

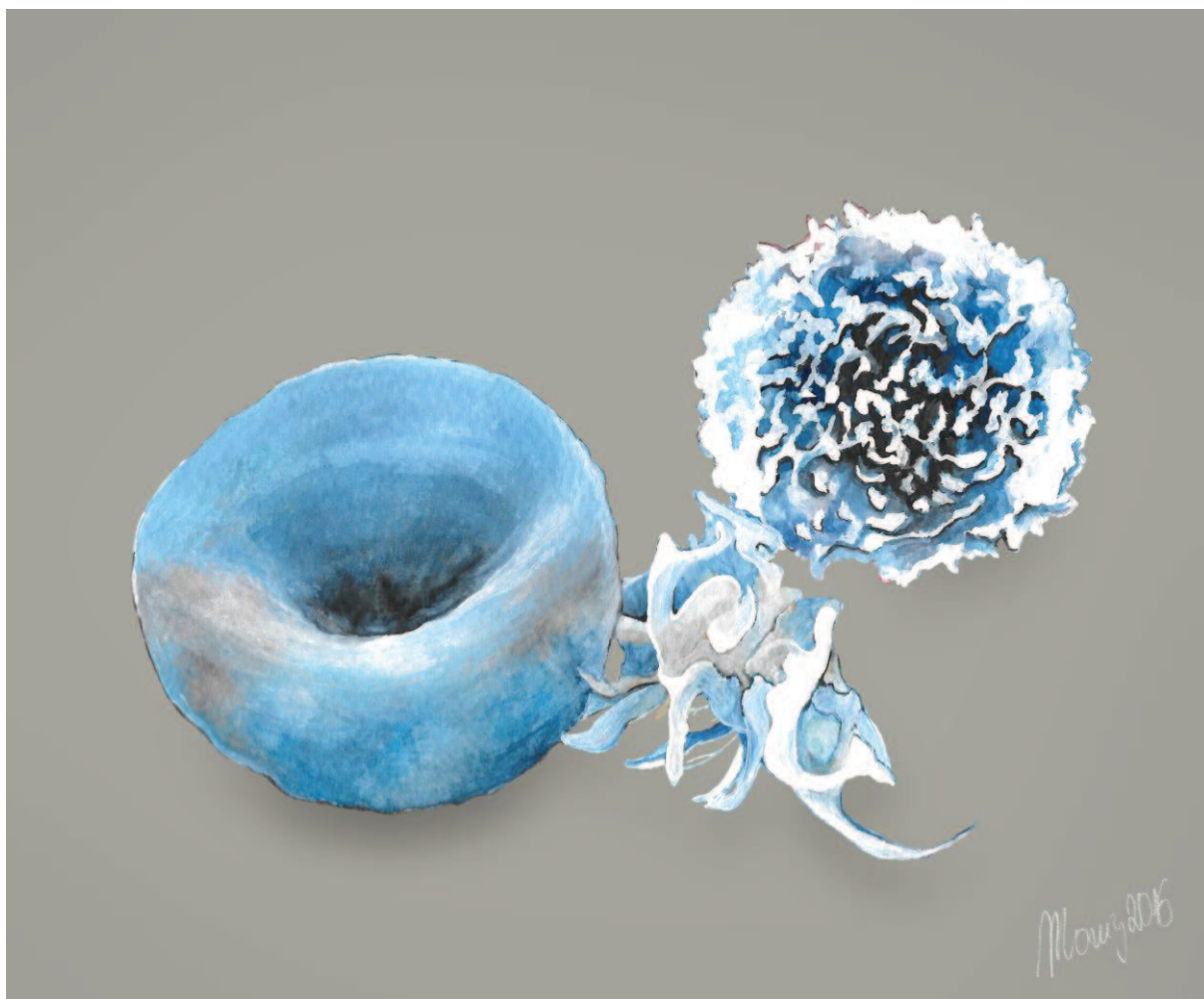
Andrzej Łoś

WPŁYW OPERACJI NA BIJĄCYM SERCU I Z UŻYCIEM KRAŻENIA POZAUSTROJOWEGO NA
WYBRANE PARAMETRY UKŁADU KRZEPNIĘCIA

Praca na stopień doktora medycyny

Promotor: prof. dr hab. Jan Rogowski
Klinika Kardiologii
Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdańsk 2016



Ryc. 1. Erytrocyt, trombocyt i leukocyt – ilustracja obrazu w mikroskopie elektronowym
(autor: Monika Kuropatnicka-Marciniak).

„Wszystko, co nazywamy rzeczywistością,
składa się z elementów, których nie można uważać za rzeczywiste”

Niels Bohr

Spis treści

I	WSTĘP.....	4
II	CEL PRACY.....	30
III	MATERIAŁ	32
IV	METODA.....	34
V	WYNIKI.....	39
VI	DYSKUSJA.....	67
VII	WNIOSKI.....	77
VIII	STRESZCZENIE.....	80
IX	SUMMARY.....	83
X	SPIS TABEL I WYKRESÓW.....	86
XI	WYKAZ SKRÓTÓW.....	89
XII	PIŚMIENNICTWO.....	90

WSTĘP

Chirurgia serca to dziedzina medycyny, która stanowi wyzwanie dla całego zespołu zajmującym się chorym. Znaczenie ma wszystko – właściwa kwalifikacja do leczenia operacyjnego, odpowiednie przygotowanie chorego przed zabiegiem, technika operacyjna i bezpieczne przeprowadzenie chorego przez operację, intensywna opieka medyczna oraz rehabilitacja pooperacyjna. Każdy etap tej drogi, którą przechodzi pacjent, jest równie ważny i decydujący o wyniku końcowym leczenia.

Jednym z tych etapów jest optymalna kontrola hemostazy – skomplikowanego zespołu procesów obronnych zapewniających integralność układu krążenia po przerwaniu ciągłości łożyska naczyniowego[1]. U każdego chorego należy znaleźć równowagę pomiędzy ryzykiem istotnego krwawienia a wystąpieniem powikłań zakrzepowozatorowych.

Rys historyczny i dane epidemiologiczne

Operacje kardiochirurgiczne nie byłyby możliwe bez heparyny – bez odkrycia jej działania chirurg nie miał bezpiecznego dostępu do naczyń. Heparynę odkrył McLean w 1916 roku, a Brinkhous i wsp. wykazali, że do ujawnienia swojego działania antykoagulacyjnego wymaga ona osoczonego kofaktora, nazwanego później antytrombiną. Ten polisacharyd zapobiega krzepnięciu krwiwnaczyniach krwionośnych hamując wszystkie jego etapy, wpływając głównie na fazę przejścia protrombiny w trombinę i jej działanie na fibrynogen.

W większych stężeniach heparyna może również hamować agregację trombocytów oraz ich adhezję (przyleganie do powierzchni) do ścian naczyń krwionośnych. Jest ona

wychwytywana przez ściany naczyń i zwiększa ich ładunek ujemny, co utrudnia przyleganie trombocytów i zapobiega powstawaniu skrzepów przyściennych. Heparyna aktywuje antytrombinę – osoczowy czynnik hamujący działanie trombiny.

Historia chirurgii wieńcowej KPU

Patofizjologia choroby wieńcowej była zdefiniowana w 1876 roku przez Adama Hammera, który stwierdził, że angina wieńcowa (zaburzenie równowagi pomiędzy zapotrzebowaniem mięśnia sercowego na tlen i substancje odżywcze a możliwością ich dostarczenia pomimo wykorzystania mechanizmów autoregulacyjnych zwiększających przepływ przez mięsień sercowy) jest spowodowana przez zwężenie lub zamknięcie co najmniej jednej tętnicy wieńcowej [2].

W 1896 roku Stefan Paget napisał, że “chirurgia serca prawdopodobnie osiągnęła swoje naturalne granice przewidziane dla wszystkich dziedzin chirurgicznych [3]”.

Nie przeszkodziło to kolejnym pionierom w budowni fundamentów współczesnej kardiologii – Jan Gibbon skonstruował pierwszą maszynę do krążenia pozaustrojowego (KPU) w latach trzydziestych [4]. A Wasyl Kolesov w 1964 jako jeden z pierwszych wykonał zespolenie tętnicy piersiowej wewnętrznej z gałęzią przednią zstępującą [5].

Wprowadzenie krążenia pozaustrojowego i hipotermii w 1953 roku, oraz kardioplegii (w latach sześćdziesiątych) umożliwiło niesamowity postęp w chirurgii serca. Pierwsze zabiegi pomostowania aortalno-wieńcowego w 1967 roku dał początek chirurgii wieńcowej stanowiącej 80% zabiegów kardiologicznych na początku XXI wieku.

Dane demograficzne

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) podała w styczniu 2015 roku, że choroby sercowo-naczyniowe są najczęstszą przyczyną zgonu na świecie – w tym uwzględniona jest choroba wieńcowa, choroby krążenia mózgowego, naczyń obwodowych, choroba reumatyczna i wady wrodzone serca oraz zakrzepica żył głębokich i zatorowość płucna. Około 7.5 miliona chorych zmarło w 2012 roku z powodu choroby wieńcowej (i 6.7 miliona osób z powodu udaru mózgu)

Najnowsze dane z lutego 2015 (baza pacjentów z lat 1999-2013) donoszą, że w Stanach Zjednoczonych co czwarty zgon następuje z powodu przyczyn sercowych, najczęściej jest to choroba wieńcowa – jest ona przyczyną śmierci około 370 tysięcy pacjentów rocznie [6].

Aktualne dane z British Heart Foundation podają, że choroba wieńcowa jest najczęstszą przyczyną zgonu w Wielkiej Brytanii, jak również na całym świecie. U kobiet choroba wieńcowa jest dwa razy częściej przyczyną śmierci niż rak sutka. Aktualnie około 2.5 miliona osób w Wielkiej Brytanii leczy się z powodu choroby wieńcowej.

Krajowy Rejestr Operacji Kardiochirurgicznych (KROK) wykazuje, że operację pomostowania tętnic wieńcowych wykonuje się u około 15 tysięcy pacjentów rocznie w latach 2005-2015 – oznacza to 40 pacjentów poddawanych operacji CABG dziennie.

OPCABG vs KPU

Krążenie pozaustrojowe zapewniło chirurgowi komfort operowania nieruchomego serca, jednak wiązało się to z szeregiem różnych powikłań – niewydolność nerek, niedokrwienne uszkodzenie mięśnia sercowego oraz centralnego układu nerwowego, masywne przetoczenia czy uogólniona reakcja zapalna.

W związku z tym zaczęto rozwijać technikę OPCABG (Off Pump Coronary Artery Bypass Grafting) czyli pomostowania tętnic wieńcowych bez użycia krążenie pozaustrojowego, z dostępu przez sternotomię lub z innych, jeszcze mniej inwazyjnych dostępów takich jak MIDCAB (Minimally Invasive Direct Coronary Artery Bypass). Zabiegi te, w połączeniu z angioplastyką tętnic wieńcowych (jako tzw. zabiegi hybrydowe), dają możliwość pełnej rewaskularyzacji mięśnia sercowego przy minimalnych powikłaniach ze strony układu krążenia oraz innych organów.

Najogólniej można stwierdzić, że zmiany do których dochodzi w układzie krzepnięcia w wyniku zabiegu operacyjnego, charakteryzują się:

- wzrostem stężenia fibrynogenu,
- wzrostem czynnika VIII,
- wzrostem stężenia alfa₂ makroglobuliny,
- aktywacją krwinek płytkowych,
- aktywacją układu fibrynolizy w trakcie trwania zabiegu operacyjnego,
- obniżeniem się stężenia antytrombiny III po zabiegu,
- małopłytkowością wynikająca z rozcieńczenia (po podaniu dożylnych płynów),
- niedoborem czynników krzepnięcia w przypadku masywnych transfuzji,
- niedoborem czynników krzepnięcia produkowanych w wątrobie (osoczowych czynników krzepnięcia II, V, VII, VIII) spowodowane: centralizacją krążenia i hipoperfuzją trzewną; te zjawiska obserwuje się szczególnie podczas krążeniapozaustrojowego [7] [8].

Jednym z wyzwań z którym zmagają się współczesna kardiochirurgia to zaburzenia układu krzepnięcia. Krew chorego, krążąca przez sztuczne powierzchnie układu do krążenia pozaustrojowego, narażona jest na aktywację płytek krwi, zmniejszenie ilości i pogorszenie ich funkcji.

Z jednej strony mamy do czynienia z uporczywymi krwawieniami pooperacyjnymi, które narażają chorego na liczne powikłania – dotyczą one zarówno anemii pooperacyjnej, konieczności transfuzji preparatów krwi i następstw z tym związanych np. TRALI (Transfusion Related Acute Lung Injury), infekcje ran pooperacyjnych, niewydolność nerek, uogólniony stan zapalny.

Z drugiej zaś strony istotnym problemem są również stany nadkrzepliwości grożące ciężkimi konsekwencjami dla pacjenta. Są one szczególnie istotne w chirurgii wieńcowej, gdzie pomosty są narażone na wykrzepnięcia i w konsekwencji całkowitą niedrożność [9-29].

Stan nadkrzepliwości zostały wielokrotnie opisane w u chorych z grupy OPCABG w okresie pooperacyjnym [30-32]. Predysponują one do wykrzepnięcia pomostów wieńcowych we wczesnym okresie pooperacyjnym. Grozi to poważnymi konsekwencjami w postaci okołoperacyjnego zawału mięśnia serca, obniżenia kurczliwości mięśnia serca, przedłużonej hospitalizacji i naraża chorego na szereg poważnych powikłań związanych z zespołem małego rzutu (np. konieczność zastosowania kontrapulsacji aortalnej, niedokrwienie jamy brzusznej, niewydolność nerek...) oraz z powikłaniami zakrzepowo-zatorowymi (np. udar niedokrwienny mózgu).

Przy ingerencji w skomplikowane mechanizmy hemostazy u pacjenta przewidzianego do operacji pomostowania tętnic wieńcowych poprzez:

- przedoperacyjne przyjmowanie leków przeciwplatekcyjnych,
- heparynizację pacjenta,
- odwracanie działania heparyny poprzez podawanie protaminy,
- podawanie antyfibrynolityków,
- użycie krążenia pozaustrojowego,
- manewry chirurgiczne na naczyniach krwionośnych

- przetaczanie preparatów krwiopochodnych

niezwykle trudno jest opracować łatwo dostępne badanie, które w warunkach in vivo umożliwiłoby ocenę układu krzepnięcia pod kątem stanów nadkrzepliwości, będących realnym zagrożeniem dla drożności pomostów wieńcowych.

W ostatnich latach wykonuje się coraz więcej zabiegów pomostowania tętnic wieńcowych bez wykorzystywania krążenia pozaustrojowego (KPU). Ta tendencja zmniejsza częstość występowania powikłań związanych ze stosowaniem krążenia pozaustrojowego, do których zalicza się m.in. aktywacja, degranulacja i uszkodzenie płytek krwi oraz uwolnienie mediatorów mających działanie ogólnoustrojowe prozapalne

Bezpośrednim efektem dysfunkcji płytek w większości wypadków jest krwawienie, lecz zdarza się, że nieprawidłowa funkcja trombocytów prowadzi do stanów nadkrzepliwości - analizy wyników operacji bez użycia KPU – typu OPCABG (Off Pump Coronary Artery Bypass Grafting) dowiodły niższych drenaży pooperacyjnych wynikających z dysfunkcji płytek krwi [33]. Co więcej, u pacjentów operowanych bez użycia krążenia pozaustrojowego (KPU) stwierdzano większy odsetek powikłań zatorowo-zakrzepowych [34]. Te komplikacje wydają się być powiązane ze stanami nadkrzepliwości po zabiegach bez użycia KPU – OPCABG.

Pośród najnowszych metod oceny funkcji trombocytów stosowana jest technika CPA - Cone and Plate(let) Analyser [35].

Analizator CPA został zaprojektowany tak, aby badanie funkcji trombocytów odbywało się w warunkach jak najbardziej zbliżonych do rzeczywistych warunków fizjologicznych.

Pacjenci, którzy przewidziani są do zabiegu wieńcowego, często już przedoperacyjnie są w stanie nadkrzepliwości w porównaniu do pacjentów chirurgii ogólnej, stan ten powodowany jest podwyższonym poziomem czynnika wewnętrznego i trombiny [36].

Hemostaza i płytki krwi

Hemostaza – to zespół procesów obronnych utrzymujących integralność zamkniętego układu krążenia po przerwaniu ciągłości łożyska naczyniowego [37]. Biorą w niej udział płytki krwi, ścian naczyń krwionośnych oraz układ krzepnięcia i fibrynolizy.

W procesie krzepnięcia (po uszkodzeniu tkanek) powstaje czop płytkowy w procesie adhezji i agregacji krwinek płytkowych oraz obkurczeniu naczynia krwionośnego (hemostaza pierwotna) a następnie niestabilny czop płytkowy jest modyfikowany w stabilny chemicznie skrzep fibrynowy (hemostaza wtórna). Istota krzepnięcia krwi jest transformacja rozpuszczalnego białka – fibrynogenu – w nierozpuszczalną sieć fibryny.

Trombina (niezbędna do powstania fibryny z fibrynogenu) i czop płytkowo-fibrynowy powstają na drodze wewnątrz – i zewnątrzpochodnego toru aktywacji krzepnięcia. Do powstania skrzepu przez aktywację toru wewnątrzpochodnego niezbędna jest obecność wewnętrznych czynników krzepnięcia. Aby powstał skrzep poprzez aktywację drogi zewnątrzpochodnej dodatkowo konieczny jest czynnik tkankowy (TF – tissue factor). TF zwany dawniej tromboplastyną tkankową, jest proteiną błonkomórkowej, dostępnym dla czynników krzepnięcia tylko po uszkodzeniu komórek. Jego kontakt z osoczem zapoczątkowuje aktywację krzepnięcia.

Płytki krwi - powstają w wyniku fragmentacji cytoplazmy megakariocytów, do której dochodzi w przestrzeniach zatokowych szpiku kostnego i częściowo również w

płucach. Proces trombopoезы trwa średnio 8-10 dni i jest jest zależny od wielu czynników. Głównym hormonem regulującym tworzenie płytek jest trombopoetyna (TPO), produkowana w wątrobie, a także w nabłonku cewek bliższych nerek, jądrach, płucach, szpiku, śledzionie i mózgu. Około 30-50 % płytek krwi jest magazynowana w śledzionie. Reszta płytek to tzw. pula pozaśledzionowa obejmująca trombocyty znajdujące się w naczyniach krwionośnych (oprócz naczyń śledziony). Śledziona jest również miejscem niszczenia płytek krwi, a po splenektomii w 75% jej funkcję przejmuje wątroba [38 - 40].

Średni czas życia płytek krwi wynosi 7-10 dni. Fizjologicznie liczba płytek krwi w ciągu doby waha się o ok. 10%.

Płytki krwi pełnią dwie zasadnicze funkcje:

1. Tworzą hemostatyczny czop płytkowy, który przywraca ciągłość uszkodzonej ściany naczynia.
2. Biorą udział w reakcjach układu krzepnięcia: udostępniają fosfolipidy na powierzchni których aktywowany jest wewnątrzpochozny układ krzepnięcia; uwalniają czynnik V, przemieszczają czynnik XIII z cytozolu na powierzchnię.

Funkcja płytek krwi podczas krążenia pozaustrojowego

Płytki są aktywowane przez trombinę, kontakt z powierzchnią komórek nieśródbłonkowych, heparynę oraz wszystkie czynniki aktywujące płytki uwalniane przez komórki podczas krążenia pozaustrojowego. Krążąca trombina oraz kontakt płytek z powierzchniami KPU pokrytymi fibrynogenem są prawdopodobnie najsilniejszymi i najwcześniejszymi agonistami. Krążąca trombina, chociaż szybko neutralizowana przez antytrombinę, jest silnym agonista i łątowiążesię z dwoma receptorami na trombocycie: PAR-1 i GPalfa. Wraz z czasem trwania KPU, C5a, C5b-9,

plazmina, hipotermia, PAF (czynnik aktywujący płytki), interleukina, katepsyna G, serotonina, epinyfryna, eikozanoidy i inni agoniści również aktywują trombocyty i przyczyniają się do ich aktywacji czy zużycia [41-46].

Początkową reakcją płytek na agonistę jest zmiana kształtu. Krążące, dyskoidalne płytki rozciągają pseudopodia, centralizują ziarnistości, eksponują receptory GPIb i GPIIb/IIIa [47], wydzielają receptory rozpuszczalne i te związane z P selektyną z ziarnistości alfa [48]. Receptory GP IIb/IIIa natychmiast wiążą płytki do wyeksponowanych miejsc wiązania na alfa- i gamma-łańcuchach odłożonego fibrynogenu [49]. Powierzchnie chropowate wiążą więcej płytek niż te gładkie [50].

P selektyna związana z płytkami wiąże je do monocytów neutrofilii aby uformować agregaty płytkowe [51]. Część trombocytów uwalnia z ziarnistości takie substancje jak tromboxan A₂, czynnik płytkowy 4, beta-tromboglobulinę, P-selektynę i serotoninę. Płytkowe lizosomy uwalniają proteazy o neutralnym pH oraz kwaśne hydrolazy. Podczas KPU pula płytek krwi jest zredukowana poprzez dylucję, adhezję, agregację, ich niszczenie i zużycie.

Masę płytkową tworzy zredukowana ilość morfologicznie normalnych płytek, trombocyty z uformowanymi pseudopodiami, nowe i większe płytki uwolnione z megakariocytów [453], trombocyty z częściowo i całkowicie wydzielonymi ziarnistościami, fragmenty błon trombocytów [53, 54, 55, 56].

Funkcje krążących i nienaruszonych płytek podczas KPU i tuż po nim są upośledzone, ale nie jest jasne czy to upośledzenie funkcji jest wewnątrz- czy zewnątrzpochodne dla trombocyta.

Badania przepływowe agregometrią pokazują, że krążące, nieuszkodzone płytki mają niewielkie zmiany w zakresie receptorów w swojej ścianie [57]. Natomiast przy przedłużonym czasie KPU trombocyty są intensywnie aktywowane zarówno przez kontakt ze sztuczną powierzchnią jak i tromboplastynę tkankową, następnie dochodzi do ich zużycia i próby ich uzupełniania ze szpiku [58].

Ilość krążących płytek spada nie tylko z powodu procesu adhezji i agregacji, ale również z powodu rozcieńczenia roztworem primingu – niezbędnego do użycia krążenia pozaustrojowego.

