hiperreaktori" koji na uobičajene doze lijeka imaju vrlo produžena krvarenja i povećani rizik za poslijeoperacijsko krvarenje<sup>34,35</sup>. S obzirom na trenutne preporuke ukidanja terapije prije operacijskog zahvata mišljenja se razlikuju. Američko udruženje kardiologa (engl. *The American College of Cardiology/American Heart Association - ACC/AHA*) preporuča prekidanje liječenja ASK-om 7-10 dana prije operacije.

Ove preporuke se ne odnose na bolesnike koji imaju akutni koronarni sindrom, u kojih korist od uzimanja ASK-e nadmašuje rizik povećanog krvarenja. Za razliku od ACC/AHA američko udruženje torakalnih kirurga preporuča prekidanje liječenja ASK-om 2-3 dana prije operacije samo u elektivnim slučajevima s ciljem redukcije transfuzije krvnih pripravaka. Europsko udruženje kardio-torakalnih kirurga u svojim smjernicama preporuča prekidanje liječenja ASK-om 2-10 dana prije elektivnog zahvata s ciljem redukcije perioperacijskog krvarenja <sup>36-39</sup>.

### 1.3.3.2. Klopido­grel

CLO je tienopiridinski derivat koji postaje aktivan tek nakon biotransformacije u jetri zahvaljujući djelovanju citokroma P450. Lijek ireverzibilno inhibira trombocitnu funkciju modificirajući trombocitni ADP receptor P2Y<sub>12</sub>. Maksimalni antiagregacijski učinak postiže za 4-6 sati nakon doze zasićenja od 300 mg, dok nakon 600 mg isto postiže već za 2 sata. Nakon toga CLO se daje jednom dnevno u dozi od 75 mg. Kliničari propisuju lijek radi smanjenja rizika infarkta miokarda, nestabilne angine pektoris, moždanog udara i kardiovaskularne smrti u bolesnika s kardiovaskularnim bolestima.

Mišljenja o povezanosti korištenja CLO-a prije operacijskog zahvata i krvarenja poslije operacije su podijeljena. Karabulut i sur. te Biancari i sur. nisu dokazali postojanje povezanosti uzimanja CLO-a do operacijskog zahvata i pojave masivnog krvarenja i nepovoljnog ishoda liječenja u kardiokirurških bolesnika <sup>40,41</sup>. Suprotno od njih nekoliko skupina autora opisuje povezanost konzumiranja CLO-a u periodu 7 dana od operacije s većim krvarenjem, učestalijim transfuzijama, češćim reoperacijama i duljim boravkom u jedinici intenzivnog liječenja (JIL) <sup>42-47</sup>. Mogućnost donošenja primjerenih zaključaka smanjuje činjenica o postojanju širokog spektra inhibicije trombocita. Genetski polimorfizam u CYP2C19 alelu reducira pretvaranje u aktivni metabolit te uzrokuje rezistenciju na CLO <sup>48,49</sup>. Osim toga do sada je nekoliko bolesti, čimbenika kardiovaskularnog rizika ili lijekova povezano sa slabijim antitrombocitnim učinkom (akutni koronarni sindrom, pretilost, šećerna bolest, starija dob, hiperkolesterolemija, upalne bolesti, statini, inhibitori protonske pumpe) što rezultira velikim individualnim razlikama u stupnju inhibicije trombocita s CLO <sup>50-53</sup>. Za razliku od prije navedenog pušenje pojačava njegov antitrombocitni učinak <sup>54,55</sup>.

S obzirom na trenutne preporuke ukidanja terapije prije operacijskog zahvata mišljenja se razlikuju. Možemo zaključiti da ACC/AHA preporuča prekidanje liječenja CLO-om 5 dana prije operacije. Američko udruženje torakalnih kirurga 5-7 dana prije operacije s ciljem smanjenja opsega krvarenja i transfuzijskog liječenja, dok Europsko udruženje kardiotorakalnih kirurga u svojim smjernicama preporuča prekidanje liječenja CLO-om 5-7 dana prije elektivnog zahvata s ciljem redukcije perioperacijskog krvarenja.

#### **1.4. Transfuzija krvnih pripravaka u kardiokirurških bolesnika**

Transfuzija krvnih pripravaka je uobičajena za vrijeme i nakon kardiokirurških operacija. Krvarenje uzrokuje hemodinamsku nestabilnost što zahtijeva primjenu krvnih pripravaka. Transfuzijsko liječenje može imati i neželjenih posljedica. Transfuzijske reakcije se očituju različitim simptomima i s obzirom na etiologiju dijele se na imunološke i neimunološke reakcije. U imunosne reakcije ubrajamo: akutne hemolitičke transfuzijske reakcije (AHTR), odgođene hemolitičke transfuzijske reakcije (engl. *Delayed Hemolytic Transfusion Reaction* - DHTR), febrilne nehemolitičke transfuzijske reakcije (FNHTR), alergijske, anafilaktičke i anafilaktoidne reakcije, transfuzijom uzrokovano akutno oštećenje pluća (engl. *Transfusio Related Acute Lung Injury* - TRALI), transfuzijom uzrokovana reakcija transplantata protiv primatelja (engl. *Transfusion-Associated Graft Versus Host Disease* - TV-GVHD), imunomodulacijski učinak transfuzije (engl. *Transfusion Induced Immunomodulation* - TRIM). Neimunološke reakcije su: metaboličke (hiperkalemija, hipotermija, neimunološka hemoliza), prijenos zaraznih bolesti i transfuzijom uzrokovano preopterećenje cirkulacije (engl. *Transfusion-Associated Circulatory Overload* - TACO) <sup>56</sup>. Nekoliko istraživanja ukazuje na povezanost liječenja krvnim pripravcima i povećanog obolijevanja i smrtnosti nakon kardiokirurških operacija <sup>56-58</sup>. Stoga je od iznimne važnosti razvijanje metoda ciljanog transfuzijskog liječenja uz prethodnu potrebu jasnog razlikovanja kirurškog i krvarenja uzrokovano poremećajem hemostaze. Procjena stvarnog umjesto pretpostavljenog rizika krvarenja u kardiokirurških bolesnika omogućava uspostavljanje optimalnog upravljanja krvarenjem i korištenjem krvnih pripravaka <sup>59</sup>. Krvni pripravci koji se koriste u liječenju kardiokirurških bolesnika su: koncentrat trombocita (KT), koncentrat eritrocita (KE) i svježe smrznuta plazma (SSP).

### 1.4.1. Transfuzija koncentrata trombocita u kardiokirurških bolesnika

Transfuzije KT sprječavaju odnosno kontroliraju krvarenje izazvano trombocitopenijom ili poremećajem funkcije trombocita <sup>60</sup>. Trombocitni pripravak se može pripremiti kao koncentrat iz pune krvi (*pool* trombocita od više darivatelja) i kao koncentrat afereze (trombociti od “jednog darivatelja”) dobiven s pomoću stroja za odvajanje stanica. U donošenju odluke za transfuziju trombocita potrebno je uzeti u obzir više čimbenika kao što su broj trombocita, uzrok trombocitopenije, osnovnu bolest, uzimanje lijekova koji utječu na funkciju trombocita, tjelesnu površinu i težinu, veličinu slezene te aloimunizaciju na trombocitne i/ili sustav antigena tkivne snošljivosti (engl. *Human Leukocyte Antigen* - HLA). Opće indikacije za transfuziju trombocita su:

1. Mikrovaskularno krvarenje zbog trombocitopenije ili poremećaja funkcije trombocita
2. Trombocitopenija s značajnim rizikom krvarenja
3. Kirurški ili invazivni zahvati u bolesnika s trombocitopenijom

Pri doziranju KT-a uobičajeno je transfundirati jednu dozu na 10 kg tjelesne mase. Transfuzija od prosječno 4-6 KT-a, u većini slučajeva povećava broj trombocita u odraslih osoba za  $20 \times 10^9/L$  do  $40 \times 10^9/L$  <sup>61</sup>.

Kardiokirurški bolesnici često primaju KT-a za vrijeme i nakon operacijskog zahvata. Mnoge preporuke za korištenje KT-a su suglasne sa stavom o potrebi za transfuzijom KT-a isključivo ako je broj trombocita manji od  $50 \times 10^9/L$  ili ako je klinički značajno poremećena njihova funkcija <sup>62,63</sup>. Usprkos preporukama, transfuzije se često primjenjuju empirijski i čimbenici koji utječu na odluku anesteziologa o potrebi za transfuzijskim liječenjem su krvarenje, broj trombocita i složenost operacije <sup>64</sup>.

Trombocitne transfuzije (TT) se koriste:

1. u liječenju bolesnika s trombocitopenijom ( $< 100 \times 10^9/L$ ) koji krvare
2. u bolesnika s trombocitnom disfunkcijom zbog prethodnog korištenja antitrombocitne terapije uz dostatni broj trombocita
3. pri produljenom trajanju CPB-a ( $> 3$  sata)
4. ukoliko je bolesnik dobio veliku količinu krvnih pripravaka tijekom operacije

U bolesnika s hematokritom (Htc)  $< 0,25$  prisutan je poremećaj trombocitne funkcije iz razloga nedostatnog sudjelovanja eritrocita u interakciji između trombocita te trombocita i subendotelnih stanica krvnih žila <sup>64</sup>. S obzirom da su TT povezane s infekcijama, moždanom



insuficijencijom i smrću u kardiokirurških bolesnika potrebno je utvrditi metodu procjene stvarne potrebe za TT u kardiokirurgiji <sup>65</sup>.

#### 1.4.1.1. Procjena učinkovitosti TT u kardiokirurških bolesnika

Standardna metoda za procjenu učinkovitosti TT je posttransfuzijski porast broja trombocita  $> 10,000 \times 10^9/L$  ili korigirani porast broja trombocita (engl. *Corrected Count Increment* - CCI). CCI dobije se izračunavanjem po formuli:

$$CCI = \frac{\text{prirast broja trombocita} (\times 10^9) \times \text{površina tijela} (m^2)}{\text{broj trombocita u transfundiranom KT} (\times 10^{11})}$$

u kojoj je u brojniku prirast broja trombocita (umnožak razlike u broju trombocita prije i nakon TT) i površine tijela bolesnika, a u nazivniku broj transfundiranih trombocita brojanih hematološkim brojačem. U kardiokirurških bolesnika zbog složenosti poremećaja hemostaze, heparinizacije, hemodilucije i ostatnog učinka antiagregacijske terapije teško je koristiti standardne metode za procjenu učinkovitosti. U velikog broja tih bolesnika oštećena je sposobnost agregacije trombocita pa je od iznimne važnosti procijeniti učinkovitost TT-a u korekciji trombocitne agregacije <sup>66</sup>.

#### 1.4.2. Transfuzija koncentrata eritrocita

Transfuzija KE je indicirana u bolesnika sa simptomatskim smanjenjem kapaciteta za prijenos kisika i simptomima tkivne hipoksije. Odluka o transfuziji se donosi na temelju kliničke procjene i vrijednosti Hb-a i Htc-a u bolesnika. Preporuke za ciljnu vrijednosti Hb-a i Htc-a u kardiokirurgiji sugeriraju održavanje vrijednosti Htc-a na 30 %, a Hb-a na 100 g/L <sup>67</sup>. Brojna istraživanja su obavljena s ciljem utvrđivanja prediktora perioperacijskih i poslijeoperacijskih transfuzija KE u kardiokirurgiji. U skupinu najvažnijih prediktora ubrajaju se: prijeoperacijski Hb  $< 120$  g/L, hitna operacija, reoperacija, složene operacije, godine, ženski spol, prethodna terapija antitrombocitnim lijekovima i kronična opstruktivna plućna bolest <sup>68-70</sup>.

### 1.4.3. Transfuzija svježe smrznute plazme

Transfuzija SSP-e se primjenjuje u cilju nadoknade čimbenika zgrušavanja u dozi od 10 ml/kg tjelesne mase. Učinkovitost transfuzije SSP-e se prati određivanjem PV-a i aPTV-a unutar 4 sata nakon transfuzije. Covin sa sur. i Surgenor sa sur. su nastojali utvrditi čimbenike koji zahtijevaju perioperacijsko i poslijeoperacijsko korištenje SSP-e<sup>71,72</sup>. Tu spadaju korištenje CPB-a s posljedičnom potrošnjom čimbenika koagulacije, prethodna kardiokirurška operacija, spol, veliki broj transfundiranih doza KE-a<sup>73,74</sup>.

Za vrijeme i nakon kardiokirurških operacija veliki broj krvnih pripravaka se transfundira iz empirijskih razloga na temelju iskustvene procjene kliničara. Na taj način rizici transfuziološkog liječenja se povećavaju kao i opterećenje u pripremi traženog broja krvnih pripravaka. Značajnu informaciju u procjeni stvarnih potreba za krvnim pripravcima mogu dati testovi koji se izvode uz krevet bolesnika (engl. *Point-of-Care* -POC).

### 1.5. Laboratorijski testovi za praćenju hemostaze u kardiokirurških bolesnika

Za prijeoperacijsku procjenu rizika krvarenja obavezna je detaljna anamneza krvarenja, podatci o uzimanju lijekova i podatci o drugim bolestima. Anamnestički podatci mogu upućivati na razne već ranije postojeće nasljedne koagulopatije (hemofilija A i B, von Willebrandova bolest i ostale rijetke nasljedne koagulopatije) ili stečeni poremećaj hemostaze koji se pojavljuje uz niz komorbiditeta<sup>75,76</sup>.

Praćenje standardnih laboratorijskih testova uz praćenje kliničke slike daje uvid u stanje bolesnika. U standardno koagulacijsko testiranje ubrajamo: PV, aPTV, određivanje fibrinogena i broj trombocita. Određivanje PV kao i aPTV koje je duže 1.5 puta od normalne vrijednosti znak su koagulopatije. Navedeni testovi imaju određene nedostatke: PV i aPTV odraz su hemostaze u plazmi (ne u punoj krvi), prvih 20-60 sekundi zgrušavanja (cijeli proces zgrušavanja traje 15-30 minuta) bez faze fibrinolize u testu. Laboratorijsko izvođenje testova nije primjereno pri hipotermiji, acidozi i anemiji. Oba testa prate samo inicijalnu fazu zgrušavanja stoga možemo imati normalne rezultate testova unatoč činjenici da je sveukupno stanje zgrušavanja krvi *in vivo* poremećeno. Određivanje broja trombocita u kardiokirurških bolesnika je nedovoljno, jer broj trombocita nije pokazatelj njihove uredne funkcije<sup>77</sup>.

Praćenje koagulacije POC testovima iz pune krvi i vrijeme potrebno za dobivanje rezultata je značajno kraće u usporedbi sa standardnim koagulacijskim testovima. Bazična metoda iz navedene skupine je tromboelastografija (TEG). TEG je metoda koja daje sveukupnu sliku

zgrušavanja *in vivo*. Teoretska prednost u odnosu na rutinske koagulacijske testove je uključivanje funkcije trombocita i fibrinolize. TEG mjeri viskoelastične karakteristike ugruška tijekom stvaranja i lize. Rotacijska tromboelastometrija (ROTEM) bazirana je na poboljšanoj verziji klasične tromboelastografije, mjeri elasticitet krvi tj. krvnog ugruška i omogućuje izvođenje testa uz krevet bolesnika. Viskoelastična svojstva krvnog ugruška prikazuju se kontinuiranim grafičkim prikazom nastanka ugruška te konačno degradacije ugruška u periodu vremena<sup>78,79</sup>. Kod razmatranja rizika krvarenja i potrebe za transfuzijskim liječenjem od posebne je važnosti pravovremeno otkrivanje prisustva i razine koagulacijskog poremećaja.

S obzirom na veliku značajnost trombocita u primarnoj i sekundarnoj hemostazi nužno je pravovremeno otkriti poremećaj njihove funkcionalnosti. PFA-100® test se koristi sa svrhom procjene funkcionalnosti trombocita na razini adhezije i agregacije i stoga ima značajnu ulogu u kardiokirurških bolesnika koji su izloženi endogenim i egzogenim utjecajima na funkcionalnost trombocita.

