

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Zdeňka Holubcová

2016

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

Doktorský studijní program
Chirurgie

**Dlouhý pentraxin 3 - prediktivní biomarker poškozující zánětové odpovědi u
nemocných operovaných na srdci?**

**Long pentraxin 3 - a putative biomarker with predictive value to identify the
adverse inflammatory response in cardiac surgical patients?**

MUDr. Zdeňka Holubcová

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Mand'ák, Ph.D.

Školitel konzultant: Prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Hradec Králové, 2016

Obhajoba dne:

PROHLÁŠENÍ AUTORA

Prohlášení:

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy v Praze.

Hradec Králové, listopad 2016

PODĚKOVÁNÍ AUTORA

Poděkování

Ráda bych poděkovala prof. MUDr. Jiřímu Mandřákovi, Ph.D. za skvělou a inspirující spolupráci, podporu a cenné rady, kterých se mi vždy dostávalo během postgraduálního studia, ale i mého působení na hradecké Kardiochirurgické klinice. Děkuji prof. RNDr. Janu Krejskovi, CSc. a doc. MUDr. RNDr. Milanu Kaškovi, Ph.D. za odborné vedení a trpělivost při tvorbě této disertační práce. Paní Mgr. Martině Koláčkové, Ph.D. děkuji za trpělivost, pomoc a poskytnutí nejen laboratorních a statistických dat. Děkuji také panu MUDr. Pavlu Kunešovi, který mě do vědeckého týmu přivedl a pomáhal s realizací projektu, neméně také paní Mgr. Daně Vláškové, která byla hlavní osobou starající se bezchybně o sběr materiálu k výzkumu. Za každodenní podporu a pomoc nejenom při počítačově-technických problémech patří velké dík manželovi Tomášovi, za dlouhodobou podporu manželům Harrerovým. Velké dík.

Práce vznikla za podpory programu Univerzity Karlovy v Praze [PRVOUK P37/N10, PRVOUK P37/04].

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	7
1 ÚVOD DO PROBLEMATIKY	9
1.1 IMUNITNÍ SYSTÉM	9
1.1.1 <i>Pattern recognition receptory (PRR; receptory nebezpečných vzorů)</i>	10
1.1.2 <i>Interleukiny</i>	22
1.1.3 <i>Matrixové metaloproteinázy (MMPs)</i>	25
1.1.4 <i>Solubilní Fas a Fas-ligand</i>	27
1.1.5 <i>Záněť</i>	28
1.2 KARDIOCHIRURGICKÁ OPERACE	32
1.2.1 <i>Historie kardiologických operací</i>	32
1.2.2 <i>Kardiologické operace a komplikace v peroperačním období</i>	33
1.2.3 <i>Fibrilace síní</i>	35
1.3 KARDIOCHIRURGICKÁ OPERACE A IMUNITNÍ SYSTÉM	37
2 CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE	39
3 METODIKA	40
3.1. SOUBOR NEMOCNÝCH	40
3.1.1 <i>Pacienti s odlišným klinickým projevem poškozující zánětové odpovědi po kardiologické operaci (s odlišnou závažností SIRS a/nebo jeho komplikací)</i>	40
3.1.2 <i>Pacienti s odlišným klinickým projevem zánětové odpovědi po kardiologické operaci s ohledem na fibrilaci síní</i>	41
3.2 CHARAKTERISTIKA A KLINICKÉ ÚDAJE SOUBORŮ NEMOCNÝCH	41
3.3 PEROPERAČNÍ MANAGEMENT	44
3.3.1 <i>Anesteziologický management</i>	44
3.3.2 <i>Chirurgické techniky</i>	44
3.3.3 <i>Časný pooperační management</i>	46
3.3.4 <i>Sběr vzorků a zpracování</i>	50
3.4 ZPRACOVÁNÍ ZÍSKANÝCH DAT A JEJICH STATISTICKÁ ANALÝZA	50

4	VÝSLEDKY	52
4.1	ANALÝZA VZORKŮ U PACIENTŮ DLE ROZSAHU ZÁNĚTOVÉ ODPOVĚDI V POOPERAČNÍM OBDOBÍ	52
4.1.1	<i>Sérové hladiny a dynamika PTX3</i>	52
4.1.2	<i>Sérové hladiny a dynamika CRP.....</i>	53
4.1.3	<i>Porovnání dynamiky hladin PTX3 a CRP.....</i>	53
4.1.4	<i>Sérové hladiny a dynamika IL-8</i>	55
4.1.5	<i>Sérové hladiny a dynamika TLR2</i>	55
4.2	ANALÝZA VZORKŮ U PACIENTŮ S OHLEDEM NA FIBRILACI SÍNÍ.....	56
4.2.1	<i>Sérové hladiny a dynamika PTX3</i>	56
4.2.2	<i>Sérové hladiny a dynamika CRP.....</i>	57
4.2.3	<i>Sérové hladiny a dynamika IL-8</i>	58
4.2.4	<i>Sérové hladiny a dynamika TLR2</i>	59
4.2.5	<i>Sérové hladiny a dynamika IL-18.....</i>	60
4.2.6	<i>Sérové hladiny a dynamika IL-18BP.....</i>	61
4.2.7	<i>Sérové hladiny a dynamika MMP7.....</i>	62
4.2.8	<i>Sérové hladiny a dynamika MMP8</i>	63
4.2.9	<i>Sérové hladiny a dynamika sFas</i>	64
4.2.10	<i>Sérové hladiny a dynamika sFasL.....</i>	65
4.2.11	<i>Vzájemný poměr hodnot sFas/sFasL.....</i>	66
5	DISKUZE.....	68
6	ZÁVĚRY.....	73
7	POUŽITÁ LITERATURA	75

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AF	<i>atrial fibrillation</i> – fibrilace síní
ARDS	<i>acute respiratory distress syndrom</i> – syndrom dechové tísně dospělých
CABG	<i>coronary artery bypass grafting</i> – přemostění věnčité tepny
CHOPN	chronická obstrukční nemoc plicní
CRP	C reaktivní protein
DF	dechová frekvence
DM	<i>diabetes mellitus</i>
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
hsCRP	vysoce senzitivní C reaktivní protein
IL	interleukin
IL-18BP	<i>interleukin 18 binding protein</i> – vazebný protein interleukinu 18
IM	infarkt myokardu
ICHS	ischemická choroba srdeční
JIP	jednotka intenzivní péče
LPS	lipopolysacharid
MAZE	radiofrekvenční ablace/kryoablace pro fibrilaci síní
MMPs	<i>matrix metalloproteinases</i> – matrixové metaloproteinázy
MO	mimotělní oběh
NK	<i>natural killers</i> – přirození zabíječi
NLR	nukleotid-vázající oligomerizační doména- (NOD-) <i>like</i> receptoru
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
PRR	<i>pattern recognition receptor</i> – receptor pro nebezpečné vzory
PRM	<i>pattern recognition molecules</i> – molekuly pro nebezpečné vzory
PTX3	pentraxin 3
PCI	perkutánní koronární intervenci
SAP	sérový amyloid P
sFas	solubilní <i>factor activating-exoS</i>
sFasL	solubilní Fas ligand
SIRS	<i>systemic inflammatory response syndrome</i> – syndrom systémové zánětové odpovědi
SLE	systémový <i>lupus erythematosus</i>
SD	směrodatná odchylka

STEMI	infarkt myokardu s elevacemi ST úseků
TF	tepová frekvence
TNF α	<i>tumor necrosis factor alfa</i>
TLR	<i>toll-like receptor</i> – receptor podobný receptorům toll

1 ÚVOD DO PROBLEMATIKY

1.1 Imunitní systém

Imunitní systém se podílí na udržování rovnováhy organismu v podmínkách neustále se měnícího vnějšího a vnitřního prostředí. Jeho funkcí je udržování integrity organismu tím, že rozpoznává škodlivé od neškodného, čímž chrání organismus proti škodlivinám zevního i vnitřního původu.¹

Imunitní mechanismy lze rozdělit do dvou základních kategorií: nespecifické (neadaptivní nebo vrozené) a antigenně specifické (adaptivní nebo získané). Obě kategorie zahrnují složky humorální, představované různými sérovými proteiny či sekretovanými molekulami a buněčné, tvořené různými typy buněk. Potřebu, rozlišit mezi potenciálně poškozujícími podněty vnějšího a vnitřního prostředí od neškodných podnětů, které převažují, zajišťuje přirozená imunita.

Humorální složky nespecifické imunity tvoří interferony, lektiny, komplementový systém a jiné sérové proteiny. Buněčné nespecifické systémy jsou reprezentovány přirozeně cytotoxickými buňkami (buňky NK; přirození zabíječi – *natural killers*) a fagocytujícími buňkami. Nespecifické složky imunity reagují na přítomnost škodliviny rychle, řádově v minutách. Na rozdíl od specifických složek nemají imunologickou paměť, nejsou tedy ovlivněny předchozím stykem se škodlivinou. Pro obranu organismu proti infekci a udržování jeho integrity vůči okolí má zásadní význam také neporušený povrch sliznic a kůže a jejich přirozené neimunitní obranné mechanismy. Ty lze rozdělit na mechanické (pohyb řasinek, longitudinální tok vzduchu v dýchacích cestách nebo tekutiny v močových cestách), chemické (mastné kyseliny na kůži, enzymy jako např. lysozym ve slinách, slzách a potu, pepsin v žaludku a střevě, antibakteriální peptidy zvané defenziny, kyselé pH žaludku a moči) a mikrobiální (normální nepatogenní flóra).

Vrozená imunita (humorální i buněčná část) je první linií obrany organismu proti patogenům a hraje klíčovou roli v aktivaci a orientaci imunity získané a to nejen díky zpracování a prezentaci antigenu buňkami přirozené imunity. Charakteristickým rysem vrozené imunity je její evoluční konzervovanost. Geneticky fixované dispozice určující přirozenou imunitu jsou mimořádně stabilní, a tedy nereflektují náhlé změny životních podmínek.²

Složkami vrozeného imunitního systému, které jsou zapojeny do rozpoznání patogenu a zahájení imunitní odpovědi jsou tzv. *pattern recognition* receptory (PRR; někdy označovány jako molekuly, *pattern recognition molecules* – PRMs).^{3,4}

1.1.1 *Pattern recognition* receptory (PRR; receptory nebezpečných vzorů)

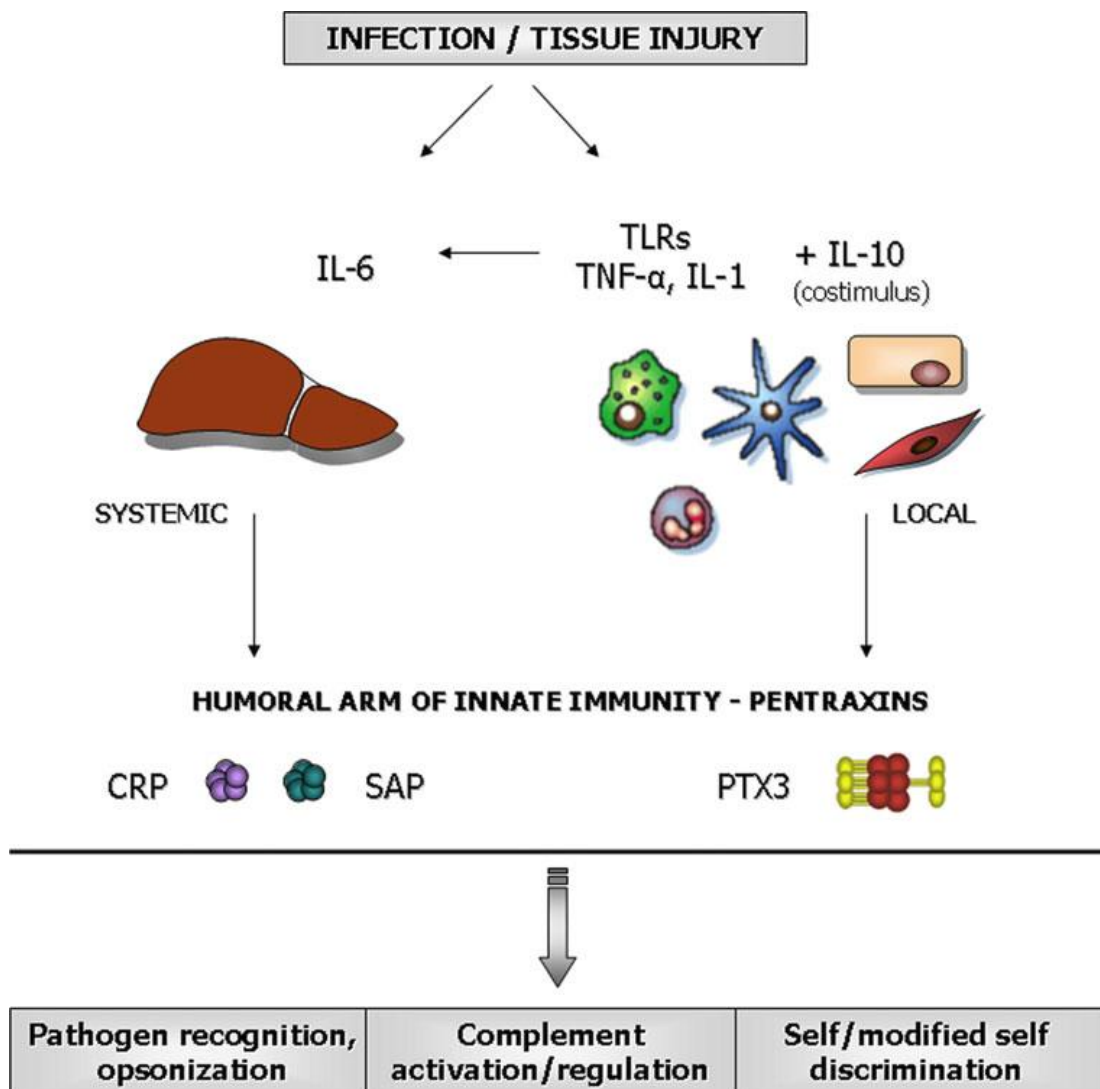
Lidský organizmus má jen málo receptorů vrozené imunity, které jsou schopny působit proti virtuálně neomezenému množství mikrobiálních molekul a tyto receptory nemohou být příliš omezené ve své antigenní specifitě. Ačkoliv je rozpoznání vzorů svojí podstatou málo specifické, musí být schopné rozlišovat mikrobiální molekuly od molekul hostitele, které jsou mnohdy alespoň z části strukturálně velmi podobné. Chyba v rozpoznání „vlastní/cizí“ molekuly může být pro hostitele fatální.⁵ *Pattern recognition* receptory se dělí dle funkce a buněčné lokalizace na dvě hlavní skupiny: buněčné a solubilní.⁶

Buněčné receptory nebezpečných vzorů jsou lokalizovány v různých částech buňky, včetně nitrobuněčných kompartmentů. Jsou exprimovány na buňkách vrozené imunity, ale také na epitelových či endotelových buňkách. Patří mezi ně endocytické receptory jako např. *scavenger* – vychytávací receptor,⁷ signální receptor jako *toll-like* receptor (TLR),⁴ nukleotid-vázající oligomerizační doména (NOD) *like* receptor (NLR)⁸ a „RIG-I-like“ receptor (RLR).

Solubilní receptory nebezpečných vzorů (*opsonins*) jsou zapojeny do opsonizace či např. aktivace komplementu.⁹ Jsou heterogenní skupinou molekul, nezbytných modulátorů vrozené rezistence u zvířat i lidí. Zahrnují *collectins*, *ficolins* a pentraxiny.^{10,11} Některé z těchto molekul jsou skladovány v granulích neutrofilů a jsou okamžitě vyplaveny (během několika minut) do extracelulárního prostředí po stimulaci neutrofilů. Jiné jsou syntetizovány *de novo* mononukleáry a dendritickými buňkami. Přestože jsou strukturálně a i místem a časem produkce velice heterogenní skupinou, jejich společným znakem jsou evolučně velice staré funkce jako opsonizace, aglutinace či aktivace komplementu.³

Přehled některých receptorů nebezpečných vzorů (pentraxinů) znázorňuje Obrázek 1.

Obrázek 1. Přehled pentraxinů v neadaptivní imunitě na zánět/poškození tkáně. Převzato dle Deban a spol.¹² IL – interleukin, TLR – toll-likereceptor, TNF – tumor necrosis factor, CRP – C reaktivní protein, SAP – sérový amyloid P.



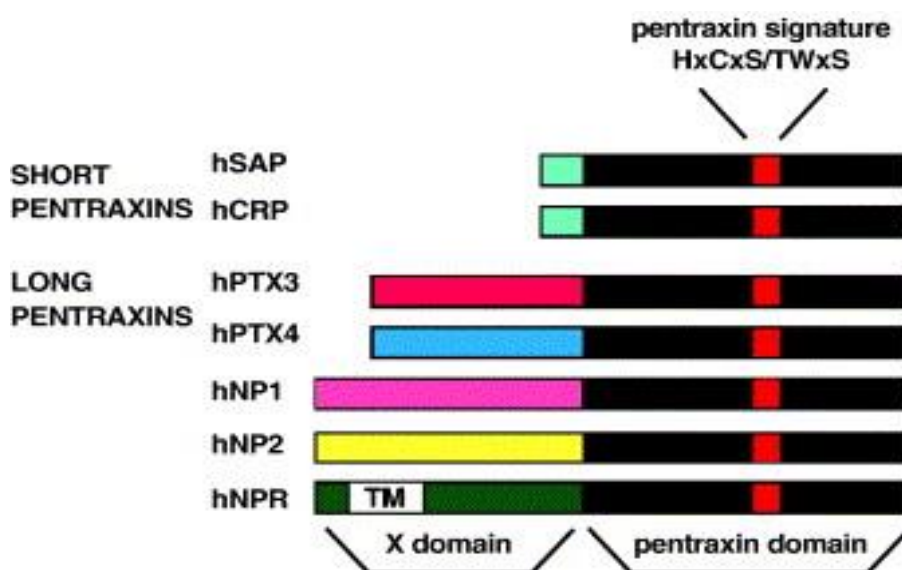
Pattern recognition receptory jsou schopny rozpoznávat mikrobiální a virové struktury. Komplementární struktury rozpoznávané těmito receptory pojmenoval Janeway v roce 1989 *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs).¹³ Tyto mikrobiální vzory jsou evolučně konzervované a vlastní jakýmkoliv virům a mikroorganismům, zároveň jsou ale odlišné od molekulárních struktur hostitele.

Vzhledem k tomu, že receptory pro nebezpečné vzory jsou schopny identifikovat jak nebezpečné vzory patogenních mikroorganismů (exogenního původu), tak i endogenního původu, užívá se někdy název jako receptory imunitního dohledu.¹⁴

1.1.1.1 Pentraxiny

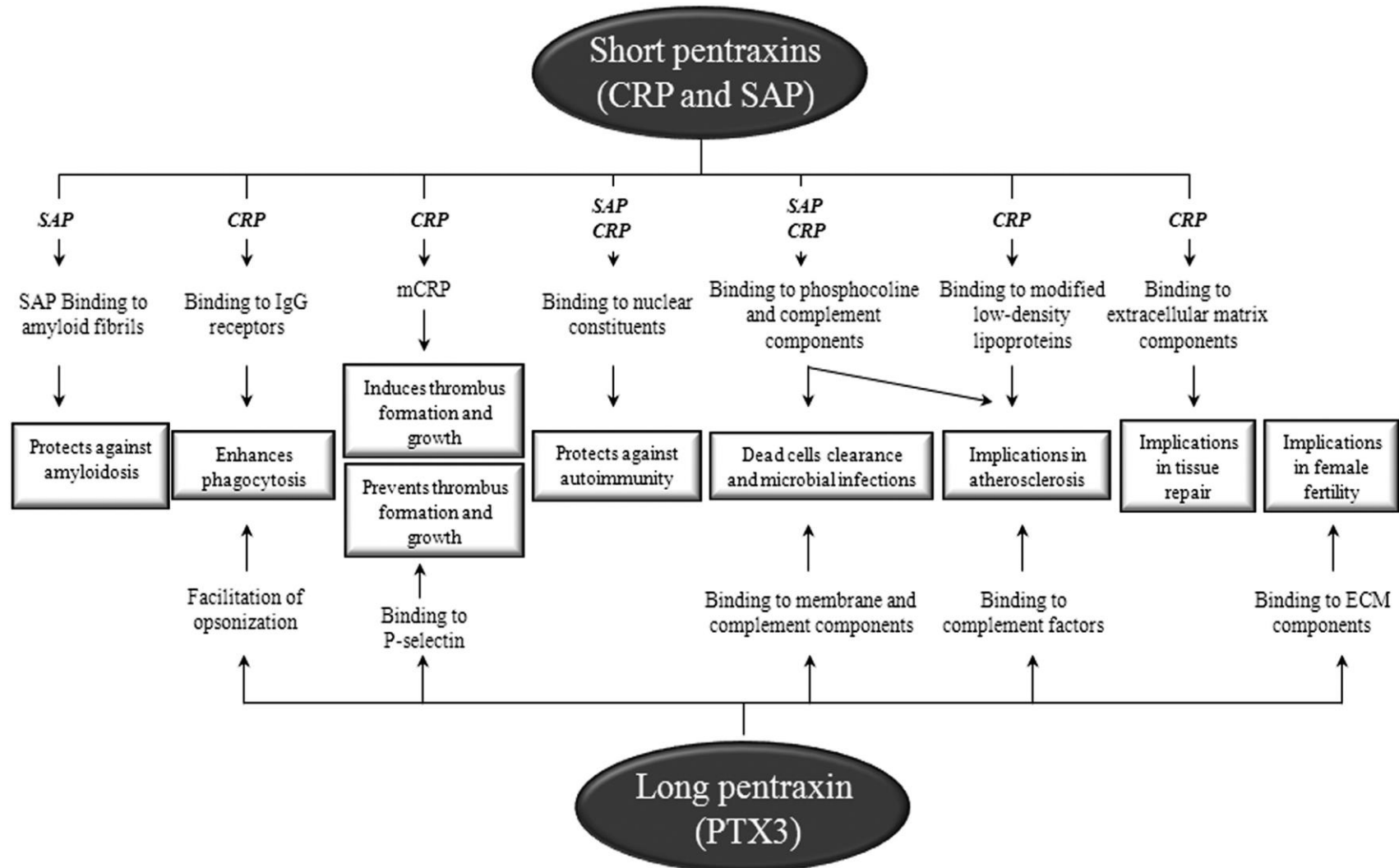
Pentraxiny jsou proteinové komponenty, které jsou významnou složkou humorální vrozené imunity. Jedná se o reaktanty akutní fáze, které jsou dle struktury děleny na dvě skupiny: krátké a dlouhé pentraxiny.¹² Mezi krátké pentraxiny řadíme C reaktivní protein (CRP) a sérový amyloid P (SAP), zatímco pentraxin 3 (PTX3) patří do podskupiny dlouhých pentraxinů. Pentraxinová „superrodina“ je charakterizována strukturálním motivem – pentraxinovou doménou (Obr. 2).¹⁵

Obrázek 2. Rozdělení pentraxinů a pentraxinová doména. Převzato ze zdroje: <https://en.wikipedia.org/>.