Zespoły dysfunkcji płytek (małopłytkowości)

- podział w zależności od:

A) charakteru - wrodzonego i nabytego

B) etiologii

A) Wrodzone

- Zespół Bernard-Soulier'a

choroba dziedziczona w sposób autosomalny recesywny, ujawnia się w okresie noworodkowym, charakteryzuje się deficytem płytkowej GP (glikoproteiny) Ib, V i IX i w wyniku tego dochodzi do upośledzonej agregacji płytek. Płytki krwi są znacząco większe od normalnych trombocytów. Krwawienia u pacjentów z tym syndromem mogą wymagać przetoczeń mas płytkowych. Nie ma celowanego leczenia w tej chorobie.

Chorzy, którzy wykazują ponad 50% normy dla GPIIb/III nie mają podwyższonego ryzyka krwawienia.

- Trombastenia Glanzmanna

Choroba dziedziczna. Charakteryzuje się wydłużonym czasem krwawienia. Przyczyną choroby jest defekt budowy kompleksu glikoprotein (GP) IIb/IIIa w błonie płytek niezbędnego do ich agregacji.

- zespół Hermansky-Pudlak'a

choroba genetyczna dziedzicząca się autosomalnie recesywnie, charakteryzująca się albinizmem, skłonnością do krwiaków pourazowych, wzmożonym krwawieniem i zwłóknieniem płuc. Przyczyną defektu jest mutacja białka AP-3 i w wyniku tego niedobór tzw. ciał gęstych w trombocytach, które zawierają czynniki niezbędne do agregacji płytek.

A) Nabyte

- wpływ leków - ASA, kłopidogrel, prasugrel, NLPZ (niesteroidowe leki przeciwzapalne) i inne (heparyna, chinina, wankomycyna, trimetoprim, sulfametoksazol, gentamycyna, kwas walproinowy, digoksyna, tiazydy, i indometacyna - omówione poniżej)

- chemioterapia

- mocznica

- marskość wątroby

- niedobór witaminy B12, kwasu foliowego

- zespoły mielodysplastyczne, białaczki

B) Podział ze względu na etiologię:

1. Zmniejszone wytwarzanie płytek

1. Wrodzone hipoplazje szpiku
2. Wrodzony brak trombopoetyny
3. Wrodzone dziedziczne trombopenie:

- wrodzona amegakariocytowa trombocytopenia (CAMT)
- zespół TAR
- niedokrwistość Fanconiego
- zespół Bernarda-Souliera
- anomalia Maya-Hegglin
- zespół szarych płytek
- zespół Alporta

4. Wrodzona białaczka

5. Wrodzona siatkowica

6. Różyczka noworodków

7. Związana z leczeniem matki tiazydami

8. Aplazja megakariocytowa

9. Niedokrwistość aplastyczna

10. Uszkodzenie szpiku przez promieniowanie jonizujące

11. Uszkodzenie szpiku przez substancje toksyczne (np. alkohol)

12. Uszkodzenie szpiku przez leki mielotoksyczne

13. Białaczki, szpiczak, histiocytoza (w mechanizmie wyparcia)

14. Rozległe przerzuty nowotworowe do szpiku (w mechanizmie wyparcia)

15. Niedobór witaminy B₁₂ i kwasu foliowego

16. Mielofibroza

17. Niewydolność nerek

18. Zakażenia wirusowe

2. Nadmierne niszczenie płytek

1. Wrodzona alloimmunologiczna małopłytkowość noworodków

2. W przebiegu wcześniactwa

3. W przebiegu choroby hemolitycznej noworodków

4. Wrodzone w przebiegu gestozy u matki

5. Przy występowaniu naczynek olbrzymich lub naczynek jamistych

6. Wrodzone defekty płytek skracające czas życia

7. Samoistna plamica płytkowa
 8. Polekowe
 9. Potransfuzyjne
 10. W przebiegu niedokrwistości hemolitycznych
 11. W przebiegu chorób rozrostowych
 12. Po stosowaniu surowicy antylimfocytowej
 13. Sekwestracja w powiększonej śledzionie
3. Przyczyny złożone
1. W przebiegu zakażeń
 2. DIC
 3. Po obfitych krwotokach
 4. Przy krążeniu pozaustrojowym
 5. Po masywnych przetoczeniach krwi
 6. Rozległe oparzenia
 7. Plamica małopłytkowa zakrzepowa
 8. Zespół hemolityczno-mocznicowy
 9. Nocna napadowa hemoglobinuria
 10. Porfiria
 11. Małopłytkowość cykliczna

Przyjmuje się, że 30 000 płytek/ μ l wystarcza do utrzymania prawidłowej hemostazy (przy normie od 150 000/ μ l do 400 000/ μ l) [59].

Nie ma bezpośredniej zależności między ilością płytek krwi a nasileniem krwawień. Jeżeli ich ilość nie spada poniżej 30 000/ μ l, a występuje jawna skaza krwotoczna, należy poszukiwać dodatkowych przyczyn krwawień. Jednocześnie małopłytkowość jest najczęstszą ze skaz krwotocznych.

W obrazie klinicznym mogą pojawić się wybroczyny w skórze i w błonach śluzowych. Najbardziej będą one widoczne na kończynach i na tułowie. Pojawiają się też pierścieniowate wylewy w miejscach nakłuć, podbiegnięcia krwawe oraz nawracające krwawienia z dziąseł, nosa, przewodu pokarmowego. Może występować krwimocz. Pojawiać się mogą krwotoki z dróg rodnych oraz wystąpić mogą krwawienia do ośrodkowego układu nerwowego.

U chorych kardiochirurgicznych częstym objawem klinicznym są podbiegnięcia krwawe, wybroczyny oraz przesączenie krwi z ran po sternotomii (dostęp do śródpiersia) czy safenektomii (po pobraniu żyły odpiszczelowej wielkiej z podudzia).

Poza tym, niektóre zabiegi jak np. fototerapia, wymienna transfuzja krwi oraz pozaustrojowe natlenianie membranowe (ECMO) mogą także prowadzić do stanu trombocytopenii [60].

Krótkiego omówienia wymagają jeszcze stany nadpłytkowości:

Nadpłytkowość (trombocytoza) – nadmierna liczba płytek we krwi, powyżej 400 tys/ μ l. Nadpłytkowość wynika z nadmiernej produkcji płytek, a nie wydłużenia ich czasu przeżycia. W zależności od przyczyn trombocytozy dzielimy na pierwotne i wtórne.

1. Nadpłytkowość pierwotna:

Zwiększenie liczby płytek krwi jest wynikiem autonomicznego procesu rozrostowego. Wśród nadpłytkowości pierwotnych wyróżniamy:

- nadpłytkowość samoistną, będącą przewlekłym zespołem mieloproliferacyjnym, związanym ze wzmożoną proliferacją megakariocytów, poziom płytek krwi utrzymuje się najczęściej na poziomie 1000 tys/ μ l i więcej;
- nadpłytkowość rodzinną jest wrodzoną chorobą, związaną z mutacją w genie TPO, prowadzącą do nadprodukcji trombopoetyny;
- inne zespoły mieloproliferacyjne: takie jak czerwienica prawdziwa, zwłóknienie szpiku, przewlekła białaczka szpikowa.

Samoistna nadpłytkowość objawia się nawracającymi krwawieniami do przewodu pokarmowego, dróg moczowych i z błon śluzowych nosa. Natomiast na skutek nadmiernej gęstości krwi, następuje zaburzenie jej przepływu w naczyniach, co może być przyczyną powikłań zatorowo-zakrzepowych - głównie w naczyniach śledzionowych, krezkowych i mózgowych. Zakrzepy występują rzadziej, niż krwawienia, a u połowy chorych obserwuje się powiększenie śledziony [61, 62].

2. Nadpłytkowość wtórna:

Jest objawem innych chorób lub wynika z działania innych czynników przyczynowych. Zwykle przebiega bezobjawowo, a ustalenie rozpoznania następuje w oparciu o całość obrazu klinicznego i badanie szpiku [62].

Najczęstsza przyczyną trombocytozy jest ostry stan zapalny, który ustępuje po wyleczeniu zapalenia. Innymi przyczynami trombocytozy reaktywnej są choroby nowotworowe, leki (np. winkrystyna), splenektomia i inne zabiegi chirurgiczne, przewlekły stan zapalny (reumatoidalne zapalenie stawów, zapalenie jelita grubego) oraz niedokrwistość pokrwotoczna i z niedoboru żelaza [63, 64]

W przypadku nadpłytkowości wtórnej nie obserwuje się objawów skazy krwotocznej, natomiast czas krwawienia może być przedłużony [61].

Leki przeciwplatekcyjne

Kwas acetylosalicylowy (ASA) wywiera swój przeciwplatekcyjny efekt przez blokowanie cyklooksygenazy 1(COX-1) - enzymu, który produkuje agonistę platekowego TXA₂ (tromboxan) z kwasu arachidonowego.

Tienopirydyny, takie jak tiklopidyna i kłopidogrel, hamują aktywność płytek przez wybiórcze i nieodwracalne łączenie się do receptora ADP na błonie trombocytów i przez to blokują ADP-zależną aktywację glikoproteiny IIb/IIIa (GP IIb/IIIa), która jest głównym receptorem dla fibrinogenu na powierzchni płytki krwi.

Oporność na ASA, z definicji farmakologicznej, określana jest jako ciągłe wytwarzanie tromboxanu A₂ pomimo podawania ASA. Oporność ta jest mierzona obecnością metabolitów tromboxanu A₂ w surowicy lub moczu.

Platekowa synteza TXA musi być mniejsza niż 10%, żeby osiągnąć efektywne wyhamowanie aktywności trombocytów.

W literaturze często spotyka się dwa terminy:

Definicja „oporności na ASA” – [aspirine resistance] jest myląca ponieważ w niektórych sytuacjach ASA skutecznie hamuje wytwarzanie tromboxanu lecz nadal dochodzi do agregacji trombocytów.

Pojęcie „niereaktywność na ASA” – [aspirine non response] zawiera zarówno brak hamowania syntezy TXA jak i dezaktywację agregacji płytek krwi przez podanie kwasu acetylosalicylowego.

Ponadto istnieje dodatkowy szlak wytwarzania tromboxanu - produkcja TXA₂ pomimo inhibicji enzymu cyklooksygenaza-1(COX1) jest możliwa przez alternatywny szlak COX2, obecny w naczyniowych, endotelialnych komórkach oraz mięśniówce gładkiej. Cyklooksygenaza-2, który jest silnie indukowany w chorobie naczyniowej, jest w stanie przekształcić kwas arachidonowy do prostaglandyny H₂ (PGH₂) – ta z kolei jest przenoszona do płytek krwi i tam używana jest do produkcji tromboxanu – stymulanta agregacji trombocytów, obkurczania naczyń krwionośnych.

Zwiększony poziom katecholamin w stanie stresu, wysiłku czy podczas zabiegu chirurgicznego, ma znaczące prozakrzepowe działanie, które także może przyczyniać się do oporności na kwas acetylosalicylowy.

Większa reaktywność trombocytów i ich agregacja, pomimo terapii kwasu acetylosalicylowego, wynika z:

- Interakcji z erytrocytami - te indukują płytki krwi do produkcji tromboxanu B₂, serotoniny, beta-tromboglobuliny i adenosynodwufosforanów (ADP).
- polimorfizmu podjednostki IIIa glikoproteiny GP IIb/IIIa (receptora fibrinogenu), która silniej tworzy pierwotny czop hemostatyczny, wymaga niższego progu aktywacji do wyrzutu alfa ziarnistości i wiązania fibrynogenu. Częstotliwość występowania to około 20-30% w populacji europejskiej.
- zwiększonego poziomu prostaglandyny F₂ alfa.
- zwiększonego poziomu izoprostanu, który wzmacnia reaktywność płytek i powoduje wazokonstrykcję.
- zwiększonego obrotu puli płytek krwi w ustroju - w odpowiedzi na krwotok czy zabieg chirurgiczny może dojść do wygenerowania większej puli trombocytów cały czas zdolnych do tworzenia tromboxanu w regularnym rytmie dobowym.

Pacjenci otrzymujący ASA po CABG wykazują tylko 30-50% inhibicji produkcji tromboxanu w porównaniu do 94% u zdrowych ochotników otrzymujących te same

dawki ASA – uwidacznia to jak bardzo układ krzepnięcia chorego jest wystymulowany przez szereg różnych czynników na które pacjent jest narażony podczas pomostowania tętnic wieńcowych.

Jest coraz więcej dowodów na to, że istnieje szereg ważnych czynników warunkujących krzepliwość poza tymi występującymi w surowicy i trombocytach.

Płytki krwi a CABG

Wiele procedur medycznych, takich jak krążenie pozaustrojowe, hemofiltracja czy hemodializa, zmusza do przekraczania barier jakie stwarza układ krzepnięcia krwi.

Na sztucznych powierzchniach ulega aktywacji czynnik XII, który inicjuje osoczną kaskadę układu krzepnięcia, prowadzącą do wytworzenia włókna i co za tym idzie do skrzepnięcia krwi. Zetknięcie się krwi ze sztucznymi powierzchniami prowadzi też nieuchronnie do aktywacji krwinek płytkowych – proces ten jest poprzedzony przez odkładanie się białek osocza na powierzchniach sztucznych, głównie fibrynogenu. Gdy jego warstwa osiąga grubość około 200nm, zaczynają do niego przylegać krwinki płytkowe i dochodzi do uwalniania mediatorów z ich ziarnistości i tworzenia agregatów [66, 67].

Konsekwencje stanów nadkrzepliwości po zabiegach bez KPU (np. OPCABG) mogą być dużo poważniejsze od koagulopatii po zabiegach w KPU.

W ostatnich latach rewaskularyzacja mięśnia sercowego bez użycia KPU zyskuje coraz większą popularność [68].

Poprzez uniknięcie KPU i pełnej heparynizacji dochodzi do mniejszej ilości powikłań pod postacią niewydolności oddechowej nerkowej i incydentów neurologicznych [69-72].

Istnieje możliwość lepszej hemostazy co skutkuje mniejszym zapotrzebowaniem na preparaty krwiopochodne [73, 74]. Niektóre doniesienia wręcz wykazują, że przy zabiegach na bijącym sercu (OPCABG) dochodzi do stanów nadkrzepliwości ze zwiększonym ryzykiem zakrzepicy żyłnej i potencjalnym zagrożeniem dla drożności wieńcowych zespoleń [75, 76].

Palmgren i koledzy dowodzą w swojej pracy [13], że dochodzi do retencji tromboctow u pacjentów w pierwszym tygodniu po zabiegu operacyjnym - nagromadzenie trombocytów było bardziej wyrażone w grupie operowanej z użyciem KPU, chociaż nie była to różnica statystycznie znamienne.

Kolejne dwa badania dowiodły, że w zabiegach bez KPU dochodzi do zwiększonego ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych i wczesnego zamknięcia się graftów [14, 16, 76].

Dysfunkcja płytek krwi jest jednym z głównych powodów krwawienia pooperacyjnego w kardiochirurgii [77, 78]. Dowiedziono też, że krążenie pozaustrojowe powoduje zmniejszenie ilości oraz objętości trombocytów [79,80].

Kontakt krwi ze sztucznymi powierzchniami elementów krążenia pozaustrojowego wyzwała ogólnoustrojową odpowiedź zapalną w której dochodzi do między innymi do zmian i aktywacji w płytkach krwi i leukocytach. Co więc jwiązanie się leukocytów do płytek krwi niezależnie wzmacza aktywację leukocytów [81]. W dalszej kolejności dochodzi do dysfunkcji płytki krwi głównie w mechanizmie pokrywania płytek krwi przez produkty rozpadu fibryny, utraty receptorów powierzchniowych i alfa-degranulacji [82].

Pooperacyjne zaburzenia funkcji płytek krwi

Małopłytkowość wywołana przez heparynę - HIT (heparin induced thrombocytopenia) jest obecnie najczęstszą przyczyną trombocytopenii polekowej [84].

Ten rodzaj małopłytkowości jest szczególnie ważny w populacji pacjentów kardiochirurgicznych – praktycznie każdy operowany chory przeżył ekspozycję na heparynę, często ze względu na konieczność wykonania koronarografii celem kwalifikacji do leczenia operacyjnego czy rozpoznane migotanie przedsionków.

Wraz z coraz szerszym stosowaniem heparyn rośnie również częstość tego groźnego powikłania, które zbyt późno rozpoznane i nieprawidłowo leczone jest przyczyną znacznie podwyższonej śmiertelności chorych.

Podstawowym mechanizmem inicjującym HIT jest powstanie kompleksów immunologicznych złożonych z czynnika płytkowego 4 (PF4, platelet factor 4), heparyny oraz skierowanych przeciw nim przeciwciał klasy IgG (przeciwciała przeciw płytkowe heparynozależne). Tak powstały kompleks aktywuje płytkę krwi po połączeniu się ze zlokalizowanym na ich powierzchni receptorem. Skutkuje to uwolnieniem ziarnistości wewnątrzpłytkowych, nasilonej syntezy tromboksanu, uszkodzeniem śródbłonna naczyń, zwiększonej agregacji płytek i wreszcie do wykrzepiania wewnątrznaczyniowego.

HIT dzielimy na dwa rodzaje:

- typ 1 – objawy pojawiają się w ciągu dwóch dni od ekspozycji na heparynę a poziom płytek normalizuje się wraz z kontynuacją leczenia heparyną. Mechanizm HIT 1 nie jest immunologiczny i jego podstawą jest bezpośrednia aktywacja trombocytów przez heparynę.

- typ 2 – jest immunozależny i zazwyczaj pojawia się 4-10 dni po ekspozycji na heparynę. W praktyce klinicznej termin HIT odnosi się do HIT typu 2 [85].

HIT należy podejrzewać u pacjenta, który otrzymywał heparynę i u którego poziom płytek krwi spadł poniżej 50% wartości wyjściowej, nawet jeżeli ich wartość wynosi powyżej 150 tys./dL.

Klinicznie HIT manifestuje się krwawymi podbiegnięciami w miejscu podskórnych iniekcji heparyny lub objawami ogólnymi typu dreszcze, gorączka, duszność, ból w klatce piersiowej [86].

W odróżnieniu od innych trombocytopenii, HIT zazwyczaj nie powoduje krwawienia tylko objawy żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej, do najczęstszych należą - zakrzepica żył głębokich, zatorowość płucna. Rzadziej dochodzi do zatorów tętniczych np. zawału mięśnia serca.

Rozpoznanie HIT jest wskazaniem do natychmiastowego odstawienia preparatów heparyny (również heparyn drobnocząsteczkowych) i włączeniem alternatywnych metod antykoagulacji: bezpośrednich inhibitorów trombiny – DTI (direct thrombin inhibitors) lub inhibitorów czynnika Xa. W ostrej fazie HIT nie należy stosować antagonistów witaminy K; można je włączyć dopiero wtedy, gdy liczba płytek krwi powróci do normy.

Należy mocno podkreślić, że rozpoznanie HIT jest przede wszystkim rozpoznaniem klinicznym a HIT należy różnicować z zatorom tętnicy płucnej.

Warto podkreślić, że każdy przypadek zakrzepicy dostępu naczyniowego, zwłaszcza u chorego rozpoczynającego leczenie dializami, powinien wyczuwać na możliwość wystąpienia zespołu HIT, tym bardziej, że to właśnie powikłanie zakrzepowo-zatorowe jest często pierwszą manifestacją HIT i występuje jeszcze przed typowym obniżeniem liczby płytek.

DIC

Zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego - DIC (ang. disseminated intravascular coagulation) – zespół chorobowy polegający na wtórnej do wielu chorób aktywacji kaskady krzepnięcia i wytworzenie licznych mikrozakrzepów w świetle małych naczyń krwionośnych, co w efekcie często doprowadza do zużycia czynników krzepnięcia, szczególnie fibrynogenu, czynnika VIII i V oraz płytek krwi, powodując objawy skazy krwotocznej („koagulopatia ze zużycia”). Wykrzepianie jest wyzwalane przez uwolniony czynnik tkankowy, odsłonięcie warstwy podśródbłonkowej naczyń lub poprzez nieprawidłowe aktywatory krzepnięcia.

Objawy są związane ze skazą krwotoczną, zakrzepicą i uszkodzeniami narządowymi związanymi z mikrozatorami.

Leczenie jest oparte na leczeniu choroby podstawowej oraz leczeniu objawowym. Leczenie przeciwwzakrzepowe za pomocą heparyny budzi kontrowersje. Substytucja elementów hemostazy za pomocą świeżo mrożonego osocza oraz płytek za pomocą koncentratów płytkowych [88].

Badanie funkcji płytek

Historia badania płytek krwi sięga zaledwie 120 lat kiedy to trombocyty zostały wyróżnione jako osobne elementy morfotyczne krwi oraz kiedy udowodniono, że mają kluczową rolę dla hemostazy i krzepnięcia *in vivo* (Bizzozero, 1882). Jednym z głównych problemów z jakim zmagali się naukowcy była niewiarygodna trudność w symulacji złożoności zarówno pierwotnej jak i całkowitej hemostazy. Co więcej, trombocyty są bardzo podatne na aktywację w warunkach *in vitro* ze względu na swoją wysoką wrażliwość na bodźce.

Czas krwawienia wynaleziony przez Duke'a (1912) był pierwszym testem in vivo, który badał funkcje płytek krwi. Choć klinicznie użyteczny, jest on słabo powtarzalny, subiektywny, inwazyjny, o niskiej czułości i jest też czasochłonny. Jest on także niepraktyczny do zastosowania w chirurgii, ale wciąż znajduje zastosowanie w diagnostyce choroby von Willebrand'a czy trombastenii Glanzmann'a.

Aktualnie istnieje wiele testów, które są w stanie szczegółowo określić funkcję płytek, niektóre z nich mogą być wykonywane przyłóżkowo, co znacznie ułatwia diagnostykę zaburzeń krzepnięcia.

Liczbę trombocytów we krwi obwodowej określa się metodami automatycznymi (impedancja, metoda optyczna i fluorescencyjna z użyciem przeciwciał monoklonalnych) lub manualnymi (rozmaz krwi i metody komorowe). W praktyce manualne metody są stosowane bardzo rzadko, w celu weryfikacji ich niskiej liczby lub obecności płytek nietypowych.

Wśród obecnie stosowanych metod oznaczania płytek krwi w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej wykorzystywane są analizatory hematologiczne, w których stosowane są dwie metody: konduktometryczna i fotooptyczna.

Podstawę metody konduktometrycznej stanowi pomiar przewodnictwa elektrycznego zależnego od liczby i wielkości komórek, natomiast w przypadku metody fotooptycznej poza pomiarem przewodnictwa mierzona jest impedancja, rozproszenie i załamanie światła. Wykraczając poza obszar podstawowej diagnostyki laboratoryjnej, w celu bardziej szczegółowej analizy zastosowanie znajduje także metoda immunologiczna. Pozwala ona między innymi na precyzyjne określenie liczby płytek krwi, ekspresji receptorów płytkowych oraz zmiany kształtu płytek. Ponadto stosuje się ją do badania fizjologii, aktywacji i reaktywności płytek oraz ich oddziaływania z leukocytami i

komórkami śródbłónka, co pozwala na wykazanie satelitaryzmu płytkowego, będącego jedną z przyczyn pseudotrombocytopenii.