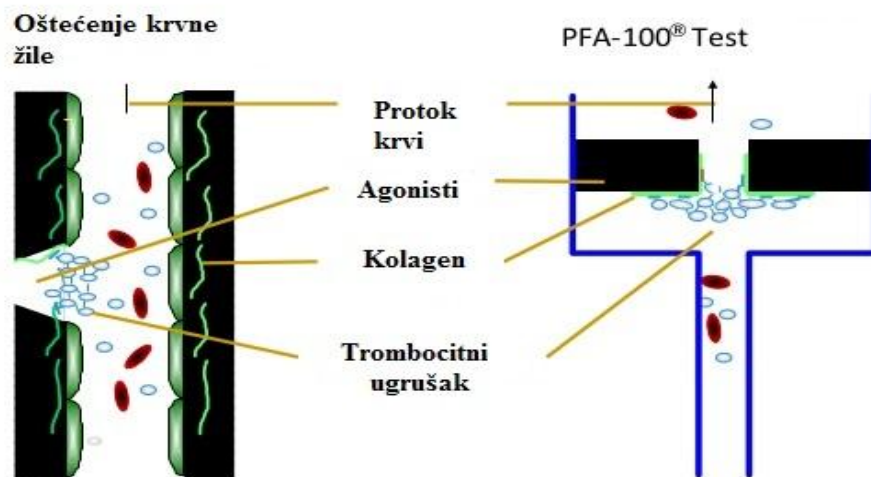
### **1.5.1. PFA-100® metoda**

Test primarne hemostaze se izvodi pomoću analizatora funkcije trombocita (engl. *Platelet Function Analyser-100®* - PFA-100®). Princip rada instrumenta (slika 4.) temelji se na adheziji i agregaciji trombocita oponašanjem *in vivo* uvjeta fiziološke brzine protoka krvi u arterijama uz korištenje dvije vrste membrana, pa stoga razlikujemo:

1. kolagen i adenzin difosfat vrijeme zatvaranja (engl. *Collagen and Adenosine Diphosphate Closure Time* - CADP-CT)
2. kolagen i epinefrin vrijeme zatvaranja (engl. *Collagen and Epinephrine Closure Time* - CEPI-CT)

Referentne vrijednosti su za CADP-CT 71 - 118 sekundi (s), a za CEPI-CT 85 - 165 s. Početni test se izvodi s CEPI membranom. Ako je CT u ovom slučaju u referentnim vrijednostima smatra se da ne postoji poremećena funkcionalnost trombocita. Test s CADP membranom se izvodi u slučaju poremećenog CEPI testa. Ukoliko oba testa pokazuju odstupanja od referentnih vrijednosti smatra se da postoji poremećaj funkcije trombocita<sup>80</sup>. Poremećeno vrijeme zgrušavanja s CEPI membranom uz CADP-CT unutar raspona referentnih vrijednosti najčešće je uzrokovano uzimanjem ASK-a<sup>81</sup>. ASK i ostali nesteroidni protuupalni lijekovi (engl. *Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs* - NSAIDs) nemaju učinak na CADP-CT, za razliku od CLO. Kod korištenja izvantjelesnog krvotoka CADP-CT je

značajno produženo zbog vezanja molekula heparina na trombocitne GP Ib/IX/V (vezna mjesta za vWF) <sup>82</sup>.



10

Slika 4. Princip rada PFA-100 analizatora oponaša *in vivo* uvjete protoka krvi u arterijama (Preuzeto iz: [http:// www.slideshare.net/shababali1/lecture-5-fall-2014-pdf-9-638](http://www.slideshare.net/shababali1/lecture-5-fall-2014-pdf-9-638) – prevedeno na hrvatski jezik – SLIKA KAO U IZVORNIKU

### 1.5.2. PFA-100® metoda u kardiokirurških bolesnika

Dosadašnja istraživanja su pokazala da je korištenje PFA-100® metode u kardiokirurških bolesnika predmet dilema, kontroverza i nejasnoća <sup>83-93</sup>. Test se koristio u različitim skupinama bolesnika s obzirom na razlog operacije, korištenje CPB-a, prijeoperacijske primjene antiagregacijske terapije te u različitim vremenskim točkama u odnosu na operacijski zahvat.

Teoretski CADP-CT je prikladniji od CEPI-CT za praćenje terapije CLO-om, ali aktivacija kolagena i ADP preko P2Y1 receptora zajedno s visokim tlakom protoka krvi pri izvođenju testa može biti dovoljna za poništavanje blokade P2Y12 receptora. Stoga su pojedine studije pokazale nedostatak CADP-CT u procjeni stupnja inhibicije P2Y12 trombocitnih receptora pri terapiji CLO-om <sup>83,84</sup>. Slabija funkcionalnost trombocita je multifaktorijalna i nije

isključivo povezana s antiagregacijskom terapijom. Stoga je istraživanje ovog testa u predviđanju krvarenja i procjene učinkovitosti TT-a u kardiokirurških bolesnika svrsishodno.

#### **1.5.2.1. PFA-100® metoda u procjeni rizika krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka u kardiokirurških bolesnika**

Više autora je istraživalo mogućnost procjene količine krvarenja nakon kardiokirurškog zahvata putem PFA-100® metode. Međutim, to su uglavnom bile studije na bolesnicima operiranim uz CPB. Tako Ostrowski i sur. uspoređuju testove TEG-a i testove PFA-100® u procjeni krvarenja te zaključuju da je test PFA-100® uspješniji u procjeni potrošnje krvnih pripravaka za vrijeme operacije i nakon operacije i težine krvarenja <sup>85</sup>. Raman i sur. zaključuju da je broj trombocita nedovoljan kriterij za predviđanje potrebe za TT, međutim, PFA-100® metoda može bolje poslužiti <sup>86</sup>. Slično zaključuje i Rahe-Meyer i sur. vezano uz broj trombocita i utvrđuje učinkovitost *multiplate* PFA testa u procjeni potrebe za TT-om <sup>85</sup>. Također Sucker i sur. zaključuju da je PFA-100® uspješan u prognozi potrošnje KE-a u kardiokirurških bolesnika u kojih su zamjenjeni srčani zalisci <sup>88</sup>.

Više autora smatra da postoje ograničenja PFA-100® u mogućoj prognozi količine krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka <sup>89-91</sup>. Slaughter i suradnici navode da PFA-100® ima jedino negativnu prediktivnu vrijednost i može pomoći u identifikaciji bolesnika koji ne trebaju TT-a u cilju smanjenja krvarenja <sup>89</sup>. Forestier i sur. zaključuju da je test uspješan isključivo u bolesnika s povećanim rizikom krvarenja, dok u rutinskom radu nakon kardiokirurške operacije ovaj test nema prognostički značaj <sup>90</sup>. Fattorutto i sur. smatraju da je PFA-100® učinkovit za identifikaciju bolesnika koji krvare dva sata nakon korištenja CPB-a, ali ne može identificirati bolesnike koji imaju pojačano krvarenje u kasnijem vremenskom razdoblju <sup>91</sup>.

Također u potpunosti se razlikuje zaključak istraživanja Cammerer-a i sur. u kardiokirurških bolesnika s korištenjem CPB-a. Oni tvrde da PFA-100® nema prognostičku vrijednost u procjeni poslijeoperacijskog krvarenja <sup>92</sup>. Slično zaključuju i Lasne i sur. te tvrde da nema povezanosti između vrijednosti testa PFA-100® i poslijeoperacijskog krvarenja <sup>93</sup>.

Na žalost, bolesnici koji se operiraju bez korištenja CPB-a su predmet malog broja istraživanja, jer većina autora smatra da je primarna hemostaza sačuvana i nema značajnog učinka na trombocite <sup>25-29,94</sup>. Međutim, Poston i sur. tvrde da test primarne hemostaze u

bolesnika operiranih bez korištenja CPB-a ima prognostičku vrijednost rizika nastanka povećanog krvarenja <sup>95</sup>.

Stoga, budući da postoje navedene kontroverze i nejasnoće smatramo potrebnim istražiti mogućnost procjene krvarenja nakon kardiokirurškog zahvata na temelju testa s PFA-100® te uočiti bolesnike u kojih navedeni test ima prognostičku vrijednost. Poremećaj primarne hemostaze je najučestaliji razlog krvarenja nakon kardiokirurških operacija. Adhezija i agregacija trombocita su početak koagulacijskog procesa (primarna hemostaza) i ukoliko je poremećaj prisutan na ovoj razini koagulacijski proces je otežan. PFA-100®, za razliku od drugih testova za ispitivanje hemostaze, omogućava ciljanu i preciznu procjenu poremećaja funkcionalnosti trombocita i omogućava ciljano terapijsko djelovanje sa svrhom korigiranja njihove funkcije.

#### **1.5.2.2. PFA-100® metoda u procjeni učinkovitosti TT-a u kardiokirurških bolesnika**

S obzirom na činjenicu da je praćenje učinkovitosti TT-a u kardiokirurških bolesnika otežano iz razloga terapijskih i operacijskih specifičnosti bolesnika razmatrali smo mogućnosti procjene učinkovitosti TT-a različitim testovima. Premaratne i sur. kao pokazatelj učinkovitosti TT-a u kardiokirurških bolesnika koriste promjenu vremena krvarenja prije i nakon transfuzije KT-a <sup>60</sup>. Salame i sur. zaključili su da je PFA-100® metoda bolji indikator učinka TT-a nego poslijetransfuzijski CCI. Međutim, istraživanje nije rađeno u kardiokirurških bolesnika <sup>96</sup>. Pregledni članak Panzera i Jilma navodi PFA-100® test kao metodu procjene trombocitnog hemostatskog kapaciteta te mogućnost uvođenja metode procjene učinkovitosti TT-a putem navedenog testa. Zaključuju da nedostaju klinička mjerenja za potvrdu *in vitro* istraživanja <sup>97</sup>. Prüller i sur. zaključuju na temelju rezultata testa PFA-100® prije i nakon TT-a o korekciji niske reaktivnosti trombocita u ispitanika na antiagregacijskoj terapiji. Predlažu daljnje studije za određivanje učinka ovisnog o dozi ili količini TT-a u bolesnika koji krvare <sup>98</sup>. Tanaka i sur. u istraživanju u kardiokirurških bolesnika zaključuju da je CLO inhibitor ADP-om inducirane agregacije trombocita (IAT), stoga je najkorisnije za dijagnostiku poremećaja agregacije trombocita koristiti CT-CADP dio testa PFA-100® <sup>99</sup>. Zaključak Vilahura i sur. na zdravim pojedincima je da transfuzije 10 doza KT nakon 300 mg CLO-a, odnosno 12,5 doza nakon 600 mg normaliziraju trombocitnu funkciju. Međutim, nedostaje istraživanje u kardiokirurških bolesnika <sup>100</sup>.

Do sada nije provedeno istraživanje u kojem se učinkovitost TT-a u kardiokirurških bolesnika prati promjenom vrijednosti PFA-100® testa prije i nakon transfuzije.

## **2. CILJ RADA I HIPOTEZE**

### **2.1. Ciljevi rada**

#### **2.1.1. Primarni cilj**

Utvrđiti mogućnost predviđanja krvarenja PFA-100® metodom u kardiokirurških bolesnika.

#### **2.1.2. Sekundarni ciljevi**

2.1.2.1. Utvrđiti mogućnost predviđanja korištenja krvnih pripravaka u kardiokirurških bolesnika uporabom PFA-100® testa.

2.1.2.2. Utvrđiti mogućnost PFA-100® testa u procjeni učinkovitosti TT-a u kardiokirurških bolesnika.

Svršihodnost ovog istraživanja proizlazi iz činjenice da eventualna mogućnost predviđanja krvarenja i korištenja krvnih pripravaka omogućava pravovremenu ciljanu transfuzijsku terapiju i pripremu odgovarajuće količine krvnih pripravaka za operacijski i poslijeoperacijski tijek liječenja.

### **2.2. Hipoteze**

2.2.1. Rezultati testa CADP-CT  $\geq 118$  s mogu predvidjeti količine krvarenja u vremenskom razdoblju unutar 48 h u CABG skupini bolesnika.

2.2.2. Rezultati testa CADP-CT  $\geq 118$  s mogu predvidjeti primjenu krvnih pripravaka za vrijeme operacije i u vremenskom razdoblju unutar 48 h nakon operacije u CABG skupini bolesnika.

2.2.3. Rezultati testa CEPI-CT  $\geq 165$  s ne mogu predvidjeti količine krvarenja i primjenu krvnih pripravaka u vremenskom razdoblju unutar 48 h u CABG skupini bolesnika.

2.2.4. U ne-CABG skupini rezultati testa CADP-CT  $\geq 118$  s kao i CEPI-CT  $\geq 165$  s ne mogu predvidjeti količine krvarenja i primjenu krvnih pripravaka u vremenskom razdoblju unutar 48 h.



- 2.2.5. Test CADP-CT izveden nakon aplikacije protamina ima najbolju prognostičku vrijednost u procjeni rizika povećanog krvarenja i primjeni krvnih pripravaka u CABG skupini bolesnika
- 2.2.6. Normalizacija vrijednosti testa CADP-CT (< 118 s) nakon TT-a je metoda korisna za procjenu učinkovitosti TT-a u CABG skupini bolesnika.

### 3. ISPITANICI I POSTUPCI

#### 3.1. Ispitanici

Prospektivna opservacijska studija odobrena je od strane Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra (KBC) Split (broj protokola: 2181-147-01 odobreno 20. veljače 2012). Nakon potpisanog informiranog pristanka 126 kardiokirurških bolesnika je uključeno u istraživanje u vremenskom razdoblju od svibnja 2012. do ožujka 2015. Devedeset i šest bolesnika je ispunjavalo zadane kriterije za sve parametre istraživanja (69 muškaraca i 27 žena, od 43 do 84 godina). U istraživanje su uključeni bolesnici koji se podvrgavaju elektivnoj kardiokirurškoj operaciji uz korištenje i bez korištenja CPB-a. Odluka o korištenju CPB-a ovisila je o procjeni kardiokirurga - operatera za pojedinog bolesnika. Prije operacije detaljno je uzeta anamneza bolesnika s podacima o sklonosti krvarenju, mogućim koagulacijskim poremećajima u obitelji te o prijeoperacijskom uzimanju određenih lijekova. Kriteriji da se bolesnici ne uključe u istraživanje bili su: urgentna operacija, bolesnici na antiagregacijskoj terapiji unutar 5 dana od datuma operacije, bolesnici s neprecizno dokumentiranom antiagregacijskom terapijom, hemoragijska dijateza u anamnezi, bolesnici koji se podvrgavaju kirurškoj reoperaciji uvjetovanoj krvarenjem u medijastinum (kirurški tip krvarenja), bubrežna insuficijencija ako je kreatinin  $> 120 \mu\text{mol/L}$ , a procjena glomerularne filtracije (*engl. Glomerular Filtration Rate – GRF*)  $< 60 \text{ ml/min}$ , jetrena insuficijencija (bilirubin  $> 50 \mu\text{mol/L}$ ), poremećaj koagulacije u standardnim koagulacijskim testovima (broj trombocita  $< 100 \times 10^9/\text{L}$ , PV  $< 0,70$ , aPTV  $> 33 \text{ s}$ , Hb  $< 100 \text{ g/L}$ , Htc  $< 0,28$ , fibrinogen  $< 1,8 \text{ g/L}$ ) prije operacije. Kriteriji za naknadno izuzimanje iz istraživanja bili su: broj trombocita  $< 100 \times 10^9/\text{L}$ , Hb  $< 100 \text{ g/L}$ , Htc  $< 0,28$  u T2 točki mjerenja (15 minuta nakon aplikacije protamina) te reoperacija zbog utvrđenog kirurškog krvarenja.

Istraživanje je podijeljeno u dva dijela s obzirom na ispitivane hipoteze.