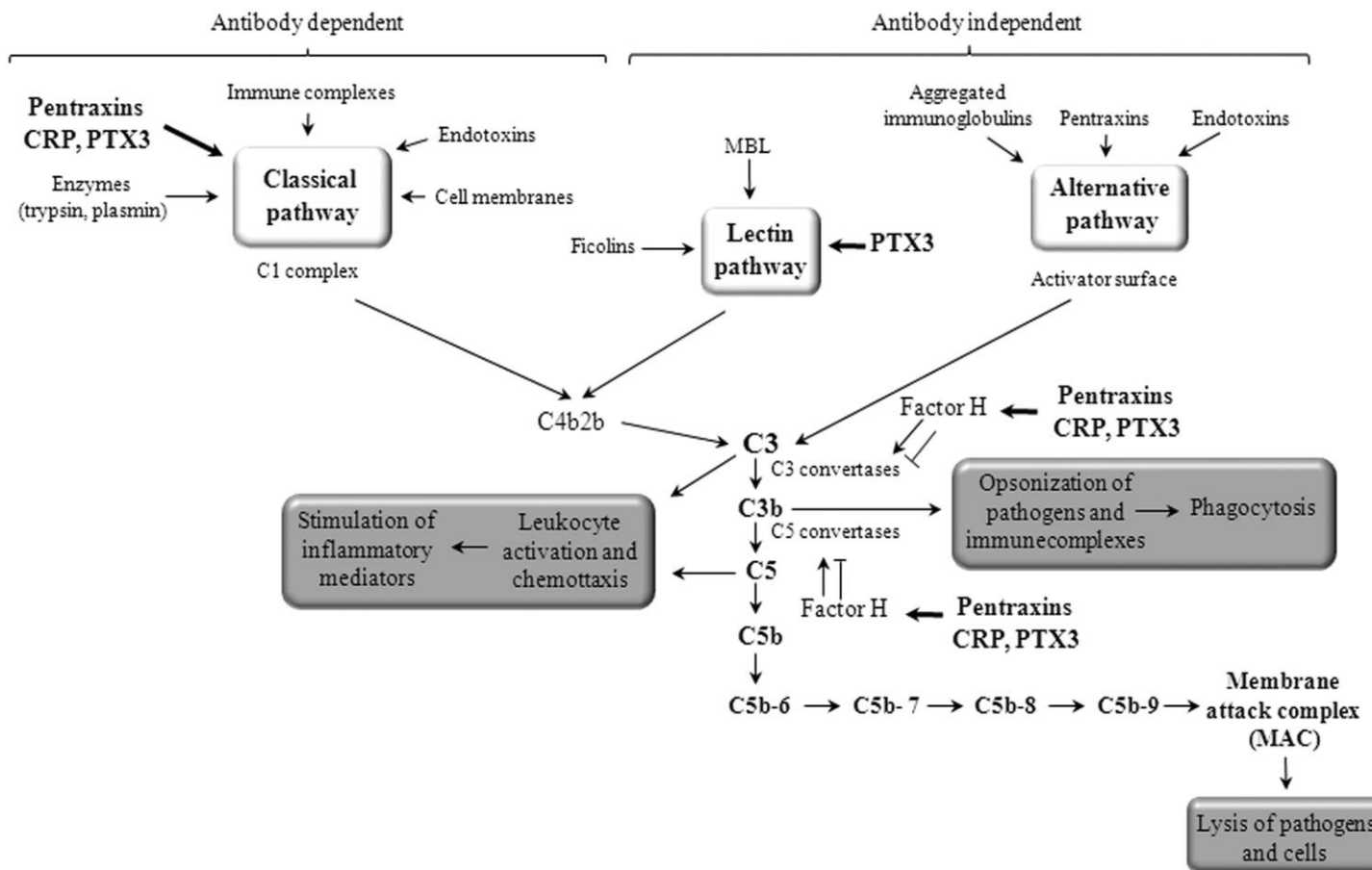


Navzdory tomu, že CRP a PTX3 mají podobné (někdy shodné) základní vlastnosti v regulaci vrozené zánětové odpovědi, existuje několik odlišností mezi těmito molekulami. Mezi tyto patří rozdílná genová organizace, proteinová oligomerizace a exprese vzorů. Krátké pentraxiny jsou syntetizovány především pod vlivem interleukinu 6 (IL-6) v játrech. Pentraxin 3 je produkován několika typy imunitních a cévních buněk v odpovědi na prozánětové signály (kromě IL-6) a zapojením se toll-like receptorů. Pentraxin 3 a SAP, nikoliv CRP, reagují s P-selektinem. Schopností pentraxinů je vazba s velkým množstvím ligand (mikroorganismy, komplementový systém, mrtvé buňky, modifikované plazmové proteiny, buněčné receptory a mimobuněčné matrixové komponenty), čímž mohou ovlivňovat řadu biologických funkcí (Obr. 3). PTX3 i CRP mohou ovlivňovat zánětovou odpověď pomocí komplementového systému (Obr. 4). Tím přispívá vrozená imunita například ke vzniku aterosklerotických změn, trombóze a ischemické choroby srdeční.¹⁶

Obrázek 3. Biologické funkce krátkých pentraxinů CRP a SAP a dlouhého PTX3, ke kterým vedou po navázání, včetně interakcí s různými ligandami. Převzato dle Vilahur a spol.¹⁶ CRP – C reaktivní protein, PTX3 – pentraxin 3, SAP – sérový amyloid P.



Obrázek 4. Aktivace komplementového systému a následné biologické odpovědi (šedé čtverečky). Tři možné způsoby, jimiž může být komplementový systém aktivován: klasická cesta, alternativní a mannose-binding lectin (MBL) cesta (bílé čtverečky). Klasická aktivační kaskáda je nejběžněji zahajována vazbou imunitních komplexů, pentraxinů nebo jiných ligand k C1q. Aktivace komplementu PTX3 a CRP je převážně omezená k C1 komplexu, i když mají taktéž možnost se vzájemně ovlivňovat s faktorem H, což vede k možné regulaci alternativní cesty. PTX3 vazbou k MBL ovlivňuje i lectinovou cestu. Převzato dle Vilahur a spol.¹⁶ CRP – C reaktivní protein, PTX3 – pentraxin 3.

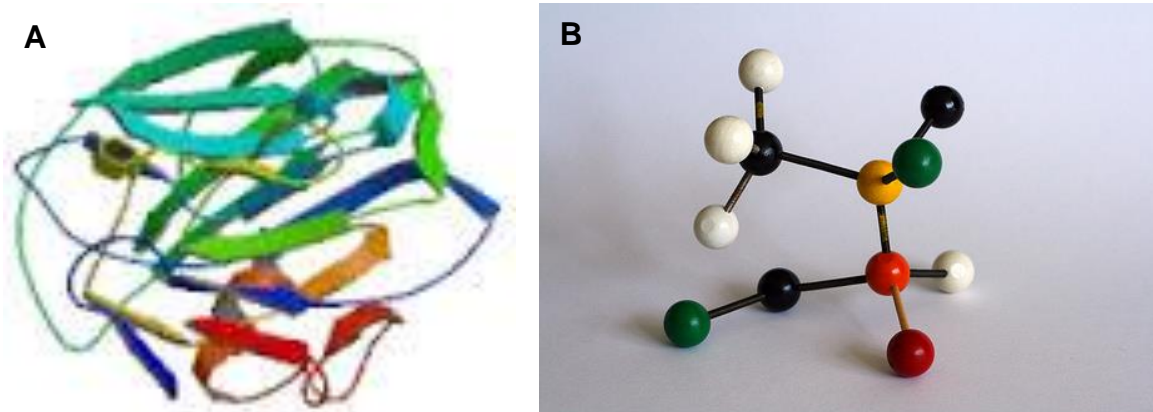


1.1.1.1 Pentraxin 3

Pentraxin 3 byl identifikován v devadesátých letech 20. století jako IL-1 inducibilní gen endoteliálních buněk, resp. jako TNF stimulační gen 14 (TSG-14).^{17,18} V průběhu devadesátých let minulého století byly popsány další 4 dlouhé pentraxiny (*apexin* z guinejského prasete, neuronální pentraxin 1 – NP1/NPTX1, neuronální pentraxin 2 – NP2/NPTX2/Narp a transmembránová molekula receptoru neuronálního pentraxinu – NPR), z roku 2010 pochází první zmínky o PTX4.¹⁹⁻²⁵ PTX3 byl popsán jako možný evoluční prekurzor imunoglobulinů.²⁶

Lidský gen PTX3 je lokalizován na dlouhém raménku třetího chromozómu (3q25).¹⁷ Strukturu dlouhého PTX3 zobrazuje obrázek (Obr. 5 A, B).

Obrázek 5. A. Trojrozměrná struktura lidského pentraxinu 3. B. Molekulární model lidského pentraxinu 3. Převzato (A) ze zdroje: <http://www.uscnk.com/> a (B) <https://en.wikipedia.org/>.



Syntéza PTX3 je podporována cytokiny *tumor necrosis factor alfa* (TNF α) a IL-1 β a jeho exprese je popisována buňkami cévního endotelu, epitelu ledvin, monocytů, makrofágů či svalových buněk.^{17,18,27-29} Je produkován především lokálně v místě postižení. Jeho diagnostický potenciál je nejen u infekčních chorob, kdy dochází k rychlé produkci PTX3 během infekce.³⁰ Ze své normální sérové koncentrace (pod 2 ng/ml) rychle vzrůstá i na stonásobné hodnoty a dosahuje maxima již za 6–8 hodin.^{31,32} Zvýšené hodnoty byly pozorovány u sepse, septického šoku, meningokokových infekcí, tuberkulózy či horečky *Dengue*, tedy infekčních dějů.³³⁻³⁷ Zdá se také, že právě u infekčních dějů, ať již na podkladě bakteriálních či mykotických patogenů, je jeho funkce především protektivní. Zároveň se ale ukazuje, že dlouhodobě zvýšené hladiny pentraxinu 3 mohou prodlužovat

zánětovou odpověď a být spojeny s následnými nežádoucími zánětovými odpověďmi, jako je poškození tkáně a koagulopatie. Měření a sledování hladiny PTX3 při klinických známkách sepsy by mohlo lépe identifikovat pacienty s vyšším rizikem vzniku komplikací a tím vést k časnějšímu zahájení adekvátní léčby.²⁶ Též u jiné, leč malé skupiny kriticky nemocných pacientů se sepsí či septickým šokem, korelovala hladina PTX3 s tíží onemocnění.³⁷ Dle Liu a spol. mají sérové hladiny PTX3 malý diagnostický potenciál u kriticky nemocných pacientů se SIRS, sepsí či bakteriemií. Zároveň se ale zdá, že sérové hladiny PTX3 mají vyšší prognostický potenciál než běžně užívané biologické markery. Hladiny PTX3 pozitivně korelovaly se známkami orgánové dysfunkce a s klasifikačními skórovacími systémy. Hladiny PTX3 zůstaly zvýšené v době akutního zánětu, ale klesaly v době rekonvalescence.³⁸

Patofyziologická role PTX3 byla zkoumána díky geneticky modifikovaným myším, jelikož genové organizace a regulace jsou velmi konzervované u lidí i myší. *Z in vivo* studií se jeví, že PTX3 má hlavně protektivní efekt hostitele, ale za jistých patologických okolností se může projevit jeho negativní efekt.³⁹ Lidské *kolostrum* obsahuje vysoké hladiny PTX3 díky produkci PTX3 epiteliálními prsními a myeloidními buňkami. Zároveň *per os* podaný PTX3 chrání proti bronchopulmonálnímu zánětu způsobenému *Pseudomonas aeruginosa* novorozené myši. Zdá se tedy, že kojení je důležitým zdrojem PTX3 a obranným mechanismem proti novorozeneckým infekcím u myší. Zároveň je důležitou součástí vrozené rezistence vůči uropatogenní *Escherichia coli* u infekcí močového traktu lidí i myší.⁴⁰ Interakce PTX3 s jistými typy *Influenza A* viru vedou k antivirální aktivitě a neutralizaci viru.⁴¹

Je známa skutečnost, že na nádorovou aktivitu mají vliv i zánětové biomarkery. Zvýšené hladiny PTX3 byly nalezeny u různých typů nádorů, jako jsou gliomy, liposarkomy, rakovina plic, prostaty, pankreatu či kostních metastáz rakoviny prsu.⁴⁰ Problematika PTX3 byla popsána v řadě autoimunitních onemocněních, včetně revmatoidní artritidy, systémového *lupus erythematosus* (SLE), systémové sklerózy a vaskulitid malých tepen.^{42,43} V případě vaskulitid malých tepen korelovala hladina PTX3 s aktivitou onemocnění i odpovědí na léčbu.³³ U některých autoimunitních onemocnění, jako SLE či Crohnova choroba, však nedocházelo k zvýšení hladiny PTX3.

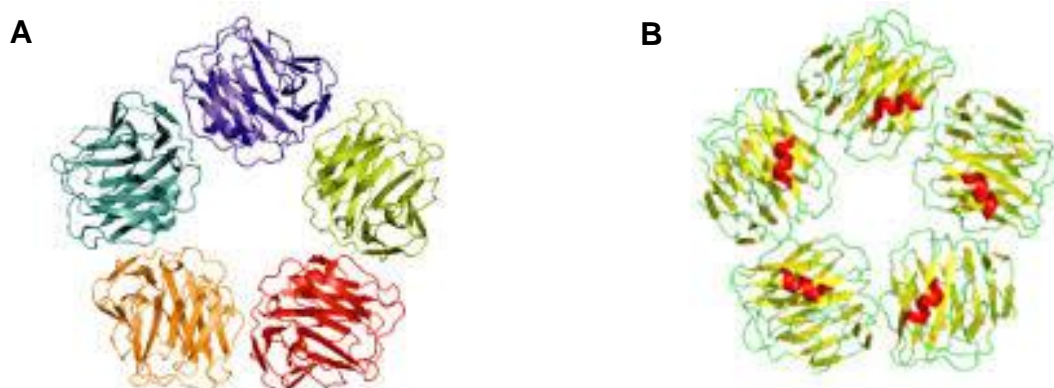
Jedinečný způsob lokální produkce PTX3, ale i možnost okamžitého vyplavení dávají předpoklady, že by se PTX3 mohl stát velice senzitivním biomarkerem, který reaguje na prvotní lokální signály přirozené imunity a zánětu. Současná data ukazují na možnou prognostickou schopnost PTX3 s ohledem na kardiovaskulární onemocnění.⁴⁴

Pentraxin 3 je spojen s kardiovaskulárními onemocněními a jejich rizikovými faktory nezávisle na hladinách CRP.⁴⁵ U pacientů tři měsíce po infarktu myokardu byla prognostická hodnota PTX3 nadřazena CRP, kreatinkináze, troponinu T a *N-terminal prohormone brain natriuretic peptide* (NT-proBNP).⁴⁴ Liu a spol. sledovali dlouhodobou prognostickou hodnotu PTX3 u pacientů s chronickým srdečním selháním. Po období tří let sledovali u 377 pacientů možné kardiovaskulární komplikace, zahrnující smrt na srdeční příčinu či nutnost rehospitalizace z důvodu zhoršení stavu při srdečním selhání. Hladiny PTX3 byly statisticky významně vyšší u pacientů se srdečním selháním než u zdravých jedinců a hladiny přímo korelovaly s vyšší funkční třídy klasifikace dle *New York Heart Association* (NYHA). Taktéž byly hladiny PTX3 vyšší u jedinců s komplikacemi srdečního selhání než u jedinců bez těchto komplikací. Zdá se tedy, že hladiny PTX3 jsou nezávislým dlouhodobým prediktorem prognózy pacientů se srdečním selháním.⁴⁶ Zvýšené hladiny byly pozorovány při progresy aterosklerózy, ischemické choroby srdeční nebo při infarktu myokardu.^{31,32,44,47,48} V případě vztahu fibrilace síní a hladiny pentraxinu 3 je počet studií velmi limitovaný.^{49,50}

1.1.1.1.2 C reaktivní protein

První zprávy o CRP pocházejí z třicátých let 20. století.⁵¹ Byl popsán a pojmenován díky jeho schopnosti na kalcium závislé vazby C-polysacharidu bakterie *Streptococcus pneumoniae*.⁵² Díky jeho kalcium-vazebné specifitě pro *fosfocholin*, resp. širokou distribucí *fosfocholinů* v polysacharidech patogenů a v buněčných membránách, umožňuje CRP rozpoznat velkou škálu patogenních molekul, poškozených membrán a nekrotických buněk.⁵³ CRP je znám také pod pojmem Pentraxin 1. Gen je lokalizován na dlouhém raménku prvního chromozomu (1q23.2).⁵⁴ CRP, stejně jako další krátký pentraxin SAP, jsou 25 kDa proteiny se shodným strukturálním uspořádáním, složených z pěti či deseti identických subjednotek sestavených do pentameru (Obr. 6 A, B).^{55,56}

Obrázek 6. **A.** Trojrozměrná struktura lidského C reaktivního proteinu. **B.** Trojrozměrná struktura lidského serového amyloidu P. Převzato (A) ze zdroje: <https://www.rndsystems.com/> a (B) <https://en.wikipedia.org/>.



Oba krátké pentraxiny jsou hlavními reaktanty akutní fáze jak u lidí, tak myši. CRP a SAP se váží na nukleoproteiny, které se uvolňují při rozpadu tkání a napomáhají jejich odstranění fagocytózou. Agregovaný nebo navázaný na makromolekulární ligandy je lidský CRP rozpoznán složkou komplementu C1q a silně aktivuje klasickou komplementovou kaskádu C3, hlavní adhezivní molekulu komplementového systému a konečný membránový komplex C5–C9.⁵⁷ Může však také ovlivňovat i alternativní komplementovou kaskádu (Obr. 4).

CRP je tvořen především hepatocyty za podpory silně prozáněťového cytokinu interleukinu 6 (IL-6).⁵⁸ Dalšími místy produkce jsou např. ledviny, cévní stěna či adipocyty. Tyto alternativní zdroje ale nemají zásadní vliv na zvýšení hladiny proteinu v průběhu akutního zánětu.⁵⁹ CRP obecně zesiluje záněťovou aktivitu. Detekovatelný je i u zdravých lidí, avšak jeho koncentrace v séru se může zvýšit v mnoha patologických podmínkách (infekce, nádorové a autoimunitní choroby, poškození tkáně nebo jiné prozáněťové stimuly).⁵⁴

U zdravých dospělých dárců krve je mediánem hladiny CRP hodnota 0,8 mg/l, devadesátý percentil je 3,0 mg/l, a devadesátý devátý percentil je 10 mg/l.⁶⁰ Následkem akutního infarktu mohou hodnoty stoupat z méně než 50 µg/l na více než 500 mg/l, tedy až 10 000 násobně. U neselektované populace „údajně“ zdravých lidí je medián hladiny CRP lehce zvýšen než u mladých zdravých dárců krve, což je nejspíše dáno věkem, ale i subklinickými patologiemi.⁶¹ Hladina CRP je pro daného jedince stabilní, kromě ojedinělých vzestupů při (sub-)klinických infekcích, zánětech či traumatech. Není známo sezónní kolísání hladin, ani kolísání v rámci diurnálního rytmu či ve vztahu k jídlu.