Dodatkowo dzięki cytometrii możliwe jest określenie liczby płytek retikulocytarnych w badanych próbkach na podstawie obecności reszkowego mRNA. Poza tym, zastosowanie substancji wiążących jony wapniowe pozwala na oznaczenie jego stężenia wewnątrz płytki. Dzięki tej metodzie możliwe jest również oznaczenie frakcji zużytych płytek i agregatów płytkowych z jednoczesnym określeniem, czy zbudowane są one jedynie z trombocytów czy zawierają również domieszkę leukocytów [88].

Przekładając tę wiedzę na potrzeby kliniczne metody badania funkcji płytek możemy podzielić na:

- klasyczną płytkową agregometrię – wynaleziona w latach 60-tych, stała się złotym standardem do badania funkcji płytek

- agregometrię pełnej krwi

- PFA (platelet function assay) zmodyfikowana agregometria płytkowa. PFA 100 – podstawa tej metody jest ekspozycja krwi pełnej na warunki sił ścierających w kapilarze oraz obserwacja przepływu w miarę jak płytki tworzą czop pierwotny hemostatyczny w otworze (o średnicy 150 mikrometrów) membrany pokrytej ADP czy epinefryną.

- Tromboelastografia – metoda opisywana już w latach 50-tych, bazująca na czysto fizycznych właściwościach badanego skrzepu.

- RIA Radioimmunoassays i ELISA Enzyme-linked Immunosorbent Assays. Testy wrażliwe na białka specyficzne dla trombocytów takie jak PF4 (czynnik płytkowy 4 – istotny w diagnostyce HIT) i beta tromboglobulina. Te dwie ostatnie substancje są

wyrzucane z ziarnistości alfa aktywowanego trombocyta i przez to pozwalają określić jego aktywność.

- skracanie ACT (Activated Clotting Time) aktywowanego kaolinem zależne od PAF (Platelet Activating Factor).

- Cone and Platelet Analyzer (CPA) .

Metoda ta bazuje na adhezji płytek krwi do macierzy zewnątrzkomórkowej w warunkach przepływowych. System składa się ze stożka i płytki, które naśladują warunki przepływu laminarnego dla krwi tętniczej z jednolitymi siłami ścierającymi przez okres 2 minut. Adhezja i agregacja płytek krwi jest monitorowana wizualnie. Interakcja trombocytów z podłożem jest w pełni zależna od obecności GPIIb/IIIa, GP Ib oraz osocznego czynnika von Willebrand’a.

Ten rodzaj badania płytek krwi udowodnił dotąd swoją przydatność w określeniu ich funkcji w różnych zagadnieniach klinicznych takich jak ocena ryzyka krwawienia z powodu trombocytopenii po chemioterapii.

Pooperacyjne leczenie zaburzeń układu krzepnięcia

Należy wspomnieć o jeszcze jednym czynniku, który istotnie wpływa na układ krzepnięcia we wczesnym okresie pooperacyjnym – podawanie roztworu protaminy po zakończeniu zespołów naczyniowych celem odwrócenia działania heparyny.

Silna kationowość (odczyn zasadowy) protaminy sprawia, że osłabia ona łączenie się heparyny z antytrombiną III i przez to zmniejsza działanie antykoagulacyjne heparyny. Podanie protaminy może dać efekty uboczne: zaburzenia kurczliwości mięśnia serca, zwiększenie oporów w krążeniu płucnym, zmniejszenie utlenowania krwi [89].

W intensywnej terapii zaburzeń krzepnięcia należy wziąć pod uwagę wiele czynników, które mogą wpłynąć na właściwe decyzje kliniczne i postępowanie w pierwszych godzinach po zabiegu kardiochirurgicznym:

- przedoperacyjne obciążenia chorego,
- leki przeciwkrzepliwe przyjmowane przez pacjenta przed zabiegiem,
- rodzaj i rozległość wykonanej operacji (KPU vs OPCABG),
- stan naczyń wieńcowych (bardziej nasilone zmiany skłaniają do wcześniejszego włączenia leków przeciwplatek),
- godzinowa ilość drenażu pooperacyjnego (konsystencja krwistej treści),
- wyniki badań laboratoryjnych,
- parametry hemodynamiczne i diureza chorego,
- bilans płynów śródoperacyjny i pooperacyjny.

Z jednej strony warto rozważyć podawanie preparatów krwiopochodnych, aby uniknąć błędnego koła powikłań związanych z anemią pooperacyjną (zespół niskiego rzutu, niewydolność oddechowa, zaburzenia rytmu), z drugiej strony leczenie krwiozastępcze ma też swoje powikłania (wcześniej wspomniane TRALI). Warto pamiętać, że preparaty płytek krwi są niezwykle immunizujące – najczęściej na jeden komplet płytek podawany pacjentowi składają się trombocyty uzyskane od wielu dawców.

Jednocześnie musimy choremu zapewnić dobrą kontrolę hemostazy (na etapie chirurgicznym i pooperacyjnym) jak i zadbać o drożność świeżo wykonanych pomostów wieńcowych.

II

CEL PRACY

1. zbadanie wpływu dwóch odmiennych technik chirurgicznych pomostowania tętnic wieńcowych (OPCABG vs KPU) na ważny parametr układu krzepnięcia (który stanowi o hemostazie pierwotnej i tworzeniu pierwotnego czopu hemostatycznego) – funkcję płytek krwi - miano agregacji i adhezji trombocytów:

Pomiar funkcji trombocytów:

- miano adhezji – SC (przyleganie płytek krwi do ściany naczynia)
- miano agregacji – AS (średnia wielkość agregatu płytkowego)

Pomiar wykonany w dwóch grupach pacjentów - podczas zabiegów pomostowania wieńcowego z użyciem krążenia pozaustrojowego(grupa KPU) jak i w grupie operacji na bijącym sercu (grupa OPCABG).

Analiza zmian aktywności płytek krwi pod kątem potwierdzenia doniesień literaturowych o istotnie obniżonej aktywności trombocytów po zabiegach z użyciem KPU oraz hiperfunkcji płytek w operacjach OPCABG.

2. Ocena dynamiki zmian funkcji płytek krwi podczas zabiegu kardiochirurgicznego i w czasie 6-12 godzin po operacji.
3. Próba korelacji aktywności płytek (ich miana adhezji i agregacji) z istotnymi danymi klinicznymi w grupie KPU i OPCABG:
 - laboratoryjny poziom płytek krwi oznaczany przedoperacyjnie i 12 godzin po operacji
 - drenaż pooperacyjny
 - czas zaklemowania aorty
 - poziom hemoglobiny (przed operacyjnym i 12 godzin po operacji)

- aktywowany czas krzepnięcia (ACT)

4. Analiza badanej grupy chorych pod kątem konieczności resternotomii z powodu krwawienia oraz wystąpienia stanów nadkrzepliwości (incdenty zakrzepowozatorowe) związanych z nadaktywnością płytek lub innych powodów (np. HIT lub DIC).

III

MATERIAŁ

Dane demograficzne

Badanie miało prospektywny charakter. Realizację projektu poprzedziło uzyskanie zgody Niezależnej Komisji Bioetycznej przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym z 2005 roku.

Każdorazowo uzyskano zgodę chorego na udział w badaniu. Badana populacja składała się z czterdziestu jeden elektywnych pacjentów operowanych w Klinice Kardiochirurgii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z powodu choroby wieńcowej w okresie pomiędzy lutym a kwietniem 2006 roku.

Do badania włączono dwie grupy pacjentów – 21 operowanych z użyciem krążenia pozaustrojowego (grupa KPU) oraz 20 operowanych na bijącym sercu (OPCABG).

Chorzy byli włączani do badania bez dodatkowych kryteriów tak, aby ich populacja była statystyczną reprezentacją pacjentów operowanych z powodu choroby wieńcowej. Wykluczeni z badania byli pacjenci z rozpoznaniem wcześniej zaburzeniem czynności lub ilości trombocytów.

Wszyscy chorzy przyjmujący doustne antykoagulanty (np. z powodu migotania przedsionków) oraz leki przeciwplatekcyjne odstawiali je 5 dni przed planowanym zabiegiem.

Baza danych zawiera informacje demograficzne i wszystkie dane okołoperacyjne, które mogłyby mieć wpływ na układ krzepnięcia, krwawienie pooperacyjne czy epizody nadkrzepliwości. Jest to między innymi przedoperacyjny i pooperacyjny poziom hemoglobiny oraz przedoperacyjny poziom płytek krwi oraz ich liczba 12 godzin po

zabiegu, ilość przetoczeń preparatów krwiopochodnych czy dawki podanej heparyny oraz odwracającej jej działanie protaminy. W bazie danych odnotowano również wszystkie leki, które mogłyby mieć wpływ na funkcje płytek np. blokery kanał wapniowego, beta-blokery, statyny, niesteroidowe leki przeciwzapalne i inne.

Charakterystyka kliniczna

Wszyscy chorzy mieli rozpoznaną stabilną chorobę wieńcową.

Jedynym kryterium wykluczenia był tryb pilny – pacjenci Ci często otrzymują duże dawki leków o różnym mechanizmie działania na funkcję płytek krwi i cały układ krzepnięcia (heparyna w ciągłym wlewie dożylnym, aminy katecholowe, duże dawki leków p/płytkowych)i często próba analizy tych danych byłaby niezmiernie trudna (dodatkowo należałoby analizować chorych pod kątem oporności na leki przepłytkowe) .

IV

METODY

Wszyscy chorzy byli poddawani standardowemu znieczuleniu ogólnemu oraz, z dostępu przez sternotomię środkową, mieli pobieraną tętnicę piersiową wewnętrzną i żyłę odpiszczelową jako materiał na pomosty wieńcowe. Chorzy operowani z użyciem KPU otrzymali 4mg/kg a bez KPU 1.5mg/kg heparyny dożylnie. Stan antykoagulacji był pod kontrolą wartości aktywowanego czasu krzepnięcia (ACT) w grupie KPU. Działanie heparyny było odwracane podaniem protaminy w dawce równoważnej dawce heparyny. Z udziału w badaniu zostaną wykluczeni pacjenci z zaburzeniami krzepnięcia niemającymi związku z leczeniem przeciwkrzepliwym, a także z jakościowymi i ilościowymi zaburzeniami płytek krwi.

Funkcje płytek krwi były określone przy użyciu analizatora płytek CPA (Cone and Plate(let) Analyzer) przed zabiegiem, w jego trakcie i w okresie pooperacyjnym. Dwa parametry:

AS – średni rozmiar agregatu płytkowego (miano agregacji)

SC – procent pokrycia powierzchni sztucznego naczynia przez agregaty płytkowe (miano adhezji)

zostały zmierzone za pomocą analizatora CPA w celu określenia aktywności płytek krwi w warunkach jak najbardziej zbliżonych do tych, które występują fizjologicznie (bez użycia dodatkowych odczynników).

Zakres fizjologicznych wartości dla:

3. miano agregacji (AS) 25 – 70 μm^2
(rozmiar czopu płytkowego)

4. miana adhezji (SC) 7.0 – 15.0%
(*stopień przylegania płytek krwi do ściany naczynia*)

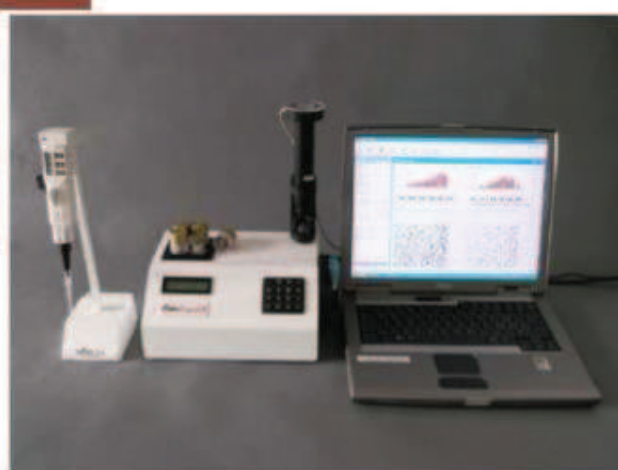
Próbki krwi pobierano na czterech etapach chirurgii wieńcowej:

1. indukcja znieczulenia
2. podanie protaminy
3. zamknięcie powłok klatki piersiowej
4. szósta godzina pooperacyjna.

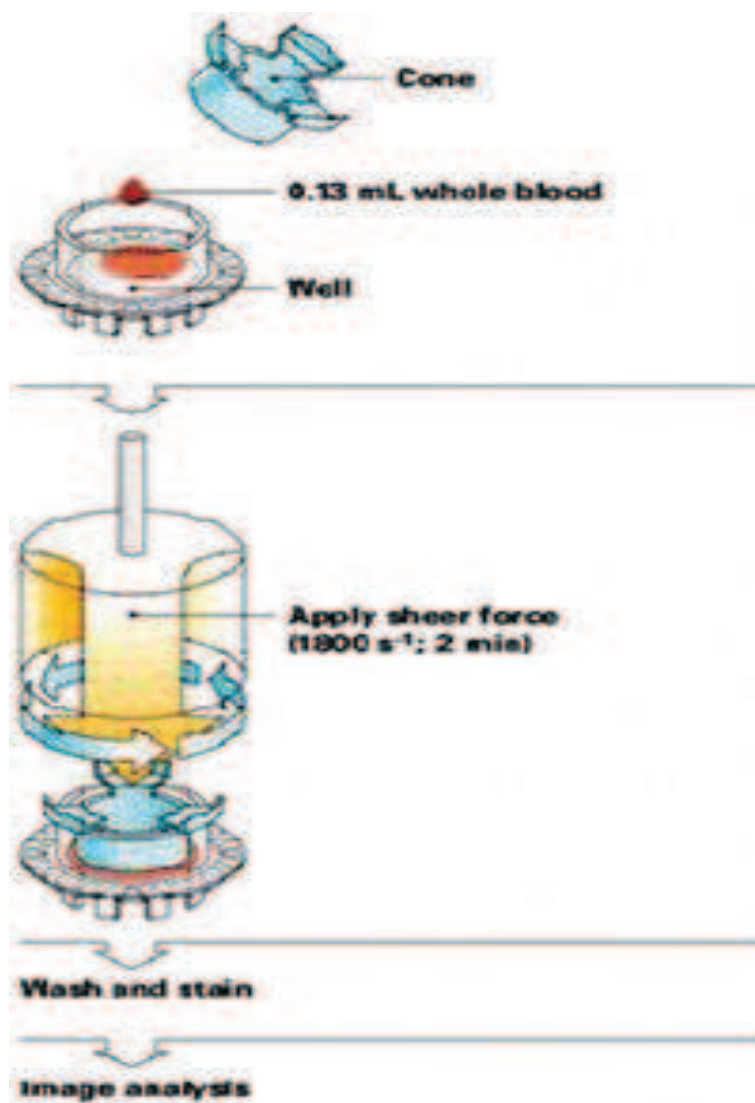
200mikroL pełnej krwi było umieszczane pipetą na powierzchni polisterynowej płytki (Nunc Multidish 4UBEH; Nunc, Rosilde, Denmark) oraz przykładano do niej odpowiednio zaprojektowany stożek, aby zastosować siły ścierające przez okres 2 minut.

Następnie preparat na płytce był barwiony i poddawane badaniu w analizatorze (Diamed, Impact R) składającym się z kamery i mikroskopu.

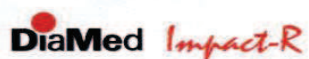
Ryc. 2. Analizator funkcji płytek typu CPA (Cone and Platelet Analyzer) z wbudowanym mikroskopem i kamerą (po lewej), po prawej kompletny zestaw do badania zawierający pipetę, analizator płytek i komputer z oprogramowaniem do odczytu obrazu z kamery.



Ryc. 3. Mechanizm pomiaru typu CPA przy pomocy stożka (cone) i płytki (well), sił scierających i barwienia.



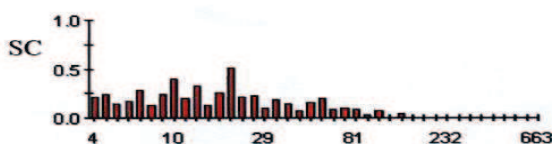
Ryc. 4. Przykładowy wynik uzyskiwany z analizatora CPA.



Impact-R Test Results

Patient ID: 33399955-6	Patient Name: Jim Smith
Test Date: 30/03/2004	Print Date: 18/05/2004
Test Type: Aspirin resistance	Technician Name: John Doe
Remarks: Age 45 ; No previous data avail.	

Test Histogram

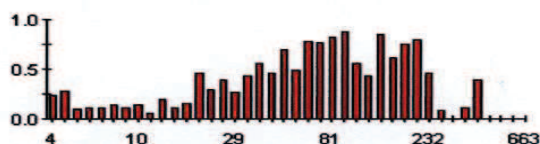


SC: 4.0

AS: 20

Ob: 1093

Normal Histogram

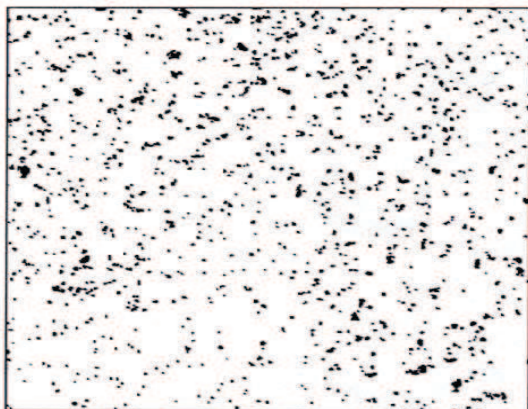


SC: 12.0

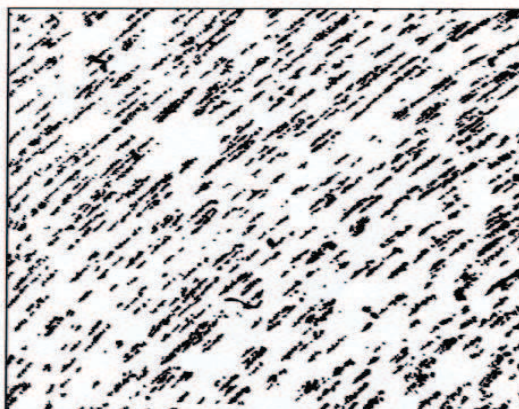
AS: 61

Ob: 1145

Test Image



Normal Image



Processed on DiaMed Impact-R, Software Version: 1.18

V

WYNIKI

Opis użytych metod statystycznych

Dane ilościowe wyrażono jako średnia $\pm$ o dchylenie standardowe, dane jakościowe jako częstości występowania wyrażono w procentach (%). Hipotezę zerową odrzucano na poziomie istotności statystycznej- $p < 0,05$. Dla zmiennych mierzalnych przeprowadzono analizę rozkładu normalnego za pomocą testu W Shapiro-Wilka. Porównanie wartości średnich danych demograficznych, wybranych danych klinicznych oraz parametrów okołooperacyjnych i parametrów płytek grup operowanych z i bez użycia krążenia pozaustrojowego w poszczególnych etapach zabiegu przeprowadzono za pomocą testu T-studenta dla zmiennych niezależnych lub nieparametrycznego testu Manna-Whitney'a przy spełnieniu wymaganych założeń. Obliczenia statystyczne wykonano przy użyciu statystycznego pakietu R ver. 3.2.3 (r-project.org).

Średnia waga chorego wynosiła 79 kg.

Średni wzrost wynosił 169 cm.

Średnie BMI (body mass index) wyniósł 28.

Średnia wieku pacjentów wynosiła 68 lat.

Mężczyźni stanowili procentowo 58% grupy badanej.

Ryc. 5. Podsumowanie danych opisowych w obu grupach wraz z wyliczonym współczynnikiem korelacji (test Pearsona).

	KPU	OPCABG	p
Wzrost	169±7,03	168±7,49	0,766
Waga	77,5±12,5	81,1±12,1	0,364
HGB przed zabiegiem	14,3±1,57	14±1,17	0,315
HGB po zabiegu	10,9±0,928	11±1,2	0,675
PLT przed zabiegiem	241±64,3	253±60,1	0,529
PLT po zabiegu	173±59,4	228±66,1	0,00404
Heparyna	399±73,9	148±19,7	< 0,001
ACT	808±288		
Czas klemu	76±24,4		
Protamina	327±63,2	110±30,8	< 0,001
Drenaż poperacyjny	662±227	349±130	< 0,001

Zwraca uwagę statystycznie istotna różnica pomiędzy pooperacyjnym poziomem ilości płytek w badaniach laboratoryjnych (12 godzin po zabiegu) w obu grupach – można powiedzieć, że przedoperacyjne wartości są podobne.

Istotnie statystycznie różny jest też drenaż pooperacyjny (po 12 godzinach od zakończenia zabiegu) w obu badanych grupach.

Statystycznie istotna różnica w dawce protaminy w obu grupach wynika z tego, że jest ona podawana proporcjonalnie do dawki heparyny, która w przypadku grupy KPU była dużo większa.

Ryc. 6. Podsumowanie uzyskanych wyników – parametr AS i SC dla obu grup oznaczony w czterech etapach badania.