U prvom dijelu istraživanja ispituje se učinkovitost PFA-100 metode u procjeni rizika krvarenja i primjene krvnih pripravaka obzirom na razlog kardiokirurške operacije. Bolesnici su podjeljeni u dvije skupine:

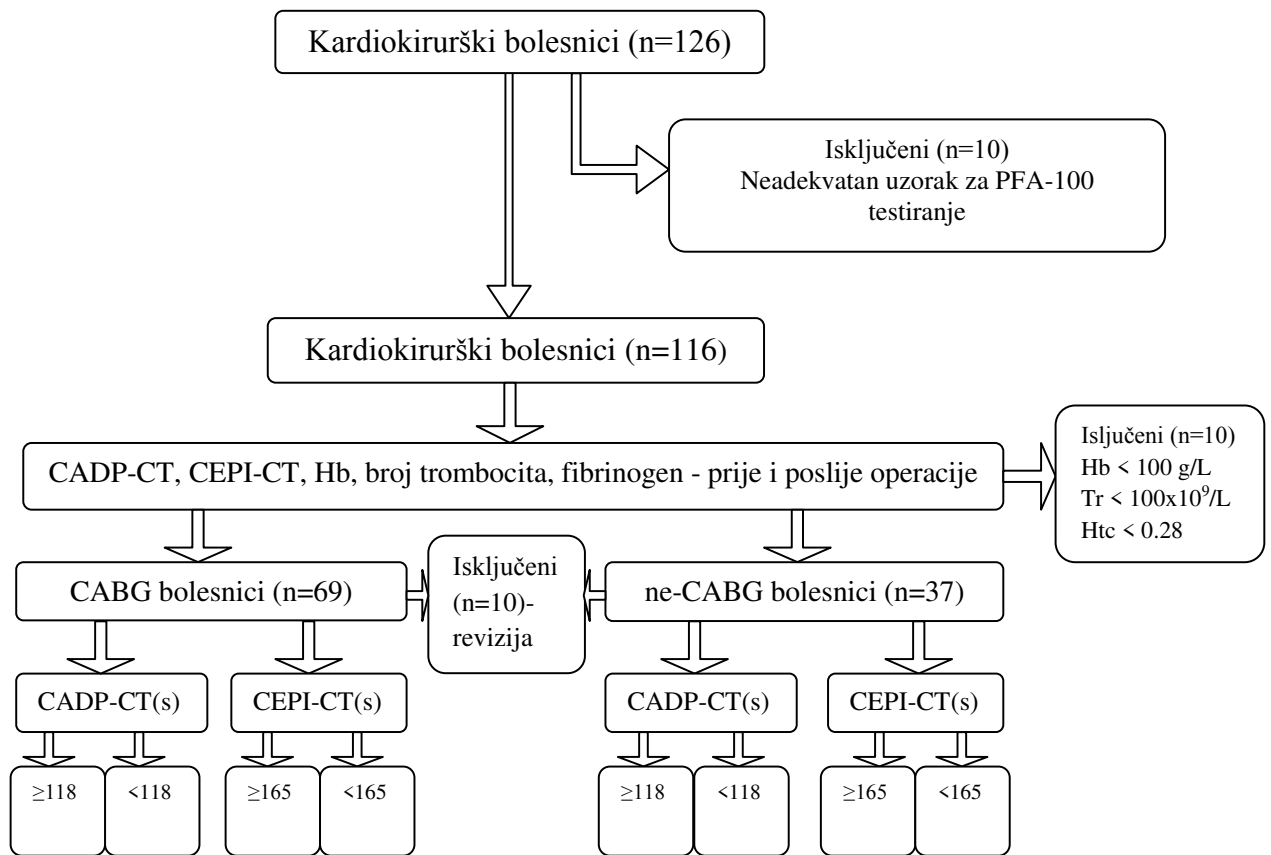
1. Bolesnici podvrgnuti operaciji aortokoronarnog premoštenja (skupina CABG)
2. Bolesnici podvrgnuti operaciji srčanih zalistaka (skupina ne-CABG)

Unutar svake skupine bolesnici su podijeljeni u dvije podskupine obzirom na granične vrijednosti CADP-CT od 118 s i CEPI-CT od 165 s. Drenaža na torakalne drenove definirana je kao primarni cilj istraživanja. Početak mjerenja drenaže na torakalne drenove bio je 30 minuta nakon zatvaranja prsnog koša. Intraoperacijske i poslijeoperacijske potrebe za transfuzijom krvnih pripravaka (KE, SSP, KT izraženi u dozama) su definirane kao sekundarni ciljevi istraživanja.

U drugom dijelu istraživanja urađena je poredba dvije metode za procjenu učinkovitosti TT-a u kardiokirurških bolesnika CABG skupine prema kriteriju dodatnih TT-a u vremenskom razdoblju unutar 48 sati nakon operacije. CABG bolesnici su dobili transfuziju KT-a (1 doza KT/10 kg tjelesne mase) 30-60 minuta nakon aplikacije protamina i neutralizacije heparina. Određuje se specifičnost, osjetljivost, točnost te pozitivna i negativna prediktivna vrijednost dva parametra:

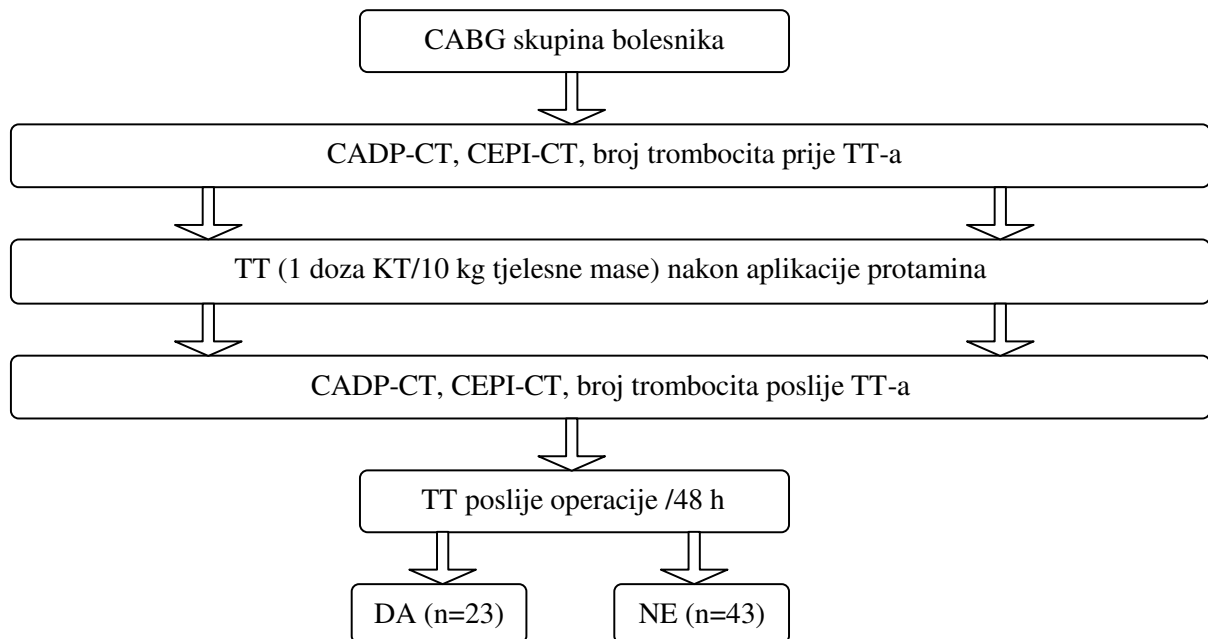
1. broj trombocita  $> 200 \times 10^9$  nakon TT-a
2. CADP-CT  $< 118$  s nakon TT-a

**3.1.1. Hodogram istraživanja i razvrstavanja u skupine prema vrsti kardiokirurške operacije te u podskupine prema graničnim vrijednostima za CADP-CT i CEPI-CT**



Slika 5. Hodogram 1. dijela istraživanja – Učinkovitost CADP-CT i CEPI-CT u procjeni rizika krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka u CABG i ne-CABG skupini bolesnika

### 3.1.2. Hodogram istraživanja i razvrstavanja u podskupine prema potrebi za dodatnim TT u vremenskom razdoblju unutar 48 sati u CABG skupini



Slika 6. Hodogram 2. dijela istraživanja – Procjena učinkovitosti TT-a

## **3.2. Postupci**

### **3.2.1. Perioperacijski postupak**

Svi bolesnici koji su uključeni u istraživanje primljeni su na Odjel za kardijalnu kirurgiju barem jedan dan prije planiranog operacijskog zahvata. Kardiokirurg - operater za pojedinog bolesnika je donio odluku o vrsti operacijske tehnike, odnosno korištenju izvantjelesnog krvotoka. Kirurški postupci su izvedeni standardiziranim tehnikama i prema standardnom anesteziološkom postupniku. CPB s hepariniziranim cijevima je proveden u umjerenom hipotermiji (34°C) sa srednjim tlakom protoka 60 mmHg. Sistemska heparinizacija provodila se s ciljanim aktiviranim vremenom zgrušavanja (engl. *Activated Coagulation Time* - ACT) > 280 s te kasnijom neutralizacijom heparina pomoću protamin-sulfata u omjeru 1:1 za obje skupine bolesnika. Odvajanje od stroja za izvantjelesni krvotok započelo bi nakon stabilizacije hemodinamskih parametara rada srca po uspostavi normotermije. Transfuzija KE-a se primjenila ako je vrijednosti Hct-a bila < 20 % za vrijeme izvantjelesnog krvotoka, ili u slučajevima intenzivnog krvarenja. SSP se transfundirala ukoliko su PT i aPTV prolongirani > 1,5 od srednje referentne vrijednosti. U JIL-u odluku o nadoknadi krvnim pripravcima donosio je nadležni anesteziolog. Svi bolesnici CABG skupine uključeni u istraživanje su dobivali TT u količini 1 doza/10 kg tjelesne mase. KT je transfundiran 30 minuta nakon aplikacije protamina i neutralizacije heparina, u stanju normotermije i bez utjecaja stroja za izvantjelesni krvotok.

### **3.2.2. Uzorkovanje krvi**

U cilju perioperacijske evaluacije funkcije trombocita uzorkovanje krvi s provođenjem laboratorijskih testova izvedeno je u tri točke mjerenja:

1. Početak operacije – indukcija anestezije – hemostatska svojstva krvi su bez utjecaja kirurškog čimbenika i čimbenika uvjetovanog kontaktom sa stranim površinama sistema za izvantjelesni krvotok. Bolesnici se međusobno razlikuju prema vrsti i načinu administracije antiagregacijske terapije.
2. Petnaest minuta nakon aplikacije protamina i neutralizacije heparina. Bolesnik je u normotermiji i odvojen od stroja za izvantjelesni krvotok. U ovoj točki mjerenja može se uočiti potencijalni učinak stranih površina sistema za izvantjelesni krvotok, hipotermije te preciznost heparinske neutralizacije protaminom.

3. Trideset do 60 minuta nakon isteka KT-a radi optimalne procjene transfuzijske učinkovitosti u bolesnika CABG skupine

Uzorak krvi za CADP-CT i CEPI-CT je izdvojen u 4,5 ml epruvetu (3,2 % natrij citrat; Vacutainer, Becton-Dickinson®, Plymouth, Velika Britanija), izmiješan u epruveti nekoliko puta te skladišten i transportiran na sobnoj temperaturi. PFA-100 test je učinjen unutar 2 sata od uzorkovanja u Odjelu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC Split.

U istraživanju je izdvojen i uzorak krvi za hematološka testiranja u svrhu određivanja Hb-a, Htc-a, broja trombocita u 4,5 ml epruvetu (K<sub>3</sub>EDTA antikoagulans; Vacutainer, Becton-Dickinson®, Plymouth, Velika Britanija). Hematološki testovi su učinjeni unutar 2 sata od uzorkovanja u Odjelu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC Split.

### 3.2.3. Statistička raščlamba

Podaci su prikazani kao kontinuirane i kategorijske varijable. Korištena je deskriptivna statistika s mjerama centralne tendencije za kvantitativne varijable (aritmetička sredina i standardna devijacija), Smirnov-Kolmogorovljev test se koristio za procjenu normalnosti raspodjele podataka, a prema rezultatima primjenjivani su odgovarajući parametrijski, odnosno neparametrijski testovi. Razlike u kvantitativnim vrijednostima između ispitivanih skupina analizirani su t-testom. P vrijednost manja od 0,05 smatrala se statistički značajnom. Statističke analize su izrađene korištenjem programske podrške SPSS (Verzija 17.0, Chicago, IL, USA).

Usporedba metoda za procjenu učinkovitosti TT-a (broj trombocita, CADP-CT) vršila se na temelju mjera točnosti testa u predviđanju korištenja KT-a: osjetljivost, specifičnost te pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) i negativna prediktivna vrijednost (NPV).

Osjetljivost = broj stvarno pozitivnih nalaza / ukupan broj bolesnika koji su primali TT-a / 48 h nakon operacije

Specifičnost = broj stvarno negativnih nalaza / ukupan broj bolesnika koji nisu primali TT-a / 48 h nakon operacije

Točnost = broj stvarno negativnih + broj stvarno pozitivnih / ukupan broj ispitanika

PPV = broj stvarno pozitivnih nalaza / broj svih pozitivnih nalaza

NPV = broj stvarno negativnih nalaza / broj svih negativnih nalaza

U navedenim formulama kao pozitivni nalazi uvrštene su vrijednosti CADP-CT  $\geq 118$  s te broj trombocita  $< 200 \times 10^9/L$  nakon TT-a. Negativni nalazi u našem istraživanju su vrijednosti CADP-CT  $\geq 118$  s te broj trombocita  $> 200 \times 10^9/L$  nakon TT-a.

U analizi snage testa pretpostavljeni su slijedeći parametri: 2 ispitivane podskupine u CABG i ne-CABG skupini s obzirom na vrijednosti CADP-CT i CEPI-CT, snaga testa od 0,90, učinak veličine uzorka  $f$  od 0,25 i  $\alpha$  razina značajnosti 0,05. Pod navedenim uvjetima potreban broj ispitanika u skupinama iznosio bi 33. Za analizu snage testa koristila se programska podrška PASS 11 (NCSS Inc., Kaysville, UT).



#### 4. REZULTATI

Istraživanje je provedeno u razdoblju od svibnja 2012. do ožujka 2015. u 126 kardiokirurških bolesnika koji su zadovoljili uključne kriterije za ovo istraživanje, a nisu zadovoljavali niti jedan od isključnih kriterija. S obzirom da su uzorkovanja krvi i laboratorijski testovi rađeni za sve bolesnike u 2 točke mjerenja (prije operacije i poslije operacije), a za skupinu CABG koja je koristila neposredno nakon operacije TT i dodatno u 2 točke mjerenja (prije TT-a i 30-60 min nakon TT-a), 20 bolesnika je isključeno tijekom istraživanja zbog nemogućnosti pravilne izrade laboratorijskih testova (neadekvatan uzorak, broj trombocita  $< 100 \times 10^9/L$ , Hb  $< 100$  g/L, Hct  $< 0,28$ ). Zbog utvrđivanja kirurškog krvarenja i potrebe za kirurškom revizijom isključeno je 10 bolesnika.

Konačan broj bolesnika koji su zadovoljili zadane kriterije za sve parametre istraživanja je 96 (69 muškaraca i 27 žena, od 43 do 84 godina).

Bazični demografski, terapijski, transfuziološki i operacijski podaci u kohorti bolesnika koja je podijeljena prema razlogu kardiokirurške operacije u skupini CABG i ne-CABG prikazani su u tablici 1.

Bazični podaci uključuju godine, spol, indeks tjelesne mase ( $\text{kg/m}^2$ ), prisutnost hipertenzije, hiperlipidemije, šećerne bolesti, pušački status, vrijednost kreatinina, GRF, bilirubina, infarkt miokarda u anamnezi. Terapijski podaci su podaci o kontinuiranom uzimanju antiagregacijske terapije (ASK i CLO) do 5 dana prije operacije (bolesnici koji uzimaju antiagregacijsku terapiju u vremenskom razdoblju od 5 dana prije operacije nisu ispitivani). Korišteni laboratorijski podaci su broj trombocita, Htc, Hb, fibrinogen, CADP-CT i CEPI-CT. Korišteni transfuziološki podaci su korištenje krvnih pripravaka (KE, KT, SSP) za vrijeme operacije i nakon operacije do 48 h. Korišteni operacijski podaci su razlog operacije (podjela na CABG i ne-CABG), korištenje CPB-a te volumen izdrenirane krvi u torakalnim drenovima u vremenskim razdobljima:

1. od završetka operacije do 24 h
2. od 25 h do 48 h nakon operacije

Tablica 1. Demografski podatci u kohorti bolesnika podijeljenoj prema razlogu kardiokirurške operacije

	CABG n=66	ne-CABG n=30
Godine	67±11	69±8
Spol (muškarci)	55 (83%)	14 (47%)
Indeks tjelesne mase, kg/m <sup>2</sup>	29±4	26±4
Hipertenzija	49 (74%)	12 (40%)
Hiperlipidemija	41 (62%)	10 (33%)
Šećerna bolest	12 (18%)	6 (20%)
Pušači	25 (38%)	11 (27%)
Kreatinin (μmol/L)	84±18,5	89,6±23,6
GRF (ml/min)	82,9±13,2	85,6±14,1
Bilirubin (μmol/L)	30,4±22,2	31,5±18,3
Infarkt miokarda u anamnezi	10 (15%)	0
Terapija CLO-om (do 5 dana prije operacije)	33 (50%)	5 (17%)
Bez terapije CLO-om u anamnezi	33 (50%)	25 (83%)
Terapija ASK-om (do 5 dana prije operacije)	42 (74%)	20 (67%)
Bez terapije ASK-om u anamnezi	24 (26%)	10 (33%)
CPB	22 (33%)	30 (100%)
Broj trombocita (x10 <sup>9</sup> /L)	197±59	160±43
Hct	0,35±0,04	0,31±0,02
Hb (g/L)	120±15	114±13
Fibrinogen (g/L)	3,3±0,9	2,7±0,8
CEPI-CT (s)	180±77	232±62
CADP-CT (s)	141±83	195±77
24 satna drenaža (ml)	664±446	282±155
25-48 satna drenaža (ml)	338±237	229±166
≥ 2 doze KE-a / 48 h	28 (42%)	9 (30%)
≥ 1 doze SSP-om / 48 h	15 (23%)	6 (20%)
≥ 4 doze KT-a / 48 h	23 (35%)	2 (7%)

Razlike u laboratorijskim parametrima, količini izdrenirane krvi i potrošnji krvnih pripravaka s obzirom na prijeoperacijsku vrijednost CADP-CT-a u CABG skupini bolesnika prikazane su u tablici 2.