Na základní hladinu CRP má velký vliv dědičnost a to v tomto směru více než *body mass index* (BMI) či věk. Produkci CRP ovlivňuje jaterní selhání, jinak žádné jiné přechodné patologie a jen velmi málo léků (např. nesteroidní antirevmatika a statiny) způsobuje pokles jeho hladin.⁶² Obě skupiny léků mohou snižovat zánětovou reakci a tím i hladinu CRP.

Stanovování hladiny CRP je hodnotné u některých klinických jednotek nejen k ujištění diagnózy, ale i k monitoraci onemocnění či efektu léčby a to nejen antibiotické, ale i např. imunosupresivní léčby. Mezi metody, které se používají k jeho stanovení, patří *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), *immunoturbidimetrie*, rychlá *immunodifuze* a vizuální aglutinace. Nevýhodou CRP je jeho nízká specifita. Hodnoty CRP nemohou být ve vlastním slova smyslu brány jako diagnostické, ale mohou být pouze interpretovány v kontextu klinických známek či patologických nálezů.⁶² CRP informuje např. o přítomnosti infektu, nikoliv o jeho tíži či orgánovém poškození.

Zvýšení hladiny začíná již po 6 hodinách a maxima dosahuje přibližně za 48 hodin po prvotním inzultu. Biologický poločas CRP je přibližně 19 hodin a je konstantní za všech podmínek (ve zdraví, i v průběhu nemoci). Když stimulus, který zapříčinil vzestup hladiny CRP přestane působit, klesá hladina CRP velmi rychle, téměř s plazmatickou *clearance* CRP.⁶²

CRP se podílí na antimikrobiální odpovědi, ale také na odstraňování nefunkčních buněk. C reaktivní protein je již řadu let používán v diagnostice infekcí, kdy nám rychlý a vysoký vzestup (typicky nad hodnoty 60 mg/l) spolu s klinickými známkami usnadňuje rozhodování o následné léčbě antibiotiky při podezření na bakteriální onemocnění. Tímto CRP velmi rychle nahradilo v řadě klinických jednotek (nikoliv všech) stanovování viskozity plazmy či sedimentaci erytrocytů. Při úspěšné antibiotické léčbě dochází k rychlému poklesu hladin CRP, v řadě případů také ke klinickému zlepšení. Virové infekce naproti tomu bývají charakterizovány relativně malým vzestupem CRP (zpravidla pod 40 mg/l), k zvýšení hladin CRP dochází i u mykotických infekcí.

K vzestupu CRP dochází i při poškození tkáně, jako tomu bývá např. u infarktu myokardu. V kardiovaskulární problematice bylo také zjištěno, že relativně vyšší hladiny tzv. vysoce senzitivního CRP (hsCRP) u jinak zdravých jedinců jsou spojeny se zvýšeným rizikem následných kardiovaskulárních událostí, jako jsou náhlá srdeční smrt, infarkt myokardu, cévní mozková příhoda a periferní aterosklerotické onemocnění tepen dolních končetin.⁶³ Naopak lidé s nižší hladinou hsCRP mají nižší riziko kardiovaskulárních onemocnění. Byla též nalezena silná asociace mezi CRP hladinou a BMI a snížením

hladiny CRP v případě poklesu tělesné hmotnosti.⁶⁴ Zvýšené základní hladiny jsou spojené i s metabolickým syndromem, inzulinovou rezistencí a *diabetes mellitus*.⁶⁵ Toto může z části vysvětlovat fakt, že adipocyty jsou mimo jiné také zdrojem IL-6 a nejspíše syntetizují a sekretují i CRP.⁶⁶ Produkce CRP predikuje vznik *diabetes mellitus* nezávisle na tradičních rizikových faktorech.

U žen na substituční hormonální terapii byla nalezena vyšší hladina hsCRP než u žen bez této léčby, stejně tak jako u pacientů s chronickými onemocněními, jako např. artritidami, u nichž je známé zvýšení hladin CRP. Z tohoto důvodu by se testy na stanovování hsCRP u těchto pacientů neměly provádět.

Díky *immunoassay* s vyšší senzitivitou pro CRP, bylo v devadesátých letech minulého století zjištěno, že vyšší hodnoty, leč do té doby pohybující se v normálních hodnotách, silně predikují budoucí kardiovaskulární události. Toto vzbudilo velkou pozornost především v USA, kde stanovování hladiny CRP bylo po dobu cca. 30 let ignorováno.⁶⁷ Zmíněný vysoce senzitivní (hsCRP) CRP se stanovuje pomocí *laserové nephelometrie*. Výsledky jsou většinou známy za 25 minut se senzitivitou nižší než 0,04 mg/l. Označení „vysoce senzitivní“ značí tak pouze nižší detekční limit *assaye*, která byla použita.

Jelikož stanovování hladin CRP je již velmi dobře etablovanou metodou, a pro většinu lékařů běžně užívaným parametrem, není divu, že stanovování CRP je v řadě studií prováděno spolu s dalšími, novými biomarkery. V kardiovaskulární problematice se to týká nejenom zmiňovaných studií týkajících se infarktu myokardu, ale i srdečního selhání, ischemické choroby srdeční a různých typů arytmií.⁶⁸⁻⁷⁰ V případě nejčastěji se vyskytující arytmiie, fibrilace síní, jsou názory na stanovování hladin CRP, respektive možnou diagnostickou či prognostickou schopnost CRP, velmi různorodé.⁷¹⁻⁷⁵

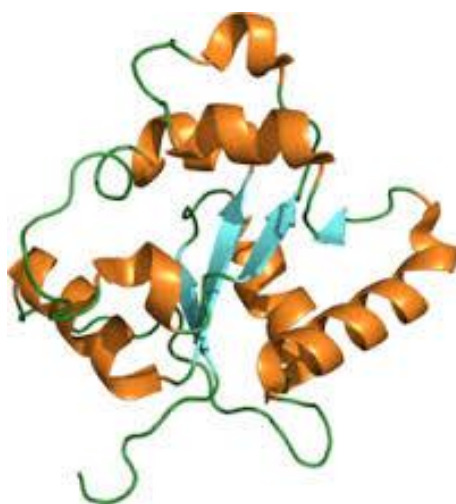
1.1.1.2 *Toll-like receptor 2 (TLR2)*

Toll-like receptory (TLR) jsou také řazeny mezi *pattern recognition* receptory (PRR) společně s vychytávacími a lektinovými receptory, *NOD-like* receptory (NLR), *RIG-I-like* receptory (RLR) a pentraxiny.

Toll receptory (TR) byly objeveny na konci 90. let jako proteiny vázající endogenní ligand *Spatzle* a určující tak dorzoventrální polaritu embrya *Drosophila melanogaster*.^{76,77} *Toll* receptorům drozophily podobné struktury byly objeveny i u savců a dalších živočišných druhů. Savčí obdoba *Toll* byla pojmenována *Toll-like* receptory (TLR) a vůbec prvním objeveným receptorem byl TLR4.⁷⁸ Doposud bylo popsáno 10 druhů TLR u lidí a 12 TLR receptorů u myší.⁷⁹ Tyto receptory jsou v buňce lokalizovány jak

na cytoplazmatické membráně, tak v nitrobuněčných kompartmentech (intracelulárně například TLR3, 7, 8 a TLR9) a rozpoznávají různé typy mikrobiálních nukleotidových kyselin. TLR2 utváří heterodimerický komplex buď s TLR1 nebo s TLR6, který se může vázat k lipopeptidům nebo lipoproteinům bakteriální membrány.⁵ Vazby, které tvoří, jsou velmi stabilní a to i přes skutečnost, že vazby mohou být jak s molekulami různorodými co do velikosti tak hydrofilní/hydrofobní. Vazba ligand na tyto receptory vede k aktivaci signální dráhy NF κ B (*nuclear factor-kappaB*) a interferonových regulačních faktorů a v důsledku tedy k prozáněťovým aktivitám.^{2,76,80} Toto obratem vede k indukci imunitních a záněťových genů, zahrnující tak důležité cytokiny jako TNF α (*tumor necrosis factor*) a typ i interferon.⁸⁰ Porovnání sekvencí ukazuje, že rodina proteinových TLR má stejné uspořádání domén s jednou transmembránovou spirálou spojující mimobuněčnou doménu vázající ligandy s nitrobuněčnou signální doménou⁸¹, trojrozměrný model TLR2 je znázorněn na Obrázku 7. Mimobuněčná doména TLR patří do *leucine-rich repeat* (LRR) rodiny. Jedná se o relativně velkou rodinu proteinů. Mimobuněčná doména váže ligandy buď přímo nebo pomocí koreceptor-ligandových komplexů a to zahájí ligandem zprostředkovanou multimerizaci receptorů. Nitrobuněčná signální doména TLR má značné sekvenční shody s interleukin-1-receptorem a je označována jako *Toll/IL-1R* homologní (TIR) doména.

Obrázek 7. Trojrozměrný model TLR2. Převzato ze zdroje: <https://en.wikipedia.org/>.



TLR jsou exprimovány na rozmanitých buňkách. TLR2 je exprimován na lidských myeloidních dendritických buňkách, na monocytech, ale i na granulocytech. Vyšší denzita exprese byla však prokázána především na monocytech ve srovnání s granulocyty.⁷⁹ V menší míře též na adipocytech, epiteliálních buňkách tlustého střeva a renálních tubulů.^{76,82} TLR2 byl detekován na lidských kardiomyocytech i na endoteliálních buňkách aorty.^{83,84}

Důležitou roli vrozené imunity hrají TLR proti infekci vazbou na mikrobiální molekuly. Zprostředkovane regulují i specifickou imunitu aktivací buněk prezentující antigen a tvorbou humorálních působků.⁸⁵ TLR se podílejí na mechanizmech, které na konci zánětové reakce zajišťují procesy tkáňové reparace. Deregulace v TLR aktivitě je zapojená do několika málo infekčních a neinfekčních symptomů, které mohou mít fatální následky.⁵ Současné studie ukazují, že TLR4 jsou aktivovány ve tkáních postižených chronickým zánětem při revmatoidní artritidě, sepsi či ischemicko-reperfuzním syndromu a alergii. TLR2 je zapojen do podobných patologických stavů, ale také u systémového *lupus erythematosus* a tumorových metastáz.⁸⁰ Průkazně TLR2 a TLR4 ovlivňují vznik ischemicko-reperfuzního poškození, ke kterému dochází např. při infarktu myokardu, mrtvici, transplantacích nebo kardiochirurgických operacích s použitím mimotělního oběhu. Inhibice signalizace TLR2 a TLR4 vedla ke snížení ischemicko-reperfuzního poškození u myšího modelu.⁸⁶

V současné době roste zájem o TLR v prevenci a léčbě rakoviny, revmatoidní artritidy, SLE a chronických střevních zánětů. Některé nové léky se nacházejí v preklinických a klinických studijních stadiích, především TLR7 a TLR9 aktivátory jako *adjuvancia* v léčbě infekcí a nádorů, dále inhibitory TLR2, TLR4, TLR7 a TLR9 pro léčbu sepse a zánětových chorob.⁸⁷ Slabý agonisté TLR4 byly nedávno schváleny jako všeobecné stálé *adjuvancium* vakcín.⁸⁸

1.1.2 Interleukiny

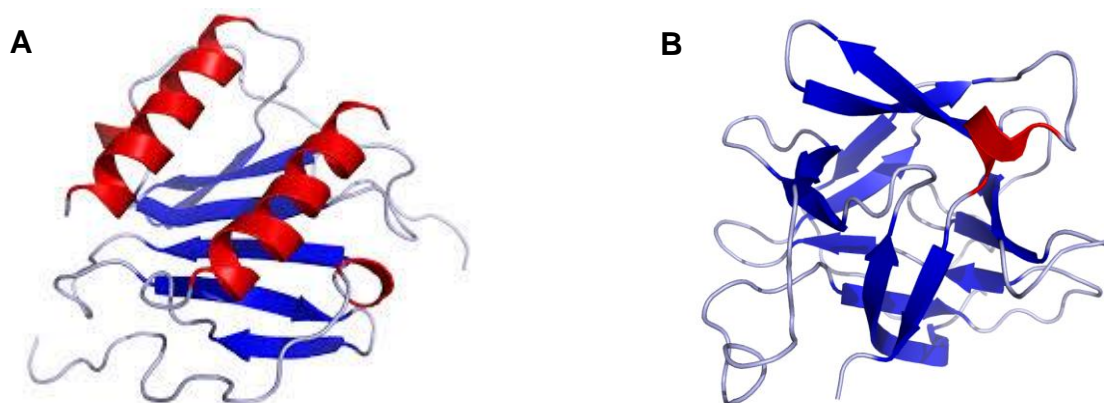
Interleukiny se řadí mezi cytokiny. Jedná se o proteiny, které se podílejí na regulaci imunitních dějů. Slovo interleukin pochází z latinského *inter* – mezi a řeckého *leukos* – bílý. Pojmenování tak vzniklo podle předpokladu, že se jedná o produkt bílých krvinek. Nicméně nejenom leukocyty jsou zdrojem interleukinů. Interleukiny jsou tvořeny CD4-positivními Th-buňkami, monocyty, makrofágy a endotelovými buňkami. Interleukiny zprostředkovávají komunikaci mezi leukocyty, ale i jinými buňkami imunitního systému, např. makrofágy. Číselné označení interleukinů odpovídá pořadí

jejich objevu. Můžeme je dělit například dle souhrnu jimi vyvolaných reakcí na prozáněťové (např. IL-1, IL-2) nebo naopak protizáněťové (tlumivé; např. IL-10).

1.1.2.1 Interleukin 8

Interleukin 8 patří do skupiny prozáněťové s chemotaktickými vlastnostmi (rodina chemokinů).^{89,90} Strukturální model interleukinu IL-8 je znázorněn na Obrázku 8A.

Obrázek 8. Strukturální model IL-8 (A) a IL-18 (B). Převzato ze zdroje: <https://en.wikipedia.org/>.



Lidský gen IL-8 je lokalizován na dlouhém raménku čtvrtého chromozómu (4q13-q21). Patří mezi polymorfní geny.⁹¹ Protein je produkován monocyty, neutrofilny, endoteliálními a mezoteliálními buňkami na podkladě různých stimulů (infekce, trauma, akutní koronární syndrom reperfuze).^{92,93} Jeho funkcí je aktivovat neutrofilny s jejich následnou migrací do místa zánětu.⁹⁴ Z normální sérové hladiny (méně než 3 pg/ml)⁹⁵ dochází velmi rychle k jejímu vzestupu až na stonásobné hodnoty během několika málo hodin (1–3 h) s maximem okolo 4.–5. h po inzultu.⁹⁶ Interleukin 8 se podílí na záněťové odpovědi u novorozenců se sepsí a ke zvýšení hodnot dochází s prohlubující se závažností infekce. Diagnostická role IL-8 byla však podřazena diagnostickému potenciálu současně sledovaného interleukinu 6.⁹⁷ Vyšší hladiny IL-8 u pacientů se STEMI (infarkt myokardu s elevacemi ST úseků) komplikovaných srdečním selháním byly spojeny s nižší pravděpodobností zlepšení kontraktilní funkce levé srdeční komory během šesti týdnů po perkutánní koronární intervenci (PCI).⁹⁸ Nicméně role interleukinu 8 vzhledem k infarktu myokardu, ale i fibrilaci síní se zdá být rozporuplná.^{99,100}

1.1.2.2 Interleukin 18 a interleukin 18-binding protein

Interleukin 18 byl v roce 1989 zprvu popsán jako indukující faktor pro interferon gama (*interferon- γ (IFN γ)-inducing factor*)¹⁰¹, který byl nalezen během endotoxémie u myši způsobené infekcí *Propionibacterium acnes*. Je produkován především aktivovanými makrofágy a hraje důležitou roli v Th1 zprostředkované imunitní odpovědi, díky jeho schopnosti indukovat produkci INF γ v T lymfocytech a NK buňkách.¹⁰² Patří do IL-1 rodiny, díky struktuře (Obr. 8B), podobnosti receptorů a funkci. Stejně jako IL1 β je i IL-18 syntetizován jako inaktivní prekurzor¹⁰² a stejně jako IL-1 hraje i IL-18 důležitou roli ve vrozené i získané imunitě. Lidský gen IL-18 je lokalizován na dlouhém raménku 11. chromozómu (11q22.2–q22.3)¹⁰³ a jeho protein patří do skupiny silně prozáněťových cytokinů. K měření jeho hodnot se využívá ELISA.¹⁰⁴ Celková hladina IL-18 u zdravých jedinců byla zjištěna 64 ± 17 pg/ml a většina z této hodnoty, přibližně 85 %, je ve volné formě, zbylých 15 % tvoří komplex IL-18 s IL-18BPa.¹⁰⁵

Jedná se o *pleiotropní* cytokin, který synergizuje s IL-12 a je spojovacím článkem mezi buněčnou a humorální imunitou. Je důležitý v zahájení aktivace makrofágů a podílí se na rezistenci proti bakteriálním a parazitickým infekcím.¹⁰⁶ U pacientů se sepsí byl prokázán rychlý vzestup hladin IL-18 a vyšší hladiny byly spojeny s vyšším rizikem úmrtí.¹⁰⁷ U pacientů v sepsi způsobené gram pozitivními bakteriemi byly pozorovány mnohem vyšší hladiny IL-18 než u septických pacientů s gramnegativními bakteriemi.¹⁰⁸ K elevaci sérových hladin IL-18 však dochází i u pacientů se zánětlivými procesy neinfekční povahy, hraje důležitou úlohu u celé řady imunopatologických reakcí směřujících k poškození tkání a orgánů. IL-18 má vztah k vulnerabilitě aterosklerotického plátu a zároveň je nezávislým prediktorem budoucích nežádoucích cerebrovaskulárních událostí, respektive smrti u pacientů s kardiovaskulárními onemocněními.¹⁰⁹ Přírodním inhibítorem IL-18 je jeho vazebný protein interleukin-18 *binding protein* (IL-18BP). Efektivně blokuje IL-18 vytvořením 1:1 vysoce afinitního ($K_d = 400$ pM) komplexu, přičemž se nejedná o variantu buněčného receptoru IL-18. Váže pouze „zralý IL-18“ nikoliv jeho prekurzor. Jeho hlavní varianta IL-18BPa je jeho dílčí protein, který váže IL-18 a tím blokuje jeho biologickou aktivitu. Leč je tato vazba silně specifická, nemá žádnou strukturální spojitost s žádnou z obou komponent buněčných receptorů (IL-18Ra/b). Sérová hladina IL-18BPa u zdravých lidí byla zjištěna na $2,15 \pm 0,15$ ng/ml (0,5–7 ng/ml) a nebyla ovlivněna věkem, pohlavím ani sérovou hladinou IL-18BPa. V průběhu sepse vystoupala hladina až na $21,9 \pm 1,44$ ng/ml (4–132 ng/ml).¹⁰⁵

Interleukin 18 patří mezi imunoglobuliny, jehož gen je lokalizován na dlouhém raménku lidského 11. chromozómu (11q13).¹¹⁰ IL-18BP může potlačovat produkci IFN γ , IL-8 a aktivaci NF-kB *in vitro* a tímto působit jako inhibitor Th1 cytokinové odpovědi. Hladiny IL-18 a IL-18BP se zvýší u pacientů s nestabilní anginou pectoris/akutním infarktem myokardu na hodnoty okolo 210/300 pg/ml v případě IL-18 a 1,4/1,8 ng/ml v případě IL-18BP. Kontrolní skupina zdravých jedinců měla hodnoty 80 pg/ml v případě IL-18 a 0,5 ng/ml pro IL-18BP.¹¹¹ Jeho receptor IL-18R byl nalezen na T a B lymfocytech, NK buňkách, makrofázích, řadě epiteliálních buněk a dalších.¹¹² Jedná se o *heterodimer* sestávající z dvou α a β podjednotek. IL-18R α váže IL-18 a IL-18R β signální jednotku¹¹³. Interleukin 18 se aktivuje vazbou na tento receptor. Interleukin 18 může také zvýšit expresi některých matrixových metaloproteináz – *matrix metalloproteinases* (MMPs). Bylo zjištěno, že některé typy MMPs, ale i změny hladiny IL-18 mohou mít vliv na vznik fibrilace síní.¹¹⁴