	KPU	OPCABG	p
S.C. indukcja	8,32±3,61	10,2±4,67	0,234
S.C. protamina	4,96±4	9,1±4,59	< 0,001
S.C. skóra	5,08±3,82	11±4,98	< 0,001
S.C. po zabiegu	6,51±4,55	11±5,43	< 0,001
AS indukcja	34,1±15,6	50,7±23,5	0,00374
AS protamina	30,8±15,7	44,6±17,6	0,0024
AS skóra	28,9±10,6	52,2±32,5	< 0,001
AS po zabiegu	39,6±26,4	49±27,9	0,0215

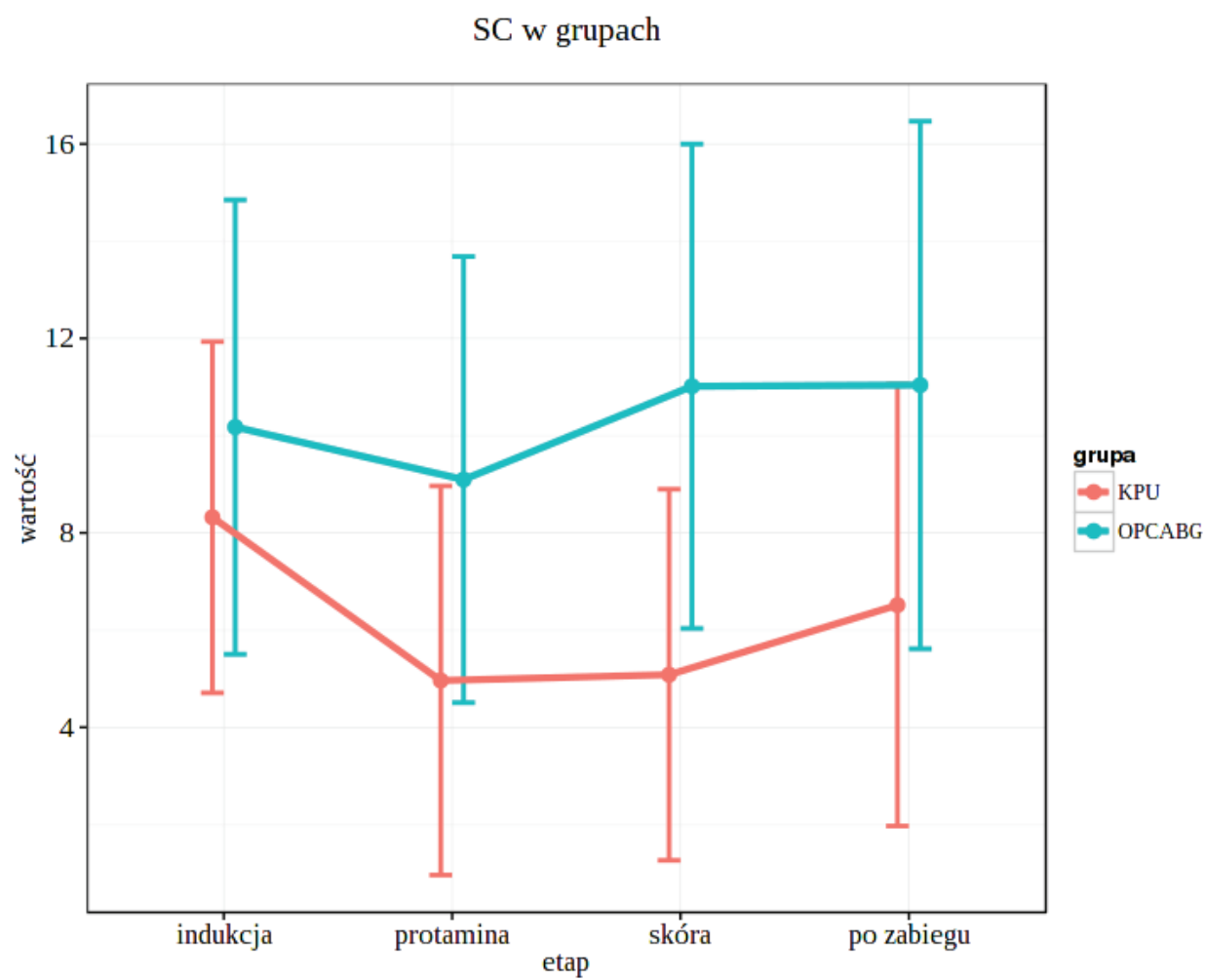
Miano adhezji trombocytów (SC) osiągnęło najniższy poziom na etapie podania protaminy w obu badanych grupach (KPU vs OPCABG).

Po tym etapie wartość miana adhezji uległa wzrostowi ponad wartość wyjściową w grupie OPCABG (SC po zabiegu) jednak nie przekraczając je zakresu normy (7% - 15%).

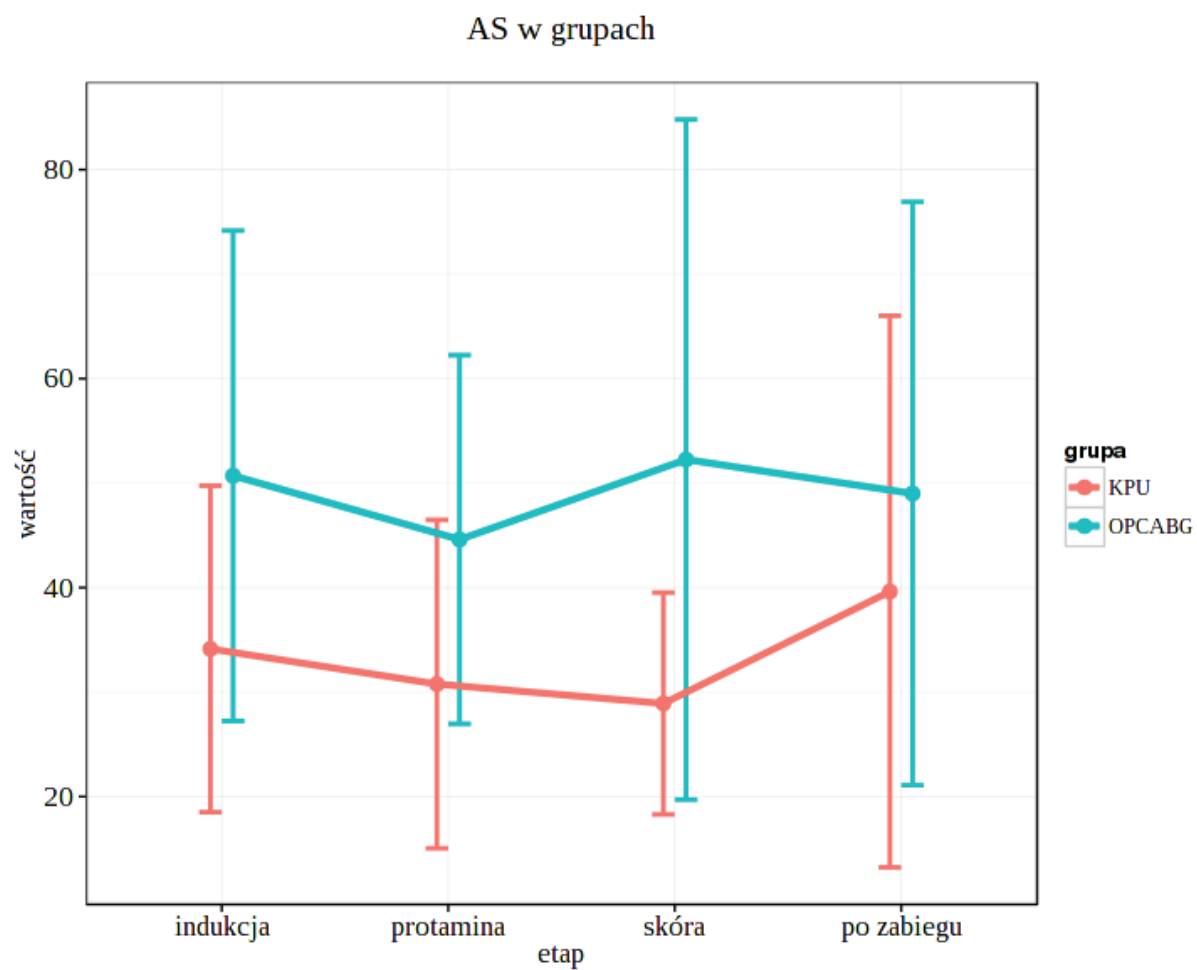
Natomiast w grupie KPU końcowy parametr (SC po zabiegu) nieznacznie wzrastał nie osiągając jednak zarówno wartości wyjściowej (SC indukcja), jak i dolnej granicy normy dla miana adhezji (norma 7% - 15%).

Zwraca uwagę znamienne statystyczna różnica pomiędzy wyjściowymi parametrami AS (w momencie indukcji zabiegu) w obu grupach – nakazuje to dużą ostrożność w dalszej analizie tego parametru.

Ryc. 7. Graficzna prezentacja wyników, na osi pionowej miano adhezji (SC), na poziomej etap zabiegu.



Ryc.8 graficzna prezentacja wyników, na osi pionowej miano agregacji (AS), na poziomej etap zabiegu



- grupa OPCABG

1. Wzrost SC – u 50% pacjentów na etapie zamykania powłok i co najmniej 6 godzin po zabiegu.

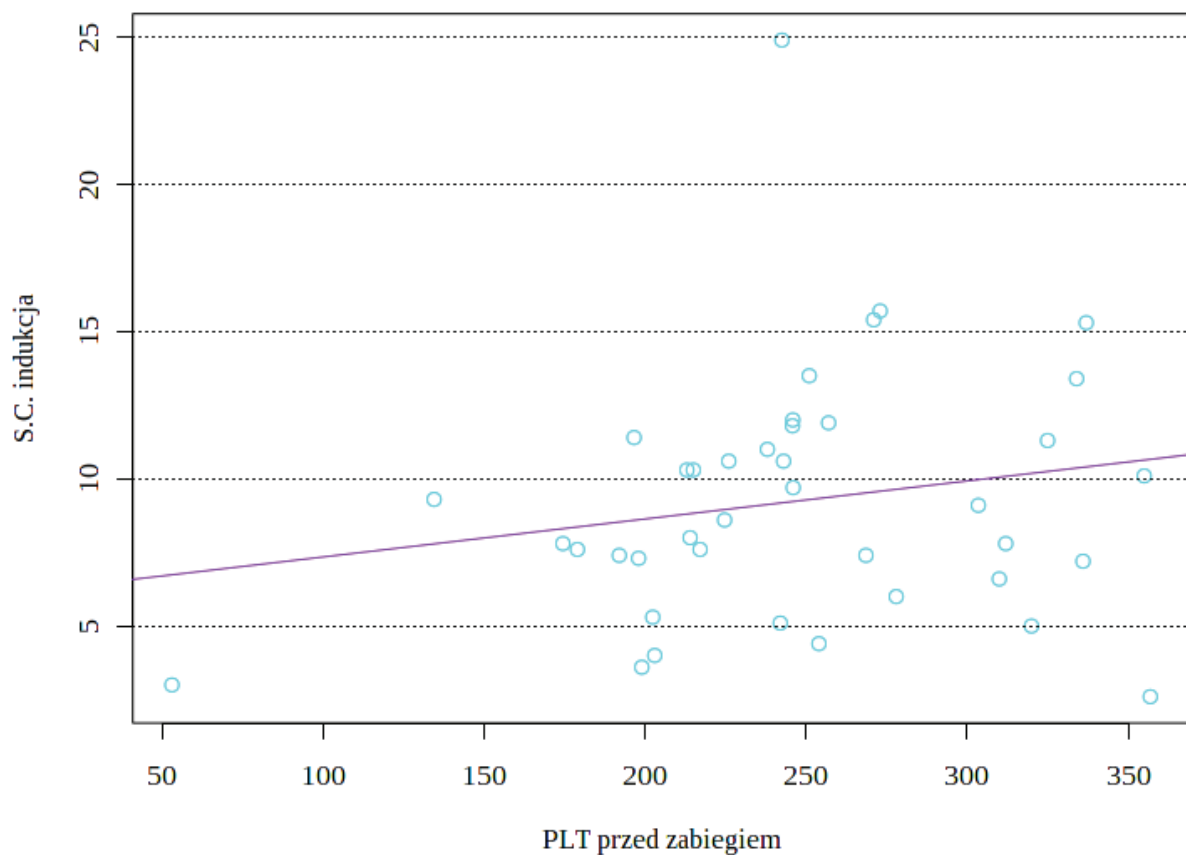
2. SC > 15% - u 1/3 pacjentów również na etapie zamykania powłok i obecny co najmniej 6 godzin po zabiegu.

3. AS > 70 μm^2 – u połowy chorych utrzymujący się 6 godzin po zabiegu.

- grupa KPU

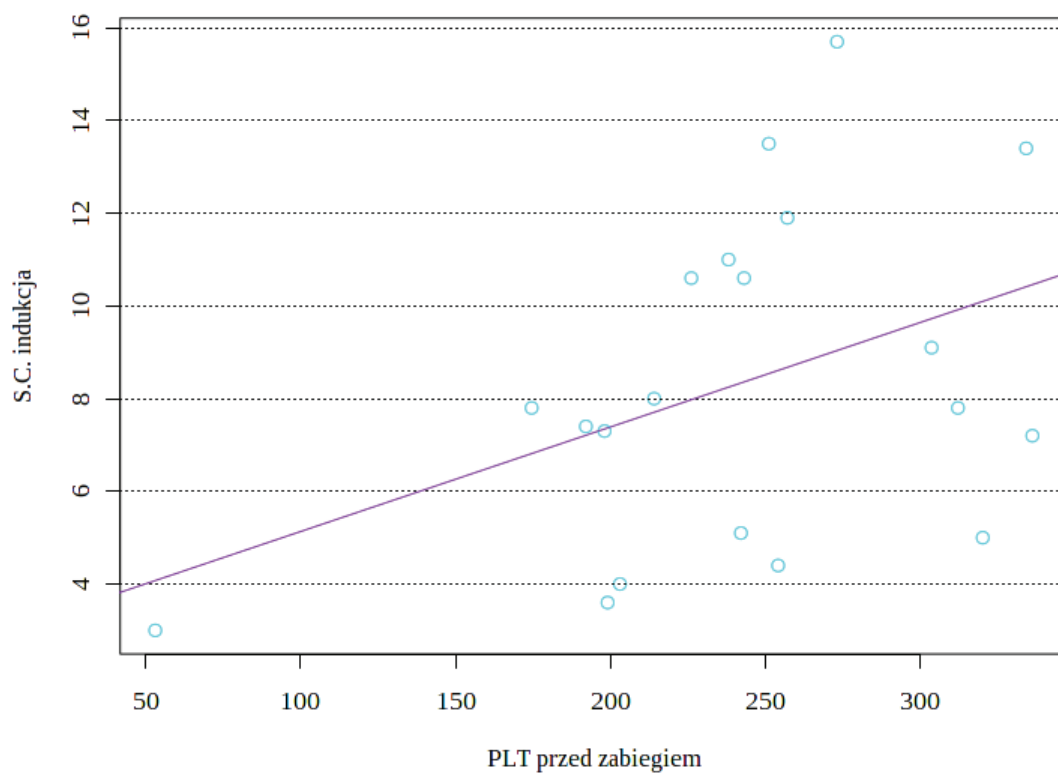
1. Spadek SC był stopniowy i u 2/3 pacjentów wartość SC była znacząco niska od etapu podania protaminy - efekt ten utrzymywał się 6 godzin po podaniu protaminy.
2. Dla około 50% pacjentów wartość SC w momencie szycia skóry była poniżej zakładanej normy (<7,5%).

Ryc. 9. Zależność pomiędzy wyjściową wartością miana adhezji (SC/indukcja) a przedoperacyjną ilością płytek krwi oznaczoną laboratoryjnie w obu grupach (KPU i OPCABG).



Analiza statystyczna nie wykazała korelacji (współczynnik korelacji r : 0,191) natomiast poziom istotności był również niski ($p=0.238$)

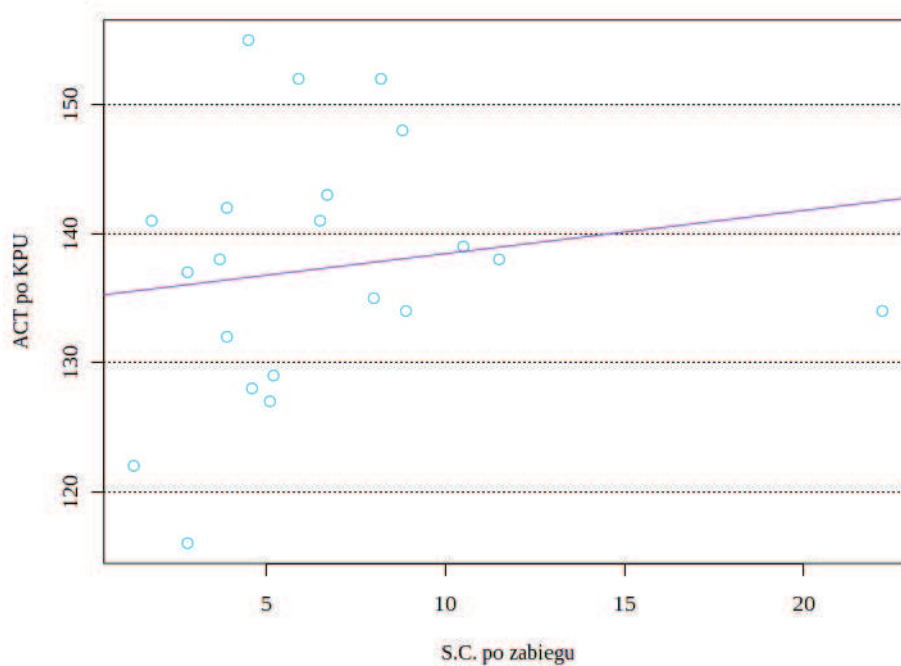
Ryc. 10. Zależność pomiędzy wyjściową wartością miana adhezji (SC/indukcja) a przedoperacyjną ilością płytek krwi oznaczoną laboratoryjnie w grupie KPU.



	S.C. indukcja	PLT przed zabiegiem
Ilość	20	21
Minimum	3	53,1
Maksimum	15,7	336
Mediana	7,8	242
Średnia	8,32	241
Odchylenie standardowe	3,61	64,3

- Współczynnik korelacji r : 0,412
- Poziom istotności p : 0,0356

Ryc.11 zależność pomiędzy pooperacyjnym poziomem aktywowanego czasu krzepnięcia (ACT) a mianem adhezji (SC) 6 godzin po operacji w grupie KPU



	ACT po KPU	S.C. po zabiegu
Ilość	21	21
Minimum	116	1,3
Maksimum	155	22,2
Mediana	138	5,2
Średnia	137	6,51
Odchylenie standardowe	9,87	4,55

- Współczynnik korelacji r : 0,154
- Poziom istotności p : 0,505

Ta zależność okazała się nieistotna statystycznie.

Porównując poziom drenażu pooperacyjnego w obu grupach (po 12 godzinach od operacji):

KPU 660+-220ml

OPCABG 350+-130ml

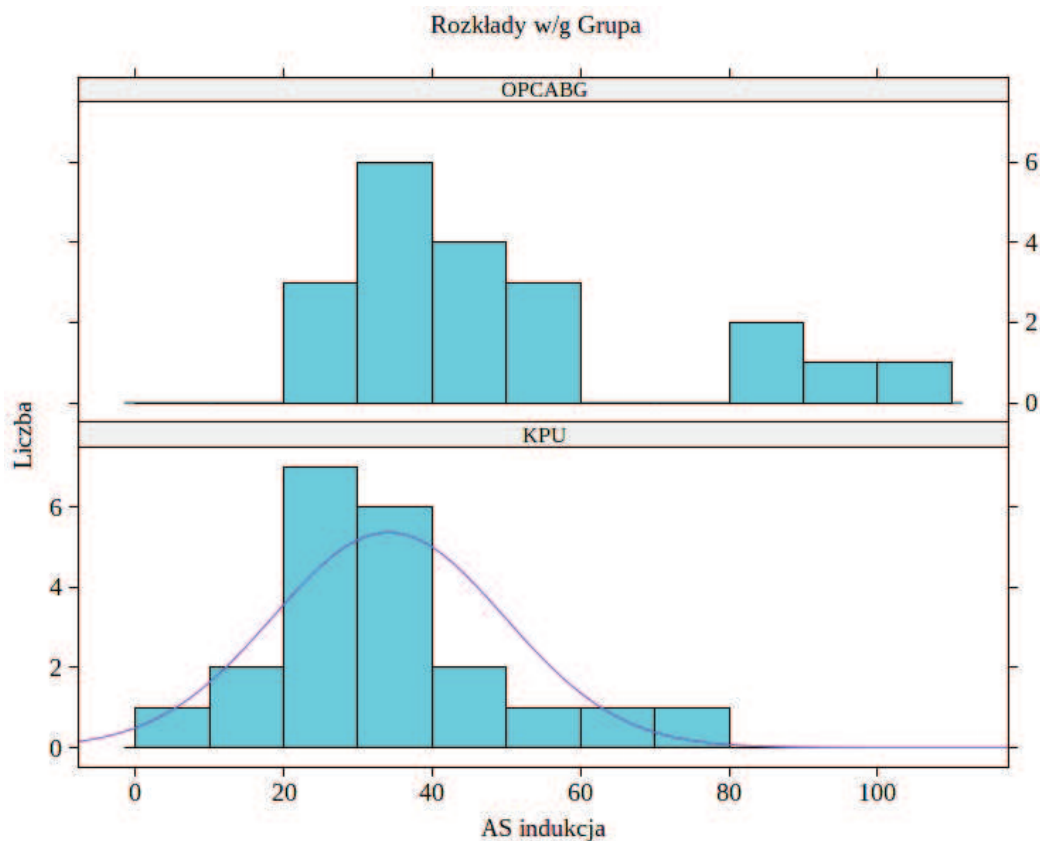
Różnica jest statystycznie istotna i w grupie KPU drenaż jest prawie dwukrotnie wyższy niż w grupie OPCABG.

Wyjściowe miano adhezji (SC) i agregacji (AS) w obu grupach

W obu grupach (KPU i OPCABG) wyjściowe miano adhezji (SC) (w momencie rozpoczęcia operacji) mieściło się w granicach normy – odpowiednio 9.25% i 10.2% (norma 7.5-15%).

Miano agregacji w początkowej fazie zabiegu (AS/indukcja) – wartości tej zmiennej różniły się znacząco w obu grupach (KPU vs OPCABG):

Ryc. 12. Istotna statystycznie różnica dla wyjściowego miana agregacji (AS) w obu grupach KPU i OPCABG.