Tablica 2. Laboratorijski parametri, količina izdrenirane krvi i broj doza krvnih pripravaka s obzirom na prijeoperacijsku vrijednost CADP-CT-a u CABG skupini bolesnika

	CADP-CT $\geq$ 118 s n=20	CADP-CT < 118 s n=46	p
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	198 $\pm$ 52	205 $\pm$ 64	0,424
Hb (g/L)	118 $\pm$ 14	128 $\pm$ 15	0,635
Fibrinogen (g/L)	3,1 $\pm$ 0,9	3,6 $\pm$ 1,0	0,060
Htc	0,34 $\pm$ 0,07	0,36 $\pm$ 0,03	0,030†
24 satna drenaža (ml)	747 $\pm$ 393	456 $\pm$ 298	0,002†
25-48 satna drenaža (ml)	398 $\pm$ 281	237 $\pm$ 153	0,003†
Intraoperacijski			
KE (broj pripravaka)	3,2 $\pm$ 1,8	1,8 $\pm$ 1,7	0,002†
SSP (broj pripravaka)	3,6 $\pm$ 1,2	2,8 $\pm$ 0,7	0,003†
Poslijeoperacijski			
KE (broj pripravaka)	2,6 $\pm$ 2,1	1,2 $\pm$ 1,5	0,002†
SSP (broj pripravaka)	1,6 $\pm$ 2,3	0,4 $\pm$ 1,2	0,015†
KT (broj pripravaka)	5,0 $\pm$ 5,2	3,0 $\pm$ 2,4	0,002†

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

Između podskupina u CABG skupini bolesnika s CADP-CT  $\geq$  118 s i CADP-CT  $<$  118 s prije operacije, uočena je statistički značajna razlika u vrijednostima Htc-a ( $p = 0,030$ ), količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h nakon operacije ( $p = 0,002$ ) i 25-48 h nakon operacije ( $p = 0,003$ ), kao i u broju transfundiranih doza KE-a ( $p = 0,002$ ) i SSP-om ( $p = 0,003$ ) za vrijeme operacije te broju doza KE-a ( $p = 0,002$ ), SSP ( $p = 0,015$ ) i KT-a ( $p = 0,002$ ) transfundiranih kroz 48 h nakon operacije.

Razlike u laboratorijskim parametrima, količini izdrenirane krvi i potrošnji krvnih pripravaka s obzirom na poslijeoperacijske vrijednosti CADP-CT-a u CABG skupini bolesnika prikazani su u tablici 3.

Tablica 3. Laboratorijski parametri, količina izdrenirane krvi i broj doza krvnih pripravaka s obzirom na poslijeoperacijsku vrijednost CADP-CT-a u CABG skupini bolesnika

	CADP-CT $\geq$ 118 s n=32	CADP-CT $<$ 118 s n=34	p
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	190 $\pm$ 54	202 $\pm$ 62	0,444
Hb (g/L)	116 $\pm$ 14	124 $\pm$ 15	0,535
Fibrinogen (g/L)	3,0 $\pm$ 0,9	3,5 $\pm$ 1,0	0,050
Htc	0,34 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,04	0,020†
24 satna drenaža (ml)	847 $\pm$ 493	486 $\pm$ 317	0,001†
25-48 satna drenaža (ml)	423 $\pm$ 271	257 $\pm$ 163	0,003†
KE (broj pripravaka)	2,5 $\pm$ 2,2	1,0 $\pm$ 1,5	0,002†
SSP (broj pripravaka)	1,5 $\pm$ 2,4	0,4 $\pm$ 1,3	0,015†
KT (broj pripravaka)	5,1 $\pm$ 5,6	0,8 $\pm$ 2,6	$<$ 0,001†

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

Između podskupina u CABG skupini bolesnika s CADP-CT-om  $\geq 118$  s i CADP-CT-om  $< 118$  s poslije operacije, uočena je statistički značajna razlika u vrijednostima Htc-a ( $p = 0,020$ ), količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h nakon operacije ( $p = 0,001$ ) i 25-48 h nakon operacije ( $p = 0,003$ ), kao i u broju doza KE-a ( $p = 0,002$ ), SSP ( $p = 0,015$ ) i KT-a ( $p < 0,001$ ) kroz 48 h nakon operacije.

Razlike u laboratorijskim parametrima, količini izdrenirane krvi i potrošnji krvnih pripravaka s obzirom na prijeoperacijske vrijednosti CEPI-CT-a u CABG skupini bolesnika prikazani su u tablici 4.

Tablica 4. Laboratorijski parametri, količina izdrenirane krvi i broj doza krvnih pripravaka s obzirom na prijeoperacijsku vrijednost CEPI-CT-a u CABG skupini bolesnika

	CEPI-CT $\geq$ 165 s n=28	CEPI-CT < 165 s n=38	p
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	201 $\pm$ 53	215 $\pm$ 64	0,430
Hb (g/L)	125 $\pm$ 14	134 $\pm$ 15	0,470
Fibrinogen (g/L)	3,1 $\pm$ 0,7	3,6 $\pm$ 1,0	0,008†
Htc	0,32 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,04	0,001†
24 satna drenaža (ml)	653 $\pm$ 432	622 $\pm$ 448	0,682
25-48 satna drenaža (ml)	357 $\pm$ 234	339 $\pm$ 252	0,822
Intraoperacijski			
KE (broj pripravaka)	3,0 $\pm$ 1,6	2,2 $\pm$ 2,0	0,621
SSP (broj pripravaka)	3,4 $\pm$ 1,4	3,0 $\pm$ 0,6	0,183
Poslijeoperacijski			
KE (broj pripravaka)	2,1 $\pm$ 2,3	1,4 $\pm$ 1,6	0,105
SSP (broj pripravaka)	1,2 $\pm$ 2,3	0,9 $\pm$ 1,8	0,166
KT (broj pripravaka)	3,5 $\pm$ 5,7	2,4 $\pm$ 3,5	0,173

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

Razlike u laboratorijskim parametrima, količini izdrenirane krvi i potrošnji krvnih pripravaka s obzirom na poslijeoperacijske vrijednosti CEPI-CT-a u CABG skupini bolesnika prikazani su u tablici 5.

Tablica 5. Laboratorijski parametri, količina izdrenirane krvi i broj doza krvnih pripravaka s obzirom na poslijeoperacijsku vrijednost CEPI-CT u CABG skupini bolesnika

	CEPI-CT $\geq$ 165 s n=31	CEPI-CT < 165 s n=35	p
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	192 $\pm$ 53	201 $\pm$ 64	0,430
Hb (g/L)	115 $\pm$ 14	124 $\pm$ 15	0,470
Fibrinogen (g/L)	2,9 $\pm$ 0,7	3,6 $\pm$ 1,0	0,007†
Htc	0,33 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,04	0,001†
24 satna drenaža (ml)	693 $\pm$ 462	632 $\pm$ 438	0,582
25-48 satna drenaža (ml)	347 $\pm$ 244	329 $\pm$ 231	0,766
KE (broj pripravaka)	2,1 $\pm$ 2,3	1,3 $\pm$ 1,6	0,102
SSP (broj pripravaka)	1,1 $\pm$ 2,3	0,8 $\pm$ 1,7	0,186
KT (broj pripravaka)	3,7 $\pm$ 5,7	2,2 $\pm$ 3,7	0,153

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

Između podskupina u CABG skupini bolesnika s CEPI-CT  $\geq$  165 s i CEPI-CT < 165 s prije i poslije operacije, nije uočena statistički značajna razlika u količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h nakon operacije i 25-48 h nakon operacije, kao i u broju doza KE, SSP za vrijeme operacije te broju doza KE, KT i SSP kroz 48 h nakon operacije. Statistička razlika je uočena u navedenim skupinama u vrijednostima Htc prije i poslije operacije ( $p = 0,001$ ), te u vrijednostima fibrinogena prije ( $p = 0,008$ ) i poslije ( $p = 0,007$ ) operacije.

Razlike u laboratorijskim parametrima, količini izdrenirane krvi i potrošnji krvnih pripravaka s obzirom na prijeoperacijsku vrijednosti CADP-CT-a u ne-CABG skupini bolesnika prikazani su u tablici 6.

Tablica 6. Laboratorijski parametri, količina izdrenirane krvi i broj doza krvnih pripravaka s obzirom na prijeoperacijsku vrijednost CADP-CT-a u ne-CABG

	CADP-CT $\geq$ 118 s n=10	CADP-CT < 118 s n=20	p
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	173 $\pm$ 38	192 $\pm$ 69	0,266
Hb (g/L)	125 $\pm$ 15	111 $\pm$ 10	0,310
Fibrinogen (g/L)	2,9 $\pm$ 0,6	2,9 $\pm$ 1,3	0,900
Htc	0,32 $\pm$ 0,06	0,30 $\pm$ 0,05	0,215
24 satna drenaža (ml)	285 $\pm$ 137	258 $\pm$ 175	0,682
25-48 satna drenaža (ml)	220 $\pm$ 159	195 $\pm$ 112	0,592
Perioperacijski			
KE (broj pripravaka)	3,7 $\pm$ 1,8	2,9 $\pm$ 2,2	0,250
SSP (broj pripravaka)	3,0 $\pm$ 1,1	3,6 $\pm$ 0,8	0,267
Poslijeoperacijski			
KE (broj pripravaka)	0,9 $\pm$ 1,4	1,0 $\pm$ 1,6	0,716
SSP (broj pripravaka)	0,6 $\pm$ 1,0	0,8 $\pm$ 1,5	0,608
KT (broj pripravaka)	0,4 $\pm$ 0,8	0,6 $\pm$ 1,7	0,578

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test



Razlike u laboratorijskim parametrima, količini izdrenirane krvi i potrošnji krvnih pripravaka s obzirom na poslijeoperacijsku vrijednosti CADP-CT-a u ne-CABG skupini bolesnika prikazani su u tablici 7.

Tablica 7. Laboratorijski parametri, količina izdrenirane krvi i broj doza krvnih pripravaka s obzirom na poslijeoperacijsku vrijednost CADP-CT-a u ne-CABG skupini bolesnika.

	CADP-CT $\geq$ 118 s n=23	CADP-CT < 118 s n=7	p
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	153 $\pm$ 36	182 $\pm$ 59	0,266
Hb (g/L)	110 $\pm$ 13	98 $\pm$ 11	0,310
Fibrinogen (g/L)	2,7 $\pm$ 0,6	2,7 $\pm$ 1,3	0,900
Htc	0,32 $\pm$ 0,04	0,30 $\pm$ 0,03	0,115
24 satna drenaža (ml)	294 $\pm$ 147	238 $\pm$ 185	0,482
25-48 satna drenaža (ml)	240 $\pm$ 179	190 $\pm$ 114	0,492
KE (broj pripravaka)	0,9 $\pm$ 1,2	1,0 $\pm$ 1,5	0,817
SSP (broj pripravaka)	0,4 $\pm$ 1,0	0,7 $\pm$ 1,5	0,508
KT (broj pripravaka)	0,2 $\pm$ 0,8	0,6 $\pm$ 1,5	0,527

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

Između podskupina u ne-CABG skupini bolesnika s CADP-CT-om  $\geq$  118 s i CADP-CT-om < 118 s prije i poslije operacije, nije uočena statistički značajna razlika u količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h nakon operacije i 25-48 h nakon operacije, kao i u broju doza KE, SSP za vrijeme operacije te broju doza KE, KT i SSP kroz 48 h nakon operacije.

Razlike u laboratorijskim parametrima, količini izdrenirane krvi i potrošnji krvnih pripravaka s obzirom na prijeoperacijsku vrijednosti CEPI-CT-a u ne-CABG skupini bolesnika prikazani su u tablici 8.

Tablica 8. Laboratorijski parametri, količina izdrenirane krvi i broj doza krvnih pripravaka s obzirom na prijeoperacijsku vrijednost CEPI-CT-a u ne-CABG skupini bolesnika

	CEPI-CT $\geq$ 165 s n=20	CEPI-CT < 165 s n=10	p
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	174 $\pm$ 36	222 $\pm$ 67	0,279
Hb (g/L)	135 $\pm$ 14	140 $\pm$ 7,0	0,689
Fibrinogen (g/L)	2,9 $\pm$ 0,9	2,7 $\pm$ 0,5	0,920
Htc	0,32 $\pm$ 0,06	0,30 $\pm$ 0,04	0,306
24 satna drenaža (ml)	296 $\pm$ 160	180 $\pm$ 43	0,166
25-48 satna drenaža (ml)	223 $\pm$ 169	199 $\pm$ 159	0,707
Perioperacijski			
KE (broj pripravaka)	3,9 $\pm$ 1,6	0,8 $\pm$ 0,5	0,001†
SSP (broj pripravaka)	2,9 $\pm$ 0,9	4,8 $\pm$ 1,0	0,001†
Poslijeoperacijski			
KE (broj pripravaka)	1,1 $\pm$ 1,4	0,6 $\pm$ 1,1	0,518
SSP (broj pripravaka)	0,7 $\pm$ 1,3	0,0 $\pm$ 0,0	0,384
KT (broj pripravaka)	0,5 $\pm$ 1,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,481

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

Između podskupina u ne-CABG skupini bolesnika s CEPI-CT-om  $\geq$  165 s i CEPI-CT-a < 165 s prije operacije, nije uočena statistički značajna razlika u količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h nakon operacije i 25-48 h nakon operacije, kao i u broju

doza KE-a, KT-a i SSP-e kroz 48 h nakon operacije, ali je uočena statistički značajna razlika u broju doza KE-e ( $p = 0,001$ ) i SSP-e ( $p = 0,001$ ) koje su transfundirane za vrijeme operacije.

Razlike u laboratorijskim parametrima, količini izdrenirane krvi i transfuzijskim ishodima razmatranja s obzirom na poslijeoperacijsku vrijednosti CEPI-CT-a u ne-CABG skupini bolesnika prikazani su u tablici 9.

Tablica 9. Laboratorijski parametri, količina izdrenirane krvi i broj doza krvnih pripravaka s obzirom na poslijeoperacijsku vrijednost CEPI-CT-a u ne-CABG skupini bolesnika.

	CEPI-CT $\geq$ 165 s n=26	CEPI-CT < 165 s n=4	p
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	154 $\pm$ 36	202 $\pm$ 67	0,249
Hb (g/L)	107 $\pm$ 14	105 $\pm$ 7,0	0,599
Fibrinogen (g/L)	2,8 $\pm$ 0,8	2,4 $\pm$ 0,4	0,930
Htc	0,32 $\pm$ 0,04	0,30 $\pm$ 0,02	0,304
24 satna drenaža (ml)	296 $\pm$ 160	180 $\pm$ 43	0,166
25-48 satna drenaža (ml)	223 $\pm$ 169	199 $\pm$ 159	0,707
KE (broj pripravaka)	1,0 $\pm$ 1,3	0,5 $\pm$ 1,0	0,508
SSP (broj pripravaka)	0,5 $\pm$ 1,2	0,0 $\pm$ 0,0	0,374
KT (broj pripravaka)	0,3 $\pm$ 1,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,581

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

Između podskupina u ne-CABG skupini bolesnika s CEPI-CT-om  $\geq$  165 s i CEPI-CT-om < 165 s poslije operacije, nije uočena statistički značajna razlika u količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h nakon operacije i 25-48 h nakon operacije te broju doza KE-a, KT-a i SSP-e transfundiranih kroz 48 h nakon operacije.