1.1.3 Matrixové metaloproteinázy (MMPs)

Matrixové metaloproteinázy *matrix metalloproteinases* patří mezi proteolytické enzymy zaměřující se především na mezibuněčnou hmotu. Mají za úkol štěpit a remodelovat pojivovou tkáň (kolagen, elastin, želatinu a kasein), dalšími substráty jsou cytokiny, chemokiny a proteinázy. Jejich název pochází ze schopnosti vazby na kovové ionty zinku a vápníku. Jedná se o na zinku závislé endopeptidázy. Katalytická aktivita je regulována na několika úrovních zahrnující transkripci, sekreci, aktivaci a inhibici.¹¹⁵

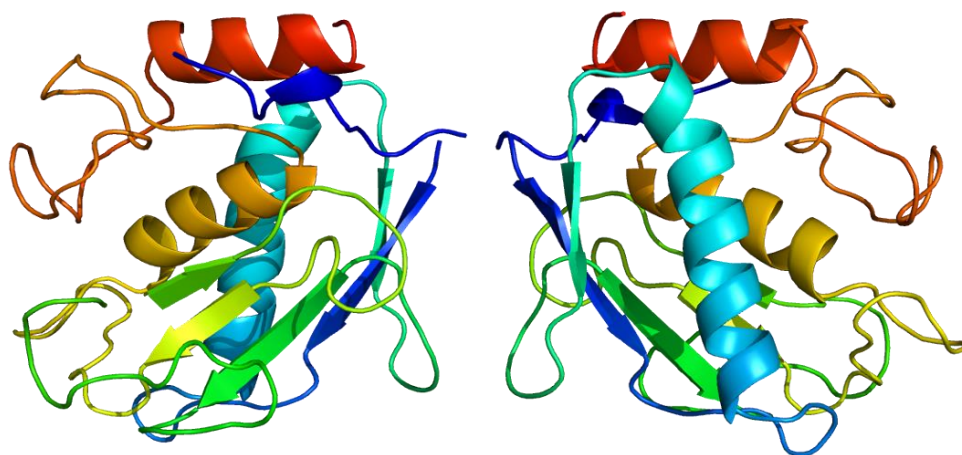
V organismu se vyskytují ve více formách, nyní je známo 23 typů MMPs rozlišujících se dle presyntetického úseku na chromozómech a specifitou k substrátu.¹¹⁵ Jen malá část MMPs je vázána membránově. Gen MMP8/MMP7 je lokalizován na dlouhém raménku 11. chromozómu (11q22.3).¹¹⁶ Matrixové metaloproteinázy jsou důležité v řadě fyziologických procesů, jako jsou embryogeneze, reprodukce, ovulace, remodelace nejenom kostní tkáně, hojení, angiogeneze a apoptóza, ale i v patologických stavech jako jsou zánětové procesy (artritidy, sepse), nádorové bujení s tvorbou metastáz, kardiovaskulární a nefrologická onemocnění.¹¹⁷

Většina z MMPs rodiny je strukturálně organizovaná ze třech základních, konzervovaných jednotek: amino-terminální propeptid, katalytická doména a *hemopexin-like* doména na *carboxy-terminalní* proteinové doméně.¹¹⁵

1.1.3.1 Matrixová metaloproteináza 7 (MMP7)

MMP7 je známa též pod názvy *matrilysin pump-1 protease* (PUMP-1) nebo *uterine metalloproteinase*. Byla popsána v roce 1988.¹¹⁸ Hlavní roli aktivované MMP7 je rozložit mimobuněčnou hmotu degradací makromolekul různých typů kaseinů, proteoglykanů a fibronektinů. Důležitou roli hraje v hojení ran. MMP7 byla zjištěna v různých typech epiteliálních buněk a z buňky je sekretována ve formě proenzymu, který je podle potřeby pro samotné štěpení aktivován ionty zinku. MMP7 se od většiny ostatních MMPs liší nepřítomností typické, konzervované C-terminální proteinové části na hemopexinové doméně a tím se jedná o nejmenší bílkovinu z řad MMPs (Obr. 9).¹¹⁵ Hladiny MMP7 se určují pomocí ELISA s rozpětím 0,15–10 ng/ml.

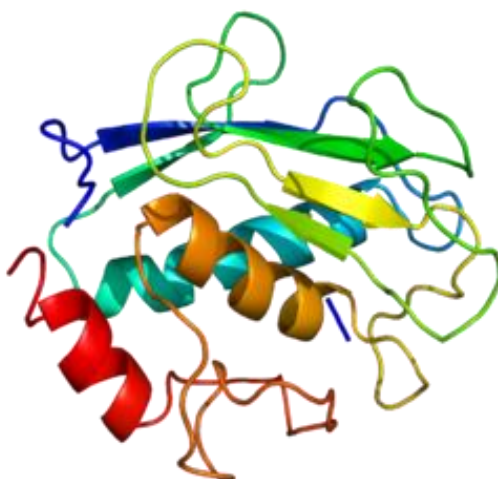
Obrázek 9. Strukturální model MMP7. Převzato ze zdroje: <https://en.wikipedia.org/>.



1.1.3.2 Matrixová metaloproteináza 8 (MMP8)

MMP8, zvaná též *neutrophil collagenase* se nachází v lidské pojivové tkáni (Obr. 10). Degraduje kolagen I., II. a III. typu. Je produkována neutrofily (odtud alternativní název), endoteliálními buňkami, buňkami hladké svaloviny a makrofágy v aterosklerotických plátech. Především kolagen I. typu je hlavní komponentou aterosklerotických plátů a MMP8 tento typ kolagenu preferenčně štěpí, přičemž zvýšená hladina MMP8 je spojována s přítomností a tíží ischemické choroby srdeční.¹¹⁹

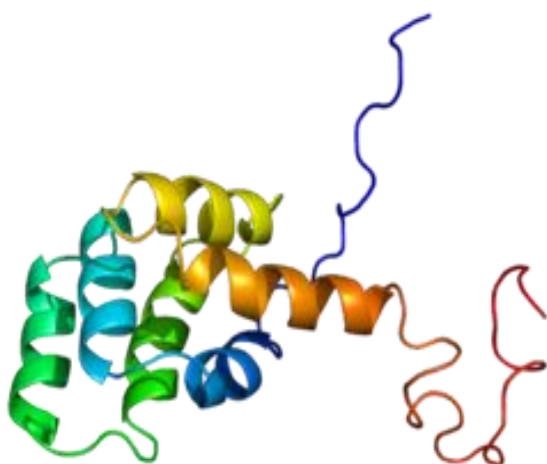
Obrázek 10. Strukturální model MMP8. Převzato ze zdroje: <https://en.wikipedia.org/>.



1.1.4 Solubilní Fas a Fas-ligand

Systém *Fas-Fas ligand* je velmi důležitý v buňkách (především NK) zprostředkované apoptóze, buněčné smrti. Fas (APO-1; CD 95) je membránový protein typu I patřící do rodiny *tumor necrosis faktorů*, které spouštějí apoptózu (Obr. 9).¹²⁰ V roce 1989 byla dvěma vědeckými skupinami popsána cytolytická aktivita na některé lidské buňky pomocí myši protilátky. Tento antigen byl později nazván Fas (*factor activating exoS*), resp. APO-1 (*apoptosis antigen*), dle CD systému potom CD95 nebo též DR2 (*death receptor*).^{121,122} Fas se skládá z 325 aminokyselin se signální sekvencí umístěnou na N-terminálním konci a transmembránovou doménou umístěnou uprostřed molekuly (Obr. 11). Gen pro Fas je umístěn na chromozómu 10q24.1 a kóduje devět exonů.¹²³ Fas se může vyskytovat ve dvou formách: jako membránový (mFas) nebo jako solubilní (sFas) protein. Solubilní forma inhibuje vazbu Fas-FasL a tím i blokuje Fas-zprostředkovanou apoptózu.¹²⁴ Fas se nachází na mnoha buněčných typech, především buňkách thymu, srdce a ovarií. Exprese Fas tak není vyhraněna pouze buňkám imunitního systému. V některých buňkách není apoptotický signál aktivován pouhou aktivací Fas, ale je třeba vazby Fas-Fas Ligand. Fas-ligand se také nazývá faktorem smrti a Fas je jeho receptorem (receptor smrti). Výsledkem aktivace apoptotické dráhy je programovaná smrt buňky bez imunitní odezvy. Fas se podílí na buněčné diferenciaci T lymfocytů.¹²⁰

Obrázek 11. Strukturální model Fas. Převzato ze zdroje: <https://en.wikipedia.org/>.



1.1.5 Zánět

Zánětem rozumíme komplex obranných mechanismů vaskularizované tkáně na patogenní podmět různého charakteru. Cílem reakcí je tuto vyvolávající příčinu, stejně tak poškozenou tkáň, odstranit a pomocí regenerace a reparace tkáně dosáhnout obnovení metabolismu a funkce postiženého orgánu do stavu dynamické rovnováhy.¹²⁵ Patogenní podměty mohou být infekčního či neinfekčního původu, resp. mohou vycházet z lokálního či mnohočetného a/nebo kombinovaného poškození jako např. při těžkém traumatu, těžkém postižení orgánů (akutní pankreatitida), hypoxémii a hypoxii, popáleninách, otravách, působením záření, poruchách metabolismu (malnutrice) anebo při sepsích. Při primární sepsi proniká agens přímo do krevního oběhu. Při sekundární sepsi se agens šíří do těla z primárního ložiska, jako tomu bývá při infekcích měkkých tkání a kůže, respiračního, gastrointestinálního, urogenitálního traktu. Na nemocničních odděleních dochází k přenosu iatrogenních infekcí, kdy je pacient rychle kolonizován bakteriemi nemocničního prostředí. Místem vniknutí těchto (většinou k antibiotikům více rezistentním kmenům) bakterií jsou oblasti zavedení infuzních setů, katetrů, nazogastričních sond, nebo invazivní diagnostické či léčebné zákroky.¹²⁶

Zánětová odpověď může být lokalizovaná, charakterizovaná zčervenáním (*rubor*), vyšší teplotou (*calor*), edémem (*tumor*), bolestí (*dolor*) a poruchou funkce v dané oblasti (*functio laesa*). Na systémový inzult odpovídá organismus celotělovou reakcí s širokým spektrem nespecifických symptomů. Především díky kooperaci pěti základních systémů, jako jsou endotel, leukocyty, trombocyty, komplement a koagulační systém, je

zprostředkována zánětová odpověď organismu. Tyto systémy ovlivňují celý děj prostřednictvím mediátorů rozličné povahy a funkce.

1.1.5.1 Syndrom systémové zánětové odpovědi (SIRS)

Syndrom systémové zánětové odpovědi je popsán jako komplex patofyziologických odpovědí organismu na podkladě neinfekčních a infekčních inzultů. Koncepce pochází z roku 1991, kdy byl popsán *American College of Chest Physicians Society of Critical Care Medicine* jako výsledek konference konané v Chicagu.¹²⁷ Jedná se o generalizovanou zánětovou reakci, rozšiřující se na celý organismus. Reakce spočívá v nevyvážené a usilovné imunitní odpovědi na prvotní lokální nebo mnohočetné poškození. Inzultem mohou být příčiny biologické (mikroorganismy), fyzikální (trauma), termické (záření), chemické (jedy, žiraviny), metabolické (hypoxie, malnutrice), imunologické (autoimunitní choroby) a endogenní poruchy neurohumorálních regulací. Zánět při SIRS není lokalizován pouze v primárně postižené oblasti, ale šíří se celotělově. Dále ztrácí svůj původní obranný charakter a mění se v delokalizovaný a deregulovaný autoagresivní proces.¹²⁶ Vede k poruchám mikrocirkulace, perfuze vitálních orgánů a tudíž k rozvoji sekundární poruchy funkce orgánů. Tato sekundární porucha funkce orgánových systémů není již vyvolaná primárním inzultem, ale vlastní autoagresivní celotělovou zánětovou odpovědí organismu na tento inzult. Bez terapeutické intervence vede k multiorgánovému selhání a smrti organismu.¹²⁵ Intenzita SIRS je ovlivněna silou a rozsahem působení škodlivého podnětu a je modifikována genetickou dispozicí. Reaktivita organismu na podnět může být normální, zvýšená nebo snižená. Autoagresivní může být odpověď na malé podněty jedinců se zvýšenou reaktivitou (alergie), stejně jako odpověď normálních jedinců na podnět velké intenzity.

Prvními detekovatelnými známkami obranné reakce po inzultu různé etiologie jsou hemodynamické změny způsobené vazodilatací nebo vazokonstrikcí. Hemodynamické změny jsou regulovány systémově pomocí sympatoadrenální aktivace, která určuje orgánovou distribuci minutového srdečního výdeje a lokálně pomocí vazoregulačních mediátorů (oxid dusnatý, *tromboxan A2*, *endotelin-1*).¹²⁵ Ústřední roli hraje endotel. Při přetrvávání inzultu dochází k aktivaci trombocytů, neutrofilů, plazmatického koagulačního systému a komplementu. Výsledkem procesu stimulace endotelu je vznik trombogenní intimy se zvýšenou propustností. Zatímco např. kontraktilitu myokardu v kritických stavech můžeme ovlivnit farmakologicky, poruchu propustnosti cévní stěny příliš ovlivnit nedokážeme. Pokud se rozvine do patologických rozměrů, přetrvává řadu hodin až dnů

a způsobuje značný průnik tekutiny a plazmatických proteinů z cirkulace, k tomu přistupuje patologický útlum jaterních syntetických pochodů, který je dalším důležitým faktorem podílejícím se na poklesu plazmatických proteinů.

Klinické příznaky zahrnují široké spektrum nespecifických symptomů, které běžně spojujeme se zánětem. Toto je hlavní klinický problém SIRS: jeho diagnóza a i následná léčba.¹²⁶ Slabinou jsou diagnostická kritéria, která nemají výpovědní hodnotu o dynamice a závažnosti SIRS z hlediska poškození a případné smrti organismu. Problémem zůstává nalezení vhodných diagnostických (klinických i laboratorních) znaků autoagresivity. Snahou je tedy nalézt jednoduché, nejen klinické parametry, které by identifikovaly potenciální kandidáty, u kterých by měla být co nejdříve zahájena rozšířená terapie.

Jelikož v definici SIRS stále zůstávají klinické parametry, jako jsou tepová frekvence (TF) či dechová frekvence (DF), kdy fyziologické meze jsou rozdílné u dětí a dospělých, bude následující text vypovídat pouze o dospělých pacientech. Časnými klinickými znaky u pacientů se SIRS (ale i např. se sepsí) jsou změny teploty, mentálního stavu, tepové a dechové frekvence, pokles krevního tlaku, změny v krevních elementech a koagulačních parametrech.¹²⁸⁻¹³⁰ Pokud je přítomna zřejmá, nebo dokonce kultivačně potvrzená systémová infekce (v krvi), hovoříme o sepsi.

Klinická diagnóza SIRS se opírá o zjištění přítomnosti alespoň dvou ze 4 následujících kritérií¹²⁷:

- **teplota těla nad 38° Celsia nebo teplota těla pod 36° Celsia**
- **srdeční frekvence nad 90 tepů za minutu**
- **dechová frekvence nad 20 dechů za minutu, nebo PaCO₂ méně než 32 mmHg**
- **počet bílých krevních elementů více než 12 000 mm³, resp. méně než 4 000 mm³ nebo více jak 10 % nezralých forem**

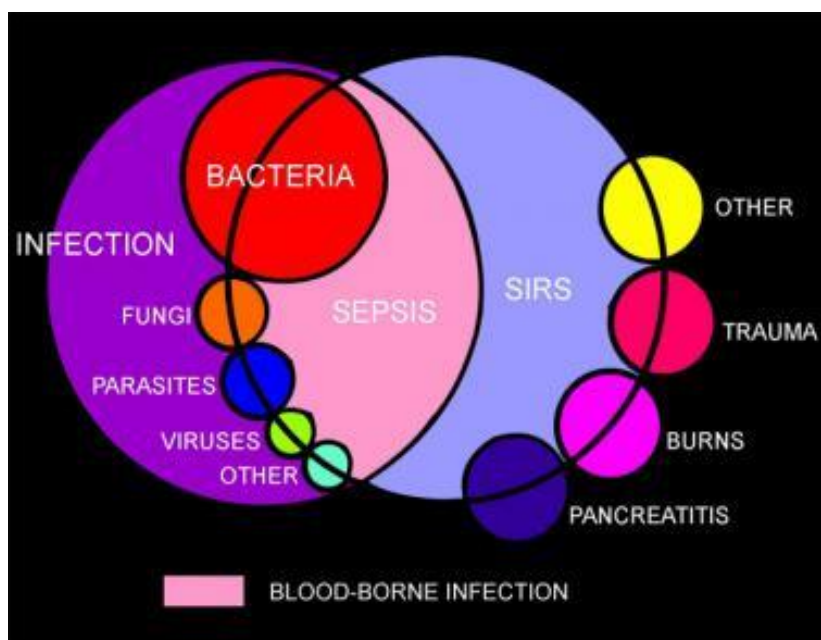
Ukázalo se však, že změny v těchto parametrech nejsou pouze u SIRS a septických pacientů, ale jsou přítomny v řadě jiných klinických jednotek s prozánětovou aktivitou.¹³¹ Tyto parametry byly vybrány tak, aby zahrnovaly všechny potenciální pacienty s prozánětovou aktivitou, ale samozřejmě ztrácejí specifitu pro dané klinické jednotky či přítomnost infekce.

Klinické stavy začínající od SIRS a pokračující přes prohlubující se komplikace až k multiorgánovému selhání (MOF), případně k smrti, tvoří kontinuum: SIRS – těžký SIRS – SIRS šok – MODS/MOFS – smrt (paralela sepse – těžká sepse – septický šok – MODS/MOFS – smrt).¹³² Jako těžký SIRS označujeme stav s hypotenzí a známkami

hypoperfuze a/nebo orgánové dysfunkce. Hypoperfuze a orgánová dysfunkce se mohou klinicky manifestovat několika způsoby jako změny mentálního stavu, oligurie, hypotenze, hypoxémie nebo laktátová acidóza.¹³³ Jakmile se u SIRS/septického pacienta objeví hemodynamická nestabilita a/nebo acidóza, nazývá se tento stav šokem. V případě syndromu multiorgánového selhání (MOFS) se jedná o přítomnost takového stavu, kdy je poškozena funkce orgánu natolik, že bez terapeutické intervence není schopna udržet homeostázu organismu.¹³² Statisticky bývají jako první zasaženy plíce (syndrom akutní dechové tísně – ARDS), dále se rozvíjí selhání jater, postižení gastrointestinálního traktu (ileus, stresový vřed) a ledvin. Koagulační změny (diseminovaná intravaskulární koagulační porucha) a cirkulační selhání se mnohdy dostávají naposled. Postižen může být i centrální nervový systém. Typickými charakteristikami jsou hyperkinetická cirkulace a hypermetabolismus. Tyto znaky však také mohou být modifikovány působícími inzulty a jinými faktory.¹²⁶

I primárně neinfekční SIRS však může přejít v sepsi. Důvodem může být selhání mikrocirkulace střevní stěny v průběhu SIRS a přestup endotoxinů a bakterií s následným rozšířením mikroorganismů na poškozené tkáně. Sepse je tak podmnožinou SIRS a nejčastějším příkladem závažného SIRS na infekčním podkladě. Vzájemný vztah mezi jednotlivými stavy znázorňuje diagram na Obrázku 12.

Obrázek 12. Množinový vztah mezi SIRS, infekcí a sepsí. Převzato ze zdroje: <http://emedicine.medscape.com/>.