		Grupa	Grupa
AS indukcja		KPU	OPCABG
	Ilość	21	20
	Minimum	2,7	26
	Maksimum	72	102
	Mediana	31	43,5
	Średnia	34,1	50,7
	Odchylenie standardowe	15,6	23,5

Test rang Kruskala-Wallisa

Zmienne: AS indukcja, Grupa

H1: rozkłady różnią się między grupami

- Rozmiar próby: 41
- Statystyka χ^2 : 7,22
- Poziom istotności p: 0,00719

Test Manna-Whitneya-Wilcoxon (próby niezależne)

Zmienne: AS indukcja dla Grupa = KPU, AS indukcja dla Grupa = OPCABG

H1: $\Pr(x < y) + \frac{1}{2}\Pr(x = y) > 0,5$

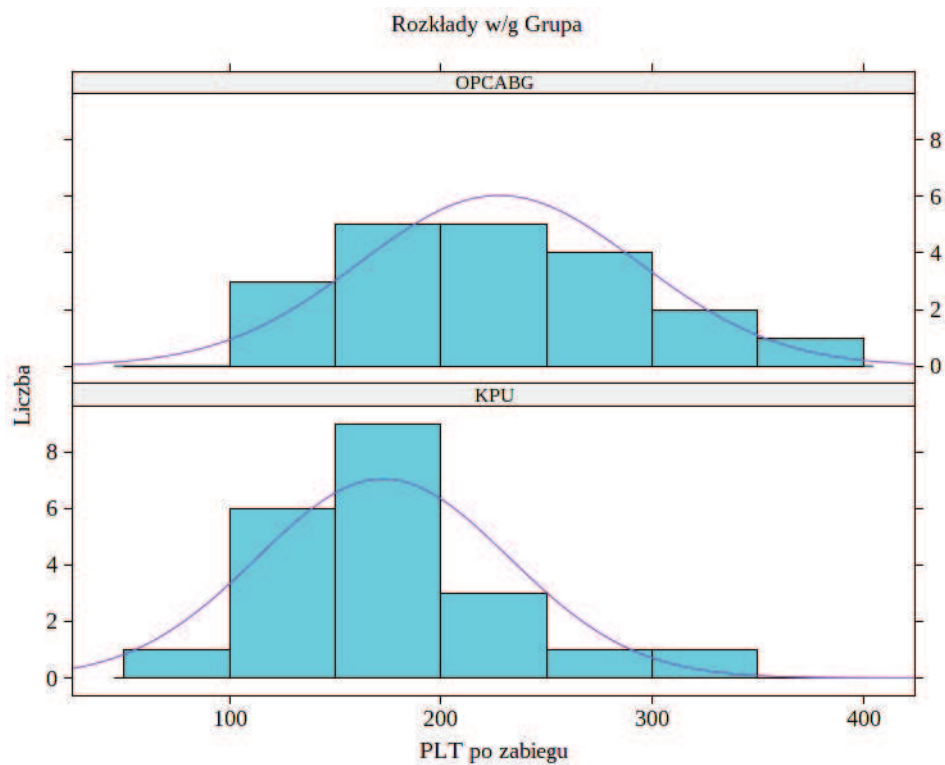
- Rozmiar próby: 21 + 20
- Statystyka U: 107
- Poziom istotności p: 0,00374

Taki wynik nakazuje dużą ostrożność w dalszej analizie, a wyciąganie głębszych wniosków wydaje się wątpliwe.

Średnia wartość płytek krwi w grupie OPCABG wyniosła przedoperacyjnie 253 tys. i uległa stosunkowo niewielkiemu zmniejszeniu 12 godzin po operacji – 228 tys. Wstępnie potwierdza to doniesienia literaturowe. Niewielki spadek najprawdopodobniej wynika z powiększenia objętości krwi krążącej na skutek dożylnie podanych płynów.

Natomiast porównując rozkład ilości płytek krwi po operacji w obu grupach (KPU vs OPCABG) można zauważyć statystycznie znaczącą różnicę.

Ryc. 13. Laboratoryjny poziom ilości płytek krwi 12 godzin po operacji w obu grupach (KPU vs OPCABG).



Zmienne: PLT po zabiegu, Grupa

H1: rozkłady różnią się między grupami

- Rozmiar próby: 41
- Statystyka χ^2 : 7,94
- Poziom istotności p: 0,00485

Test średnich (próby niezależne)

Zmienne: PLT po zabiegu dla Grupa = KPU, PLT po zabiegu dla Grupa = OPCABG

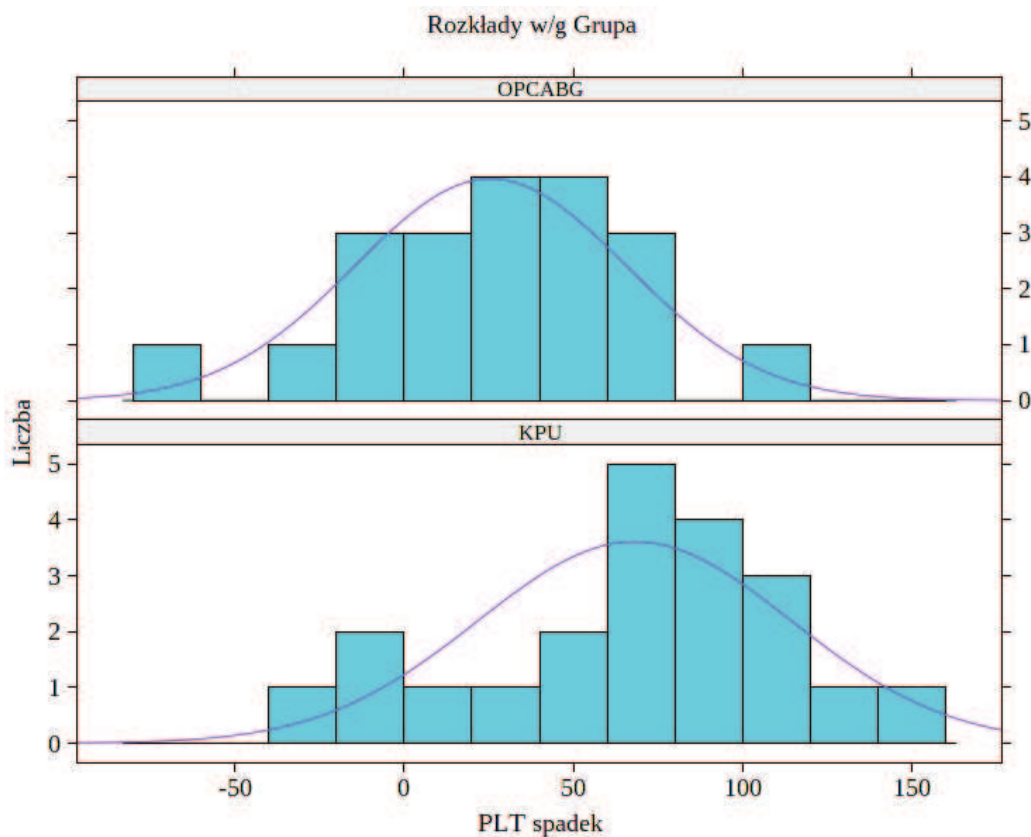
H1: $m_1 < m_2$

- Rozmiar próby: 21 + 20
- Średnie prób: $m_1 = 173$, $m_2 = 228$
- Statystyka t: -2,8

- Poziom istotności p: 0,00404

Spadek ilości płytek krwi w pomiarze laboratorium szpitalnego po 12 godz od zakończenia operacji – różnica okazała się statystycznie znamienne w obu grupach.

Ryc. 14. Istotna statystycznie różnica w spadku ilości płytek w pomiarze laboratoryjnym, 12 godzin po operacji, z podziałem na obie grupy (OPCABG i KPU).



		Grupa	
		KPU	OPCABG
PLT spadek	Ilość	21	20
	Minimum	-21	-63

		Grupa	
	Maksimum	158	100
	Mediana	74	27,3
	Średnia	68,2	25,5
	Odchylenie standardowe	46,4	40,2

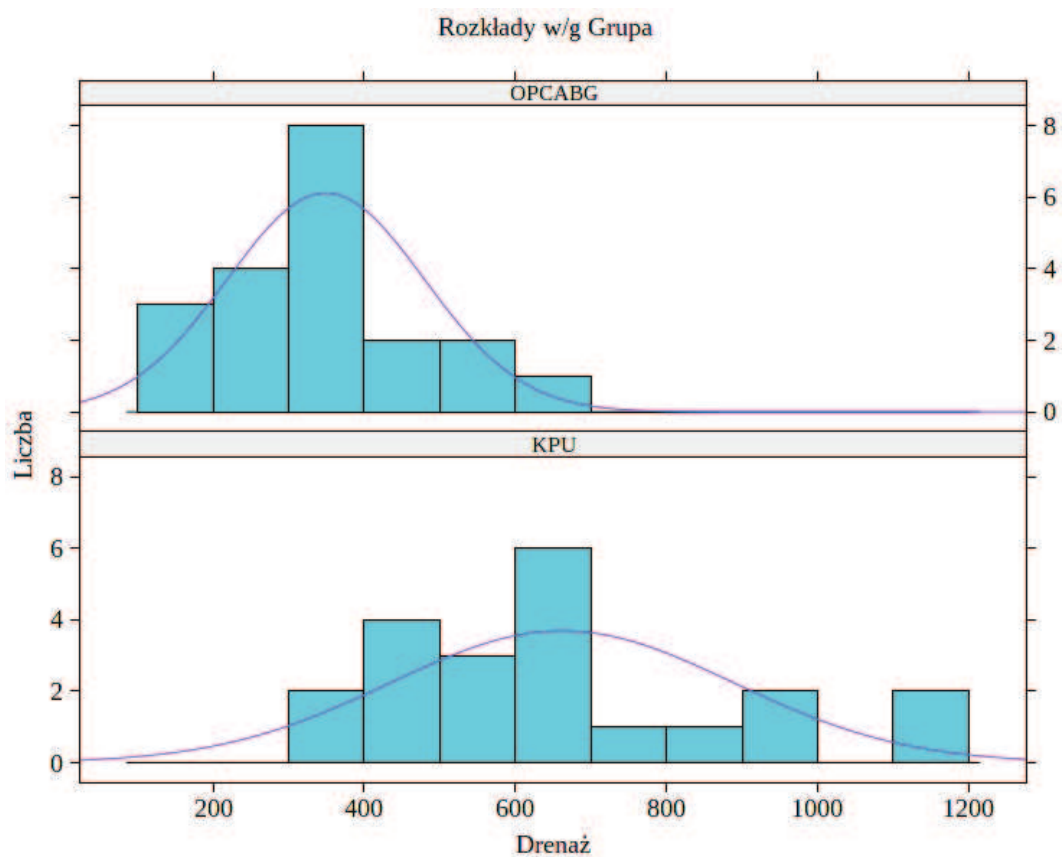
Test rang Kruskala-Wallisa

- Rozmiar próby: 41
- Statystyka χ^2 : 8,77
- Poziom istotności p: 0,00307

Test średnich (próby niezależne)

- Rozmiar próby: 21 + 20
- Średnie prób: $m_1 = 68,2$, $m_2 = 25,5$
- Statystyka t: 3,15
- Poziom istotności p: 0,00159

Ryc. 15. Porównanie rozkładu drenażu pooperacyjnego (po 12 godzinach od operacji) w grupie OPCABG i KPU – statystycznie znamiennej różnicy.



		Grupa	
		KPU	OPCABG
Drenaż	Ilość	21	20
	Minimum	350	180
	Maksimum	1160	630
	Mediana	620	330
	Średnia	662	349
	Odchylenie standardowe	227	130

Test rang Kruskala-Wallisa

Zmienne: Drenaż, Grupa

H1: rozkłady różnią się między grupami

- Rozmiar próby: 41
- Statystyka χ^2 : 19,6
- Poziom istotności p: < 0,001

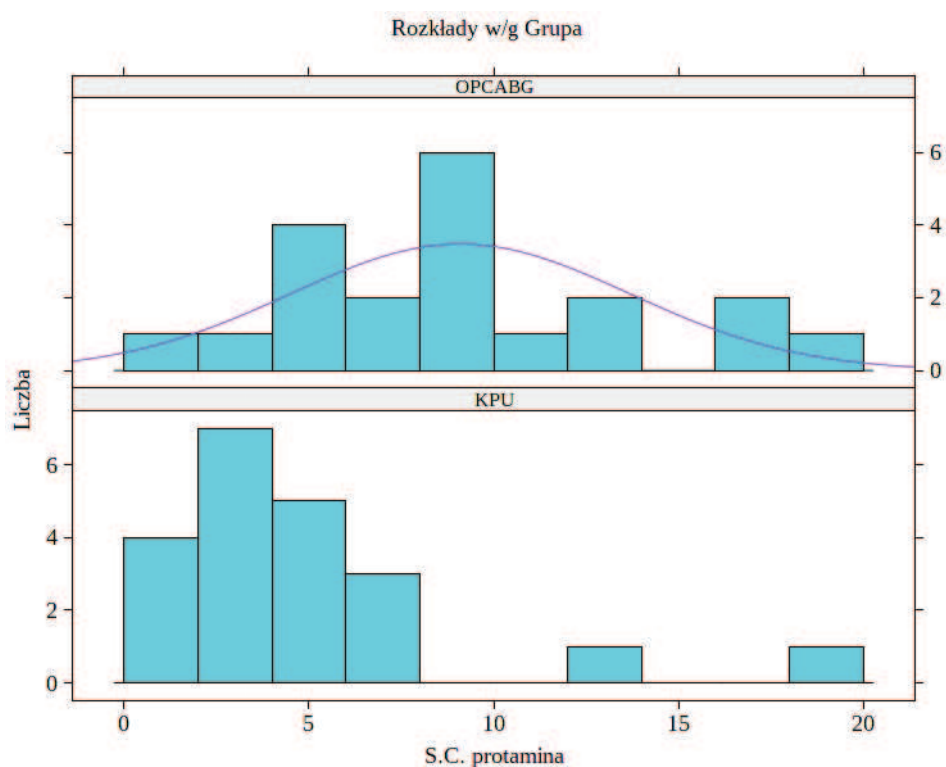
Test średnich (próby niezależne)

Zmienne: Drenaż dla Grupa = KPU, Drenaż dla Grupa = OPCABG

H1: $m_1 > m_2$

- Rozmiar próby: 21 + 20
- Średnie prób: $m_1 = 662$, $m_2 = 349$
- Statystyka t: 5,45
- Poziom istotności p: < 0,001

Ryc. 16. Rozkład miana adhezji (SC) trombocytów na etapie podania protaminy w grupach OPCABG i KPU.



		Grupa	
		KPU	OPCABG
S.C. protamina	Ilość	21	20
	Minimum	1	2
	Maksimum	18,3	18,7
	Mediana	4	8,65
	Średnia	4,96	9,1
	Odchylenie standardowe	4	4,59

Test rang Kruskala-Wallisa

- Rozmiar próby: 41
- Statystyka χ^2 : 11,1
- Poziom istotności p : < 0,001

Test Manna-Whitneya-Wilcoxona (próby niezależne)

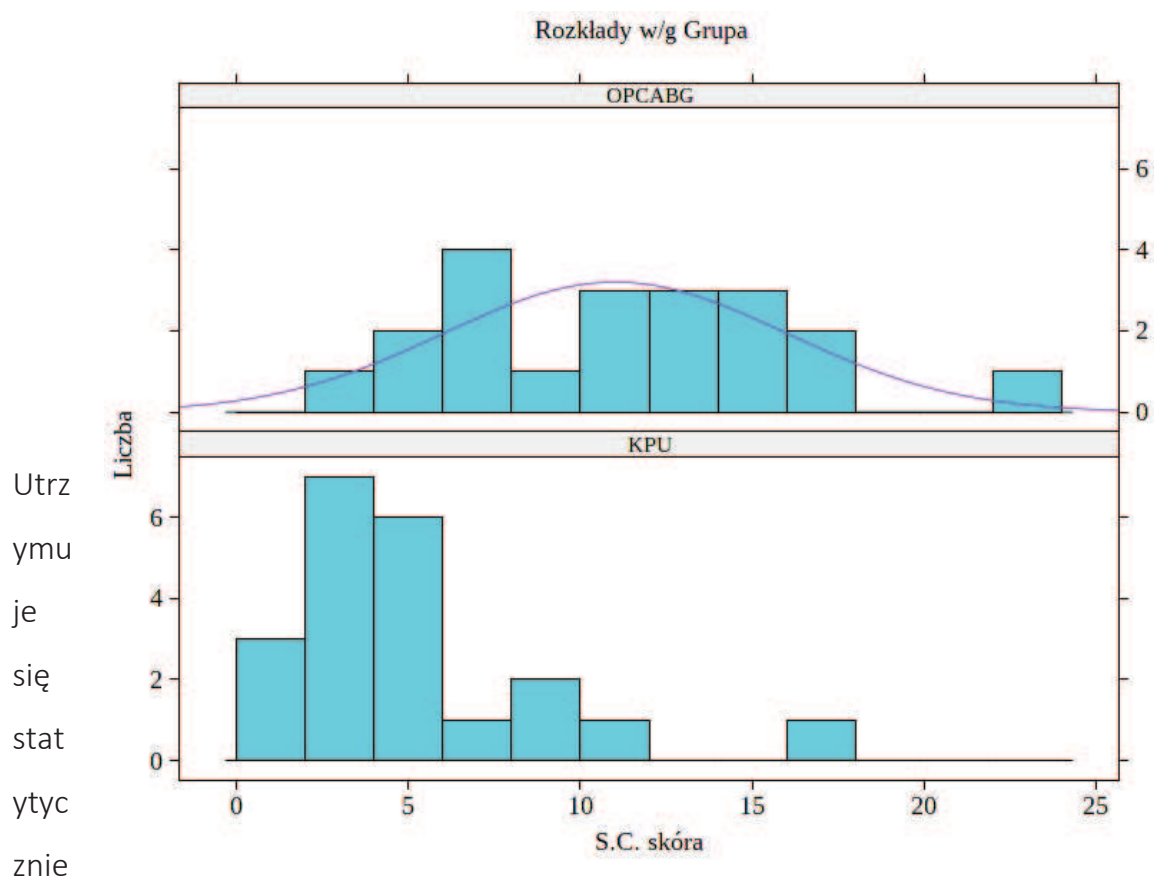
Zmienne: S.C. protamina dla Grupa = KPU, S.C. protamina dla Grupa = OPCABG

H_1 : $\Pr(x < y) + \frac{1}{2}\Pr(x = y) > 0,5$

- Rozmiar próby: 21 + 20
- Statystyka U : 82,5
- Poziom istotności p : < 0,001

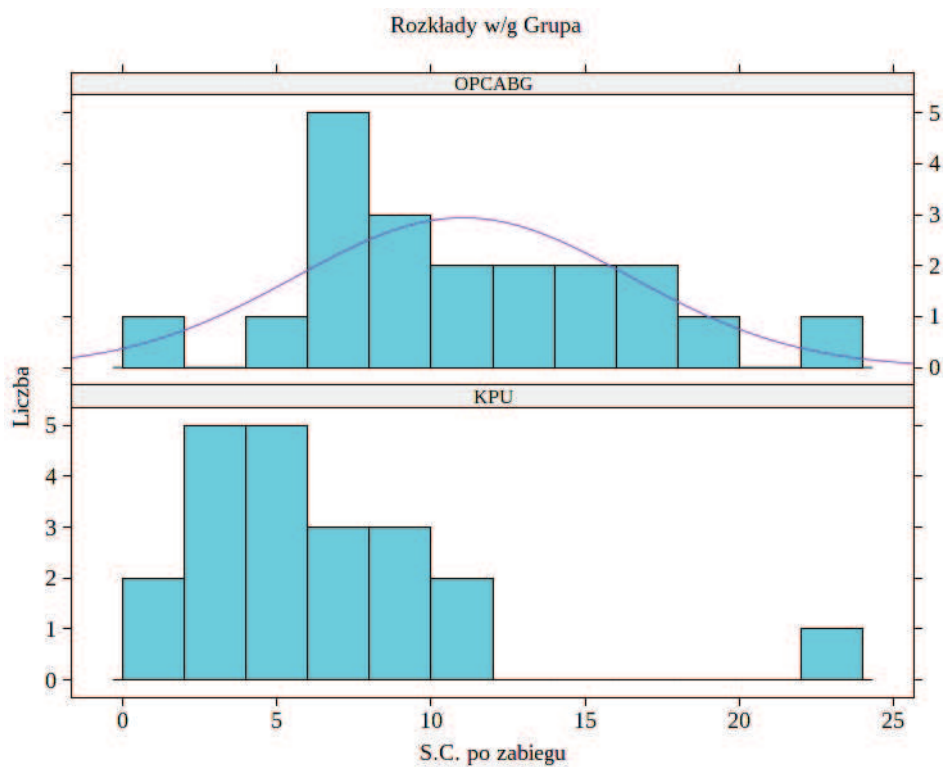
Wykazano statystycznie istotną różnicę w mianie adhezji płytek krwi na etapie podawania protaminy dla grup KPU i OPCABG.

Ryc. 17. Rozkład miana adhezji płytek na etapie zamykania powłok klatki piersiowej dla obu grup.



znamienna różnica w mianie adhezji trombocytów pomiędzy grupami KPU i OPCABG (etap zamykania powłok klatki piersiowej).

Ryc. 18. Rozkład miana adhezji (SC) trombocytów 6 godzin po operacji w grupach OPCABG i KPU.



		Grupa	
		KPU	OPCABG
S.C. po zabiegu	Ilość	21	20
	Minimum	1,3	0,6
	Maksimum	22,2	24
	Mediana	5,2	10
	Średnia	6,51	11
	Odchylenie standardowe	4,55	5,43

Test rang Kruskala-Wallisa

H1: rozkłady różnią się między grupami

- Rozmiar próby: 41
- Statystyka χ^2 : 9,89
- Poziom istotności p: 0,00167

Test Manna-Whitneya-Wilcoxon (próby niezależne)

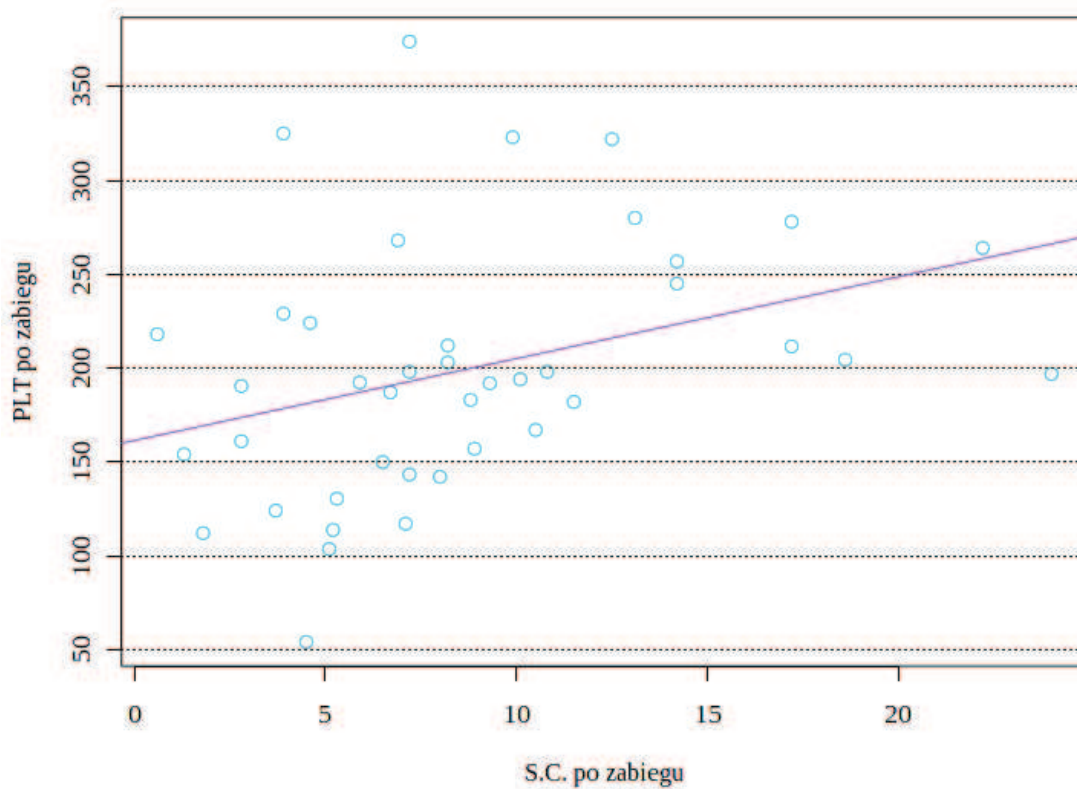
Zmienne: S.C. po zabiegu dla Grupa = KPU, S.C. po zabiegu dla Grupa = OPCABG

H1: $\Pr(x < y) + \frac{1}{2}\Pr(x = y) > 0,5$

- Rozmiar próby: 21 + 20
- Statystyka U: 89,5
- Poziom istotności p: < 0,001

Nadal utrzymywała się znamienna różnica pomiędzy mianem adhezji trombocytów w 6 godzinie po zabiegu dla grup KPU i OPCABG.