Razlike u laboratorijskim parametrima u CABG i ne-CABG skupini bolesnika s obzirom na poslijeoperacijsko korištenje KE-a prikazane su u tablici 10.

Tablica 10. Laboratorijski parametri s obzirom na broj doza KE-a u CABG i ne-CABG skupini bolesnika

	CABG			non-CABG		
	n=66		p	n=30		p
	<2 doze KE (n=38)	≥2 doze KE (n=28)		<2 doze KE (n=21)	≥2 doze KE (n=9)	
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	206±63	184±51	0,129	163±46	153±36	0,052
Hb (g/L)	125±14	114±15	0,005†	108±14	106±12	0,702
Fibrinogen (g/L)	3,5±1,0	3,0±1,0	0,023†	2,6±0,7	2,8±1,1	0,624
CADP-CT (s)	119±42	186±78	< 0,001†	191±73	200±80	0,776
CEPI-CT (s)	173±81	191±70	0,347	226±62	246±63	0,424

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

U poslijeoperacijskom (48 h) korištenju krvnih pripravaka statistički značajna razlika s obzirom na broj transfundiranih doza KE-a je uočena u CABG skupini u poslijeoperacijskim vrijednostima Hb-a ( $p = 0,005$ ), fibrinogena ( $p = 0,023$ ) i CADP-CT ( $p < 0,001$ ).

U ne-CABG skupini uočena je statistička razlika u poslijeoperacijskom broju trombocita, vrijednosti blizu granice značajnosti s obzirom na broj transfundiranih doza KE-a ( $p = 0,052$ ).

Razlike u laboratorijskim parametrima u CABG i ne-CABG skupini bolesnika s obzirom na poslijeoperacijsko korištenje KT-a prikazane su u tablici 11.

Tablica 11. Laboratorijski parametri s obzirom na broj doza KT-a u CABG i ne-CABG skupini bolesnika

	CABG			Ne-CABG		
	n=66		p	n=30		p
	TT NE n=43	TT DA n=23		TT NE n=28	TT DA n=2	
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	209 $\pm$ 64	174 $\pm$ 39	0,070	163 $\pm$ 43	120 $\pm$ 14	0,052
Hb (g/L)	122 $\pm$ 15	117 $\pm$ 16	0,256	107 $\pm$ 14	104 $\pm$ 8,0	0,715
Fibrinogen (g/L)	3,4 $\pm$ 0,9	3,1 $\pm$ 0,9	0,370	2,7 $\pm$ 0,8	2,3 $\pm$ 0,2	0,421
CADP-CT (s)	114 $\pm$ 35	211 $\pm$ 70	< 0,001†	193 $\pm$ 73	196 $\pm$ 120	0,967
CEPI-CT (s)	178 $\pm$ 76	187 $\pm$ 78	0,596	230 $\pm$ 63	252 $\pm$ 42	0,649

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

U poslijeoperacijskom (48 h) korištenju krvnih pripravaka statistički značajna razlika s obzirom na broj transfundiranih doza KT-a uočena je u CABG skupini u poslijeoperacijskim vrijednostima CADP-CT-a ( $p < 0,001$ ).

U ne-CABG skupini uočena je statistička razlika u poslijeoperacijskom broju trombocita, vrijednosti blizu granice značajnosti s obzirom na broj transfundiranih doza KT-a ( $p = 0,052$ ).

Razlike u laboratorijskim parametrima u CABG i ne-CABG skupini bolesnika s obzirom na poslijeoperacijsko korištenje SSP-e prikazane su u tablici 12.

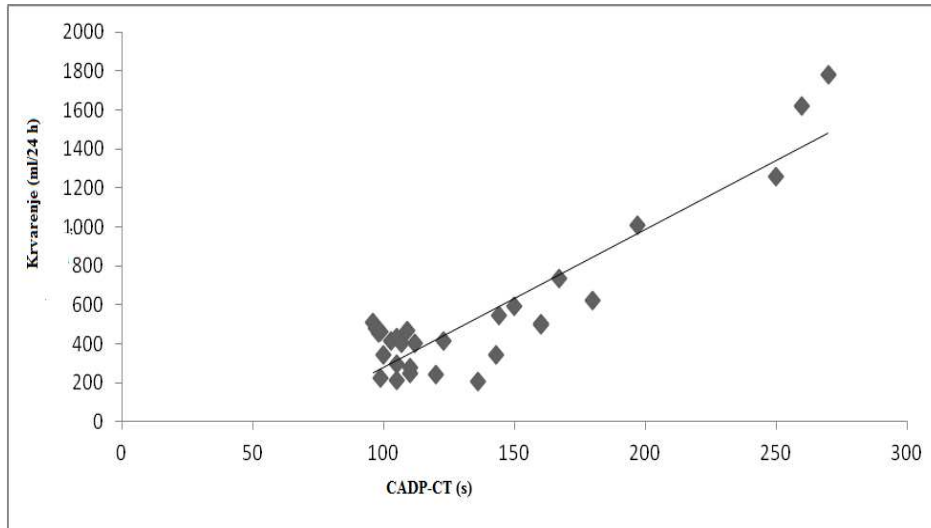
Tablica 12. Laboratorijski parametri s obzirom na broj doza SSP-e u CABG i ne-CABG skupini bolesnika

	CABG			ne-CABG		
	n=66			n=30		
	SSP NE n=51	SSP DA n=15	p	SSP NE n=24	SSP DA n=6	p
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	204 $\pm$ 63	173 $\pm$ 31	0,076	162 $\pm$ 45	150 $\pm$ 36	0,533
Hb (g/L)	121 $\pm$ 15	117 $\pm$ 15	0,424	107 $\pm$ 14	107 $\pm$ 12	0,937
Fibrinogen (g/L)	3,4 $\pm$ 0,9	3,0 $\pm$ 1,0	0,258	3,4 $\pm$ 0,9	3,0 $\pm$ 1,0	0,904
CADP-CT (s)	127 $\pm$ 50	219 $\pm$ 76	< 0,001†	192 $\pm$ 71	197 $\pm$ 91	0,890
CEPI-CT (s)	179 $\pm$ 78	185 $\pm$ 73	0,815	228 $\pm$ 68	248 $\pm$ 34	0,815

† statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ), korišten t-test

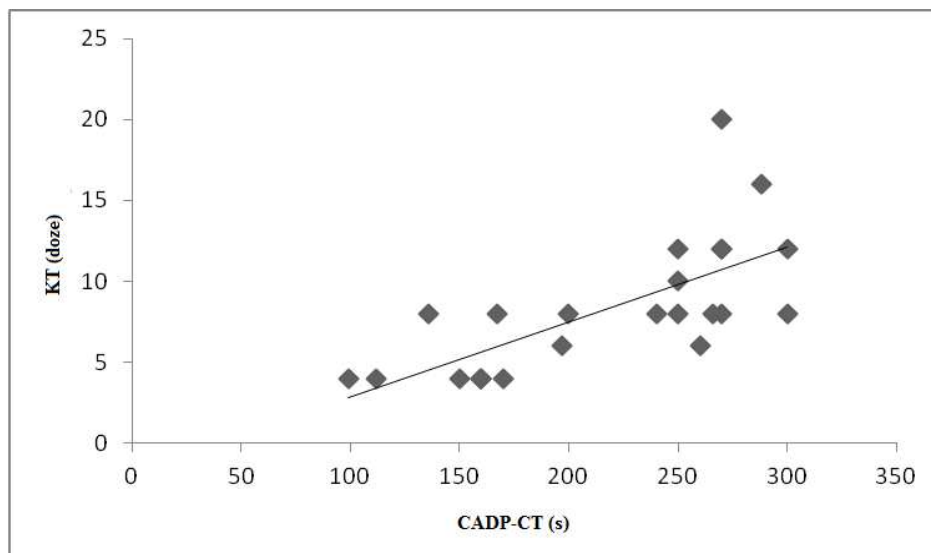
U poslijeoperacijskom (48 h) korištenju krvnih pripravaka statistički značajna razlika s obzirom na broj transfundiranih doza SSP-e uočena je u CABG skupini u poslijeoperacijskim vrijednostima CADP-CT-a ( $p < 0,001$ ).

Statistički najznačajnije razlike su uočene između podskupina CADP-CT  $\geq 118$  s i CADP-CT  $< 118$  s (poslijeoperacijski) u CABG skupini bolesnika s obzirom na količinu izdrenirane krvi kroz 24 h (slika 7.) i potrošnju KT kroz 48 h (slika 8.).



Slika 7. Korelacija vrijednosti CADP-CT-a i količine izdrenirane krvi / 24 h u CABG skupini

Iz slike 7. je vidljivo postojanje pozitivne korelacije između vrijednosti CADP-CT-a poslije operacije i količine izdrenirane krvi kroz 24 h u CABG skupini.



Slika 8. Korelacija vrijednosti CADP-CT i TT / 48 h u CABG skupini bolesnika

Iz slike 8. je vidljivo postojanje pozitivne korelacije između vrijednosti CADP-CT-a poslije operacije i TT-a kroz 48 h u CABG skupini.

Bolesnici CABG skupine (n=66) uključeni u istraživanje su dobivali TT u količini 1 doza/10 kg tjelesne mase. KT-a je transfundiran 30 minuta nakon aplikacije protamina i neutralizacije heparina, u stanju normotermije i bez utjecaja stroja za izvantjelesni krvotok. Trideset do 60 minuta nakon TT-a određen je broj trombocita i vrijednost CADP-CT-a u cilju procjene transfuzijske učinkovitosti. Procjena učinkovitosti TT-a temeljila se na potrebi za TT-a kroz 48 h poslije operacije.

Tablica 13. Procjena učinkovitosti TT-a s obzirom na vrijednosti CADP-CT-a nakon TT-a

	CADP-CT $\geq$ 118 s nakon TT-a	CADP-CT < 118 s nakon TT-a
TT/48 h – DA (n=23)	19	4
TT/48 h – NE (n=43)	3	40
Ukupno (n=66)	22	44

Osjetljivost =  $19/23 = 0,83$  (83 %)

Specifičnost =  $40/43 = 0,93$  (93 %)

Točnost =  $(19+40)/66 = 0,89$  (89 %)

PPV =  $19/22 = 0,86$  (86 %)

NPV =  $40/44 = 0,90$  (90%)

Metoda procjene učinkovitosti TT-a s obzirom na vrijednost CADP-CT-a nakon TT-a pokazala je osjetljivost 83 %, specifičnost 93 %, točnost 89 %, PPV 86 % i NPV 90 % (tablica 13.).



Tablica 14. Procjena učinkovitosti TT-a s obzirom na broj trombocita nakon TT-a

	Broj trombocita < 200x10 <sup>9</sup> /L nakon TT-a	Broj trombocita > 200x10 <sup>9</sup> /L nakon TT-a
TT/48 h – DA (n= 23)	9	14
TT/48 h – NE (n= 43)	18	25
Ukupno (n= 66)	27	39

Osjetljivost =  $9/23 = 0,4$  (40 %)

Specifičnost =  $25/43 = 0,58$  (58 %)

Točnost =  $(9+25)/66 = 0,52$  (52 %)

PPV =  $9/27 = 0,33$  (33 %)

NPV =  $25/39 = 0,64$  (64 %)

Metoda procjene učinkovitosti TT-a s obzirom na broj trombocita nakon TT-a pokazala je osjetljivost 40 %, specifičnost 58 %, točnost 52 %, PPV 33 % i NPV 64 % (tablica 14.).

Tablica 15. Procjena potrebe za TT-a / 48 h s obzirom na korištenje CLO-a u anamnezi

	CLO do 5 dana prije operacije	Bez terapije CLO-a
TT/48 h – DA (n= 23)	13	10
TT/48 h – NE (n= 43)	20	23
Ukupno (n= 66)	33	33

Osjetljivost =  $13/23 = 0,57$  (57 %)

Specifičnost =  $23/43 = 0,53$  (53 %)

Točnost =  $(13+23)/66 = 0,55$  (55 %)

PPV =  $13/33 = 0,39$  (39 %)

NPV =  $23/33 = 0,7$  (70 %)

Metoda procjene potrebe za TT-a / 48 h s obzirom na podatak o korištenju CLO-a u terapiji koronarne bolesti pokazala je osjetljivost 57 %, specifičnost 53 %, točnost 55 %, PPV 39 % i NPV 70 % (tablica 15.).

Tablica 16. Procjena rizika povećanog krvarenja s obzirom na korištenje CLO-a u anamnezi

	CLO do 5 dana prije operacije	Bez terapije CLO-a
Krvarenje > 664 ml/24 h (n=22)	16	6
Krvarenje < 664 ml/24 h (n=44)	17	27
Ukupno (n= 66)	33	33

Osjetljivost =  $16/22 = 0,73$  (73 %)

Specifičnost =  $27/44 = 0,61$  (61 %)

Točnost =  $(16+27)/66=0,65$  (65 %)

Pozitivna prediktivna vrijednost= $16/33=0,48$  (48 %)

Negativna prediktivna vrijednost= $27/33=0.82$  (82 %)

Metoda procjene rizika povećanog krvarenja s obzirom na podatak o korištenju CLO-a u terapiji koronarne bolesti pokazala je osjetljivost 73 %, specifičnost 61 %, točnost 65 %, PPV 48 % i NPV 82% (tablica 16.).

## 5. RASPRAVA

Temeljem dobivenih rezultata nakon provedenog istraživanja o učinkovitosti PFA-100 metode u predviđanju krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka te procjeni učinkovitosti TT-a u mogućnosti smo usporediti dobivene rezultate u dvije skupine kardiokirurških bolesnika.

Prema našim rezultatima vrijednost CADP-CT-a prije i poslije operacije je prediktor količine izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima unutar 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i broja transfundiranih doza KE-a i SSP-e za vrijeme operacije te broja doza KE-a, SSP-e i KT-a transfundiranih kroz 48 h nakon operacije u CABG skupini bolesnika. Statistički značajniju prognostičku ulogu ima vrijednost CADP-CT-a u točki mjerenja poslije operacije (15 minuta nakon aplikacije protamina) u odnosu na vrijednost CADP-CT-a prije operacije.

Također smo utvrdili da je normalizacija vrijednosti CADP-CT-a (<118 s) nakon TT-a metoda za kvalitetnu procjenu učinkovitosti TT-a u CABG skupini bolesnika.

Prema našim saznanjima ovo je prvo istraživanje koje uspoređuje povezanost prijeoperacijskih i poslijeoperacijskih vrijednosti CADP-CT-a i CEPI-CT-a s poslijeoperacijskim krvarenjem i potrošnjom krvnih pripravaka u CABG i ne-CABG skupini bolesnika.

Ako usporedimo bazične terapijske, transfuziološke i operacijske podatke u navedenim skupinama bolesnika uočljive su značajne razlike. U okviru provedenog istraživanja registrirano je u bolesnika podvrgnutih operaciji aortokoronarnog premoštenja u odnosu na bolesnike podvrgnute operaciji srčanih zalistaka znatno veća količina izdrenirane krvi u vremenskom razdoblju od 24 h nakon operacije (664±446 ml naspram 282±155 ml) te znatno veći broj bolesnika koji su trebali TT-a u vremenskom razdoblju od 48 h nakon operacije (35 % naspram 7 %) što je u skladu s prethodnim istraživanjima<sup>57-59</sup>. Količina izdrenirane krvi u ne-CABG skupini u usporedbi s CABG skupinom je značajno manja, bez obzira što su svi bolesnici podvrgnuti operaciji srčanih valvula operirani s korištenjem CPB-a, a u skupini CABG samo 33 % bolesnika je operirano uz korištenje CPB-a. Značajna razlika je uočena u CABG skupini u odnosu na ne-CABG skupinu u prethodno dijagnosticiranoj hipertenziji (74 % naspram 40 %) i prijeoperacijskoj antiagregacijskoj terapiji, odnosno korištenju CLO-a u terapiji osnovne bolesti (50 % naspram 17 %).

Slične podatke naveli su i Kapetanakis i suradnici te utvrdili poništavanje učinka očuvanja hemostaze zbog terapije CLO-om u operacijama bez korištenja CPB-a<sup>99</sup>.