Kardiochirurgická operace má jistě výhodu v znalosti časového údaje vzniku vlastního poranění (čas 0), na rozdíl od řady jiných klinických jednotek (sepsy, pankreatitida, infarkt myokardu, který nemusí vždy být doprovázen typickou bolestí na hrudi), kdy načasování prvotního okamžiku není známo.¹³⁴ Kardiochirurgická operace je tedy vhodným modelem studování zánětové odpovědi. Nicméně pokud bychom se striktně drželi kritérií definice SIRS, je možné, že na jednotce intenzivní péče kardiochirurgických pacientů budou alespoň dvě kritéria nalezena u více jak 90 % pacientů, přičemž mortalita těchto pacientů jistě není výrazněji odlišná od celkového souboru a tedy stále nepredikuje pacienty s vysokým rizikem úmrtí. Je proto nutné hledat přesnější, přesto jednoduché, klinické parametry, respektive jejich výskyt po určité časové období.¹³⁵

1.2 Kardiochirurgická operace

1.2.1 Historie kardiochirurgických operací

Historie kardiochirurgických operací sahá do roku 1896, kdy Rehn provedl v německém Frankfurtu nad Mohanem suturu bodné rány pravé komory srdeční. Ve čtyřicátých až šedesátých letech minulého století byly operovány především nemocní s vrozenými vadami. První implantace mechanických srdečních chlopní byly uskutečněny v roce 1960 a první implantace xenograftů ve formě bioprotéz se datují do roku 1965.¹³⁶ K zdokonalování chlopenních náhrad dochází neustále, nicméně i přes velké technologické pokroky neexistuje chlopeň, která by dosahovala dokonalosti přirozené zdravé chlopně. Toto může být také důvodem, proč v posledních letech přibývá tzv. záchovných operací. Zcela rutinně se provádí záchovné operace mitrální a trikuspidální chlopně, záchovné operace aortální chlopně zatím nedosáhly takového rozmachu. Vývojem prošla i chirurgická léčba ischemické choroby srdeční. První techniky spočívaly v napojení vnitřní mamární tepny do ischemické srdeční svaloviny (1951 Vineberg). V roce 1964 provedl Kolesov mamarokoronární bypass. V dalších letech začaly být k provádění bypassů využívány žilní štěpy (1967 Favaloro, Effler). Výkony měly z počátku vysokou úmrtnost.¹³⁶

Výrazný rozvoj kardiochirurgie je spojen se zavedením mimotělního oběhu (MO). Do kardiochirurgické praxe se mimotělní oběh dostal až v 50. letech 20. století. Přístroj pro mimotělní oběh nahrazuje v průběhu operace funkci srdce a plic. Krev okysličuje a zároveň zajišťuje její cirkulaci díky přítomnosti oxygenátoru a pumpy. Nutná je též přítomnost filtru, rezervoáru žilní krve a výměníku tepla.¹³⁷ V současné době lze provádět

některé kardiochirurgické operace, jako např. ischemické choroby srdeční, jak s použitím přístroje pro mimotělní oběh (*on-pump* operace), tak bez jeho využití (*off-pump* operace).

S vzrůstající prevalencí výskytu fibrilace síní především u starších pacientů vrůstá i počet chirurgických ablací pro tuto častou arytmiu. Výkon se nejčastěji provádí v kombinaci s chirurgickou revaskularizací myokardu či výkonem na chlopni, v posledních letech však i jako izolovaný výkon torakoskopicky. Začátky chirurgické léčby spadají do osmdesátých let minulého století a chirurgický přístup byl založen na hypotéze reentry mechanismu zodpovědného za vznik a udržování fibrilace síní. Byly prováděny incize s úmyslem vytvoření bariér, který by bránil šíření elektrického vzruchu za vzniku bludiště. Anglické slovo MAZE se proto používá pro tento chirurgický výkon dodnes.

Snahou nadále zůstává co nejvíce minimalizovat riziko operací, zkrátit hospitalizační období, zkrátit rekonvalescenci pacientů a zvýšit kvalitu peroperační péče. Riziko úmrtí při operaci, o němž by měl být pacient předoperačně informován, se vypočítává podle různých skórovacích schémat. V Evropě byl vytvořen skórovací systém EUROSCORE, který je nejčastěji používán, především jeho logistická verze. I ta má však řadu limitací.¹³⁸ Na území České republiky bylo dle Národního kardiochirurgického registru v roce 2010 provedeno 8882 kardiochirurgických výkonů s třicetidenní mortalitou 3,2 %. Při plánované izolované operaci srdeční chlopně se mortalita na našem území pohybuje okolo 3 % (dle Národního kardiochirurgického registru v roce 2010), v případě plánované operace ischemické choroby srdeční okolo 1,8 % (dle Národního kardiochirurgického registru v roce 2010).

1.2.2 Kardiochirurgické operace a komplikace v peroperačním období

Každý výkon na srdci je spojen s určitým rizikem úmrtí a výskytu komplikací. Riziko úmrtí při jednotlivých operacích roste především s jejich komplexností, věkem a biologickým stavem pacienta. Naštěstí k úmrtí dochází v naprosté menšině případů. Ostatní komplikace spojené s operací můžeme rozdělit na časné (bezprostřední) a pozdní. Vždy je snaha tyto komplikace co nejdříve správně diagnostikovat a zahájit časnou adekvátní léčbu.

Při kardiochirurgické operaci dochází k rozvoji zánětové odpovědi, která může být i poškozující, vést k rozvoji syndromu systémové zánětové odpovědi, orgánové dysfunkci či multiorgánovému selhání. Obávanými komplikacemi pooperačního období jsou infekce jednotlivých orgánů, respektive systémů (močového, respiračního ústrojí, apod.) a sepse. Závažné jsou časné infekční endokarditidy, které nelze řešit vždy jen konzervativně

pomocí antibiotické léčby, s každou reoperací však narůstá i operační riziko. Častější jsou infekce pooperačních ran, ať již po odběru žilních štěpů na dolní končetině, tak závažnější infekce rány po sternotomii.

Krvácivé komplikace lze při koagulační poruše většinou řešit konzervativně. Při významných krevních ztrátách z operačních drénů či při srdeční tamponádě je nutná akutní chirurgická revize (23 % u CABG operací).¹³⁹ Za významné pooperační krvácení lze považovat krevní ztráty 8 ml/kg tělesné váhy v jakýchkoliv dvou po sobě jdoucích hodinách nebo 20 ml/kg v prvních čtyřech hodinách po operaci. Perikardiální výpotek vzniká buď při krvácení do perikardu nebo díky postperikardiotomickému či postperfuznímu syndromu.¹⁴⁰ Nutnost antikoagulační léčby během operace je spojena s malým rizikem (pod 0,5 %) vzniku heparinem navozené trombocytopenie.¹⁴¹ Především v případě náhrad chlopní mechanickými protézami se můžeme vzácně setkat s trombózami chlopní protézy, k trombóze může dojít i v žilním štěpu a tím způsobit akutní pooperační infarkt myokardu. Infarkt myokardu může mít příčinu i v chybném našíti anastomózy či nedostatečné pooperační kardiopleгии.

Nejčastější arytmiologickou komplikací v pooperačním období je fibrilace či flutter síní, s četností mezi 30–60 % u všech kardiologických pacientů.¹⁴² Příčina vzniku je multifaktoriální: operační trauma, zánětová odpověď, zvýšený síňový tlak, dysbalance autonomního nervového systému, metabolický a elektrolytový rozvrat, postperfuzní syndrom.^{143,144} Více o fibrilaci síní pojednává následující podkapitola. Méně často vzniká po operaci chlopní vady atrio-ventrikulární blok II. až III. stupně. Z dalších kardiologických komplikací se pooperačně setkáváme s již zmiňovaným infarktem myokardu, srdečním selháním až kardiogenním šokem nebo chlopními dysfunkcemi (vzácná dynamická subvalvulární obstrukce výtokového traktu levé komory srdeční po náhradě aortální chlopně protézou nebo po plastice mitrální chlopně při její myxoidní degeneraci).¹⁴⁵

K renálním komplikacím dochází nejčastěji v důsledku kombinace již preexistujících postižení ledvinného parenchymu (diabetická nefropatie, glomerulonefritidy, cystická onemocnění) s hypoperfuzí ledvin v průběhu mimotělního oběhu a nízkého minutového výdeje v pooperačním období.¹⁴⁵ V časném pooperačním období může dojít k rozvoji gastrointestinálních komplikací (akutní cholecystitida, paralytický ileus, krvácení ze stresového gastrointestinálního vředu), plicních komplikací (hemotorax, pneumotorax, bronchopneumonie, syndrom dechové tísně dospělých – ARDS). Z neurologických komplikací jsou časté delirantně amenní stavy. Četnost těchto

stavů narůstá s věkem operovaných, anamnézou *diabetes mellitus*, délkou operace a četností jiných pooperačních komplikací.¹⁴⁶ Následkem peroperační mozkové ischemie, ať už hypoperfuzní či embolické etiologie, se setkáváme s hemiparézou či hemiplegií. Tyto stavy jsou často přechodné.

V optimálním případě k rozvoji nežádoucích komplikací nedojde. Pokud ano, je třeba včasná diagnostika a následná adekvátní léčba. Velmi důležitá je však prevence případných komplikací, což znamená pečlivé monitorování rizikových nemocných a okamžité reagování na klinické a hemodynamické abnormality.

1.2.3 Fibrilace síní

Nejčastější arytmiologickou komplikací kardiochirurgické operace je zmiňovaná fibrilace síní. Jedná se o supraventrikulární arytmii charakterizovanou nekoordinovanou aktivací síní vedoucí k poklesu mechanické a tím i hemodynamické funkce síní. Odhadovaná prevalence je okolo 1,5–2 % celkové populace, nicméně prevalence stoupá s věkem.¹⁴⁷ U sedmdesátiletých až osmdesátiletých pacientů se četnost fibrilace síní udává až 15 %. Epizody fibrilace síní jsou často němé. Po kardiochirurgické operaci se rozpětí incidence uvádí mezi 16–50 % a výskyt je vyšší u výkonů na chlopních než izolovaných revaskularizací myokardu, respektive nejvyšší je výskyt při kombinovaných výkonech. Nejčastěji se tato arytmie vyskytuje v prvních čtyřech pooperačních dnech, s maximem výskytu druhý pooperační den.¹⁴⁸ Charakteristický je nepravidelný rytmus. V řadě případů se jedná o rychlou nepravidelnou akci srdečních komor, kterou někteří pacienti vnímají velmi nepříjemně. Je doprovázena dušností, motáním hlavy, či nevykonností. Příčiny jsou multifaktoriální. Nejčastěji popisovanou příčinou je fibróza síní, spojená se ztrátou svalové hmoty. Dalšími faktory jsou zánět, aktivace autonomního nervového systému, ischemie a dilatace síní. Zánětlivé změny jsou spojeny s oxidativním stresem, apoptózou a fibrózou, endoteliální dysfunkcí, aktivací destiček a aktivací koagulačních kaskád, které mohou vést k tromboembolickým komplikacím.^{71,149} Fibrilace síní může být příčinou, ale i následkem zánětových dějů. Přesný mechanismus není doposud znám. Studie ukazují, že zvýšení některých biomarkerů zánětu může být spojeno s rizikem vzniku fibrilace síní, výsledky jsou ovšem různorodé a to i v případě nejznámějšího biomarkeru zánětu – CRP.^{75,150,151} Kromě CRP, byly zkoumány i jiné biomarkery zánětu, především IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β a leukocyty, ale i u těchto markerů jsou výsledky nejednoznačné.¹⁵² Velmi často vzniká fibrilace síní v důsledku dlouhodobě nekontrolované arteriální hypertenze, *diabetes mellitus*, ischemické choroby srdeční, chlopenní vady či následkem zánětu srdečních

struktur. V případě endokrinní dysbalance (dysfunkce štítné žlázy, *feochromocytom*, apod.), dlouhodobém užívání alkoholu, při infarktu myokardu, po kardiochirurgických operacích, při akutní myokarditidě či plicní embolii nazýváme tuto arytmii jako sekundární fibrilaci síní. V některých případech je příčina neznámá. V tomto případě nazýváme fibrilaci síní jako *idiopatickou*. V případě, že srdce není strukturálně postižené a není známé kardiovaskulární onemocnění, nazýváme arytmii jako izolovanou (*lone*) fibrilaci síní. Jako nechlopenní (*non-valvular*) fibrilaci síní, označujeme arytmii bez přítomnosti závažné chlopenní vady. Dle délky trvání a dle reakce na léčebné metody, rozdělujeme fibrilaci síní na:

- **první dokumentovanou ataku – prvně diagnostikovaná, nezávislá na době trvání**
- **paroxysmální – epizody končí spontánně, nejdéle do 48 hodin po vzniku**
- **perzistující – trvání delší než 7 dní, nebo vyžadující elektrokardioverzi**
- **dlouhodobě perzistující – trvání delší než rok, ale stále je v plánu snaha o obnovení sinusového rytmu**
- **permanentní – dlouhodobé trvání bez snahy o obnovu sinusového rytmu** ^{153,154}

Hemodynamické změny a tromboembolické komplikace vedou často k fyzickému a psychickému dyskomfortu pacientů, zvyšují nemocnost, úmrtnost a i finanční náklady s léčbou spojené. Léčba fibrilace síní je různorodá. Může být založena na kontrole rytmu (snaha o udržení pravidelného sinusového rytmu), nebo na kontrole frekvence (snaha o udržení srdeční frekvence v rozmezí, které pacient dobře toleruje, nejčastěji mezi 55–90 tepy za minutu), k tomu se využívají různá antiarytmika. V případě snahy o udržení rytmu jsou možné i formy léčby nefarmakologické. Mezi nejčastěji užívané nefarmakologické léčby patří katetrizační ablace – izolace plicních žil. V případě selhání této léčby nebo dle preference pacienta je možné ablacii provést primárně chirurgicky. Nejčastěji používaný přístup je minimálně invazivní torakoskopická operace. Chirurgická ablace se však nejčastěji provádí jako výkon konkomitantní k již plánovanému chirurgickému výkonu na chlopních či koronární revaskularizaci. Četnost těchto výkonů vzrůstá a v některých případech se zároveň kombinuje s chirurgickým uzávěrem ouška levé síně. Ouško levé síně je nejčastějším místem vzniku intrakavitárních trombů. v případě, kdy se trombus z nitrosrdečních oddílů uvolní, může dojít k jeho embolizaci a to nejen do centrálního nervového systému, kde zapříčiní cévní mozkovou příhodu. Z těchto důvodů se zároveň k antiarytmikům podává léčba antikoagulační. Dle výsledků některých

skórovacích systémů se však lékaři mohou rozhodnout pouze pro léčbu antiagregační či jiné nefarmakologické postupy.

1.3 Kardiologická operace a imunitní systém

Kardiologická operace představuje zásah do organismu se změnami nejen v imunitním, ale i endokrinním, metabolickém či nervovém systému.¹⁵⁵ Tyto změny jsou dány porušením různých typů tkání, rozsahem ischemie, reperfuze poškození a kontaktem s cizorodým materiálem. Použití mimotělního oběhu, kde krevní elementy přicházejí do přímého styku s nehemokompatibilním povrchem zařízení, použití kauterů a cizorodých látek zesiluje odpověď imunitního systému.¹⁵⁵ Časová náročnost operací a řada dalších faktorů přispívají k výskytu komplikací spojených s operací. Vzniklá poškození vedou k silné aktivaci koagulačního a fibrinolytického systému s rizikem krvácení, ale i tromboembolických událostí.

Každá fyziologicky probíhající imunitní reakce je neoddelitelně spojena s jistou mírou poškození, která musí být při ukončování imunitní odpovědi opět opravena.² U pacientů podstupujících srdeční operaci dochází k rozvoji lokální i systémové zánětové odpovědi, která je ve většině případů klinicky nevýznamná. U některých pacientů však může dojít k rozvoji syndromu systémové zánětové odpovědi (SIRS), orgánové dysfunkci, orgánovým selháním či smrti nemocného. Dochází k selhání regulačních mechanismů zánětové odpovědi a ztrátě homeostázy. Tento děj je multifaktoriální, ovlivněn genetickou dispozicí jedince a expozicí vrozené imunity rozmanitým signálům nebezpečí exogenního i endogenního původu. Endogenní nebezpečné vzory vznikají především oxidativním stresem, ale také různými formami smrti buněk. Přesto, že je expozice exogenním mikrobiálním vzorům minimalizována (principy antiseptiky/asepsy/sterilizace/dezinfekce), dochází v průběhu operace k určitému stupni ischemie některých orgánů a tím narušení např. slizničních bariér gastrointestinálního, urogenitálního či respiračního traktu s možným průnikem mikrobů a/nebo nebezpečných mikrobiálních vzorů.

Imunitní odpověď u kardiologických pacientů zahrnuje jak prozánětové, tak protizánětové mechanismy. Prozánětové mechanismy mají chránit před případnou infekcí, zatímco protizánětové mechanismy souvisí s ukončováním imunitní odpovědi a hojením.¹⁵⁵ Při zánětu vyvolaném kardiologickou operací stoupá zejména množství neutrofilů. Neutrofilové odpovídají na vnější signály migrací do místa zánětu a likvidací bakteriálních a vlastních poškozených buněk, samy jsou podstatným zdrojem chemokinů,

prozáněťových cytokinů i aktivačních molekul na svém povrchu.¹⁵⁵ Takto jsou neutrofilové schopné stimulovat ostatní buňky a přispívat k rozvoji zánětu. Po přestupu migrují neutrofilové v koncentračním gradientu chemotaktických molekul, např. IL-8. v daném místě jsou likvidovány a fagocytózou odstraněny mikrobiální patogeny, stejně jako nekrotické či apoptotické buňky. Neutrofilové produkují řadu proteinů, které aktivují další buňky jako třeba monocytové (makrofágy), které migrují do místa zánětu vzápětí po neutrofilech. Také monocytové (tkáňové makrofágy) slouží jako buňky odstraňující *debris* v postiženém místě. Infiltrace a aktivace monocytů byla po indukci infarktu myokardu u psů zjištěna v ischemicko-reperfučním myokardu již v průběhu první hodiny po inzultu.¹⁵⁶ Aktivace je částečně mediována monocyto-makrofágovým chemotaktickým proteinem 1 (MCP-1). Zároveň komponenta komplementu C5a, která je důležitým chemotaktickým faktorem pro neutrofilové, je také silně spojena s migrací monocytů. Monocytové a makrofágy jsou důležité v odstraňování apoptotických buněk a tkáňových *debris* z poškozené tkáně a tím podporují hojení rány. Disponují širokou škálou makromolekul a jiných produktů, receptorů, cytokinů, kyslíkových radikálů, apod., které mohou být uvolněny a mobilizovány na buněčný povrch po jejich aktivaci. Cirkulující monocytové jsou velice heterogenní skupinou.¹⁵⁷

U kardiochirurgických operací dochází ke stresové reakci spojené s různě dlouhými, přechodnými změnami hladin některých hormonů. Důležitou roli hraje kortizol.¹⁵⁸ Ke zvýšení hladiny pomocí osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny dochází na základě mnoha stimulů, jako např. při hypoglykémii, ale i při velkém operačním tkáňovém poškození.¹⁵⁹ Ke zvýšení kortizolu a adrenokortikotropního hormonu (ACTH) dochází již v průběhu operace s použitím mimotělního oběhu, přičemž maxima hladin dosahují oba hormony až v pooperačním období.¹⁶⁰ Tento hormon má vliv i na neurokognitivní funkce, kdy zvýšená hladina kortizolu první pooperační den po CABG je spojena s vyšším rizikem vzniku pooperačního deliria.¹⁴⁶

2 CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE

1. Popsat a porovnat dynamiku hladin pentraxinu 3 a dalších zánětových biomarkerů (CRP, TLR2 a IL-8) u dvou skupin pacientů s odlišným klinickým projevem poškozující zánětové odpovědi po kardiochirurgické operaci (pacienti s odlišnou závažností SIRS a/nebo jeho komplikacemi ve srovnání s pacienty s nekomplikovaným pooperačním průběhem) s cílem identifikovat kardiochirurgické pacienty s vyšším rizikem vzniku poškozující zánětové odpovědi.
2. Popsat a porovnat dynamiku hladin pentraxinu 3 a dalších zánětových biomarkerů (CRP, IL-8, IL-18, IL-18BP, TLR2, MMP7, MMP8, sFas a sFasL) u pacientů operovaných na srdci s ohledem na fibrilaci síní (pacienti bez výskytu fibrilace síní, pacienti s nově vzniklou fibrilací síní pooperačně, pacienti s již předoperačním výskytem fibrilace síní, u kterých byla provedena MAZE procedura).

Základní hypotéza výzkumu: sledované markery zánětové odpovědi, především pentraxin 3, mají odlišnou dynamiku ve vztahu k různým klinickým situacím u kardiochirurgických pacientů.

3 METODIKA

3.1 Soubor nemocných

V období od května 2010 do července 2012 bylo do studie zařazeno 136 pacientů s písemným informovaným souhlasem, kteří podstoupili kardiochirurgickou operaci s použitím mimotělního oběhu na Kardiochirurgické klinice Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové. Pro potřeby studie byl soubor rozdělen dle pooperačního průběhu, respektive rozsahu klinické manifestace zánětové odpovědi.

3.1.1 Pacienti s odlišným klinickým projevem poškozující zánětové odpovědi po kardiochirurgické operaci (s odlišnou závažností SIRS a/nebo jeho komplikací)

Zařazeno bylo 42 kardiochirurgických pacientů operovaných s použitím mimotělního oběhu, kteří byli dle rozsahu klinické manifestace zánětové odpovědi rozděleni na dvě skupiny. U pacientů ve skupině A (21 pacientů) byl pooperační průběh komplikován minimálně klinickými známkami SIRS či jeho stadii (těžký SIRS, šokový stav, sepse, multiorgánové selhání). Tito pacienti vyžadovali kombinovanou vazoaktivní a inotropní podporu. Nejčastěji se jednalo o kombinaci noradrenalinu s dobutaminem, dále léčbu levosimendanem či milrinonem s cílem udržet střední krevní tlak, měřený invazivně arteriální kanylou, na hodnotách nad 70 mmHg. Pacientům této skupiny byly z důvodu klinických známek vystupňované zánětové odpovědi podávány kortikoidy. SIRS byl definován přítomností minimálně dvou z následujících kritérií: tělesná teplota $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo $< 36\text{ }^{\circ}\text{C}$; srdeční frekvence > 90 tepů za minutu; dechová frekvence > 20 dechů za minutu nebo $\text{PaCO}_2 < 32\text{ mmHg}$; bílé krvinky $> 12\ 000/\text{mm}^3$, $< 4\ 000/\text{mm}^3$, $< 10\%$ nezralých forem a vždy současnou klinickou přítomností hypoperfuze a orgánové dysfunkce.¹⁶¹ U 21 pacientů byl pooperační průběh zcela nekomplikovaný (skupina B). Tito pacienti nevyžadovali žádné z vazoaktivních/inotropních léků, nebyla nutnost aplikace glukokortikoidů.