Ryc. 19. Rozkład pooperacyjnej ilości płytek (badanie laboratoryjne) a miano adhezji (SC) u wszystkich pacjentów w 6 godzin po operacji u wszystkich chorych.



	PLT po zabiegu	S.C. po zabiegu
Ilość	41	41
Minimum	54	0,6
Maksimum	374	24
Mediana	194	7,2
Średnia	200	8,72
Odchylenie standardowe	67,9	5,44

Korelacja Pearsona

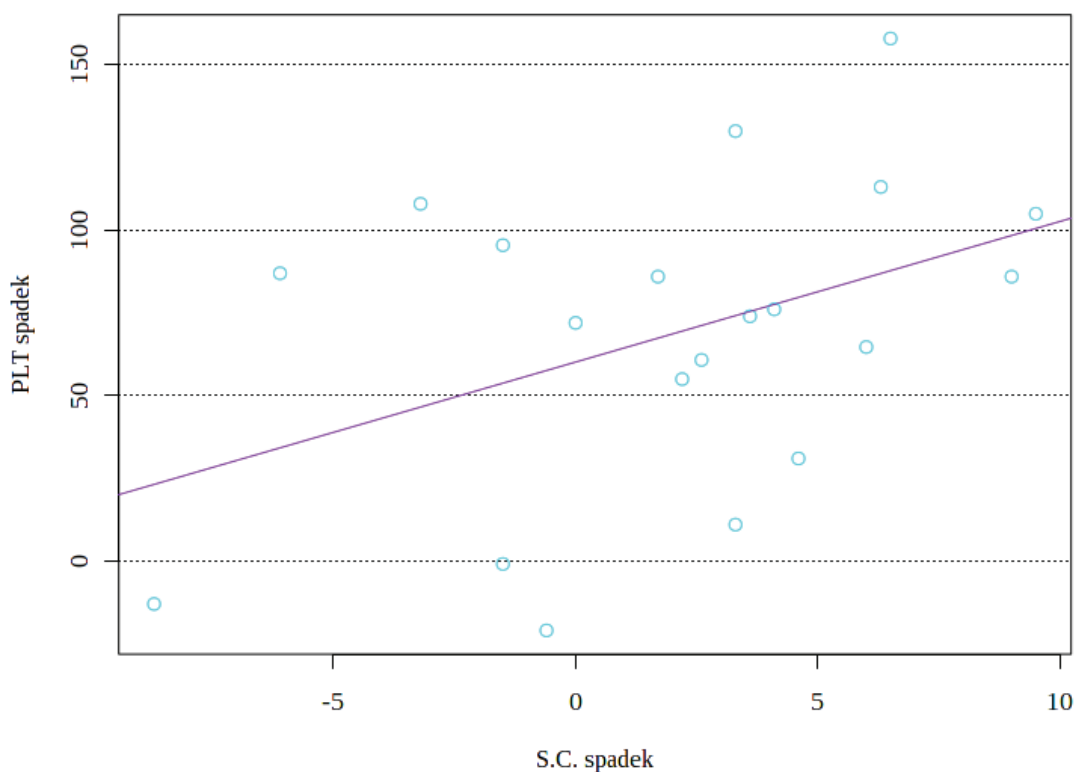
Zmienne: PLT po zabiegu, S.C. po zabiegu

H1: $r > 0$

- Współczynnik korelacji r : 0,35
- Poziom istotności p : 0,0125

Laboratoryjny poziom płytek krwi 12h po operacji vs SC/6h po zabiegu – wykazano istotną korelację pooperacyjnego poziomu płytek (w badaniu laboratoryjnym) z mianem adhezji płytek w szóstej godzinie od zakończenia zabiegu u wszystkich chorych.

Ryc. 20. Korelacja spadku ilości płytek krwi (w badaniach laboratoryjnych 12 godzin po operacji) ze spadkiem miana adhezji (SC) 6 godzin po zabiegu dla grupy KPU.



	PLT spadek	S.C. spadek
Ilość	21	20
Minimum	-21	-8,7
Maksimum	158	9,5
Mediana	74	2,95
Średnia	68,2	2,06
Odchylenie standardowe	46,4	4,7

Korelacja Pearsona

Zmienne: PLT spadek, S.C. spadek

- Współczynnik korelacji r: 0,421
- Poziom istotności p: 0,0323

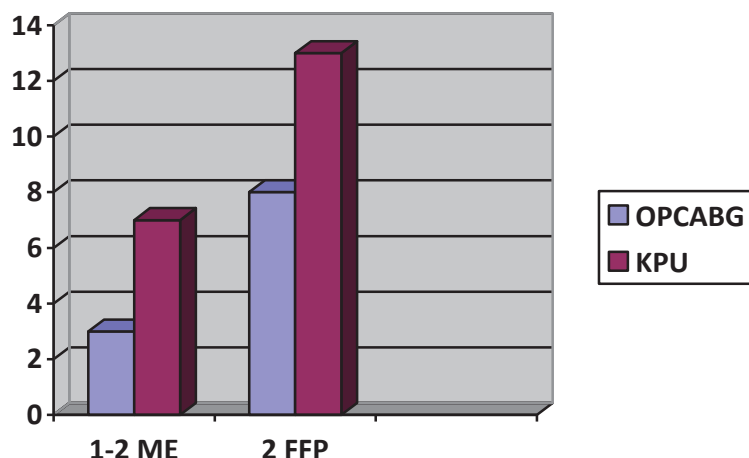
Chorzy w grupie KPU znacznie częściej wymagali przetoczeń preparatów krwiopochodnych:

Ryc. 21. Ilość przetoczonych preparatów krwiopochodnych dla obu grup (ME-masa erytrocytarna, FFP – osocze).

	1-2 ME	2 FFP
OPCABG	3	8
KPU	7	13

ME – masa erytrocytarna

FFP - osocze



W grupie KPU pacjenci wymagali więcej przetoczeń zarówno masy erytrocytarnej jak i osocza w poównaniu do grupy OPCABG.

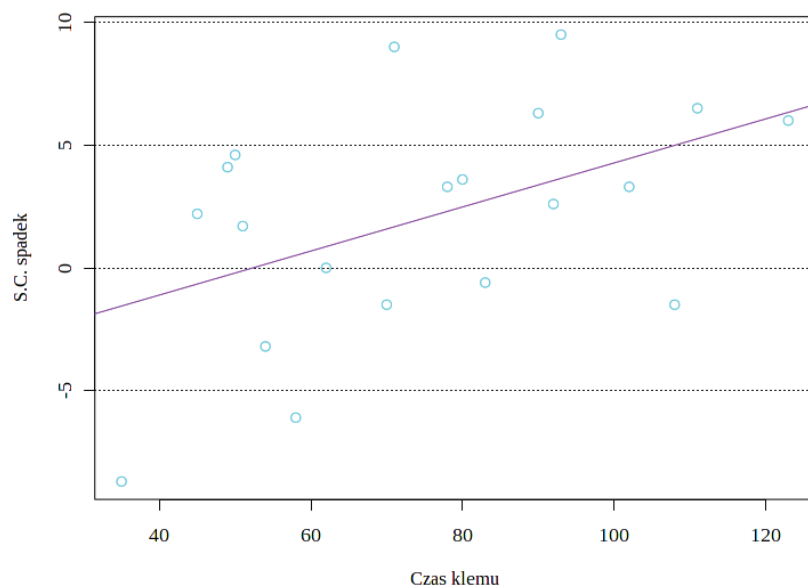
W grupie KPU u dwóch chorych doszło do poważnego powikłania jakim jest konieczność resternotomii z powodu nadmiernego krwawienia – u obu chorych miano adhezji SC (surface cover) oscylowało na granicy normy przy zamykaniu klatki piersiowej i 6 godzin po zabiegu. U pierwszego z nich znaleziono chirurgiczną przyczynę krwawienia (z okostnej mostka), natomiast u drugiego chorego nie znaleziono konkretnego miejsca krwawienia. W obydwu przypadkach pooperacyjne wartości ilości płytek, jak i poziom hemoglobiny, zawierały się w granicach normy.

W grupie OPCABG nie odnotowano epizodu resternotomii z powodu nadmiernego krwawienia.

Średni czas zaklemowania aorty w grupie KPU wyniósł $76 \pm 24,4$ minuty – zaobserwowano statystycznie znamienne korelację pomiędzy czasem zaklemowania aorty z spadkiem miana adhezji płytek krwi (SC – różnica wartości pomiędzy wyjściową a pooperacyjną) czy spadkiem ilości trombocytów w pomiarze laboratoryjnym (różnica

pomiędzy wartością wyjściową i pooperacyjną). Obie korelacje są przedstawione na dwóch rycinach poniżej.

Ryc. 22. Zależność spadku miana adhezji płytek krwi od czasu zaklemowania aorty.



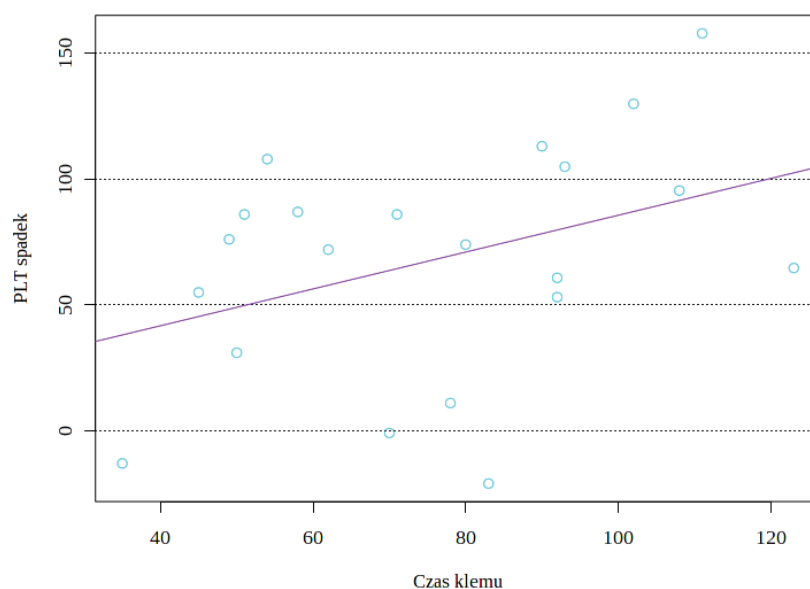
	S.C. spadek	Czas klemu
Ilość	20	21
Minimum	-8,7	35
Maksimum	9,5	123
Mediana	2,95	78
Średnia	2,06	76
Odchylenie standardowe	4,7	24,4

Korelacja Pearsona

Zmienne: S.C. spadek, Czas klemu

- Współczynnik korelacji r : 0,473
- Poziom istotności p : 0,0177

Ryc. 23. Zależność pomiędzy czasem zaklemania aorty z spadkiem ilości płytek krwi – istotna statystycznie



	PLT spadek	Czas klemu
Ilość	21	21
Minimum	-21	35
Maksimum	158	123
Mediana	74	78
Średnia	68,2	76
Odchylenie standardowe	46,4	24,4

Korelacja Pearsona

- Współczynnik korelacji r : 0,385
- Poziom istotności p : 0,0423

W żadnej z badanych grup nie odnotowano powikłań zakrzepo-zatorowych we wczesnym okresie pooperacyjnym.

Również wartości enzymów sercowych oznaczonych 12 godzin po operacji nie wskazywały na wystąpienie zawału okołoperacyjnego.

VI

DYSKUSJA

Interpretacja i porównywanie osiągniętych wyników badań jest skomplikowane. Jest to wynikiem zarówno ograniczonej liczby aktualnych doniesień naukowych na temat funkcji płytek krwi podczas operacji kardiochirurgicznych, jak i braku odpowiednio dużej populacji badanych chorych.

Podobne wnioski przedstawia Gerrah i współpracownicy w swojej pracy opublikowanej w The Heart Surgery Forum w kwietniu 2004 roku („Platelet Function Changes as Monitored by Cone and Plate(let) Analyzer during Beating Heart Surgery”) – w tym badaniu dowiódł on, że płytki krwi stają się hiperaktywne po zabiegach pomostowania tętnic wieńcowych na bijącym sercu. Jednak te wyniki wymagają potwierdzenia w postaci zbadania większej grupy tą metodą.

Nie udało się wykazać części założonych hipotez – prawdopodobnie jest to wynikiem zbyt wielu czynników mających wpływ na hemostazę pierwotną i tworzenie się pierwotnego czopu płytkowego – zaczynając od leków przyjmowanych przedoperacyjnie, różnych obciążeń pacjentów przez rozległość zabiegu, płynoterapię a kończąc na konieczności śródoperacyjnych przetoczeń preparatów krwiopochodnych (hemodylucja, przedoperacyjnie niski poziom hemoglobiny).

Wydaje się, na podstawie przeprowadzonych badań, że parametr SC (surface cover - procentowy stopień pokrycia powierzchni sztucznego naczynia przez agregaty płytkowe) okazał się być najbardziej czułym i wiarygodnym markerem funkcji płytek krwi. Zmiany jego wartości pokrywały się z założoną hipotezą niszczenia płytek krwi przez zastosowanie krążenia pozaustrojowego oraz hiperfunkcji trombocytów po operacji typu OPCABG:

- wzrost miana adhezji – u 50% pacjentów na etapie zamykania powłok i co najmniej 6 godzin po zabiegu,
- przekroczenie normy miana adhezji ($SC > 15\%$) - u 1/3 pacjentów również na etapie zamykania powłok i obecny co najmniej 6 godzin po zabiegu.

Natomiast po operacji z użyciem KPU:

- spadek SC był stopniowy i u 2/3 pacjentów wartość SC była znacząco niska od etapu podania protaminy - efekt ten utrzymywał się 6 godzin po podaniu protaminy,
- dla około 50% pacjentów wartość SC w momencie zamykania powłok była poniżej zakładanej normy ($< 7,5\%$).

Zwraca uwagę również dynamika zmian w adhezji i agregacji trombocytów – już na etapie podawania protaminy (po zakończeniu zespołów naczyniowych) czy podczas zamykania powłok płytki krwi wykazywały większą aktywność podczas zabiegów bez KPU (OPCABG).

Natomiast wyniki badania parametru miana agregacji trombocytów – AS (average size – średni rozmiar agregatu płytkowego) nie potwierdził zakładanych hipotez. Jego wartość wzrastała w obu badanych grupach na każdym kolejnym etapie (ale wartości pooperacyjne pozostawały w granicach normy przewidzianej przez producenta). Poza tym należy ostrożnie analizować ten parametr – jego wyjściowa wartość (AS/indukcja) była istotnie różna w obu badanych grupach. Prawdopodobnie wynika to ze zbyt małej grupy badanej lub błędu laboratoryjnego na poziomie barwienia preparatu. Takie wyniki potwierdzają doniesienia, że badanie funkcji płytek krwi metodą Cone-and-Platelet Analyzer jest trudne technicznie, wymaga szczegółowego przeszkolenia technicznego z zakresu diagnostyki laboratoryjnej lub wręcz zatrudnienia wykwalifikowanego technika analityki medycznej.

Zarówno w grupie KPU jak i OPCABG obniżona ilość płytek krwi towarzyszy spadkowi miana adhezji trombocytów na etapie zamykania powłok i efekt ten utrzymywał się co najmniej 6 godzin po zabiegu – tutaj nasuwa się pytanie czy laboratoryjny spadek poziomu płytek krwi ma tę samą przyczynę w obu grupach. Wydaje się, że w obu grupach płytki krwi są równomiernie zużywane na etapie pierwotnej hemostazy (tworzenie czopu płytkowego). Dodatkowym aspektem w grupie KPU jest zazwyczaj większy bilans płynowy po zakończeniu operacji (w porównaniu do grupy OPCABG) z powodu rozcieńczenia objętości krwi krążącej przez roztwór primingu niezbędnego do zastosowania krążenia pozaustrojowego. Nie należy jednak zapomnieć, że w obserwacji klinicznej objętość krwi krążącej jest również znacznie zwiększona dożylnym podaniem płynów w przypadku zabiegów bez krążenia pozaustrojowego – pozwala to wystymulować lepsze parametry hemodynamiczne podczas zespożeń wieńcowych (podczas których często koniuszek serca jest wyluksowany poza swoją anatomiczną pozycję a chory jest ułożony w pozycji Trendelenburga, aby zwiększyć upośledzony powrót krwi do prawego przedsionka).

Z drugiej strony w grupie KPU spadek ilości płytek po 12 godzinach od operacji istotnie korelował ze spadkiem miana adhezji płytek krwi (SC/po 6 godzinach) – ta korelacja z kolei wydaje się potwierdzać teorię, że w przypadku krążenia pozaustrojowego płytki krwi ulegają masywnej nadaktywności i zniszczeniu już w okresie śródoperacyjnym.

Co więcej badania jasno wykazały, że sam czas zaklemowania aorty jest bardzo istotnym czynnikiem wpływającym na hemostazę pierwotną (wyraźna korelacja ze spadkiem funkcji – mianem adhezji i spadkiem ilości płytek krwi) i, że nawet relatywnie krótki czas zaklemowania aorty (50-100minut) ma poważny wpływ na układ krzepnięcia śródoperacyjnie i co najmniej 6-12 godzin po zabiegu.

Warto też nadmienić, że wyżej wspomniane zależności kolejny raz dowodzą, że funkcja płytek jest istotnie skorelowana z ich ilością.

W grupie KPU drenaż pooperacyjny po 12 godzinach jest prawie dwukrotnie wyższy niż w grupie OPCABG (660 vs 350ml) – potwierdza to częściowo zakładaną hipotezę o niszczeniu płytek krwi podczas krążenia pozaustrojowego. Upośledzenie hemostazy pierwotnej najprawdopodobniej przekłada się na dysfunkcję dalszej części kaskady krzepnięcia i w konsekwencji prowadzi do masywniejszego krwawienia w okresie pooperacyjnym. Oczywiście, aby bezdyskusyjnie potwierdzić tą hipotezę, należałoby zbadać pozostałe składowe układy krzepnięcia np. przy pomocy badania tromboelastograficznego.

Chorzy w grupie KPU znacznie częściej wymagali przetoczeń preparatów krwiopochodnych, niemal dwukrotnie więcej niż w grupie OPCABG – potwierdza to dane literaturowe. Konieczność rozcieńczenia objętości krwi krążącej tzw. primingiem, i właśnie aktywacja oraz niszczenie płytek krwi przez sztuczne powierzchnie systemu do krążenia pozaustrojowego, wydają się być głównym powodem zwiększonego drenażu pooperacyjnego w tej grupie. Tutaj ciekawym, pomijanym aspektem wydaje się zawartość hemoglobiny w drenażu z klatki piersiowej – z klinicznego doświadczenia wynika, że wzrokowa ocena poziomu hemoglobiny jest często myląca i zawyżająca zawartość morfotycznych elementów krwi.

Należy jednak też pamiętać, że zastosowanie krążenia pozaustrojowego wymaga podania większej dawki heparyny na kilogram masy ciała i generuje głębszą dysfunkcję układu krzepnięcia również na poziomie kaskady czynników układu krzepnięcia. Zdarza się, że mamy do czynienia z zasadą błędnego koła – skaza krwotoczna powoduje zwiększone krwawienie pooperacyjne, a to z kolei powodując utratę czynników krzepnięcia (przy niewystarczającej suplementacji preparatami krwiopochodnymi) jeszcze bardziej osłabia mechanizmy hemostazy i nasila krwawienie. Taki klasyczny scenariusz odbywa się np. przy krwawieniu chirurgicznym i otwartej jamie opłucnowej

– chory niezauważalnie traci krew do jamy opłucnej i intensywnie krwawiąc ma coraz mniejszą szansę na właściwą hemostazę.

Warto jeszcze wspomnieć o oporności lekowej na kwas acetylosalicylowy – literatura na ten temat donosi, że występuje ona nawet u połowy wszystkich pacjentów przyjmujących ten lek.

W tej pracy nie analizowano tego aspektu gdyż wszyscy chorzy odstawiali leki p/płytkowe 5 dni przed zabiegiem. Sytuacja ta jednak uległa dużej zmianie od czasu przeprowadzonych badań. Pacjenci coraz częściej poddawani są leczeniu hybrydowemu - coraz więcej chorych korzysta z przezskórnych interwencji na naczyniach wieńcowych typu PCI (percutaneous coronary intervention) gdzie zaimplantowane stenty wymagają regularnego przyjmowania kwasu acetylosalicylowego czy pochodnych tienopirydyny (np. Plavix). Z doświadczenia klinicznego obserwuje się, że chorzy coraz niechętniej odstawiają leki przeciwplatekcyjne przed operacją ze względu na obawę przed dysfunkcją stentu w tętnicy wieńcowej (wytworzenie skrzepu i niedrożność).

Praca ma kilka ograniczeń:

1. Prowadzenie badań wymagało żmudnej pracy laboratoryjnej, dużej ilości sprzętu medycznego (analizator płytek, liczne pomiary, pipety, barwniki...) – przy następnej tego typu pracy warto zaangażować większy zespół do wspólnego projektu celem stworzenia dokładniejszej bazy danych i przebadania większej populacji pacjentów.
2. Płytki krwi były badane w warunkach in vitro – w warunkach fizjologicznych oddziałuje na nie dodatkowo, produkowany przez komórki śródbłonne, tlenek azotu – uznany za ważny inhibitor aktywacji płytek w przypadku ich ekspozycji na siły ścierające. Ten aspekt powoduje, że miano adhezji i agregacji płytek krwi mogły być zawyżone w stosunku do warunków fizjologicznych.