U prvom dijelu istraživanja mjerenja su rađena u dvije točke: (1) početak operacije i (2) 15 min nakon aplikacije protamina. Na taj se način može razlučiti utjecaj kirurškog čimbenika i čimbenika uvjetovanog kontaktom sa stranim površinama CPB-a. U prvoj točki mjerenja bolesnici se međusobno razlikuju prema osnovnoj bolesti, prethodnoj terapiji, pratećim bolestima (hipertenzija, hiperlipidemija, šećerna bolest), pušačkom statusu, vrsti i načinu administracije antiagregacijske terapije, a u drugoj točki može se uočiti potencijalni učinak stranih površina CPB-a, hipotermije te preciznost heparinske neutralizacije protaminom. Korištena su oba dijela PFA-100 testa zbog različitosti utjecaja antiagregacijske terapije i čimbenika vezanih uz kardiokiruršku operaciju na vrijednost testa.

Prethodna istraživanja su pokazala statistički najmjerodavnijom u predviđanju krvarenja i zahtjeva za transfuziološkim liječenjem vrijednosti CADP-CT-a učinjene neposredno nakon operacije, što je pokazalo i naše istraživanje<sup>85,86</sup>. Vrijednosti CADP-CT-a nakon operacije obuhvaćaju utjecaj temeljnog hemostatskog kapaciteta bolesnika i sve hemostatske promjene koje su povezane s kardiokirurškom operacijom. Razlika od prethodnih istraživanja je u utvrđivanju ciljne skupine kardiokirurških bolesnika u kojih CADP-CT ima predikcijsku vrijednost. Prethodna istraživanja su kardiokirurške bolesnike svrstavala u istu skupinu bez obzira na razlog operacije i bazični hemostatski status, a uglavnom su provođena u bolesnika koji su operirani uz korištenje CPB-a<sup>85-93</sup>.

Prema našem mišljenju razlog nejasne i neprecizne ocjene vrijednosti PFA-100 u predviđanju krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka je zbog toga što nije definirana ciljna skupina za procjenu svrsishodnosti testa.

U našoj studiji statistički značajne razlike utvrđene su u količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i u broju transfundiranih doza KE-a i SSP-e za vrijeme operacije te broju doza KE-a, SSP-e i KT-a transfundiranih kroz 48 h nakon operacije između podskupina u CABG skupini bolesnika s CADP-CT-om  $\geq 118$  s i CADP-CT-om  $< 118$  s prije operacije. U odnosu na mjerenja prije operacije vrijednost CADP-CT-a poslije operacije pokazuje veću prognostičku značajnost za količinu izdrenirane krvi unutar 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i za broj doza KE-a, SSP-e i KT-a kroz 48 h nakon operacije.

U bolesnika uključenih u istraživanje antiagregacijska terapija je prekinuta 5 dana prije kardiokirurške operacije. S obzirom na velike individualne razlike u odgovoru na antiagregacijske lijekove i utjecaju velikog broja čimbenika na agregacijsku sposobnost trombocita može se s obzirom na vrijednosti CADP-CT-a prije operacije (20 bolesnika s CADP-CT-om  $\geq 118$  s) zaključiti da je prisutan ostatni učinak antiagregacijske terapije i drugi

utjecaji na funkcionalnost trombocita<sup>49-55</sup>. Nakon operacije broj bolesnika s CADP-CT-om  $\geq 118$  s je povećan (n=32) u odnosu na broj bolesnika s CADP-CT-om  $\geq 118$  s prije operacije (n=20). Rezultat je u skladu s prethodnim istraživanjem koje je potvrdilo utjecaj čimbenika povezanih s kardiokirurškom operacijom (heparin, hipotermija, CPB, hipertonične otopine) na vrijednosti CADP-CT-a<sup>82</sup>.

Na grafičkom prikazu pozitivne korelacije između poslijeoperacijskih vrijednosti CADP-CT-a i volumena izdrenirane krvi u vremenskom razdoblju od 24 h nakon operacije i između CADP-CT-a poslije operacije i potrošnje KT-a u vremenskom razdoblju od 48 h nakon operacije su najuočljivije s obzirom na statističku značajnost dobivenih rezultata. S porastom vrijednosti CADP-CT-a povećava se količina krvarenja / 24 h i potreba za TT-a /48 h.

Između podskupina u CABG skupini bolesnika s CEPI-CT-om  $\geq 165$  s i CEPI-CT-om  $< 165$  s prije i poslije operacije, nije uočena značajna razlika u količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i u broju doza KE-a, SSP-e za vrijeme operacije te broju doza KE-a, KT-a i SSP-e kroz 48 h nakon operacije.

Broj bolesnika s vrijednosti CEPI-CT-a  $\geq 165$  s prije operacije i poslije operacije je isti, što potvrđuje činjenicu da je poremećeno vrijeme zgrušavanja s CEPI membranom najčešće uzrokovano uzimanjem ASK-e, dok čimbenici vezani za kardiokiruršku operaciju nemaju utjecaj<sup>80</sup>. Posljedično se može zaključiti da korištenje ASK-e do 5 dana prije operacije ne utječe na količinu izdrenirane krvi u CABG skupini bolesnika, što je u skladu s rezultatima prethodnih istraživanja<sup>34-36</sup>.

Između podskupina u ne-CABG skupini bolesnika s CADP-CT-om  $\geq 118$  s i CADP-CT-om  $< 118$  s prije i poslije operacije, nije uočena značajna razlika u količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i u broju doza KE-a, SSP-e za vrijeme operacije te broju doza KE-a, KT-a i SSP-e kroz 48 h nakon operacije.

Broj bolesnika s vrijednosti CADP-CT-a  $\geq 118$  u ne-CABG skupini poslije operacije je značajno veći u odnosu na broj bolesnika prije operacije. Navedeni rezultat može se objasniti utjecajem CPB-a, hipotermije, ostatnim učinkom heparina i protamina, s obzirom da svi bolesnici u ne-CABG skupini su operirani uz korištenje CPB-a<sup>18-23</sup>. Poremećene vrijednosti testa ne utječu na krvarenje i potrošnju krvnih pripravaka, jer nastaje spontani oporavak hemostaze nakon prestanka učinka vanjskih čimbenika<sup>14,87</sup>.

Između podskupina u ne-CABG skupini bolesnika s CEPI-CT-om  $\geq 165$  s i CEPI-CT-om  $< 165$  s prije operacije, nije uočena značajna razlika u količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i u broju doza KE-a, KT-a i SSP-e kroz 48 h nakon operacije, ali je uočena značajna razlika u broju doza KE-a i SSP-e

koje su transfundirane za vrijeme operacije. S obzirom da krvarenje za vrijeme operacije nije istraživano kao ishod razmatranja ne može se sa sigurnošću utvrditi postojanje povezanosti CEPI-CT-a  $\geq 165$  s prije operacije i krvarenja za vrijeme operacije.

Između podskupina u ne-CABG skupini bolesnika s CEPI-CT-om  $\geq 165$  s i CEPI-CT-om  $< 165$  s poslije operacije, nije uočena značajna razlika u količini izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije te broju doza KE-a, KT-a i SSP-e transfundiranih kroz 48 h nakon operacije. Poremećaj primarne hemostaze u bolesnika koji operiraju srčane valvule uz korištenje CPB-a je reverzibilan proces koji se spontano oporavlja bez transfuzijskog liječenja kroz 48 h nakon završetka operacije.

U poslijeoperacijskom (48 h) korištenju krvnih pripravaka značajna razlika s obzirom na broj transfundiranih doza KE-a je uočena u CABG skupini u poslijeoperacijskim vrijednostima Hb-a, fibrinogena i vrijednosti CADP-CT-a. Prethodna istraživanja su utvrdila povezanost vrijednosti Hb-a i fibrinogena s količinom transfundiranih KE-a za vrijeme i nakon kardiokirurških operacija<sup>68-70</sup>. Uvažavajući podjelu s obzirom na korištenje KT-a i SSP-e u poslijeoperacijskom razdoblju značajna razlika je uočena u vrijednosti CADP-CT-a. Također smo utvrdili klinički značajnu povezanost broja trombocita i korištenja KE-a i KT-a poslijeoperacijski što je u skladu s prethodnim istraživanjima<sup>70,71</sup>.

Iz navedenih podataka možemo zaključiti da je CADP-CT zajednički prediktor za potrošnju krvnih pripravaka (KE-a, SSP-e i KT-a) u CABG skupini. Stoga prijeoperacijsko i poslijeoperacijsko izvođenje testa može poboljšati proces planiranja i upravljanja potrebnim količinama krvnih pripravaka prema individualnom hemostatskom statusu bolesnika. Ukoliko je vrijednost CADP-CT-a poremećena u prijeoperacijskoj točki mjerenja radi se o visokom stupnju inhibicije trombocita<sup>78-80</sup>. Razlozi mogu biti mnogobrojni, a utvrđeni u prethodnim istraživanjima su: prijeoperacijska terapija antiagregacijskim lijekovima, korištenje antihipertenziva, diuretika i poremećaj funkcionalnosti vWF-a u sklopu koronarne bolesti<sup>30</sup>. Navedeni podatak može modificirati odluku operatera o terminu operacije ili promijeniti protokol transfuzije krvnih pripravaka (transfuzijsko liječenje s KT-a prije operacije) Poslijeoperacijska vrijednost CADP-CT-a  $> 118$  s navodi na dodatno pripremanje krvnih pripravaka za korištenje u poslijeoperacijskom razdoblju.

S obzirom da je *sljepo* ordiniranje transfuzijske terapije prisutno u rutinskoj kliničkoj praksi, nužno je razvijati metodologiju pravilne procjene rizika krvarenja i ciljanog korištenja krvnih pripravaka<sup>102</sup>. S aspekta transfuzijske medicine identifikacija visoko rizičnih kardiokirurških bolesnika u smislu potrošnje krvnih pripravaka omogućava pravilno upravljanje krvnim

pripravicima. Posebno značajno je planiranje i upravljanje proizvodnjom i korištenjem KT-a zbog složenog procesa proizvodnje i kratkog roka valjanosti.

PFA-100 je učinkovit u primjeni u CABG skupini, dok su njegove mogućnosti u predviđanju krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka kod ne-CABG skupini ograničene. Vjerojatni razlog je različitost prijeoperacijske terapije i bazični status funkcionalnosti trombocita u sklopu primarne bolesti. Bolesnici s koronarnim sindromom u većini slučajeva koriste CLO, a njegov učinak pokazuje veliku individualnu različitost u farmakodinamici, kao i u vremenu potrebnom za oporavak funkcije trombocita nakon prekida korištenja CLO-a<sup>103</sup>.

U drugom dijelu istraživanja uspoređujući metodu učinkovitosti TT-a temeljem porasta broja trombocita i normalizacije CADP-CT-a nakon TT-a možemo donijeti zaključak o prednosti procjene učinkovitosti TT-a temeljem vrijednosti CADP-CT-a uvažavajući rezultate osjetljivosti, specifičnosti, točnosti, PPV i NPV. Bolesnici u kojih je nakon TT-a vrijednost CADP-CT-a < 118 s u 90 % slučajeva ne trebaju TT-a u razdoblju od 48 h nakon operacije. Broj trombocita nakon TT-a nema visoku prediktivnu vrijednost, odnosno bolesnici s brojem trombocita > 200x10<sup>9</sup>/L samo u 64 % slučajeva ne trebaju KT-a do 48 h nakon operacije. Na temelju naših rezultata može se zaključiti da je CADP-CT čimbenik praćenja učinkovitosti TT-a, a u budućim kliničkim istraživanjima mogući čimbenik koji može pomoći pravilnom doziranju KT-a u kardiokirurških bolesnika. Rezultati istraživanja se u određenoj mjeri slažu s prethodnim istraživanjima koja ispituju mogućnosti procjene učinkovitosti TT-a<sup>96,97</sup>. Prethodna istraživanja nisu rađena u kardiokirurških bolesnika.

Korištenje CLO-a do 5 dana prije operacije pokazuje PPV 39 % i NPV 70 % za potrošnju KT-a kroz 48 h nakon operacije te PPV 48 % i NPV 82 % za povećano krvarenje. Možemo zaključiti da korištenje CLO-a za oba navedena cilja istraživanja nema značajnu prediktivnu vrijednost, što je u skladu s prethodnim istraživanjima koja su pokazala da ne postoji povezanost korištenja CLO-a i krvarenja, kao i potrošnje KT-a u poslijeoperacijskom razdoblju<sup>40,41</sup>.

Razlike u količini izdrenirane krvi između podskupina u ne-CABG skupini formiranih prema graničnim vrijednostima za CADP-CT i CEPI-CT ne pokazuju statističku i kliničku značajnost. Klinička značajnost nije prisutna s obzirom na činjenicu da krvarenje ne rezultira s povećanom potrošnjom krvnih pripravaka. Osim toga uočeno je da bolesnici u ovoj skupini s CADP-CT-om < 118 s imaju nešto veću potrošnju krvnih pripravaka u vremenskom razdoblju od 48 h nakon operacije od bolesnika s CADP-CT-om ≥ 118 s. Stoga smo zaključili da je uzorak od 30 bolesnika u ne-CABG skupini dovoljan za kliničku značajnost dobivenih rezultata.

Istraživanje ima određena ograničenja:

1. Bolesnike u CABG skupini nismo podijelili s obzirom na korištenje CPB-a, jer su rezultati randomiziranih kliničkih istraživanja rađenih na velikom broju kardiokirurških bolesnika pokazali da nema statistički značajne razlike u volumenu krvarenja i potrošnji krvnih pripravaka između skupina bolesnika s CABG operiranih korištenjem CPB-a i bez korištenja CPB-a <sup>102-104</sup>.
2. U istraživanju nismo koristili PFA P2Y test, koji isključivo otkriva blokadu P2Y12 trombocitnih receptora u bolesnika na terapiji CLO-om. CLO je, prema našim rezultatima samo jedan od razloga poremećene trombocitne funkcije u kardiokirurških bolesnika. Rezultat CADP-CT testa prije operacije je pod utjecajem prethodne terapije (antihipertenzivi, diuretici i pojedini antibiotici). Na formiranje trombocitnog ugruška kod PFA-100 testa utječe koncentracija i funkcija vWF-a. Strukturalna promjena molekule vWF-a u kardiovaskularnim bolestima i visokog tlaka u krvnim žilama je posljedica hipertenzije <sup>35</sup>. Osim navedenih čimbenika na rezultat CADP-CT-a nakon operacije utječe terapija heparinom, protaminom te kristaloidnim i koloidnim otopinama.
3. Mjerenje koncentracije vWF-a prije operacije nije napravljeno, ali ovaj nedostatak je umanjen pažljivom i detaljnom anamnezom s upitima koji uključuju simptome hemoragijske dijateze za sve bolesnike.
4. Značajne razlike u vrijednosti Hct-a uočene su u CABG skupini. S obzirom na veću razinu statističke značajnosti uvažavajući CEPI-CT naspram CADP-CT, a CEPI-CT nije prediktor krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka klinički značaj utvrđenih statističkih razlika je nesvrshodan.
5. Odluka o transfuzijskom liječenju je u konačnici utemeljena na kliničkim i laboratorijskim čimbenicima, ali i subjektivnoj procjeni pojedinog kardiokirurškog anesteziologa. U literaturi su navedene brojne razlike u aspektima transfuzijskog liječenja kardiokirurških bolesnika između različitih bolničkih centara u pojedinim državama, kao i ovisno o anesteziolozima <sup>108,109</sup>.