Pacienti, kteří měli předoperačně diagnostikovanou infekci, byli ze studie vyřazeni. Do studie nebyli zařazeni ani pacienti s předoperační léčbou nesteroidními antirevmatiky či glukokortikoidy. Pacienti, kteří v pooperačním období dostávali glukokortikoidy z jiného důvodu než ovlivnění SIRS reakce (např. jednorázová dávka glukokortikoidů

z důvodu spazmu v orotracheální oblasti, přechodné nasazení glukokortikoidů při exacerbaci chronické obstrukční nemoci plicní, či glukokortikoidy podávané z důvodu perikardiálního výpotku či polékového pruritu) nebyli do studie zařazeni. Tito pacienti mimo jiné také nespĺňovali ostatní kritéria potřebná k zařazení do skupiny pacientů s komplikovaným průběhem.

3.1.2 Pacienti s odlišným klinickým projevem zánětové odpovědi po kardiochirurgické operaci s ohledem na fibrilaci síní

Stejný soubor 42 pacientů, primárně vybraných dle rozsahu klinické manifestace poškozující zánětové odpovědi, byl zařazen do podstudie a rozdělen do tří skupin dle přítomnosti a rozsahu fibrilace síní. U 22 pacientů nebyla předoperačně, ani pooperačně fibrilace síní dokumentována (skupina A: *no AF – no atrial fibrillation*). U 11 pacientů byla fibrilace síní dokumentována pomocí kontinuální EKG monitorace minimálně do 48 h po operaci (skupina B: *temporary AF – temporary atrial fibrillation*). U 9 pacientů (skupina C: *persistent AF – persistent atrial fibrillation*) byl již z důvodu předoperačně známé fibrilace síní proveden MAZE výkon. U těchto pacientů byla fibrilace síní dokumentována i v pooperačním období. V pooperačním období se nejčastěji jednalo o paroxysmy fibrilace síní, pouze jednou byla fibrilace síní ukončena elektrokardioverzí, v ostatních případech byla léčena pouze farmakologicky antiarytmiky (amiodaron v iniciálně nasycovací, později udržovací dávce) a antikoagulancii.

3.2 Charakteristika a klinické údaje souborů nemocných

U všech pacientů byly získány standardní anamnestické, klinické, laboratorní a echokardiografické údaje.

Demografické a předoperační údaje pacientů s odlišnou závažností SIRS a/nebo jeho komplikací jsou uvedeny v Tabulce 1. Signifikantní statistický rozdíl mezi oběma skupinami byl nalezen pouze v případě chronické obstrukční nemoci plicní a výskytu fibrilace síní předoperačně.

Tabulka 1. Předoperační charakteristika skupin dle rozsahu zánětové odpovědi v pooperačním období

	Skupina A	Skupina B	p-hodnota
Počet pacientů (n)	21	21	
Věk (roky; medián, variační rozpětí)	68,0 (38–82)	62,0 (27–76)	0,232
Ženské pohlaví (n)	6 (28,6 %)	9 (42,9 %)	0,334
BMI (průměr ± SD)	28,2 ± 4,9	28,5 ± 4,0	0,848
Arteriální hypertenze (n)	16 (76,2 %)	16 (76,2 %)	1,000
Dyslipidémie (n)	12 (57,1%)	11 (52,4 %)	0,757
DM (n)	6 (28,6 %)	3 (14,3 %)	1,000
CHOPN (n)	5 (23,8 %)	0	0,048
Fibrilace síní (n)	9 (42,9 %)	1 (4,8 %)	0,009
Předchozí KCH operace (n)	3 (14,3 %)	2 (9,5 %)	1,000
Logistické EuroScore i (%; median, variační rozpětí)	9,6 (1,5–37,9)	4,7 (0,9–16,8)	0,097
LK ejekční frakce (%; n)			
> 50	10 (47,6 %)	17 (81,0 %)	0,057
30–50	9 (42,9 %)	4 (19,0 %)	
< 30	2 (9,5 %)	0	
Skupina A – pacienti s odlišnou závažností SIRS a/nebo jeho komplikací, skupina B – pacienti s nekomplikovaným pooperačním průběhem. BMI – body mass index; DM – diabetes mellitus; CHOPN – chronická obstrukční nemoc plicí; LK – levá komora; SD – směrodatná odchylka.			

Tabulka 2 uvádí demografické a předoperační údaje pacientů s ohledem na fibrilaci síní. Statisticky významné rozdíly mezi třemi skupinami byly pozorovány ve věku pacientů a dyslipidémii.

Tabulka 2. Předoperační charakteristika skupin s ohledem na fibrilaci síní

	Skupina A	Skupina B	Skupina C	p-hodnota
Počet pacientů (n)	22	11	9	
Věk (roky; medián, variační rozpětí)	58 ± 14	70 ± 6	66 ± 11	0,035
Ženské pohlaví (n)	6 (27,3 %)	4 (36,4 %)	5 (55,6 %)	0,366
BMI (průměr ± SD)	29,1 ± 4,4	26,5 ± 3,7	28,8 ± 5,1	0,255
Dyslipidémie (n)	12 (54,5 %)	9 (81,8 %)	2 (22,2 %)	0,030
DM (n)	1 (4,5 %)	2 (18,2 %)	2 (22,2 %)	0,242
CHOPN (n)	2 (9,1 %)	2 (18,2 %)	2 (22,2 %)	0,600
Předchozí KCH operace (n)	2 (9,1 %)	2 (18,2 %)	1 (11,1 %)	0,820
Logistické EuroScore i (%; median, variační rozpětí)	4,7 (0,9–16,8)	8,0 (2,9–14,9)	10,3 (2,3–37,9)	0,134
LK ejekční frakce (%; n)				
>50	17 (77,3 %)	7 (63,6 %)	3 (33,3 %)	0,078
30–50	5 (22,7 %)	3 (27,3 %)	5 (55,6 %)	0,243
<30	0	1 (9,1 %)	1 (11,1 %)	0,221
Skupina A – pacienti bez fibrilace síní, skupina B – pacienti s nově vzniklou pooperační fibrilací síní, skupina C – pacienti s před i pooperační fibrilací síní a výkonem MAZE. BMI – body mass index; DM – diabetes mellitus; CHOPN – chronická obstrukční nemoc plicní; LK – levá komora; SD – směrodatná odchylka.				

3.3 Peroperační management

3.3.1 Anesteziologický management

Den před operací byli pacienti vyšetřeni anesteziologem, provedena příprava, stanovení stupně rizika a navržen anesteziologický postup. Předoperační antiagregační léčba, kromě ASS (kyseliny acetylsalicylové) v dávce 100 mg, byla plánovaně vysazena 4–5 dnů před operací dle použitého preparátu. Perorální antikoagulační léčba byla vysazena 3–4 dny před operací tak, aby INR pokleslo pod hodnotu 1,5. Dle indikace byla perorální antikoagulační léčba nahrazena podáváním nízkomolekulárního Heparinu subkutánně. Jídlo a pití bylo ukončeno nejpozději o půlnoci před operačním dnem. Zajištění pacienta cévními vstupy a napojení na monitory probíhalo přímo na operačním sále. Úvod do anestezie byl pomocí podání tiopentalu, propofolu, midazolamu nebo etomidátu. Ke svalové relaxaci bylo použito rokuronium. Anestezie byla udržována isofluranem a sufentanylem. Po úvodu do anestezie byl pacient intubován a napojen na dýchací přístroj. Po napojení na mimotělní oběh byla mechanická ventilace ukončena. Kontrola vnitřního prostředí a teploty se prováděla v 30ti minutových intervalech. Střední arteriální tlak byl udržován nad hodnotu 70 mmHg pomocí noradrenalinu. Antibiotická profylaxe byla u všech výkonů započata předoperačně a dle druhu výkonu byla prodloužena do prvního až třetího pooperačního dne.

3.3.2 Chirurgické techniky

Po střední sternotomii a perikardiotomii byl intravenózně aplikován heparin (4 mg/kg tělesné váhy) s cílem dosáhnout aktivovaného srážecího času – ACT (*activated clotting time*) nad 480 sekund. Mimotělní oběh byl zaveden kanylací ascendentní aorty nebo subklaviální tepny (dle rozsahu distálního poškození aorty) a zavedením dvoucestné venózní kanyly do pravé síně nebo přímou bikavální kanylací. Po zahájení mimotělního oběhu byl udržován tok pumpou na 2,4 l/min/m² povrchu těla pacienta. Po nasazení svorky na aortu byla k zástavě srdeční funkce použita studená krevní kardioplegie (St. Thomas roztok, Ardeapharma, Severin, Česká republika v poměru 4:1) s antegrádním podáním (10–15 ml/kg tělesné váhy). Kardioplegický roztok byl podáván každých 25 min a srdce bylo taktéž chlazeno lokálně ledovou tříští. Celková tělesná teplota pacienta v průběhu mimotělního oběhu poklesla na 34–35° Celsia. Střední arteriální tlak byl udržován v hodnotách na 50–70 mmHg, hematokrit nad 0,2. Po ukončení mimotělního oběhu byl heparin neutralizován podáním protaminu v poměru 1:1.

Mimotělní oběh se sestával z nepotažených hadic, venózního rezervoáru (Dideco SrL, Mirandola, Itálie), membránového oxygenátoru (Dideco SrL, Mirandola, Itálie), rotační pumpy s nepulzatilním tokem (Stöckert S3, Sorin Group, Mnichov, Německo) a arteriálního filtru (Dideco SrL, Mirandola, Itálie). Extrakorporální oběh byl naplněn 500 ml roztoku Ringer-laktát, 500 ml rheodextranu, 5 000 jednotkami heparinu, 80 ml NaHCO₃ 8,4 %, 20 ml 10 % magnesia sulfátu a mannitolem (v dávce 1 g/kg tělesné váhy) a kalkulován k dosažení hematokritu nad úroveň 0,22.

Jednalo se o heterogenní skupinu pacientů operovaných s použitím mimotělního oběhu, u kterých byly provedeny jednoduché operace typu CABG, výkonů na chlopních, na aortě či kombinovaných výkonů.

Charakteristiku skupin dle rozsahu zánětové reakce v pooperačním období ukazuje Tabulka 3.

Tabulka 3. *Peroperační klinická data skupin dle rozsahu zánětové odpovědi v pooperačním období*

	Skupina A	Skupina B	p-hodnota
Počet pacientů (n)	21	21	
CABG (n)	11 (52,4 %)	8 (38,1 %)	0,352
Výkon na aortální chlopni (n)	10 (47,6 %)	15 (71,4 %)	0,116
Výkon na mitrální chlopni (n)	14 (66,7 %)	5 (23,8 %)	0,005
Výkon na trikuspidální chlopni (n)	11 (52,4 %)	3 (14,3 %)	0,020
Výkon na aortě (n)	3 (14,3 %)	6 (28,6 %)	0,454
Čas MO (min; median, variační rozpětí)	130 (72–301)	110 (54–208)	0,450
Doba srdeční zástavy (min; median, variační rozpětí)	94 (43–242)	87 (37–180)	0,443
Skupina A – pacienti s odlišnou závažností SIRS a/nebo jeho komplikací, skupina B – pacienti s nekomplikovaným pooperačním průběhem. CABG – koronární bypass; MO – mimotělní oběh.			

Výkon na mitrální a trikuspidální chlopni byl proveden v 67 % a 53 % ve skupině A, oproti 24 % a 14 % ve skupině B ($p = 0,005$ a $p = 0,02$). Čas mimotělního oběhu/doba

srdeční zástavy byl 130/94 minut ve skupině A, oproti 110/87 minut ve skupině B, bez statisticky významného rozdílu mezi skupinami ($p = 0,450$ a $p = 0,443$).

Charakteristiku skupin rozdělených dle výskytu fibrilace síní ukazuje Tabulka 4. Statisticky významně byl chirurgický výkon na mitrální a trikuspidální chlopni proveden častěji ve skupině C ($< 0,001$), ostatní údaje nevykazovaly statisticky významné rozdíly.

Tabulka 4. Peroperační klinická data skupin s ohledem na fibrilaci síní

	Skupina A	Skupina B	Skupina C	p-hodnota
Počet pacientů (n)	22	11	9	
CABG (n)	10 (45,5 %)	7 (63,6 %)	1 (11,1 %)	0,590
Výkon na aortální chlopni (n)	14 (63,6 %)	8 (72,7 %)	3 (33,3 %)	0,207
Výkon na mitrální chlopni (n)	7 (31,8 %)	3 (27,3 %)	8 (88,9 %)	$< 0,001$
Výkon na trikuspidální chlopni (n)	4 (18,2 %)	2 (18,2 %)	8 (88,9 %)	$< 0,001$
Výkon na aortě (n)	3 (13,6 %)	1 (9,1 %)	2 (22,2 %)	1,000
Čas MO (min; průměr \pm SD)	138 \pm 58	123 \pm 44	136 \pm 310	0,721
Doba srdeční zástavy (min; průměr \pm SD)	103 \pm 52	90 \pm 37	106 \pm 27	0,667
Skupina A – pacienti bez fibrilace síní, skupina B – pacienti s nově vzniklou pooperační fibrilací síní, skupina C – pacienti s před i pooperační fibrilací síní a MAZE. CABG – koronární bypass; MO – mimotělní oběh; SD – směrodatná odchylka.				

3.3.3 Časný pooperační management

3.3.3.1 Dle rozsahu zánětové odpovědi v pooperačním období

Po operaci byli pacienti převezeni na jednotku intenzivní péče. Byli léčeni pro hypotermii, monitorováni a mechanicky ventilováni. v případě výskytu komplikací byla zahájena adekvátní terapie (antiarytmika při arytmiích, antibiotika při infekcích, inhibitory protonové pumpy pro snížení rizika vzniku gastrointestinálního postižení při kombinaci léčiv zvyšujících riziko krvácení do gastrointestinálního traktu, normalizace eventuální iontové dysbalance, antiischemická terapie, podávání krevních derivátů, apod.). Dle hemodynamického stavu byly aplikovány tekutiny a/nebo nasazena vazoaktivní

podpora. Pacienti ve skupině A byli léčeni noradrenalinem a minimálně jedním z dalších vazoaktivních léků (dobutamin, levosimendan, milrinon). Na základě klinické manifestace SIRS a/nebo jejích komplikací (známky hypoperfuze a/nebo orgánové dysfunkce) bylo zahájeno podávání glukokortikoidů. Léčba glukokortikoidy byla zahájena kdykoliv v období od operace do 3. pooperačního dne. Čas zahájení, typ glukokortikoidů, doba podávání i dávka byly určovány na studii nezávislým lékařem jednotky intenzivní péče. Dávka glukokortikoidů kolísala mezi hodnotami 200 mg a 5 200 mg hydrokortizonového ekvivalentu s mediánem 700 mg. Glukokortikoidy byly podávány intermitentně či kontinuálně, opět dle rozhodnutí ošetřujícího lékaře. Pacienti skupiny B nebyli léčeni ani glukokortikoidy, ani nebylo třeba podávání vazoaktivních léčiv při stabilním hemodynamickém stavu pacienta na jednotce intenzivní péče.

Časná pooperační data ukazuje Tabulka 5. Statisticky významný rozdíl mezi skupinami byl zjištěn v délce ventilačního času (26 hodin ve skupině A oproti 7 hodinám ve skupině B), pobytu na jednotce intenzivní péče (119 hodin ve skupině A oproti 45 hodinám ve skupině B) a celkové době hospitalizace (20 dnů ve skupině A oproti 10 dnům ve skupině B), u všech $p < 0,001$. Krevní ztráty do drénů za 24 hodin byly 400 ml ve skupině A oproti 800 ml ve skupině B ($p = 0,007$). Vyšší četnost syndromu akutní respirační tísně, akutního renálního selhání vyžadujícího dialýzu, cévní mozkové příhody, fibrilace síní či nutnosti reintubace byla ve skupině A, nedosahovala však statistické významnosti oproti skupině B. V obou skupinách nezemřel žádný pacient, nikdo neprodělal akutní infarkt myokardu, ani nebyl léčen pro hlubokou sternální infekci.

3.3.3.2 Dle výskytu a rozsahu fibrilace síní

Po operaci byli pacienti převezeni na jednotku intenzivní péče. Byl použit stejný postup léčby, jaký je popsán u pacientů rozdělených do skupin dle rozsahu zánětové odpovědi v pooperačním období v předchozí podkapitole. V případě výskytu fibrilace síní, ať již nově, nebo u pacientů po provedené MAZE proceduře, byla zahájena antiarytmická terapie amiodaronem a podávána antikoagulační terapie nízkomolekulárním heparinem subkutánně v terapeutických dávkách. Amiodaron se podával iniciálně v nasycovacích dávkách, později v dávce udržovací. Pokud to dovoľovala hemodynamická situace, byla současně zahájena terapie betablokátory. Pouze u jednoho pacienta byla z důvodu hemodynamické nestability při výrazné tachyarytmii provedena elektrokardioverze. Tomu předcházelo vyšetření pomocí transezofageální echokardiografie k vyloučení intrakavitárních trombů.

Tabulka 5. Časná pooperační data skupin dle rozsahu zánětové odpovědi v pooperačním období .

	Skupina A	Skupina B	p-hodnota
Počet pacientů	21	21	
Výdej do drénů za 24h (ml; median, variační rozpětí)	800 (300–3 050)	400 (150–2 000)	0,007
Revize pro krvácení či tamponádu (n)	2 (9,5 %)	1 (4,8 %)	1,000
Ventilační čas (hodiny; median, variační rozpětí)	26 (5–265)	7 (3–20)	< 0,001
Reintubace (n)	4 (19,0 %)	0	0,107
ARDS (n)	6 (28,6 %)	0	0,021
Akutní renální selhání vyžadující dialýzu (n)	4 (19,0 %)	0	0,107
Cévní mozková příhoda (n)	2 (9,5 %)	0	0,488
Multiorgánové selhání (n)	2 (9,5 %)	0	0,488
Fibrilace síní (n)	16 (76,2 %)	4 (19,0 %)	0,001
Hluboká sternální infekce (n)	0	0	
Pobyť na JIP (hodiny; median, variační rozpětí)	119 (21–996)	45 (15–96)	< 0,001
Doba hospitalizace (dny; median, variační rozpětí)	20 (12–90)	10 (8–53)	< 0,001
30ti denní mortalita	0	0	
Skupina A – pacienti s odlišnou závažností SIRS a/nebo jeho komplikací, skupina B – pacienti s nekomplikovaným pooperačním průběhem. ARDS – syndrom akutní respirační tísně; JIP – jednotka intenzivní péče			

Časná pooperační data ukazuje Tabulka 6. Statisticky významný rozdíl mezi skupinami byl zjištěn v délce ventilačního času (9 hodin ve skupině A oproti 15 hodinám ve skupině B, respektive 29 hodinám ve skupině C; $p = 0,015$), pobytu na jednotce intenzivní péče (45 hodin ve skupině A oproti 117 hodinám ve skupině B, respektive 119 hodinám ve skupině C; $p = 0,008$), v nutnosti reintubace (žádný pacient ve skupině A,

1 reintubovaný pacient ve skupině B, oproti 3 reintubovaným pacientům ve skupině C; $p = 0,012$) a četnosti výskytu akutního renálního selhání vyžadující dialýzu (1 pacient ve skupině A, žádný ve skupině B a 3 pacienti ve skupině C; $p = 0,042$). Ostatní sledované parametry nedosahovaly statistické významnosti mezi skupinami, v obou skupinách nezemřel žádný pacient, nikdo neprodělal akutní infarkt myokardu, ani nebyl léčen pro hlubokou sternální infekci.