3. W grupie KPU u 2 chorych doszło do poważnego powikłania jakim jest konieczność resternotomii z powodu nadmiernego krwawienia – u obu chorych miano adhezji SC (surface cover) oscylowało na granicy normy przy zamykaniu klatki piersiowej i 6 godzin po zabiegu. U pierwszego z nich znaleziono chirurgiczną przyczynę krwawienia (okostna mostka), natomiast u drugiego chorego nie znaleziono konkretnego miejsca krwawienia. Ta obserwacja pokazuje jak wiele czynników wpływa na kontrolę hemostazy u operowanych chorych.
4. W badaniu nie uwzględniono wpływu pozostałej części układu krzepnięcia na krwawienie pooperacyjne i funkcje trombocytów. Natomiast istnieją doniesienia, które wskazują, że stany nadkrzepliwości po zabiegach OPCABG w 1-wszej dobie pooperacyjnej są spowodowane wzrostem stężenia protrombiny i produktów degradacji fibryny. Co więcej stwierdzono też, że stan nadkrzepliwości był niezależny od funkcji płytek krwi ponieważ w przeprowadzonych badaniach nie wykryto wzrostu stężenia beta-tromboglobuliny[90].
5. Wpływ innych leków przyjmowanych przedoperacyjnie i mających wpływ na funkcje płytek krwi – blokery kanału wapniowego, beta-blokery, statyny, niesteroidowe leki przeciwzapalne. Nie udało się wyciągnąć żadnych konstruktywnych wniosków w tym aspekcie – grupa chorych była zbyt mała i na funkcje płytek miało wpływ tak wiele potężnych czynników jak np. krążenie pozaustrojowe, uraz operacyjny, leki znieczulające, inne leki przeciwkrzepliwe, że pomimo stworzenia bazy danych w tym kierunku, analiza nie była możliwa.
6. Kolejnym aspektem do dyskusji jest podgrupa pacjentów z rozpoznaną cukrzycą. Pacjenci chorujący na cukrzycę mają znacząco podwyższone miano adhezji i agregacji trombocytów w porównaniu do pacjentów nie dotkniętych cukrzycą [90]. Nie znaleziono jednak wyraźnej korelacji pomiędzy funkcją płytek a rozpoznaną cukrzycą.

7. Z doświadczenia klinicznego chorzy w grupie KPU zazwyczaj mają znacznie bardziej dodatni bilans płynowy od chorych operowanych na bijącym sercu – ma to bezpośredni wpływ na stopień rozcieńczenia trombocytów we krwi i tym samym zaniża miano adhezji i agregacji płytek krwi bez zmian ich funkcji – osłabia to siłę wniosków stawianych na podstawie uzyskanych wyników.
8. Kolejnym czynnikiem wpływającym na przejrzystość uzyskanych wyników jest aspekt hipotermii stosowanej podczas krążenia pozaustrojowego. Może ona niezależnie powodować małopłytkowość w wyniku odwracalnej sekwestracji płytek krwi w wątrobie bez istotnej zmiany ich funkcji [92].
9. Palenie tytoniu ma również wpływ aktywizujący na trombocyty. W grupie badanej nie zebrano szczegółowego wywiadu w tym aspekcie a część chorych ma skłonność do zatajania tego rodzaju informacji, więc trudno się wypowiadać o wpływie tego czynnika na miano adhezji i agregacji płytek krwi.
10. Satelitaryzm płytkowy (przyłączanie się części krążących płytek krwi do leukocytów) – daje objawy pseudotrombocytopenii i może fałszywie zaniżać ilość płytek krwi w klasycznych badaniach laboratoryjnych.

Ciekawym doniesieniem jest praca opisująca, że podanie abciximabu w KPU zmniejsza niszczenie płytek krwi ponieważ zapobiega on ich aktywacji przez użycie krążenia pozaustrojowego i w efekcie zużycie [65] – te doniesienia warto byłoby potwierdzić np. badając chorych operowanych w trybie pilnym (z rozpoznaniem zawałem mięśnia sercowego) którzy otrzymali leki przeciwplatekcyjne w dużej dawce. Być może udałoby się potwierdzić, że leki przeciwplatekcyjne, poprzez wyhamowanie funkcji trombocytów, zabezpieczają je przed nadmiernym zużyciem w trakcie krążenia pozaustrojowego.

Interesujący jest również aspekt obniżonego poziomu płytek krwi w niewydolności narządowej – skala SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment), używana do jej rozpoznania, posługuje się między innymi właśnie parametrem ilości płytek krwi – wartość poniżej 150 tys. jest już czynnikiem ryzyka wystąpienia niewydolności

wielonarządowej. Pokazuje to jak wiele czynników ma wpływ na stan trombocytów. Te doniesienia prawdopodobnie nie zaburzyły wyników pracy biorąc pod uwagę, że wszyscy chorzy byli operowani w trybie elektywnym i byli wydolni krążeniowo-oddechowo.

Ważnym i nieco niedocenianym aspektem z punktu widzenia chirurga wieńcowego jest również prozakrzepowe ryzyko pomostów spowodowane ciężką miażdżycą tętnic wieńcowych. Z całą pewnością masywne blaszki miażdżycowe, powodujące zaburzenia funkcji śródbłonna i zwężające średnicę naczyń krwionośnych, są niezwykle trombogene i same z siebie mają działanie prozakrzepowe, niezależnie od ogólnego stanu układu krzepnięcia. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku tętnic wieńcowych o małym kalibrze (często u drobnych kobiet) – średnica zespolenia wieńcowego w tym przypadku jest bardzo mała (rzędu 1-1.5 mm) i przepływ krwi jest przez nie znacząco utrudniony (przepływ jest odwrotnie proporcjonalny do czwartej potęgi promienia naczyń – prawo Hagena – Poiseuille’a) – znacząco zwiększa to ryzyko wykrzepienia pomostu wieńcowego we wczesnym okresie pooperacyjnym. U takich chorych warto agresywnie włączać leczenie przeciwplatekcyjne już kilka godzin po zakończonej operacji.

W badanej populacji nie było epizodów nadkrzepliwości – wynika stąd, że chorzy są właściwie prowadzeni pod kątem kontroli układu krzepnięcia - nie rozpoznano przypadku rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC) czy trombocytopenii indukowanej heparyną (HIT).

Wszyscy chorzy mieli zapewnioną odpowiednią płynoterapię, zabezpieczenie pod postacią dawek heparyny drobnocząsteczkowej i wczesne podanie pierwszej dawki kwasu acetylosalicylowego (po 6-12 godzinach od zakończonej operacji).

Dodatkowo, patrząc z czysto fizycznego punktu widzenia, trombogenność w pomoście jest indukowana przez zwolnienie przepływu krwi, ten zaś jest odwrotnie proporcjonalny do ośmiokrotnej wartości lepkości na którą znaczny wpływ ma hematokryt pacjenta – mając to na uwadze, wydaje się, że granicznie niskie, pooperacyjne wartości hemoglobiny mają ważne znaczenie przeciwzakrzepowe dla wykonanych pomostów wieńcowych.

Nie zmienia to faktu, że epizody HIT czy DIC to ważny problem kliniczny, szczególnie u chorych kardiochirurgicznych przebywających dłużej na oddziale intensywnej terapii. Część z nich ma dodatnie posiewy w badaniu mikrobiologicznym krwi. A to właśnie sepsa jest najczęstszym stanem klinicznym w kardiochirurgii, która może wywołać masywne wykrzepianie wewnątrznaczyniowe (DIC). Chociaż DIC może być spowodowany przez każdy mikroorganizm, to badania dowodzą, że infekcje bakteryjne, a zwłaszcza bakterie Gram ujemne, są najczęściej związane z wystąpieniem DIC. 30%-50% pacjentów z sepsą Gram ujemną jest narażonych na rozpoznanie masywnego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego [93-95].

Częstym, klinicznym zagadnieniem u chorych długo i wielokrotnie eksponowanych na heparyny, jest trombocytopenia heparynozależna (HIT) – stosunkowo wielu chorych ma rozpoznaną obecność przeciwciał dla czynnika płytkowego 4 (PF-4). Najczęściej nie mają oni żadnych objawów klinicznych a poziom trombocytów utrzymuje się w granicach normy.

Z doświadczenia klinicznego wiadomo, że na około 1200 operacji rocznie zdarza się, że śródoperacyjnie obserwuje się skrzepy krwi pomimo podanej heparyny – wydaje się to raczej związane z niedoborem antytrombiny III niż z hiperfunkcją trombocytów. Zazwyczaj wystarczające jest podanie dodatkowej dawki heparyny lub AT III i kontrola ACT, aby bezpiecznie zdezaktywować układ krzepnięcia na czas zesponień naczyniowych.

Tromboelastografia jest również przydatną, dodatkową metodą kontroli układu krzepnięcia u pacjenta kardiochirurgicznego – jest to badanie, które można wykonać przyłóżkowo, często pozwalające zróznicować czy krwawienie u chorego ma przyczynę chirurgiczną, czy też wynika z niedoboru składowych układu krzepnięcia. Jeden z parametrów uzyskiwanych tą metodą – MA (maximal amplitude) wydaje się być czułym wskaźnikiem potencjału płytek krwi do tworzenia wartościowego czopu pierwotnego. Niestety tromboelastografia ma swoje ograniczenia – jej wiskoelastyczna metoda działania nie jest w stanie wykryć efektu leków przeciwplatekowych na funkcje krążących trombocytów. W tym przypadku wymagane jest dodatkowe mapowanie tego aspektu, co przedłuża i komplikuje badanie tromboelastograficzne [96-100]. Jest ono natomiast niezwykle przydatne w badaniu hemostazy wtórnej.

Powyższe badania wydają się ważne ze względu na to, że preparaty płytek krwi są bardzo immunizujące i należy za każdym razem ostrożnie rozważać przetaczanie choremu preparatów płytkowych [101]. Dlatego zrozumienie wpływu obu technik operacyjnych pomostowania wieńcowego na funkcje płytek krwi ma duże znaczenie dla klinicznych decyzji podczas intensywnej terapii we wczesnym okresie pooperacyjnym – zdobyta wiedza pozwoli bezpieczniej leczyć chorego poprzez unikanie niepotrzebnych powikłań, właściwe rozpoznawanie przyczyny masywnego krwawienia czy zapobieganie stanom nadkrzepliwości.

VII

WNIOSKI

1.

Obie techniki chirurgicznego pomostowania tętnic wieńcowych: na bijącym sercu (OPCABG) i z użyciem krążenia pozaustrojowego (KPU) mają odmienny wpływ na ważny parametr układu krzepnięcia jakim jest funkcja płytek krwi - miano adhezji (i agregacji) trombocytów.

Jednakże w obu badanych grupach doszło do największej dysfunkcji trombocytów na tym samym etapie operacji – po zakończeniu zespołów wieńcowych i przed podaniem roztworu protaminy.

2.

Stopień adhezji i agregacji trombocytów ulega dynamicznym zmianom u chorych w trakcie chirurgii wieńcowej:

- grupa KPU – funkcja płytek krwi spadła poniżej normy podczas trwania zabiegu i utrzymywała się co najmniej do 6 godzin po operacji.
- grupa OPCABG – nasilone miano adhezji trombocytów od momentu zakończenia zespołów naczyniowych (podanie protaminy) i zmiany te utrzymują się co najmniej do 6 godzin po zakończeniu operacji. Średnia wartość miana adhezji uległa wzrostowi, ale nie przekroczyła jej górnego zakresu normy.

3.

Potwierdzono szereg korelacji pomiędzy funkcją, ilością płytek krwi a zastosowaną techniką operacyjną chirurgii wieńcowej, na przykład:

- zastosowanie krążenia pozaustrojowego wywołuje nie tylko ich dysfunkcję, ale również powoduje ich niszczenie (ilość płytek krwi oznaczana laboratoryjnie 12 godzin po operacji w obu grupach różniła się w sposób znamienne statystyczny).
- czas zaklemowania aorty podczas krążenia pozaustrojowego ma istotny, niszczący wpływ na pooperacyjną ilość płytek krwi.

- pooperacyjna ilość płytek krwi oznaczana klasyczną metodą laboratoryjną istotnie korelowała z pooperacyjną funkcją trombocytów u wszystkich chorych (mianem adhezji trombocytów).

- hiperaktywacja płytek krwi i ich masywne niszczenie pod wpływem działania krążenia pozaustrojowego naraża chorych z grupy KPU na wzmożone krwawienie pooperacyjne oraz większą ilość przetoczeń preparatów krwiopochodnych w porównaniu do operacji typu OPCABG (statystycznie znamienne różnice dla drenażu pooperacyjnego w obu grupach).

Nie zaobserwowano związku pomiędzy funkcją i ilością płytek krwi a przedoperacyjną/pooperacyjną wartością hemoglobiny czy też pooperacyjnym ACT (aktywowanym czasem krzepnięcia)

5.

Płytki krwi są aktywowane w trakcie zabiegów na bijącym sercu i ich wzmożona nadaktywność utrzymuje się co najmniej 6 godzin po operacji – implikuje to konieczność agresywnej ochrony przeciwkrzepliwej wykonanych pomostów wieńcowych celem zapobiegnięcia ich wykrzepnięciu, nakazuje to również dużą ostrożność w dodatkowym przetaczaniu płytek krwi w grupie OPCABG.

Natomiast w grupie KPU, w przypadku podwyższonego krwawienia pooperacyjnego, warto rozważyć przetoczenie płytek krwi – jednakże w obu przypadkach masywnego krwawienia w tej grupie chorych funkcja trombocytów nie była główną przyczyną krwawienia.

6.

W badanej populacji nie odnotowano klinicznych objawów wykrzepnięcia pomostów wieńcowych czy powikłań zakrzepowo zatorowych do momentu wypisu z Kliniki.

Część uzyskanych wyników kwestionuje odmienny wpływ obu technik operacyjnych chirurgii wieńcowej na funkcje trombocytów lub nie nadawała się do konstruktywnej analizy (parametr AS - miano agregacji). Konieczne są dalsze projekty badawcze, na większej grupie badanej, celem standaryzacji badania funkcji płytek krwi, przy pomocy

dodatkowych metod jak np. tromboelastografia czy testy wrażliwe na białka specyficzne dla trombocytów takie jak czynnik płytkowy IV czy beta tromboglobulina.

Być może ocena miana adhezji i agregacji płytek krwi metodą Cone-and-Platelet Analyser okaże się przydatna w praktyce klinicznej – sprecyzuje wskazania do przetoczeń preparatów krwiopochodnych, określi grupę pacjentów opornych na leczenie przeciwplateletowe i zapewni optymalną prewencję wykrzepiania pomostów wieńcowych.

VIII

STRESZCZENIE

Dwie najczęściej stosowane techniki pomostowania wieńcowego – z użyciem krążenia pozaustrojowego (KPU) i na bijącym sercu (OPCABG), mają istotny i odmienny wpływ na układ krzepnięcia, a zwłaszcza na hemostazę pierwotną, zależną od płytek krwi. Dane literaturowe donoszą, że operacjom typu OPCABG towarzyszą stany nadkrzepliwości wywołanej hiperfunkcją trombocytów, natomiast stosowanie KPU prowadzi do trombocytopenii. Celem tej pracy było określenie funkcji płytek krwi poprzez zbadanie miana adhezji i agregacji trombocytów podczas operacji wieńcowej i w okresie pooperacyjnym.

Badaną grupą było 41 pacjentów operowanych kolejno w trybie elektywnym z powodu choroby wieńcowej.

Funkcje płytek były badane za pomocą analizatora płytek CPA (Cone and Platelet Analyzer) – zmierzono dwa parametry: średni rozmiar agregatu płytkowego (AS-average size) i miano adhezji (procentowe pokrycie trombocytami sztucznego naczynia SC-surface cover). Te dwa parametry w dużym stopniu odzwierciedlają funkcje płytek krwi w ich naturalnych warunkach przepływu w naczyniach krwionośnych. Dokonano pomiaru w czterech etapach chirurgii: indukcja znieczulenia, podanie protaminy, zamykanie powłok, 6 godzin po zakończonej operacji.

W grupie KPU miano adhezji uległo obniżeniu u 2/3 chorych od etapu podania protaminy i efekt ten utrzymywał się co najmniej 6 godzin po zabiegu, dla około 50% pacjentów wartość SC w momencie szycia skóry była poniżej zakładanej normy.

Natomiast w grupie OPCABG odnotowano wzrost miana adhezji w 50% pacjentów na etapie zamykania powłok i co najmniej 6 godzin po zabiegu. Wartość SC przekroczyła

normę u 1/3 pacjentów również na etapie zamykania powłok i tendencja ta była obecna co najmniej 6 godzin po zabiegu.

Miano adhezji trombocytów już na etapie podania protaminy istotnie się różniło pomiędzy grupami KPU i OPCABG.

Pooperacyjna ilość płytek krwi (po 12 godzinach od zakończenia operacji) istotnie koreluje z mianem adhezji trombocytów na etapie zamykania powłok w obu badanych grupach.

Wyjściowe wartości miana agregacji (AS) na etapie indukcji –różniły się znacząco w obu grupach, co uniemożliwiło dalszą analizę.

Średnia wartość drenażu pooperacyjnego po 12 godzinach od zakończenia operacji była prawie dwukrotnie wyższa w grupie KPU, w tej grupie chorzy otrzymali znacznie więcej preparatów krwiopochodnych.

Porównując rozkład ilości płytek krwi po operacji w obu grupach (KPU vs OPCABG) można zauważyć statystycznie znamiennej różnicę. Poziom płytek w pomiarze laboratoryjnym był istotnie niższy w przypadku grupy KPU. W tej grupie odnotowano istotną zależność pomiędzy czasem zaklemowania aorty i obniżeniem funkcji oraz ilości płytek krwi 6-12 godzin po operacji.

Wyniki w dużym stopniu potwierdziły zależność między ilością płytek krwi a ich funkcją u chorych w obu badanych grupach (KPU i OPCABG).

Badania potwierdziły hiperfunkcję trombocytów w operacjach typu OPCABG oraz niszczenie i pogorszenie adhezji i agregacji płytek krwi przy stosowaniu krążenia

pozaustrojowego. Część wyników nie potwierdzała tej tezy – prawdopodobnie wynika to ze złożoności układu krzepnięcia, licznych czynników wpływających na hemostazę śród- i pooperacyjną lub ze zbyt małej grupy badanej.

Badania tą metodą powinny być kontynuowane, z dodatkową analizą tromboelastograficzną, aby umożliwić pełną analizę układu krzepnięcia okresu okołooperacyjnego chirurgii wieńcowej.

IX

SUMMARY

IMPACT OF HEART-BEATING SURGERY AND EXTRACORPORAL CIRCULATION ON SELECTED PARAMETERS OF PRIMARY HEMOSTASIS

AIM

There is no doubt that heart-beating surgery (OPCABG) eliminates complications linked with extracorporeal circulation, including damage of trombocytes. However there are many evidences that the most common coagulopatya during OPCABGs is a state of hypercoagulability while procedures involving extracorporeal circulation (ECC) lead to trombocytopenia. The aim of this research is to prove these tendencies in clinical trial, correlate them with other clinical features like postoperative drainage, need for transfusion, cross clamp time and classic platelet count. Any episodes of massive bleeding or thromboembolic complications were analysed.

MATERIAL

A group of 41 patients consecutively operated in Cardiac Surgery Departement of MUG during few months. The same anaesthetic protocols were applied to all patients, emergency cases were excluded. There is a group of 20 OPCABG procedures and 21 ECC procedures analyzed prospectively.

METHODS

The platelet functions were analyzed by CPA (Cone and Plate(let) Analyzer). Two parameters: AS – average size (of trombocytes' aggragation) and SC – surface cover (percentage of cover of artificial vessel by platelet aggregates – corresponding to ability of platelets to adhesion).

These parameters reflect platelet functions to a great extent as flow conditions in this apparatus are very similar to conditions found in vessel in vivo. What is more no additional reagent is needed.

These two values above (SC and AS) were measured in four phases: induction of anaesthesia, 10 minutes after protamine administration, skin suture, 6 hours after the end of procedure.

RESULTS

ECC procedures – drop of SC (adhesion) was progressive at 2/3 of patients with significantly low values starting at the phase of protamine administration and this effect was still present after 6 hours after procedures. For 40-50% of patients SC values at the moment of skin suture were below the normal range (<7%).

OPCABGs – for 50% of patients there was a significant increase of SC values at the moment of skin suture at this effect was present at least 6 hours after the end of procedures. SC>15% (over higher range) was present at 1/3 of patients. AS>70um was present in 50% of patients 6 hours after the procedure.

Postoperative platelet count corresponded strongly with platelets' adhesion. Patients in ECC group had significantly higher postoperative drainage, needed more blood products' transfusions and two patients in this group required re sternotomy – in these patients platelet function was in the normal range. Cross clamp time is a strong predictor of platelet dysfunction and drop in their postoperative count. There was no episode of thromboembolism.

CONCLUSION

Hiperfunction of trombocytes, defined by CPA, was clearly present in OPCABG procedures – values of trombocytes' adhesion and agreggation were high. This tendency is at least partially responsible for the state of hipercoaguability which can

endanger grafts' patency and provokes episodes of embolism. Procedures with ECC are characterised with low platelets' adhesion which surely influences primary hemostasis and clinical outcome (excessive bleeding).

Results of this research are not all unanimous – there may be a several reasons for this: there was a different number of blood-derived products administered, presence of DIC episodes, polymorphism of platelet glycoprotein IIb/IIIa, and many more.

This research should be continued to establish the best anti-platelet therapy in cardiac surgery. This study should also be enriched by the results of thromboelastography to also have an overview for secondary hemostasis.