Vrijednost CADP-CT-a u bolesnika na operaciji aortokoronarnog premoštenja ima višestruki značaj u procjeni količine krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka te učinkovitosti TT-a. Zaključno rezultati našeg istraživanja pokazuju značajnu vrijednost PFA-100® metode, odnosno vremena zgrušavanja s CADP membranom u CABG skupini bolesnika. Identifikacija bolesnika s povećanom potrebom za transfuzijskim liječenjem tijekom i nakon operacije može poboljšati upravljanje krvnim pripravcima i smanjiti negativni utjecaj empirijske transfuzijske terapije. Uvođenjem PFA-100® metode u ispitivanje kardiokirurških bolesnika omogućilo bi kvalitetnije korištenje krvnih pripravaka u kardiokirurgiji.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Našim istraživanjem utvrdili smo u bolesnika podvgnutih operaciji aortokoronarnog premoštenja (CABG) u odnosu na bolesnike podvrgnute operaciji srčanih zalistaka (ne-CABG) znatno veću količinu izdrenirane krvi u vremenskom razdoblju od 24 h nakon operacije ( $664 \pm 446$  ml naspram  $282 \pm 155$  ml) i znatno veći broj bolesnika koji su trebali TT-a u vremenskom razdoblju od 48 h nakon operacije (35 % naspram 7 %).
2. Vrijednost CADP-CT-a  $\geq 118$  s prije i poslije operacije je prediktor količine izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i broja transfundiranih doza KE-a i SSP-e za vrijeme operacije te broja doza KE-a, SSP-e i KT-a transfundiranih kroz 48 h nakon operacije u CABG skupini.
3. Vrijednost CADP-CT-a  $\geq 118$  poslije operacije naspram CADP-CT-a  $\geq 118$  prije operacije je statistički značajniji prediktor krvarenja kroz 24 h ( $p = 0,001$  naspram  $p = 0,002$ ) i zahtjeva za TT-a kroz 48 h poslije operacije ( $p < 0,001$  naspram  $p = 0,002$ ) u CABG skupini.
4. Vrijednost CEPI-CT-a  $\geq 165$  s prije i poslije operacije ne ukazuje na povećanje količine izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i broja doza KE-a, SSP-e za vrijeme operacije te broja doza KE-a, KT-a i SSP-e kroz 48 h nakon operacije u CABG skupini bolesnika.
5. Vrijednost CADP-CT-a  $\geq 118$  s prije i poslije operacije ne ukazuje na povećanje količine izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i broja doza KE-a, SSP-e za vrijeme operacije, te broja doza KE-a, KT-a i SSP-e kroz 48 h nakon operacije u ne-CABG skupini bolesnika.
6. Vrijednost CEPI-CT-a  $\geq 165$  s prije operacije ne ukazuje na povećanje količine izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i broja doza KE-a, KT-a i SSP-e kroz 48 h nakon operacije, ali ukazuje na povećani broj doza KE-a i SSP-e koje su transfundirane za vrijeme operacije u ne-CABG skupini bolesnika.

7. Vrijednost CEPI-CT-a  $\geq 165$  s poslije operacije ne ukazuje na povećanje količine izdrenirane krvi u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, te broja doza KE-a, KT-a i SSP-e transfundiranih kroz 48 h nakon operacije u ne-CABG skupini bolesnika.
8. Metoda procjene učinkovitosti TT-a temeljem vrijednosti CADP-CT-a naspram metode procjene učinkovitosti TT-a temeljem broja trombocita pokazuje značajno veće vrijednosti: osjetljivosti (83 % naspram 40 %), specifičnosti (93 % naspram 58 %), točnosti (89 % naspram 52 %), PPV (86 % naspram 33 %), NPV (90 % naspram 64 %).

## 7. LITERATURA

1. Troy GC. An overview of hemostasis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1988;18:5-20.
2. Stassen JM, Arnout J, Deckmyn H. The hemostatic system. *Curr Med Chem* 2004;11:2245-60.
3. Hoffman M, Monroe DM. *Thromb Haemost* 2001;85:958-65.
4. Hawiger J. Formation and regulation of platelet and fibrin hemostatic plug. *Hum Pathol* 1987;18:111-22.
5. Gale AJ. Current understanding of hemostasis. *Toxicol Pathol* 2011;39:273-80.
6. Hartwig JH. The platelet: Form and function. *Semin Hematol* 2006;43:94-100.
7. Zucker-Franklin D. Megakaryocyte and platelet structure. U: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Silberstein LE, McGlave P, ur. *Hematology Basic Principles and Practice*. 3. Churchill Livingstone; New York:2000:1730-40.
8. Chen J, Lopez JA. Interactions of platelets with subendothelium and endothelium. *Microcirculation* 2005;12:235-46.
9. Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res* 2007;100:1673-85.
10. Ruggeri ZM. Platelet and von Willebrand factor interactions at the vessel wall. *Hamostaseologie* 2004;24:1-11.
11. Ruggeri ZM. Platelet adhesion under flow. *Microcirculation* 2009;16:58-83.
12. Broos K, Feys HB, De Meyer SF, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. Platelet at work in primary hemostasis. *Blood Rev* 2011;25:155-67.
13. Despotis GJ, Hogue CWJr. Pathophysiology, prevention, and treatment of bleeding after cardiac surgery: a primer for cardiologists and an update for the cardiothoracic team. *Am J Cardiol* 1999;83:15B-30B.
14. Casati V, Gerli C, Franko A i sur. Activation of coagulation and fibrinolysis during coronary surgery: on-pump versus off-pump techniques. *Anesthesiology* 2001;95:1103-9.
15. Khuri SF, Wolfe JA, Josa M i sur. Hematologic changes during and after cardiopulmonary bypass and their relationship to the bleeding time and nonsurgical blood loss. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:94-107.

16. Paparella D, Brister SJ, Buchanan MR. Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. *Crit Care Med* 2004;30:1873-81.
17. Yavari M, Becker RC. Coagulation and fibrinolytic protein kinetics in cardiopulmonary bypass. *J Thromb Thrombolysis* 2009;27:95-104.
18. Mochizuki T, Olson PJ, Szlam F, Ramsay JG, Levy JH. Protamin reversal of heparin affects platelet aggregation and activated clotting time after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 1998;87:781-5.
19. Criffin MJ, Rinder HM, Smith BR i sur. The effect of heparin, protamine, and heparin/protamin reversal on platelet function under conditions of arterial shear stress. *Anesth Analg* 2001;93:20-7.
20. Deusch E, Thaler U, Kozek-Langenecker SA. The effects of high molecular weight starch solutions on platelets. *Anesth Analg* 2004;99:665-8.
21. Valeri CR, Khabbaz K, Khuri SF i sur. Effect of skin temperature on platelet function in patients undergoing extracorporeal bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:108-16.
22. Michelson AD, Macgregor H, Barnard MR i sur. Reversible inhibition of human platelet activation by hypothermia in vivo and in vitro. *Thromb Haemost* 1994;71:633-40.
23. Van Poucke S, Stevens K, Marcus AE, Lance M. Hypothermia: effects on platelet function and hemostasis. *Thromb J* 2014;12:31.
24. Hartmann M, Suckker C, Boehm O i sur. Effects of cardiac surgery on hemostasis. *Transfus Med Rev* 2006;20:230-41.
25. Paparella D, Galeone A, Venneri MT i sur. Activation of coagulation system during coronary artery bypass grafting: comparison between on-pump and off-pump techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;131:290-7.
26. Ballota A, Saleh HZ, El Baghdady HW i sur. Comparison of early platelet activation in patients undergoing on-pump versus off-pump coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;134:132-8.
27. Tanaka KA, Thourani VH, Williams WH. Heparin anticoagulation in patients undergoing off-pump and on-pump bypass surgery. *J Anesth* 2007;21:297-303.
28. Moller CH, Steinbruchel DA. Platelet function after coronary artery bypass grafting: is there a procoagulant activity after off-pump compared with on-pump surgery? *Scand Cardiovasc J* 2003;37:149-53.

29. Englberger L, Immer FF, Eckstein FS i sur. Off-pump coronary artery bypass operation does not increase procoagulant and fibrinolytic activity: preliminary results. *Ann Thorac Surg* 2004;77:1560-6.
30. Tourneau T, Susen S, Caron C i sur. Functional Impairment of Von Willebrand Factor in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation* 2008;118:1550-57.
31. Sangkuhl K, Shuldiner AR, Klein TE, Altman RB. Platelet aggregation pathway. *Pharmacogenet Genomics* 2011;21:516-21.
32. Jackson SP. The growing complexity of platelet aggregation. *Blood* 2007;109:5087-95.
33. Alghamdi AA, Moussa F, Fremes SE. Does the use of preoperative aspirin increase the risk of bleeding in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery? Systemic review and meta-analysis. *J Card Surg* 2007;22:247-56.
34. Hijazi E. Aspirin does not increase bleeding and allogeneic blood transfusion in coronary artery surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 2011;59:421-24.
35. Mangano DT. Aspirin and mortality from coronary bypass surgery. *N Engl J Med* 2002;347:1309-17.
36. Mahla E, Metzler H, Tantry US, Gurbel PA. Controversies on oral antiplatelet therapy in patients undergoing aortocoronary bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 2010;90:1040-51.
37. Cannon CP, Mehta SR, Aranki SF. Balancing the benefit and risk of oral antiplatelet agents in coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 2005;80:768-79.
38. Suwalski G, Suwalski P, Filipiak KJ, Postula M, Majstrak F, Opolski G. The effect of off-pump coronary artery bypass grafting on platelet activation in patients on aspirin until surgery day. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;34:365-69.
39. Bednar F, Osmancik P, Vanek T. Platelet activity and aspirin efficacy after off-pump compared with on-pump coronary artery bypass surgery. Results from the prospective randomized trial (PRAGUE 11) - coronary artery bypass and Reactivity of Thrombocytes (CABARET). *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;136:1054-60.
40. Karabulut H, Toraman F, Evrenkaya S i sur. Clopidogrel does not increase bleeding and allogeneic blood transfusion in coronary artery surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004;25:419-23.
41. Biancari F, Airaksinen KE, Lip GY i sur. Benefits and risks of using clopidogrel before coronary artery bypass surgery: systematic review and meta-analysis of

- randomized trials and observational studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012;143:665-75.
42. Maltais S, Perrault LP, Do QB. Effect of clopidogrel on bleeding and transfusions after off-pump coronary artery bypass graft surgery: impact of discontinuation prior surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;34:127-31.
  43. Yende S, Wunderink RG. Effect of clopidogrel on bleeding after coronary artery bypass surgery. *Crit Care Med* 2001;29:2271-75.
  44. Hongo RH, Ley J, Dick SE, Yee RR. The effect of clopidogrel in combination with aspirin when given before coronary artery bypass grafting. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:231-37.
  45. Ray JG, Deniz S, Olivieri A i sur. Increased blood product use among coronary artery bypass patients prescribed preoperative aspirin and clopidogrel. *BMC Cardiovasc Disord* 2003;3:1-6.
  46. von Heymann C, Redlich U, Moritz M i sur. Aspirin and clopidogrel taken until 2 days prior to coronary artery bypass graft surgery is associated with increased postoperative drainage loss. *Thorac Cardiovasc Surg* 2005;53:341-5.
  47. Herman CR, Buth KJ, Kent BA, Hirsch GM. Clopidogrel increases blood transfusion and hemorrhagic complications in patients undergoing cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2010;89:397-402.
  48. Sangkuhl K, Klein TE, Altman RB. Clopidogrel pathway. *Pharmacogenet Genomics* 2010;20:463-65.
  49. Rudez G, Bouman HJ, Van Werkum JW i sur. Common variation in the platelet receptor P2RY12 gene is associated with residual on-clopidogrel platelet reactivity in patients undergoing elective percutaneous coronary interventions. *Circ Cardiovasc Genet* 2009;2:515-21.
  50. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003;107:2908.
  51. Mega JL, Close SL, Wivott SD. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009;360:354-62
  52. Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M i sur. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009;360:363-75.
  53. Roden DM, Shuldiner AR. Responding to the clopidogrel warning by the US food and drug administration real life is complicated. *Circulation* 2010;122:445-48.

54. Gurbel PA, Nolin TD, Tantry US. Clopidogrel efficacy and cigarette smoking status. *JAMA* 2012;307:2495.
55. Jeong YH, Cho JH, Kang MK i sur. Smoking at least 10 cigarettes per day increases platelet inhibition by clopidogrel in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction. *Thromb Res* 2010;126:334-38.
56. Scott BH, Seifert FC, Grimson R. Blood transfusion is associated with increased resource utilisation, morbidity and mortality in cardiac surgery. *Ann Card Anaesth* 2008;11:15-19.
57. Reeves BC, Murphy GJ. Increased mortality, morbidity, and cost associated with red blood cell transfusion after cardiac surgery. *Curr Opin Anaesthesiol* 2008;21:669-73.
58. Engoren MO, Habib RH, Zacharias A, Schwann TA, Riordan CJ, Durham SJ. Effect of blood transfusion on long-term survival after cardiac operation. *Ann Thorac Surg* 2002;74:1180-86.
59. Whitlock R, Crowther MA, Ng HJ. Bleeding in cardiac surgery: its prevention and treatment – an evidence-based reiew. *Crit Care Clin* 2005;21:589-610.
60. Premaratne Sh, Razzuk AM, Premaratne DR i sur. Effects of platelet transfusion on post cardipulmonary bypass bleeding. *Jpn Heart J* 2001;42:425-33.
61. Arnold DM, Crowther MA, Cook RJ i sur. Utilization of platelet transfusions in the intesive care unit: transfusion triggers, and platelet count responses. *Transfusion* 2006;46:1286-91.
62. Crosby E. Perioperative haemotherapy: II. Risk and complications of blood transfusion. *Can J Anaesth* 1992;39:822-37.
63. American Society of Anesthesiologists. Questions and answers about transfusion practices. Park Ridge, II: American Society of Anesthesiologists; 1998. p. 12-13, 21.
64. Zaffar N, Joseph A, Mazr CD, Nisenbaum R, Karkouti K, Timmouth A. The rationale for platelet transfusion during cardiopulmonary bypass: an observational study. *Can J Anaesth* 2013;60:345-54.
65. Speiss BD, Royston D, Levy JH i sur. Platelet transfusion during coronary artery bypass graft surgery are associated with serious adverse outcomes. *Transfusion* 2004;44:1143-48.
66. O'Connor SA, Martin R, Amour J i sur. Impact of platelet transfusion on platelet activation and aggregation in cardiac surgery patients receiving aspirin and P2Y12 receptor antagonists. *J Am Coll Cardiol* 2013;61-3.



67. Consensus Conference. Perioperative red blood cell transfusion. *JAMA* 1988;260:2700-3.
68. Scott BH, Seifert FC, Glass PS i sur. Blood use in patients undergoing coronary artery bypass surgery: impact of cardiopulmonary bypass pump, hematocrit, gender, age, and body weight. *Anesth Analg* 2003;97:958-63.
69. Murphy GJ, Angelini GD. Indications for blood transfusion in cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2006;82:2323-34.
70. Shehata N, Wilson K, Mazer CD i sur. Factors affecting perioperative transfusion decisions in patients with coronary artery disease undergoing coronary artery bypass surgery. *Anesthesiology* 2006;105:19-27.
71. Covin R, O'Brien M, Grunwald G i sur. Factors affecting transfusion of fresh frozen plasma, platelets, and red blood cells during elective coronary artery bypass graft surgery. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:415-23.
72. Surgenor DM, Churchill WH, Wallace EL i sur. Determinants of red cell, platelet, plasma and cryoprecipitate transfusions during coronary artery bypass graft surgery: the Collaborative Hospital Transfusion Study. *Transfusion* 1996;36:521-32.
73. Despotis G, Grishaber J, Goodnough L. The effect of an intraoperative treatment algorithm on physicians' transfusion practice in cardiac surgery. *Transfusion* 1994;34:290-96.
74. Luk C, Eckert K, Barr R, Chin-Yee I. Prospective audit of the use of fresh-frozen plasma, based on Canadian Medical Association transfusion guidelines. *Research letter CMAJ* 2002;166:1539-40.
75. Hertfelder HJ, Bös M, Weber D i sur. Perioperative monitoring of primary and secondary hemostasis in coronary artery bypass grafting. *Semin Thromb Hemost* 2005;31:426-40.
76. Hunt BJ, Parratt RN, Segal HC, Sheikh S, Kallis P, Yacoub M. Activation of coagulation and fibrinolysis during cardiothoracic operations. *Ann Thorac Surg* 1998;65:712-18.
77. Shore-Lesserson L. Point-of-care coagulation monitoring for cardiovascular patients: past and present. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2002;16:99-106.
78. Avidan MS, Alcock EL, Da Fonseca J i sur. Comparison of structured use of routine laboratory tests or near-patient assessment with clinical judgement in the management of bleeding after cardiac surgery. *Br J Anaesth* 2004;92:178-86.