Tabulka 6. Časná pooperační data skupin s ohledem na fibrilaci síní

	Skupina A	Skupina B	Skupina C	p-hodnota
Výdej do drénů za 24h (ml; median, variační rozpětí)	575 (150–2 000)	500 (200–1 500)	1150 (300–3 050)	0,101
Revize pro krvácení či tamponádu (n)	1 (4,5 %)	0	1 (11,1 %)	0,451
Ventilační čas (hodiny; median, variační rozpětí)	9 (3–24)	15 (5–96)	29 (5–78)	0,015
Reintubace (n)	0	1 (9,1 %)	3 (33,3 %)	0,012
ARDS (n)	2 (9,1 %)	1 (9,1 %)	2 (22,2 %)	0,686
Akutní renální selhání vyžadující dialýzu (n)	1 (4,5 %)	0	3 (33,3 %)	0,042
Cévní mozková příhoda (n)	0	0	0	
Multiorgánové selhání (n)	1 (4,5 %)	0	1 (11,1 %)	0,451
Hluboká sternální infekce (n)	0	0	0	
Pobyt na JIP (hodiny; median, variační rozpětí)	45 (15–140)	117 (21–144)	119 (44–996)	0,008
Doba hospitalizace (dny; median, variační rozpětí)	10 (7–52)	13 (7–39)	21 (12–90)	0,110
30ti denní mortalita	0	0	0	
Skupina A – pacienti bez fibrilace síní, skupina B – pacienti s nově vzniklou pooperační fibrilací síní, skupina C – pacienti s před i pooperační fibrilací síní a MAZE. ARDS – syndrom akutní respirační tísně; JIP – jednotka intenzivní péče				

3.3.4 Sběr vzorků a zpracování

Odběr krve pro sběr vzorků byl prováděn z centrálního žilní katetru (subklaviálního či jugulárního) nebo odběrem z žilní kanyly (nejčastěji na předloktí) do dvou zkumavek – BD Vacutainer® EDTA a BD Vacutainer® (BD, Plymouth, Velká Británie) v následujících časech: před operací, bezprostředně po skončení operace (po ukončení sutury rány), 6 hodin po operaci, první, třetí a sedmý den po operaci. Plazma a sérum byly odděleny centrifugací a skladovány při teplotě -70°C.

Solubilní parametry byly kvantifikovány za použití metody ELISA a *luminex assay*. ELISA destičky byly odečteny za pomoci 450 nm filtru na mikrodestičkové čtečce (Multiskan™ FC Microplate Photometer; Thermo Fisher Scientific, Inc., MA, USA) a výsledky analyzovány programem Genesis (Genesis-Software GmbH, Bochum, Německo). *Luminex assays* byly prováděny pomocí systému Bio-Plex 200 a Bio-Plex Manager 6.1 softwaru (Bio-Rad, CA, USA).

Plazmatické hladiny PTX3 byly stanovovány ELISA kitem určeným k detekci lidského PTX3 (R&D Systems®, Minneapolis, MN, USA). Rozmezí esaje bylo 0,15–200 ng/ml. Hladina CRP v séru byla stanovována nefelometricky. CRP bylo analyzováno na přístroji Immage 800 (Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, USA) za použití nefelometrického kitu od výrobce Beckman Coulter. Detekovatelné rozmezí hodnot bylo 1–960 mg/l. ELISA kity pro stanovení lidského sFasL a IL-8, stejně jako *luminex assay* pro zjištění koncentrace lidského MMP-7, MMP-8 a IL-18BP byly zakoupeny od R&D Systems (R&D Systems®, MN, USA). ELISA kity určené pro stanovení solubilní molekuly Fas byly zakoupeny od Cohesion Biosciences Limited (Čína) a kity pro detekci solubilního receptoru TLR2 pak od USCN Life Science, Inc. (Wuhan, Čína). ELISA kity pro kvantifikaci lidského IL-18 byly zakoupeny od Medical & Biological Laboratories Co., Ltd. (Japonsko). Výrobci se zaručují, že protilátky použité v ELISA kitech a *luminex assay* byly testovány pro možnou interferenci s podobnými proteiny a tedy detekují pouze protein, pro jehož detekci byly navrženy.

3.4 Zpracování získaných dat a jejich statistická analýza

Získané anamnestické a klinické údaje pacientů byly prospektivně ukládány do databáze vytvořené v programu Excel (MS Office Excel 2007; Microsoft, Redmond, Washington, USA) a umístěné na serveru Kardiochirurgické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové. Data byla následně seřazena, zpracována a statisticky analyzována.

Klinické kontinuální a diskrétní proměnné jsou uvedeny jako průměr \pm směrodatná odchylka (SD) nebo jako medián a variační rozpětí (*range*), pokud neměla data normální rozložení. Klinické kategorické a ordinální proměnné jsou uvedeny formou absolutní či relativní (%) četnosti výskytu. Kontinuální a diskrétní proměnné byly porovnány párovým *t*-testem, dvouvýběrovým *t*-testem a jednocestnou analýzou rozptylu nebo Mann-Whitney testem, Kolmogorov-Smirnovov testem a Kruskal-Wallis analýzou rozptylu, pokud neměla data normální rozložení. Kategorické a ordinální proměnné byly porovnány Pearsonovým *chi*-kvadrátovým testem nebo Fischer exaktním testem, pokud byla četnost v jedné nebo obou skupinách nižší než 5. Sérové hladiny biomarkerů jsou uvedeny jako median a byly porovnány Kruskal-Wallis jednocestnou analýzou rozptylu s následným *post-hoc* Dunn testem a Bonferroni korekcí. Za statisticky významnou byla považována hodnota $p < 0,05$.

Statistická analýza byla provedena programem IBM® SPSS® Statistics (verze 22.0.0.0 pro MS Windows; IBM Corporation, Armonk, New York, USA) a programem Statistica 10 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

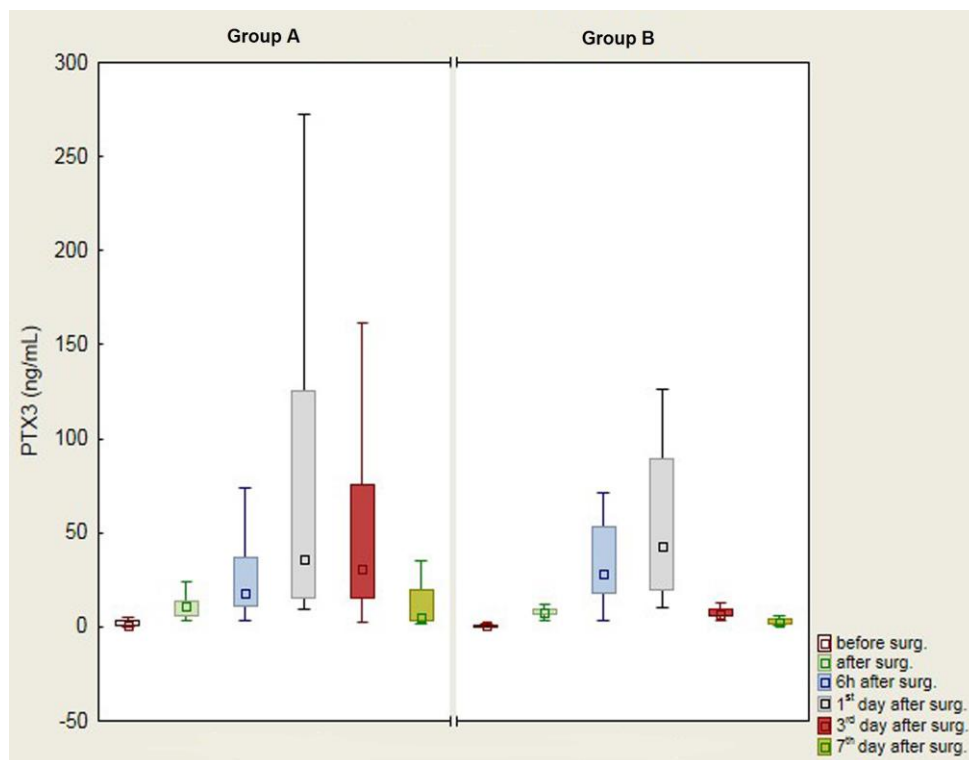
4 VÝSLEDKY

4.1 Analýza vzorků u pacientů dle rozsahu zánětové odpovědi v pooperačním období

4.1.1 Sérové hladiny a dynamika PTX3

Předoperační sérová hladina PTX3 byla 0,6 ng/ml ve skupině A a 0,4 ng/ml ve skupině B. Ke zvyšování sérových hladin došlo po ukončení chirurgického výkonu a maximum bylo dosaženo první pooperační den (36,3 ng/ml ve skupině A oproti 42,7 ng/ml ve skupině B; $p > 0,600$). Následně docházelo k poklesu hladin. Třetí pooperační den zůstala hladina PTX3 statisticky významně zvýšená ve skupině A (31,1 ng/ml) oproti skupině B (7,0 ng/ml); $p < 0,006$. Jednalo se o jediný statistický rozdíl pozorovaný mezi oběma skupinami. Zvýšené hladiny PTX3 zůstaly po celou dobu pozorování, tedy do 7. pooperačního dne zvýšené oproti normálním, respektive výchozím hodnotám (Obr. 13).

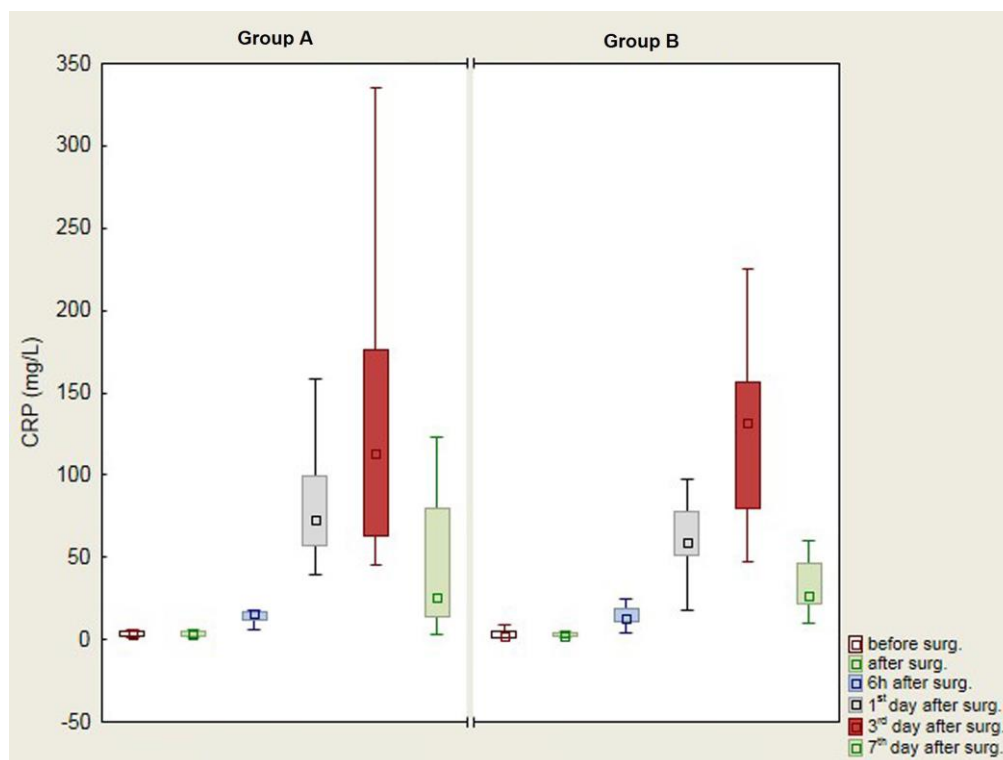
Obrázek 13. Sérové hladiny PTX3 v obou skupinách. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehklých hodnot.



4.1.2 Sérové hladiny a dynamika CRP

V obou skupinách byla pozorována podobná dynamika sérových hladin CRP a nedosahovala po celou dobu sledování statisticky významných rozdílů. Výchozí, předoperační hodnoty CRP byly 0,6 mg/l ve skupině A a 0,4 mg/l ve skupině B. K vzestupu hladin došlo šest hodin po chirurgickém výkonu. Maxima dosahovaly sérové hodnoty CRP třetí pooperační den s hodnotami 113 mg/l ve skupině A oproti 132 mg/l ve skupině B ($p = 0,615$). Zvýšené sérové hladiny CRP zůstaly po celou dobu sledování (26,0 mg/l ve skupině A oproti 26,2 mg/l ve skupině B; $p = 0,730$) (Obr. 14).

Obrázek 14. Sérové hladiny CRP v obou skupinách. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.

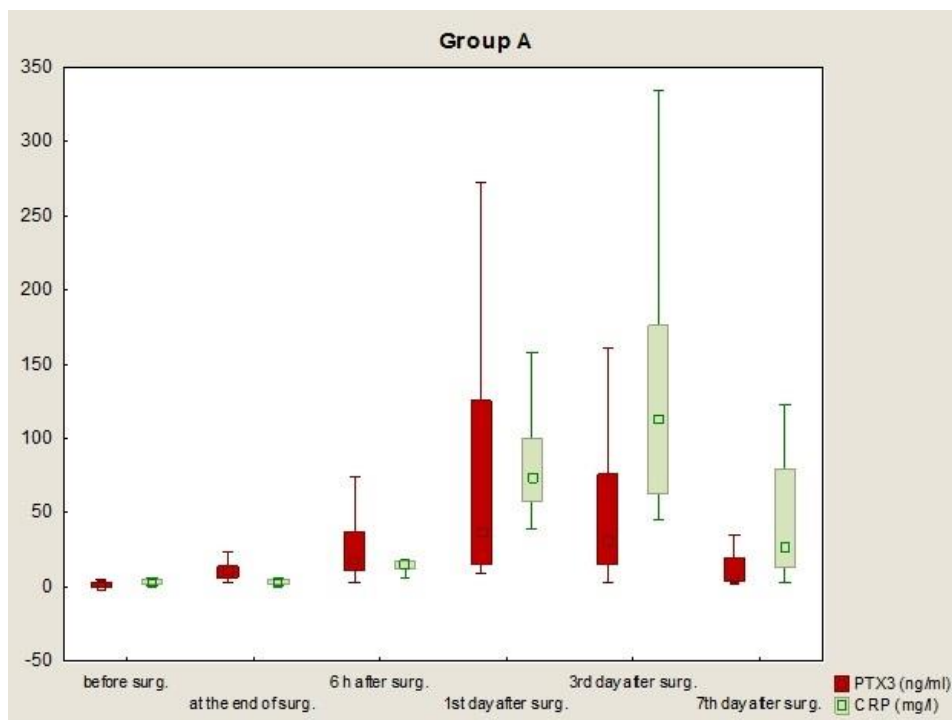


4.1.3 Porovnání dynamiky hladin PTX3 a CRP

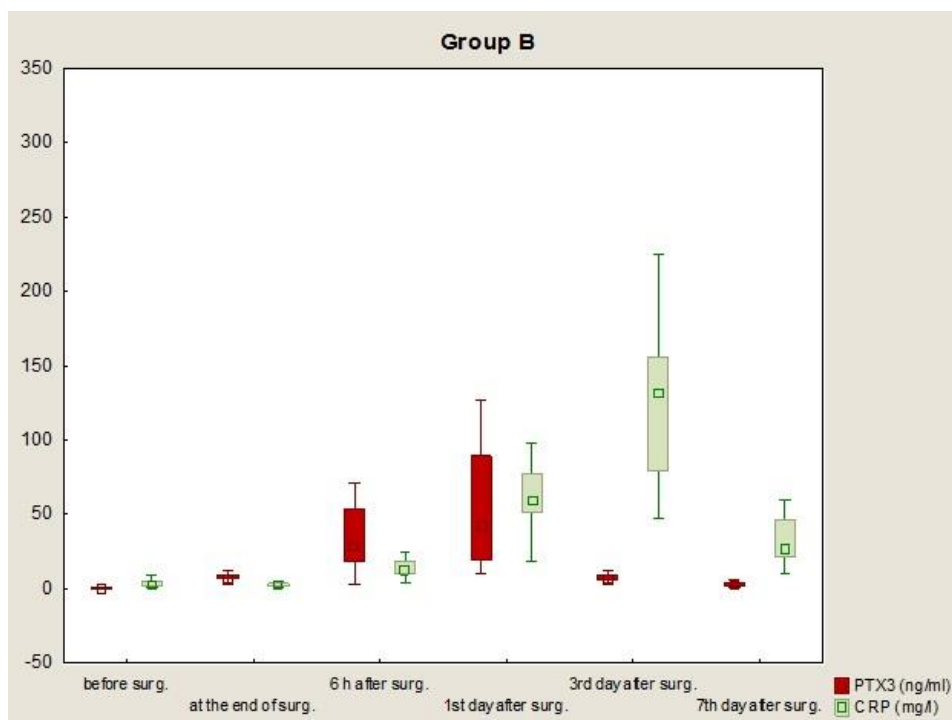
Zatímco hladiny PTX3 stoupaly bezprostředně od ukončení chirurgického výkonu a dosahovaly maxima první pooperační den v obou skupinách, v případě hladin CRP docházelo k jeho zvýšení od šesté pooperační hodiny s maximem sérové hladiny třetí pooperační den v obou skupinách. Sérové hladiny obou biomarkerů zůstaly zvýšené

do sedmého pooperačního dne. Pokles hladin CRP byl pozvolný v obou skupinách, zatímco hladiny PTX3 klesaly rychleji ve skupině B (Obr. 15 a 16).

Obrázek 15. Hladiny PTX3 a CRP ve skupině A. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehklých hodnot.



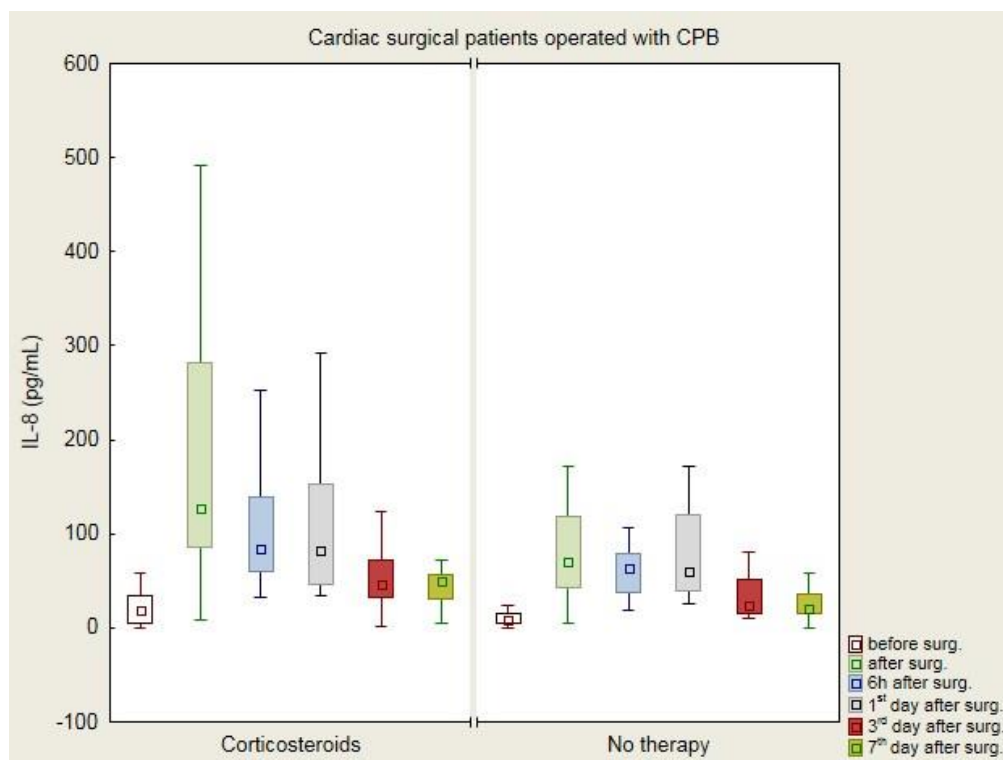
Obrázek 16. Hladiny PTX3 a CRP ve skupině B. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehklých hodnot.



4.1.4 Sérové hladiny a dynamika IL-8

Předoperační sérová hladina IL-8 byla 18,2 pg/ml ve skupině A oproti 8,6 pg/ml ve skupině B, k prudkému vzestupu a zároveň také již dosažení maxima hladin IL-8 došlo v obou skupinách bezprostředně po ukončení chirurgického výkonu (127,1 pg/ml ve skupině A oproti 70,6 pg/ml ve skupině B). Tento rozdíl dosahoval statistické významnosti ($p < 0,050$). V obou skupinách poté následoval pozvolný pokles hladin, nicméně ani sedmý pooperační den neklesla sérová hladina IL-8 v obou skupinách na hodnoty předoperační. Rozdíl mezi skupinami 7. pooperační den byl statisticky významný (49,3 pg/ml ve skupině A oproti 20,0 pg/ml ve skupině B; $p < 0,025$) (Obr. 17).

Obrázek 17. Sérové hladiny a dynamika IL-8. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.