SPIS RYCIN I WYKRESÓW

Ryc. 1. Erytrocyt, trombocyt i leukocyt – ilustracja obrazu w mikroskopie elektronowym (autor Monika Kuropatnicka-Marciniak).....	2
Ryc. 2. Analizator funkcji płytek typu CPA (Cone and Platelet Analyzer) z wbudowanym mikroskopem i kamerą (po lewej), po prawej kompletny zestaw do badania zawierający pipetę, analizator płytek i komputer z oprogramowaniem do odczytu obrazu z kamery.....	50
Ryc. 3. Mechanizm pomiaru typu CPA przy pomocy stożka (cone) i płytki (well), sił scierających i barwienia.....	51
Ryc. 4. Podsumowanie danych opisowych w obu grupach wraz z wyliczonym współczynnikiem korelacji (test Pearsona).....	52
Ryc. 5. Podsumowanie uzyskanych wyników – parametr AS i SC dla obu grup oznaczony w czterech etapach badania.....	54
Ryc. 6. Graficzna prezentacja wyników, na osi pionowej miano adhezji (SC), na poziomej etap zabiegu.....	55
Ryc. 7. Graficzna prezentacja wyników, na osi pionowej miano agregacji (AS), na poziomej etap zabiegu.....	57
Ryc. 8. Zależność pomiędzy wyjściową wartością miana adhezji (SC/indukcja) a przedoperacyjną ilością płytek krwi oznaczoną laboratoryjnie w obu grupach.....	58
Ryc. 9. Zależność pomiędzy wyjściową wartością miana adhezji (SC/indukcja) a przedoperacyjną ilością płytek krwi oznaczoną laboratoryjnie w grupie KPU.....	60
Ryc. 10. Zależność pomiędzy pooperacyjnym poziomem aktywowanego czasu krzepnięcia (ACT) a mianem adhezji (SC) 6 godzin po operacji w grupie KPU.....	61

Ryc. 11. Istotna statystycznie różnica dla wyjściowego miana agregacji (AS) w obu grupach KPU i OPCABG.....	62
Ryc. 12. Laboratoryjny poziom ilości płytek krwi 12 godzin po operacji w obu grupach (KPU vs OPCABG).....	64
Ryc. 13. Istotna statystycznie różnica w spadku ilości płytek w pomiarze laboratoryjnym, 12 godzin po operacji, z podziałem na obie grupy (OPCABG i KPU).....	65
Ryc. 14. Porównanie rozkładu drenażu pooperacyjnego (po 12 godzinach od operacji) w grupie OPCABG i KPU – statystycznie znamienne różnica.....	67
Ryc. 15. Rozkład miana adhezji (SC) trombocytów na etapie podania protaminy w grupach OPCABG i KPU.....	69
Ryc. 16. Rozkład miana adhezji płytek na etapie zamykania powłok klatki piersiowej dla obu grup.....	71
Ryc. 17. Rozkład miana adhezji (SC) trombocytów 6 godzin po operacji w grupach OPCABG i KPU.....	72
Ryc. 18. Rozkład pooperacyjnej ilości płytek (badanie laboratoryjne) a miano adhezji (SC) u wszystkich pacjentów.....	73
Ryc. 19. Korelacja spadku ilości płytek krwi (w badaniach laboratoryjnych 12 godzin po operacji) ze spadkiem miana adhezji (SC) 6 godzin po zabiegu dla grupy KPU.....	75
Ryc. 20. Ilość przetoczonych preparatów krwiopochodnych dla obu grup (ME-masa erytrocytarna, FFP – osocze).....	77
Ryc. 21. Zależność spadku miana adhezji płytek krwi od czasu zaklemowania aorty.....	78
Ryc. 22 Zależność pomiędzy wyjściową wartością miana adhezji (SC/indukcja) a przedoperacyjną ilością płytek krwi oznaczoną laboratoryjnie w obu grupach (KPU i OPCABG)	80
Ryc. 23. Zależność spadku miana adhezji płytek krwi od czasu zaklemowania	

aorty.....81

XI

WYKAZ NAJCZĘŚCIEJ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

AS – average size (średni rozmiar agregatu płytkowego)

ASA – kwas acetylosalicylowy

ACT – Activated Clotting Time

ADP - adenosynodwufosforan

AT III – antytrombina III

CABG – Coronary Artery Bypass Grafting

KPU – krążenie pozaustrojowe

GP- glikoproteina

FFP (Fresh Frozen Plasma) - osocze

MIDCABG – Minimally Invasive CABG

OPCABG – Off Pump Coronary Artery Bypass Grafting (pomostowanie tętnic wieńcowych na bijącym sercu)

PAF – Platelet Activation Factor

SC – surface cover (stopień pokrycia powierzchni przez płytki krwi)

TXA2 – tromboxan 2

1. CDC, NCHS. Underlying Cause of Death 1999-2013 on CDC WONDER Online Database, released 2015. Data are from the Multiple Cause of Death Files, 1999-2013, as compiled from data provided by the 57 vital statistics jurisdictions through the Vital Statistics Cooperative Program. Accessed Feb. 3, 2015.
2. "Kardiochirurgia dziecięca" Wydawnictwo Naukowe "Śląsk", Katowice 2003 pod redakcją naukową prof. Janusza H. Skalskiego i prof. Zbigniewa Religi.
3. M. K. Davies and A. Hollman, "History of cardiac surgery," Heart, vol. 87, no. 6, p. 509, 2002.
4. D. K. C. Cooper, Open Heart: The Radical Surgeons Who Revolutionized Medicine, Kaplan, New York, NY, USA, 2010.
5. A. S. Olearchyk, "Vasilii I. Kolesov: a pioneer of coronary revascularization by internal mammary-coronary artery grafting," Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, vol. 96, no. 1, pp. 13–18, 1988.
6. Lake C.†L., More D. Blood: Hemostasis, transfusion and alternatives in per.....ioperative period, Raven Press London, 1995.
7. Lake C.†L., More D. Blood: Hemostasis, transfusion and alternatives in perioperative period, Raven Press London, 1995.
8. Campbell FW: The contribution of the platelet dysfunction on postbypass bleeding. J Cardiothoracic Anesth 5: 8-12 1991.
10. Mohr R, Golan M, Martinowitz U, et al: Effect of cardiac operations on platelets. J Thorac Cardiovasc Surg 92: 434-441, 1986.
11. Kestin AS, Valeri R, Khuri SF, et al: The platelet function defect of Cardiopulmonary bypass. Blood 82: 107-117, 1993.
12. Merin LG, Grover NB, Pessachowicz B, et al: The influence of cardiopulmonary bypass on the size of the human platelets. J Thorac Cardiovasc Surg 70: 727-731, 1975.

13. Gabriella Lindvall , Ulrik Sartipy and Jan van der Linden. Aprotinin Reduces Bleeding and Blood Product Use in Patients Treated With Clopidogrel Before Coronary Artery Bypass Grafting. *Annals Thoracic Surgery* Volume 80, Issue 3 , September 2005, 922-923.
14. Palmgren G, Lindfren A, Lethagen S, Steen S. Platelet retention in coronary artery bypass surgery with and without a heart-lung machine. *Scand Cardiovasc J* 2000; 34: 301-306.
15. Martinowitz U, Goor DA, Ramot B, et al: Is transfusion of fresh plasma after cardiac operations indicated? *J Thorac Cardiovasc Surg* 100:92-98, 1990.
16. Cartier R, Robitaille D, Thrombotic complications in beating hart operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 121: 920-922.
17. Collman RW. 1990. Platelet and neutrophil activation in cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 49:32-4.
18. KarkoutiK,WijeysunderaDN,YauTM ,etal.The independent Association of massive blood loss with mortality in cardiac surgery. *Transfusion* 2004; 44:1453–62.
19. RanucciM,BaryshnikovaE,CastelvecchioS,PelisseroG. Surgi-cal Clinical Outcome Research Group. Major bleeding,transfusions, and anemia: the deadly triad of cardiac surgery. *AnnalsOf Thoracic Surgery* 2013;96:478–85.
- 20 KochCG, LiL, DuncanAI, etal. Transfusion in coronary artery Bypass grafting is associated with reduced long-term survival. *Annals of Thoracic Surgery* 2006;81:1650–7.
21. ShahA, StanworthSJ, McKechnieS. Evidence and triggers for the transfusion of blood and blood products. *Anaesthesia* 2015;70(Suppl1): 10–9,e3–5.
22. BesserMW, OrtmannE, KleinAA. Haemostatic management of cardiac surgical haemorrhage. *Anaesthesia*2015; 70(Suppl1):87–95, e29–31.
23. PaparellaD, BristerSJ, BuchananMR. Coagulation disorders of Cardiopulmonary bypass: a review. *Intensive Care Medicine* 2004;30:1873–81.
24. HollowayDS, SummariaL, SandesaraJ, VagherJP, Alexander

- JC, Caprini JA. Decreased platelet number and function and Increased fibrinolysis contribute to postoperative bleeding in Cardiopulmonary bypass patients. *Thrombosis and Haemostasis* 1988;59:62–7.
25. KestinAS, ValeriCR, KhuriSF, et al. The platelet function defect of cardiopulmonary bypass. *Blood* 1993;82:107–17.
26. LindbladB, WakefieldTW, WhitehouseWMJr, StanleyJC. The effect of protamine sulfate on platelet function. *Scandinavian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1988;22:55
27. YendeS, WunderinkRG. Effect of clopidogrel on bleeding after coronary artery bypass surgery. *Critical Care Medicine* 2001;29:2271–5.
28. Ascione R Williams S, Lloyd CT, Sundaramoorthi T, Pitsis AA, Angelini SD. 2001. Reduced postoperative blood loss and transfusion requirement after beating heart coronary operations: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 121: 920-2.
29. Cartier R, Robitaille D. 2001. Thrombotic complications in beating heart operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 121:920-2.
30. Quigley RL, Fried DW, Salenger R, Pym J, Highbloom RY. Thrombelastographic changes in OPCAB surgical patients. *Perfusion* 2002; 17: 363-367.
31. Poston R, White C, Read K, Gu J, Lee A, Avari T, Griffith B. Virchow triad, but not use of an aortic connector device, predicts early graft failure after off-pump coronary bypass. *Heart Surg Forum* 2004; 7: E428-E433.
32. Gwozdziwicz M, Němec P, Zezula R, Novotny J. Platelet mapping in postoperative management of acute postoperative aortocoronary bypass thrombosis. *Kardiochirurg Torakochir Pol* 2006; 3: 214-216.
33. Ascione R Williams S, Lloyd CT, Sundaramoorthi T, Pitsis AA, Angelini SD. 2001. Reduced postoperative blood loss and transfusion requirement after beating heart coronary operations: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 121: 920-922.

34. Cartier R, Robitaille D. 2001. Thrombotic complications in beating heart operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 121:920-2.
35. Rabin Gerrah, Eitan Snir, Alex Brill, David Varon. 2004. Platelet Function Changes by Cone and Plate(let) Analyzer during Beating Heart Surgery. *The Heart Surgery Forum* 2004-1010; 7(3).
36. Falciani M, Gori AM, Fedi S, et al. 1998. Elevated tissue factor and tissue factor pathway inhibitor circulating levels in ischaemic heart disease. *Thromb Haemost* 79:495-9.
37. Aleksander B. Skotnicki, Tomasz Socha. Zaburzenia krzepnięcia krwi. *Medycyna Praktyczna*. Krakow, 1997.
38. Dembińska-Kieć A., Naskalski W. J. Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Wrocław, 2005; Elsevier Urban & Partner.
39. Raszeja-Specht A. Badania układu hemostazy w praktyce laboratoryjnej. Grudziądz, 2008; Bio-Ksel sp. z.o.o.
40. Mariańska B., Fabijańska-Mitek J., Windyga J. Badania w laboratoryjne w hematologii. Podręcznik dla słuchaczy studiów medycznych. Warszawa, 2006; Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
41. Coughlin SR, Vu T-K H, Hung DT, Wheaton VI: Characterization of a functional thrombin receptor. *J Clin Invest* 1992; 89:351.
42. Wledmer T, Esmon CT, Sims PJ,: Complement proteins C5b stimulate procoagulant activity through the platelet prothrombinase. *Blood* 1986; 68:875.
43. Rinder CS, Rinder HM, Johnson K, et al: Blockade of C5a and C5b-9 generation infibits leukocytes and platelet activation during extracorporeal circulation. *J Clin Invest* 1995; 96:1564.
44. Niewiarowski S, Senyi AF, Gilles P: Plasmin-induced platelet aggregation and platelet release reaction. *J Clin Invest* 1973; 52:1647.

45. Michelson AD, MacGregor H, Barnard MR, et al: Reversal inhibition of human platelet activation by hypothermia in vivo and in vitro. *Thromb Haemost* 1994; 71:633.
46. Weerasinghe A, Taylor KM: The platelet in cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998; 66:2145.
47. Lefkovits J, Plow EF, Topol EJ: Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. *N Engl J Med* 1995; 332:1553.
48. Rinder CS, Bonnert J, Rinder HM, et al: Platelet activation and aggregation during cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 1991;74:388.
49. Gluszko P, Rucinski B, Musial J, et al: Fibrinogen receptors in platelet adhesion to surfaces of extracorporeal circuit. *Am J Physiol* 1987;252:H615.
50. Rinder HM, Bonan JL, Rinder CS, et al: Activated and unactivated platelet adhesion to monocytes and neutrophils. *Blood* 1991; 78:1760.
51. George JN, Pickett EB, Saucerman S, et al: Platelet surface glycoproteins; studies on resting and activated platelets and platelet membrane microparticles in normal subjects, and observations in patients during adult respiratory distress syndrome and cardiac surgery. *J Clin Invest* 1986;78:340.
52. Zilla P, Fasol R, Groscurth P, et al: Blood platelets in cardiopulmonary bypass operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989;97:379.
53. George JN, Pickett EB, Saucerman S, et al: Platelet surface glycoproteins; studies on resting and activated platelets and platelet membrane microparticles in normal subjects, and observations in patients during adult respiratory distress syndrome and cardiac surgery. *J Clin Invest* 1986;78:340.
54. Miyamoto S, Marcinkiewicz C, Edmunds LH Jr, Niewiarowski S: Measurement of platelet particles during cardiopulmonary bypass by means of captured ELISA for GPIIb/IIIa. *Thromb Haemost* 1998; 80:225.
55. Wenger RK, Lukasiewicz H, Mikuta BS et al: Loss of platelet fibrinogen receptors during clinical cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 97:235.

56. Zilla P, Fasol R, Groscurth P, et al: Blood platelets in cardiopulmonary bypass operations. J Thorac Cardiovasc Surg 1989;97:379.
57. Kestin AS, Valeri CR, Khuri SF, et al: The platelet function defect of cardiopulmonary bypass. Blood 1993;82:107.
58. Anderson HL 3rd, Cilley RE, Zwischenberger JB, et al: Thrombocytopenia in neonates after extracorporeal membrane oxygenation. Trans Am Soc Artif Intern Organs 1986;32:536.
59. Radziśław Kordek (red.): *Onkologia. Podręcznik dla studentów i lekarzy*. Gdańsk: VIA MEDICA, 2007, s. 106. ISBN 978-83-7555-016-0.
60. U, Yacobovich J, Tamary H, et al. Heparin-induced thrombocytopenia and extracorporeal membrane oxygenation: a case report and review of the literature. J Extra Corpor Technol 2011; 43: 5-12.
61. Raszeja-Specht A. Badania układu hemostazy w praktyce laboratoryjnej. Grudziądz, 2008; Bio-Ksel sp. z o.o.
62. Mariańska B., Fabijańska-Mitek J., Windyga J. Badania w laboratoryjnej w hematologii. Podręcznik dla słuchaczy studiów medycznych. Warszawa, 2006; Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
63. Niemirowicz K., Car H., Wysocka J. et al. Zaburzenie liczby płytek krwi. Diagn Lab, 2012; 48, 4:455-460.
64. Wasiluk A., Jasińska E.A. Parametry morfologiczne i czynnościowe płytek krwi noworodków i osób dorosłych. Diagn Lab, 2010; 46, 3:325-329.
65. Andreas Straub, Hans Peter Wendel, Ruben Azevedo, Gerhard Ziemer. The GP IIb/IIIa inhibitor abciximab (Reopro) decreases activation and interaction of platelets and leukocytes during in vitro cardiopulmonary bypass simulation.

66. Miller B. E., Mochizuki T., Levy Jh., Bailey J.†M., Tosone S. R., Tam V. K., Kanter K. R. Predicting and treating coagulopathies after cardiopulmonary bypass in children. *Anesth. Analg.* 1997, 85, 1196.
67. Musiał J., Głuszko P. Zaburzenia krzepnięcia krwi w krążeniu pozaustrojowym, *Pol. Tyg. Lek.* 1987, 42, 899.
68. Baumgartner FJ, Gheissari A, Capouya ER, Panagiotides GP, Katouzian A, Yokohama T. Technical aspects of total revascularization in off-pump coronary bypass via sternotomy approach. *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 1653-1658.
69. Yokohama T, Baumgartner FJ, Gheissari A, Capouya ER, Panagiotides GP, Declusin RJ. Off-pump versus on-pump coronary bypass in high-risk subgroups. *Ann Thorac Surg* 2000; 70: 1546-1550.
70. Svennevig JL. Off-pump vs on-pump surgery. A review. *Scand Cardiovasc J* 2000; 34: 7-11.
71. Buffolo E, de Andrade JCS, Branco JNR, Teles CA, Aguiar LF, Gomes WJ. Coronary artery bypass grafting without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 63-66.
72. Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ, Gomes WJ, Angelini GD. On-pump versus off-pump coronary revascularization: Evaluation of renal function. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 493-498.
73. Puskas JD, Thourani VH, Marshall JJ, et al. Clinical outcomes, angiographic patency, and resource utilization in 200 consecutive off-pump coronary bypass patients. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 1477-1484.
74. Ascione R, Lloyd CT, Gomes WJ, Caputo M, Bryan AJ, Angelini GD. Beating versus arrested heart revascularization: Evaluation of myocardial function in a prospective randomized study. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999; 15: 685-690.

75. Mariani MA, Gu YJ, Boonstra PW, Grandjean JG, Oeveren WV, Ebels T. Procoagulant activity after off-pump coronary operation: Is the current anticoagulation adequate? *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 1370-1375.
76. Kim K-B, Lim C, Lee C, et al. Off-pump coronary artery bypass may decrease the patency of saphenous vein grafts. *Ann Thorac Surg* 2001; 72: S1033-S1037.
77. Campbell FW: The contribution of the platelet dysfunction on postbypass bleeding. *J Cardiothoracic Anesth* 5: 8-12 1991.
78. Mohr R, Golan M, Martinowitz U, et al: Effect of cardiac operations on platelets. *J Thorac Cardiovasc Surg* 92: 434-441, 1986.
79. Kestin AS, Valeri R, Khuri SF, et al: The platelet function defect of Cardiopulmonary bypass. *Blood* 82: 107-117, 1993.
80. Merin LG, Grover NB, Pessachowicz B, et al: The influence of cardiopulmonary bypass on the size of the human platelets. *J Thorac Cardiovasc Surg* 70:727-731, 1975.
81. Dore M. Platelet-leukocyte interactions. *Am Heart J* 1998; 135 (5 Pt 2 Suppl):S146-S51.
82. Harker LA, Malpass TW, Branson HE, Hessel EA, Slichter SJ. Mechanism of abnormal bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass: Acquired transient platelet dysfunction associated with selective alpha-granule release. *Blood* 1980; 56(5): 824-834.
83. Moller CH, DA Steinbruchel, Platelet function after coronary bypass grafting: is there a procoagulant activity after off pump compared with on-pump surgery?.
84. *Forum Nefrologiczne* 2011, vol. 4, no 4, 331–336.
85. Warkentin TE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: recognition, treatment, and prevention: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*. 2004 Sep. 126(3 suppl):311S-337S.
86. Warkentin TE, Roberts RS, Hirsh J, Kelton JG. An improved definition of immune heparin-induced thrombocytopenia in postoperative orthopedic patients. *Arch Intern Med*. 2003 Nov 10. 163(20):2518-24.

87. Andrzej Szczeklik (red.): *Choroby wewnętrzne*. Kraków: Wydawnictwo Medycyna Praktyczna, 2010. ISBN 978-83-7430-216-8.
88. Zaburzenia liczby płytek krwi, Platelet number disorders, Katarzyna Niemirowicz, Beata Żelazowska – Rutkowska, Jolanta Wysocka, Halina Car, diagnostyka laboratoryjna, *Journal of Laboratory Diagnostics*, 2012 Volume 48 • Number 4 • 455-460.
89. Adverse Reactions to Protamine Sulfate Following Cardiac Surgery
c. L. HOLLAND, M.D., A. K. SINGH, M.D., P. R. B. MCMASTER, M.D., w. FANG, M.D. *Clin. Cardiol.* 7, 157-162 (1984) © Clinical Cardiology Publishing Co., Inc.
90. Mariani MA, Gu YJ, Boonstra PW, Grandjean JG, Oeveren WV, Ebels T. Procoagulant activity after off-pump coronary operation: Is the current anticoagulation adequate? *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 1370-1375.
91. Hilla Knobler, Naphtali Savion, Boris Shenkman et al. Shear Induced Platelet Adhesion and Aggregation on Subendothelium Are Increased in Diabetic Patients. *Thrombosis Research*. 90 *1998 181/190.
92. Towes R. Avoiding coagulopathy in vascular surgery, *Am. J. Surg.* 1990, 160, 212.
93. Thijs LG, de Boer JP, de Groot MCM, Hack CE. Coagulation disorders in septic shock. *Intensive Care Med* 1993;19:Suppl 1:S8-S15.
94. Baglin T. Disseminated intravascular coagulation: diagnosis and treatment. *BMJ* 1996;312:683-7.
95. Gando S, Kameue T, Nanzaki S, Nakanishi Y. Disseminated intravascular coagulation is a frequent complication of systemic inflammatory response syndrome. *Thromb Haemost* 1996;75:224-8.
- 96 Shore-Lesserson L. Evidence based coagulation monitors: heparin monitoring, thromboelastography, and platelet function. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2005; 9:41-52.
- 97 Craft RM, Chavez JJ, Bresee SJ, Wortham DC, Cohen E, Carroll RC. A novel modification of the Thrombelastograph assay, isolating platelet function, correlates with optical platelet aggregation. *J Lab Clin Med* 2004; 143:301-309

- 98 Essell JH, Martin TJ, Salinas J, Thompson JM, Smith VC. Comparison of thromboelastography to bleeding time and standard coagulation tests in patients after cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1993; 7:410-415.
- 99 Shore-Lesserson L, Manspeizer HE, DePerio M, Francis S, Vela-Cantos F, Ergin MA. Thromboelastography-guided transfusion algorithm reduces transfusions in complex cardiac surgery. *Anesth Analg* 1999; 88:312-319.
- 100 C. Corredor,¹ M. Wasowicz,² K. Karkouti² and V. Sharma, Specialist Registrar, 3 Consultant Anaesthetist, Department of Anaesthesia, St. George's Hospital, London, UK, Department of Anesthesia and Pain Management, Toronto General Hospital, Toronto, Ontario, Canada, *Anaesthesia* 2015, 70, 715–731.
101. Shan Yuan, MD, Dennis Goldfinger, MD. Arthur J Silvergleid, MD. Jennifer S Tirnauer, MD, Clinical and laboratory aspects of platelet transfusion therapy, *Upto Date*, 2015