79. Despotis GJ, Santoro SA, Spitznagel E i sur. Prospective evaluation and clinical utility of on-site monitoring of coagulation in patients undergoing cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;107:271-79.
80. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R i sur. PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction. *Semin Thromb Hemost* 1998;24:195-202.
81. Paniccia R, Antonucci E, Gori AM i sur. Comparison of different methods to evaluate the effect of aspirin on platelet function in high-risk patients with ischemic heart disease receiving dual antiplatelet treatment. *Am J Clin Pathol* 2007;128:143-49.
82. Paniccia R, Antonucci E, Gori AM i sur. Different methodologies for evaluating the effect of clopidogrel on platelet function in high-risk coronary artery disease patients. *J Thromb Haemost* 2007;5:1835-38.
83. Pidcock M, Harrison P. Can the PFA-100 be modified to detect P2Y12 inhibition? *J Thromb Haemost* 2006;4:1424-26.
84. Golanski J, Pluta J, Baraniak J, Watala C. Limited usefulness of the PFA-100 for monitoring of ADP receptor antagonists - in vitro experience. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:25-9.
85. Ostrowsky J, Foes J, Warchol M i sur. Plateletworks platelet function test compared to the thromboelastograph for prediction of postoperative outcomes. *J Extra Corpor Technol* 2004;36:149-52.
86. Raman S, Silverman NA. Clinical utility of the platelet functional analyzer (PFA-100) in cardiothoracic procedures involving extracorporeal circulation. *Thorac Cardiovasc Surg* 2001;122:190-91.
87. Rahne-Meyer N, Winterhalter M, Boden A i sur. Platelet concentrates transfusion in cardiac surgery and platelet function assessment by multiple electrode aggregometry. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009;53:168-75.
88. Sucer C, Litmathe J, Feindt P, Zotz R. Platelet function analyzer (PFA-100) as a useful tool for prediction of transfusion requirements during aortic valve replacement. *Thorac Cardiovasc Surg* 2011;59:233-36.
89. Slaughter TF, Sreeram G, Sharma AD, El-Moalem H, East CJ, Greenderg CS. Reversible shear-mediated platelet dysfunction during cardiac surgery as assessed by the PFA-100 platelet function analyzer. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001;12:85-93.
90. Forestier F, Coiffic A, Mouton C, Ekouevi D, Chene G, Janvier G. Platelet function point-of-care test in post-bypass cardiac surgery: are they relevant? *Br J Anaesth* 2002;89:715-21.

91. Fattorutto M, Pradier O, Schmartz D, Icks B, Barvais L. Does the platelet function analyser (PFA-100®) predict blood loss after cardiopulmonary bypass? *Br J Anaesth* 2003;90:692-93.
92. 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;96:51-7.
93. Lasne D, Fiemeyer A, Chatellier G, Chammas C, Baron JF, Aiach M. A study of platelet functions with a new analyzer using high shear stress (PFA-100) in patients undergoing coronary artery bypass graft. *Thromb Haemost* 2000;84:794-99.
94. Møller Ch, Steinbruchel DA. Platelet function after coronary artery bypass grafting: is there a procoagulant activity after off-pump compared with on-pump surgery? *Scand Cardiovasc J* 2003;37:149-53.
95. Poston R, Gu J, Manchio J i sur. Platelet function tests predict bleeding and thrombotic events after off-pump CPB. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005;27:584-91.
96. Salama ME, Raman S, Drew MJ, Abdel-Raheem M, Mahmood MN. Platelet function testing to assess effectiveness of platelet transfusion therapy. *Transfus Apher Sci* 2004;30:93-100.
97. Panzer S, Jilma P. Methods for testing platelet function for transfusion medicine. *Vox Sang* 2011;101:1-9.
98. Prüller F, Drexler C, Archan S, Macher S, Raggam RB, Mahla E. Low platelet reactivity is recovered by transfusion of stored platelets: a healthy volunteer in vivo study. *J Tromb Haemost* 2011;9:1670-73.
99. Tanaka KA, Szlam F, Kelly AB, Vega JD, Levy JH. Clopidogrel (Plavix) and cardiac surgical patients: implications for platelet function monitoring and postoperative bleeding. *Platelets* 2004;15:325-32.
100. Vilahur G, Choi BG, Zahar MU i sur. Normalization of platelet reactivity in clopidogrel-treated subjects. *J Thromb Haemost* 2007;5:82-90.
101. Kapetanakis EI, Hedlam DA, Petro KR i sur. Effect of clopidogrel premedication in off-pump cardiac surgery: are we forfeiting the benefits of reduced hemorrhagic sequelae? *Circulation* 2006;113:1667-74.
102. Ranucci M, Aronson S, Dietrich W i sur. Patient blood management during cardiac surgery: Do we have enough evidence for clinical practice? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011;142:1-32.

103. Price MJ, Walder JS, Baker BA i sur. Recovery of platelet function after discontinuation of prasugrel or clopidogrel maintenance dosing in aspirin-treated patients with stabile coronary disease: the recovery trial. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:2338-43.
104. Gerola LR, Buffolo E, Jasbik W i sur. Off-pump versus on-pump myocardial revascularization in low-risk patients with one or two vessel disease: perioperative results in a multicenter randomized controlled trial. *Ann Thorac Surg* 2004;77:569-73
105. Straka Z, Widimsky P, Jirasek K i sur. Off-pump versus on-pump coronary surgery: final results from a prospective randomized study PRAGUE-4. *Ann Thorac Surg* 2004;77:789-93.
106. Potger KC, McMillan D, Southwell J, Connolly T, Smith KK, Ambrose M. Transfusion and bleeding in coronary artery bypass grafting: an on-pump versus off-pump comparison. *J Extra Corpor Technol* 2007;39:24-30.
107. Dyszkiewicz-Korpanty A, Olteanu H, Frenkel EP, Sarode R. Clopidogrel anti-platelet effect: an evaluation by optical aggregometry, impedance aggregometry, and the platelet function analyzer (PFA-100). *Platelets* 2007;18:491-6.
108. Snyder-Ramos SA, Mohnle P, Weng YS i sur. The ongoing variability in blood transfusion practices in cardiac surgery. *Transfusion* 2008;48:1284-99.
109. Speiss BD. Blood transfusions: the silent epidemic. *Ann Thorac Surg* 2001;72:1832-37.

## 8. SAŽETAK

**Uvod:** Bolesnici podvrgnuti kardiokirurškoj operaciji imaju rizik povećanog krvarenja i pratećih komplikacija. Krvarenje zahtjeva transfuziju alogenične krvi i hemostatskih krvnih pripravaka.

**Cilj:** Utvrditi povezanost funkcije trombocita ispitane PFA-100® metodom s krvarenjem i potrebom za transfuzijom krvnih pripravaka u kardiokirurških bolesnika i procjeniti mogućnosti ovog testa kao metode za procjenu učinkovitosti TT-a u kardiokirurških bolesnika.

**Metode:** Nakon odobrenja Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split i potpisanog informiranog pristanka 126 kardiokirurških bolesnika je uključeno u prospektivno opservacijsko istraživanje, a 96 bolesnika je zadovoljavalo kriterije svih parametara istraživanja. Uzorkovanje krvi s provođenjem laboratorijskih testova izvedeno je u tri točke mjerenja. Prva točka je početak operacije (indukcija anestezije), druga točka je 15 minuta nakon aplikacije protamina i neutralizacije heparina, a treća 30 - 60 minuta nakon TT-a.

U prvom dijelu istraživanja ispituje se učinkovitost PFA-100 metode (s obzirom na graničnu vrijednost CADP-CT-a od 118 s i CEPI-CT-a od 165 s) u procjeni rizika krvarenja i potrošnje krvnih pripravaka u bolesnika s operacijom aortokoronarnog premoštenja (CABG) i bolesnika s operacijom srčanih zalistaka (ne-CABG). U statističkoj obradi kategorijske varijable su prikazane postotkom, a kontinuirane varijable su prikazane kao aritmetička sredina  $\pm$  standardna devijacija (SD). Razlike u kvantitativnim vrijednostima između ispitivanih skupina analizirane su t-testom. P vrijednost  $< 0,05$  je prihvaćena statistički značajnom.

U drugom dijelu istraživanja usporedili smo dvije metode za procjenu učinkovitosti TT-a u CABG skupini: (1) broj trombocita  $> 200 \times 10^9/L$  nakon TT-a (2) CADP-CT  $< 118$  s nakon TT-a. TT-a su procijenjene uspješnim ukoliko bolesnik nije trebao dodatne TT-a kroz 48 h nakon operacije. Za procjenu učinkovitosti metoda korišteni su osjetljivost, specifičnost, točnost i prediktivna vrijednost.

**Rezultati:** Između podskupina u CABG skupini bolesnika s CADP-CT-om  $\geq 118$  s i CADP-CT-om  $< 118$  s prije operacije, uočena je značajna razlika u količini izdrenirane krvi unutar 24 h ( $p = 0,002$ ) i 25-48 h ( $p = 0,003$ ) nakon operacije, kao i u broju transfundiranih doza KE-a ( $p = 0,002$ ) i SSP-e ( $p = 0,003$ ) za vrijeme operacije te broju doza KE-a ( $p = 0,002$ ), SSP-e ( $p = 0,015$ ) i KT-a ( $p = 0,002$ ) kroz 48 h nakon operacije. Između podskupina s CADP-CT-om  $\geq 118$  s i CADP-CT-om  $< 118$  s poslije operacije uočena je značajna razlika u količini izdrenirane krvi unutar 24 h ( $p = 0,001$ ) i 25-48 h ( $p = 0,003$ ) nakon operacije te broju doza

KE-a ( $p = 0,002$ ), SSP-e ( $p = 0,015$ ) i KT-a ( $p < 0,001$ ) transfundiranih kroz 48 h nakon operacije. S obzirom na vrijednosti CEPI-CT-a prije i poslije operacije nije uočena značajna razlika u navedenim ciljevima istraživanja.

Između podskupina u ne-CABG skupini bolesnika s CEPI-CT-om  $\geq 165$  s i CEPI-CT-om  $< 165$  s prije operacije, uočena je značajna razlika u broju doza KE-a ( $p=0,001$ ) i SSP-e ( $p=0,001$ ) koje su transfundirane za vrijeme operacije. S obzirom na vrijednost CEPI-CT-a poslije operacije, kao i CADP-CT-a prije i poslije operacije, nije uočena značajna razlika u količini krvarenja i potrošnji krvnih pripravaka.

Metoda procjene učinkovitosti TT-a temeljem vrijednosti CADP-CT-a pokazuje osjetljivost 83 %, specifičnost 93 %, točnost 89 %, PPV 86 %, NPV 90 %. Bolesnici u kojih je nakon TT-a vrijednost CADP-CT-a  $< 118$  s u 90% slučajeva ne trebaju KT-a u razdoblju od 48 h nakon operacije.

**Zaključak:** CADP-CT  $\geq 118$  s prije i poslije operacije je prediktor krvarenja u vremenskim razdobljima od 24 h i 25-48 h nakon operacije, kao i broja transfundiranih doza KE-a, SSP-e i KT-a za vrijeme operacije te kroz 48 h nakon operacije u bolesnika u kojih je učinjena operacija aortokoronarnog premoštenja. Normalizacija vrijednosti CADP-CT-a u istih bolesnika je metoda kojom se može procijeniti učinkovitost TT-a.

## 9. SUMMARY

### **Title: The Role of Primary Hemostasis Laboratory Test Predicting the Risk of Bleeding and Effectiveness of Platelet Transfusion in Cardiac Surgery**

**Background:** Patients undergoing cardiac surgery are at risk for excessive bleeding and associated complications. This bleeding often leads to transfusion of allogeneic blood and hemostatic blood components.

**The aim of study:** It was to investigate the association between platelet function as determined by PFA-100<sup>®</sup> testing and blood loss and need for transfusion of blood products as well as PFA-100<sup>®</sup> method for assessing the effectiveness of platelet (PLT) transfusion in cardiac surgery patients.

**Methods:** After Medical Ethics Committee of University Hospital Center Split approval and written consent, 126 patients undergoing cardiac surgery were investigated in this prospective observational study and 96 patients met the required criteria for all parameters of the study. For the study blood samples were collected and analyzed at three time points: (1) before operation, (2) 15 min after administration of protamine and neutralization of heparin, (3) 30-60 minute after platelet transfusion.

In the first part of the study we investigated the effectiveness of the PFA-100<sup>®</sup> method with respect to the limit value of CADP-CT (118 s) and CEPI-CT (165 s) for assessment risk of bleeding and consumption of blood products in patients undergoing coronary artery bypass grafting (CABG) and patients with cardiac valve repair and replacement (non-CABG).

In statistical analysis categorical variables are expressed as percentages and continuous variables as mean  $\pm$  standard deviation (SD). Comparison between subgroups was made by using the t-test to test the differences between the two arithmetic means in subgroups. P value  $< 0.05$  was considered statistically significant.

In the second part of the study we compared the two methods of assessing the effectiveness of PLT transfusion: (1) PLT count  $> 200 \times 10^9/L$  after PLT transfusion and (2) CADP-CT  $< 118$  s after PLT transfusion. PLT transfusion was estimated effectively if the patient did not need PLT for 48 h after surgery. Sensitivity, specificity and predictive value are used to estimate the effectiveness of the methods.

**Results:** Comparison of the variables between subgroups of CABG patients with CADP-CT  $\geq 118$  s and  $< 118$  s before operation demonstrated significant differences in blood loss for 24 h ( $p = 0.002$ ), blood loss for 25-48 h ( $p = 0.003$ ), as well as red blood cells (RBCs) ( $p = 0.002$ ) and fresh frozen plasma (FFP) ( $p = 0.003$ ) units during operation, RBC ( $p = 0.002$ ), FFP ( $p =$

0.015), and PLT ( $p = 0.002$ ) units given in the first 48 postoperative hours. Between subgroups of CABG patients with CADP-CT  $\geq 118$  s and  $< 118$  s after operation demonstrated significant differences in blood loss for 24 h ( $p = 0.001$ ), blood loss for 25-48 h ( $p = 0.003$ ), as well as RBCs ( $p = 0.002$ ), FFP ( $p = 0.015$ ), and PLT ( $p < 0.001$ ) units given in the first 48 postoperative hours. With regard to value of CEPI-CT before and after surgery, statistical significant differences were not found.

Comparison of the variables between subgroups of non-CABG patients with CEPI-CT  $\geq 165$  s and  $< 165$  s before operation demonstrated significant differences in RBCs ( $p=0.001$ ) and FFP ( $p=0.001$ ) units given during operation. With regard to value of CEPI-CT after surgery and CADP-CT before and after surgery, statistical significant differences were not found in any of outcome of the study.

The method for estimating the effectiveness of PLT transfusion based on the value of CADP-CT showed a sensitivity 83 %, specificity 93 %, positive predictive value 86 % and negative predictive value 90 %. Ninety % patients with CADP-CT  $< 118$  s after PLT transfusion did not need additionaly PLT units for 48 h after surgery.

**Conclusion:** Value of CADP-CT  $\geq 118$  s before and after surgery may predict bleeding within 24 h and 25-48 h after surgery, as well as RBCs and FFP transfusion requirements during surgery and RBCs, FFP and PLT transfusions within 48 h after surgery in CABG patients. Normalization value of CADP-CT after PLT transfusion in the same patient is method of assessing the effectiveness of PLT transfusion.



## 10. ŽIVOTOPIS

### Dejana Bogdanić

Datum rođenja: 03. siječnja 1968 god.

Mjesto rođenja: Split

Adresa na poslu: Centar za transfuzijsku medicinu  
Spinčićeva 1, KBC Split

Telefon na poslu: +385 21 556 364

Elektronička pošta: dejanabogdanic@gmail.com

Kućna adresa: Zrinsko-frankopanska 22, Split

Osnovnu i srednju školu završila sam u Splitu s odličnim uspjehom. Medicinski fakultet – Studij medicine u Splitu, Sveučilišta u Zagrebu upisala sam školske godine 1986/1987 te diplomirala na istom fakultetu u siječnju 1993. godine s prosjekom ocjena za vrijeme studija 4,13. Nakon završenog pripravničkog staža u DZ “Dr Petar Vitezica” Split i položenog državnog stručnog ispita radila sam u Domu zdravlja Sinj na radnom mjestu liječnika u Ordinaciji opće medicine te liječnika u Centru za hemodijalizu. Od tada sam član Hrvatskog liječničkog zbora i Hrvatske liječničke komore. Od siječnja 2000. god. do siječnja 2003. god zaposlena sam na radnom mjestu stručnog suradnika za promidžbu i prodaju lijekova u farmaceutskom predstavništvu tvrtke Roche.

Godine 2003. započela sam specijalizaciju iz transfuzijske medicine u Odjelu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split. Specijalistički ispit položila sam u srpnju 2007. godine u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu u Zagrebu i od tada radim kao specijalist transfuzijske medicine u Centru za transfuzijsku medicinu KBC-a Split. Od 2008. godine postajem voditelj Odsjeka za proizvodnju, čuvanje i izdavanje krvnih pripravaka, a od 2014. godine voditelj Odjela za citaferezu i krioprezervaciju. Završila sam znanstveni poslijediplomski doktorski

studij na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu, smjer “Klinička medicina utemeljena na dokazima” Aktivni sam sudionik brojnih nacionalnih i međunarodnih kongresa iz područja transfuzijske medicine. Sudjelujem u nastavi predmeta Osnove transfuzijske medicine i transplantacije na Sveučilištu u Splitu – sveučilišnom odjelu zdravstvenih studija.