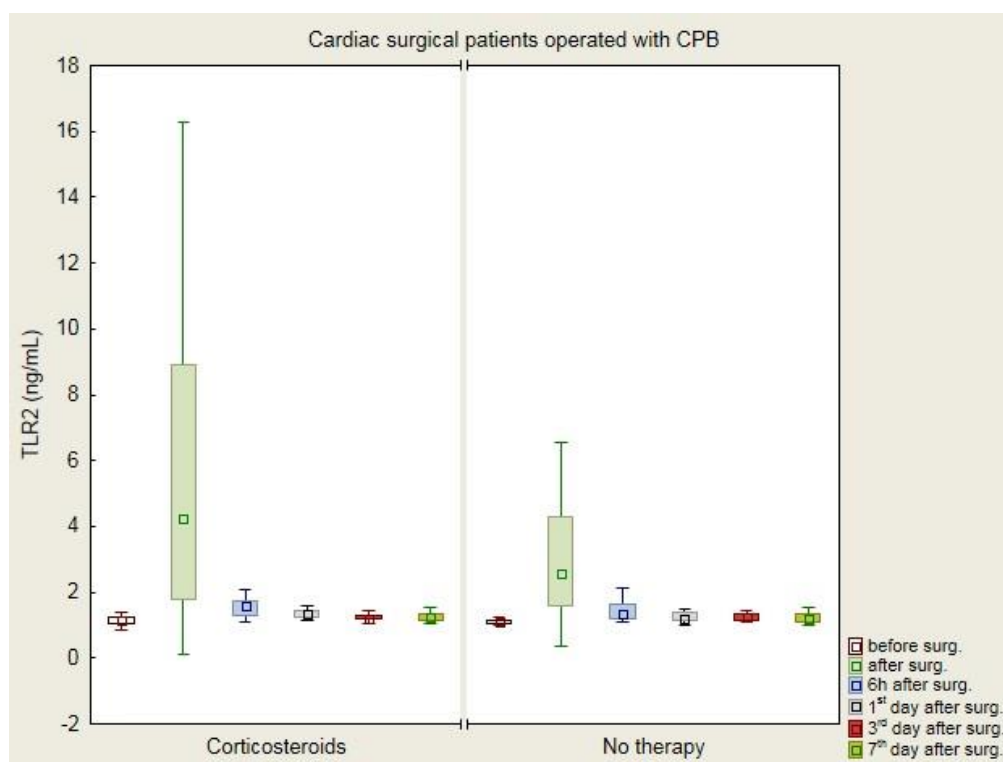


4.1.5 Sérové hladiny a dynamika TLR2

V obou skupinách byla pozorována obdobná dynamika hladin TLR2, ale nedosahovala staticky významného rozdílu po celou dobu sledování. Předoperační hladina TLR2 byla 1,2 ng/ml ve skupině A oproti 1,1 ng/ml ve skupině B, k vzestupu a zároveň dosažení maxima hladin došlo bezprostředně po ukončení chirurgického výkonu na hladiny 4,7 ng/ml ve skupině A oproti 2,4 ng/ml ve skupině B ($p = 0,410$). Od šesté

pooperační hodiny převyšovaly hladiny TLR2 v obou skupinách jen minimálně hladiny předoperační a na téměř předoperační úroveň hladin se dostaly od 1., respektive 3. pooperačního dne. Ve skupině A byla hodnota TLR2 sedmý pooperační den 1,3 ng/ml oproti 1,2 ng/ml ve skupině B ($p = 0,439$), (Obr. 18).

Obrázek 18. Sérové hladiny a dynamika TLR2. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.

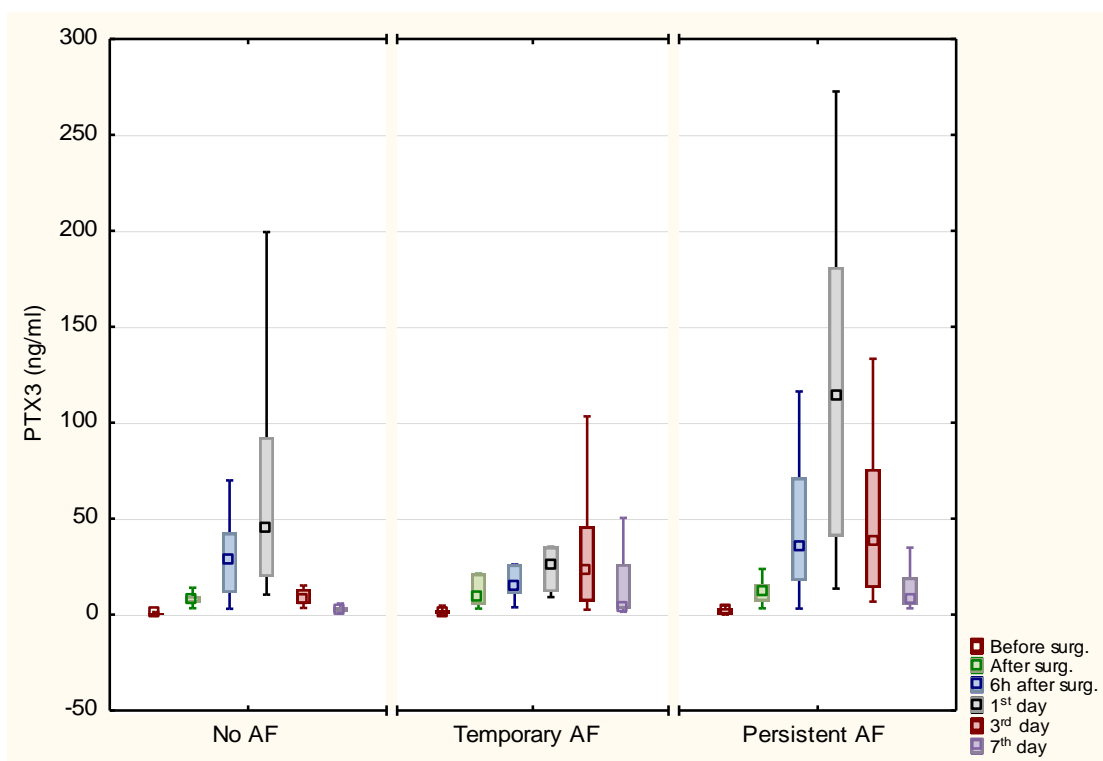


4.2 Analýza vzorků u pacientů s ohledem na fibrilaci síní

4.2.1 Sérové hladiny a dynamika PTX3

Předoperační sérové hladiny PTX3 byly 0,3 ng/ml ve skupině A, 0,5 ng/ml ve skupině B a 2,8 ng/ml ve skupině C, nedosahující statistické významnosti. Dynamika PTX3 vykazovala časnější vzestup sérových hladin oproti CRP s dosažením maxima 1. pooperační den (45,6 ng/ml, 26,0 ng/ml a 113,5 ng/ml; $p = 0,075$). Významný statistický rozdíl hladin PTX3 byl pozorován třetí pooperační den (7,9 ng/ml oproti 37,5 ng/ml; $p < 0,050$) a sedmý pooperační den (2,6 ng/ml oproti 8,0 ng/ml; $p < 0,001$) mezi skupinou A (*no AF*) a skupinou C (*persistent AF*). V průběhu celého sledování nebyl shledán statisticky významný rozdíl mezi skupinami A a B, ani mezi skupinami B a C (Obr. 19).

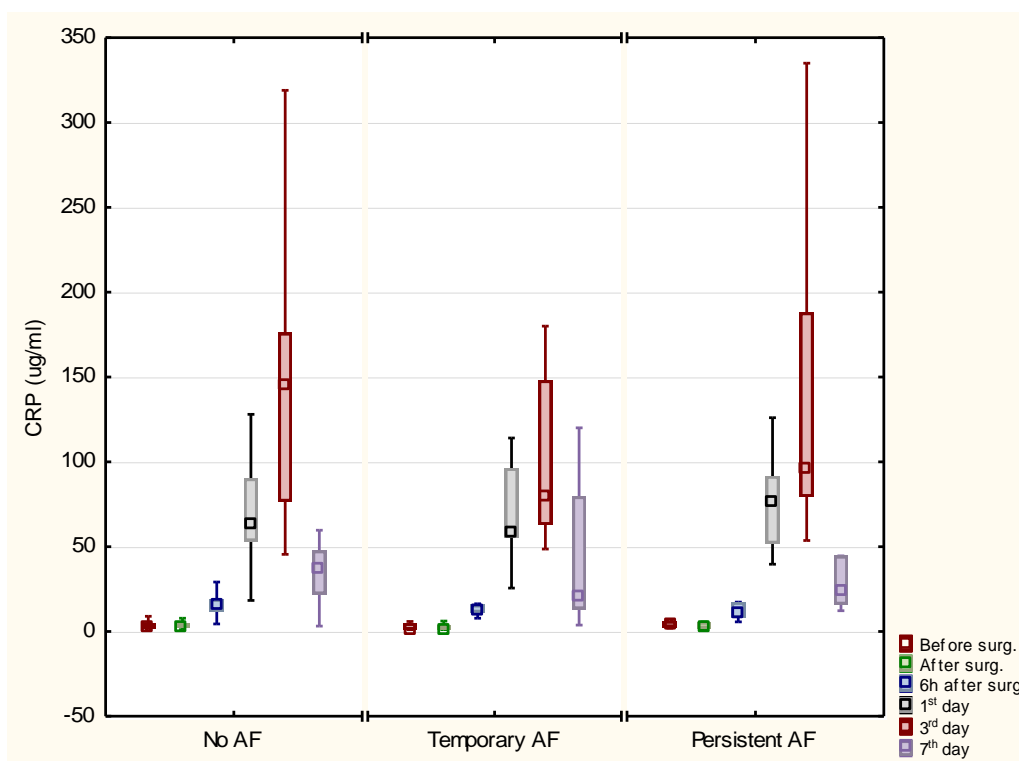
Obrázek 19. Sérové hladiny a dynamika PTX3. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.



4.2.2 Sérové hladiny a dynamika CRP

Ve všech třech skupinách byla pozorována podobná dynamika hladin CRP a mezi jednotlivými skupinami nebyl pozorován statisticky významný rozdíl v průběhu celého pozorovaného období. Výchozí sérová hladina CRP byla 2,5 mg/l ve skupině A, 1,6 mg/l ve skupině B oproti 4,4 mg/l ve skupině C. K dosažení maxima došlo 3. pooperační den s hodnotami 144,5 mg/l, 79,4 mg/ml a 96,2 mg/l ve skupinách A, B, C a ani v tomto případě nebyl rozdíl statisticky významný. Zvýšené hodnoty sérového CRP zůstaly nad výchozí předoperační hladinou i v 7. pooperační den (36,3 mg/l, 19,8 mg/l a 24,1 mg/ml), (Obr. 20).

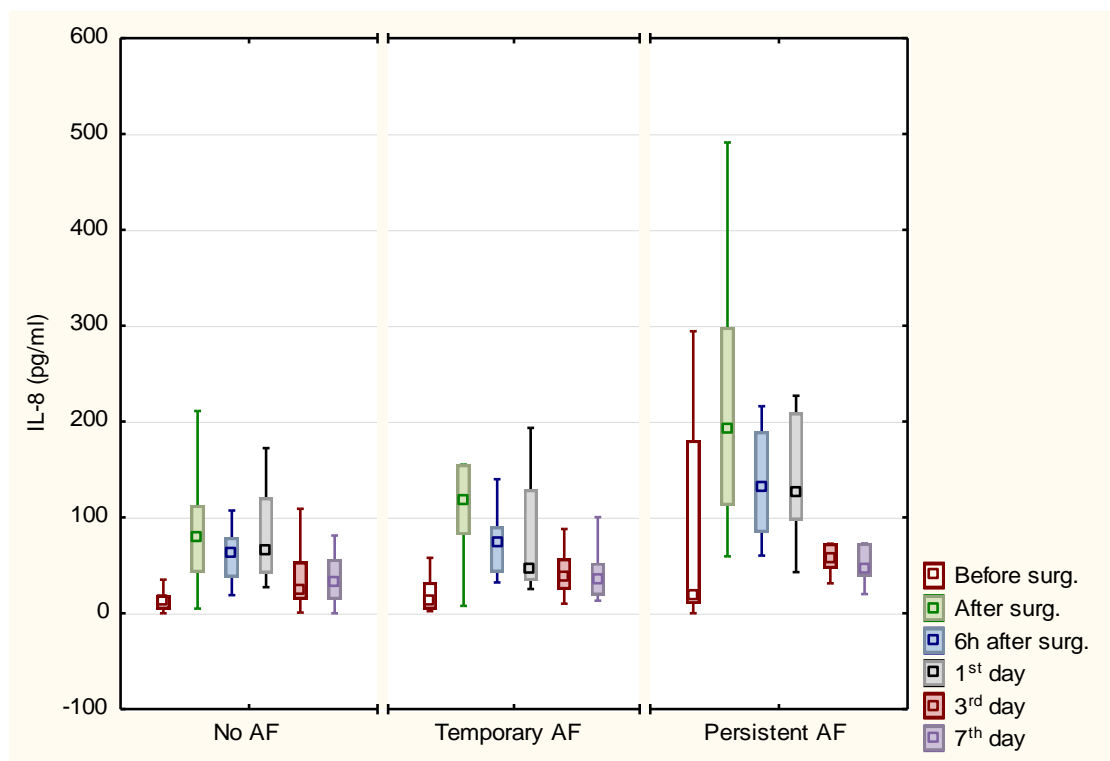
Obrázek 20. Sérové hladiny a dynamika CRP. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehklých hodnot.



4.2.3 Sérové hladiny a dynamika IL-8

Předoperační sérová hladina lidského IL-8 byla 13 pg/ml, 14 pg/ml a 18 pg/ml ve skupině A, B a C, nevykazující statisticky významný rozdíl. Bezprostředně po ukončení operace dosáhly hodnoty hladin maxima se 79 pg/ml ve skupině A, 118 pg/ml ve skupině B a 191 pg/ml ve skupině C, přičemž mezi skupinami A a C byl shledán statisticky významný rozdíl ($p < 0,050$). Statisticky významný rozdíl byl pozorován mezi skupinami A a C i 6 hodin po operaci (63 pg/ml oproti 131 pg/ml; $p < 0,050$) a ve 3. pooperační den (25 pg/ml oproti 57 pg/ml; $p < 0,050$). Mezi skupinami B a C byl statisticky významný rozdíl pozorován 1. pooperační den (46 pg/ml oproti 125 pg/ml; $p < 0,050$). Hodnoty IL-8 postupně klesaly od ukončení operace až k sedmému pooperačnímu dni. Ani 7. pooperační den však hodnoty neklesly pod hodnoty předoperační (31 pg/ml, 36 pg/ml a 47 pg/ml) (Obr. 21).

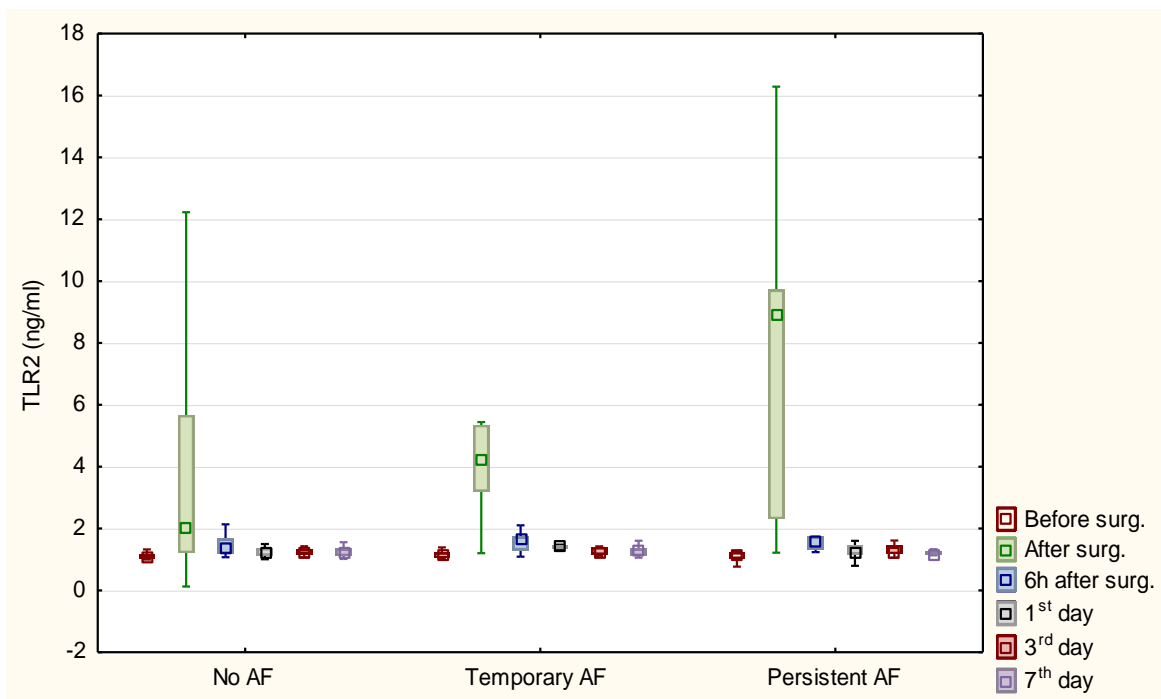
Obrázek 21. Sérové hladiny a dynamika IL-8. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehklých hodnot.



4.2.4 Sérové hladiny a dynamika TLR2

Předoperační sérové hodnoty TLR2 byly 1,12 ng/ml, 1,17 ng/ml a 1,16 ng/ml ve skupině A, B a C. Hladiny TLR2 dosáhly maxima bezprostředně po ukončení operace (2,01 ng/ml, 4,26 ng/ml a 8,89 ng/ml; $p = 0,093$). Rozdíl mezi skupinami nebyl statisticky významný. Od dosažení maximální hladiny hodnoty rychle klesaly (již v období šesti hodin po operaci) a v podstatě dosahovaly hodnoty předoperační, zejména sedmý pooperační den (1,2 ng/ml, 1,31 ng/ml a 1,19 ng/ml) (Obr. 22).

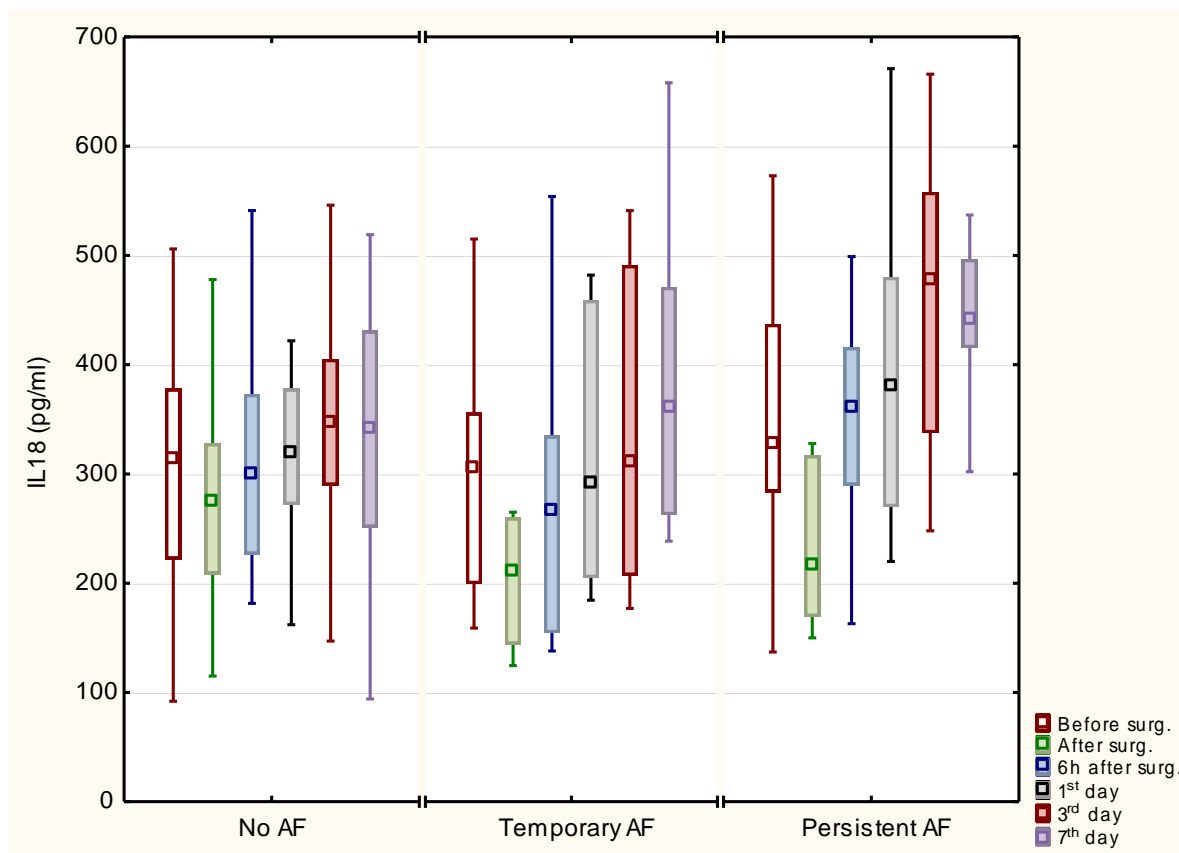
Obrázek 22. Sérové hladiny a dynamika TLR2. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.



4.2.5 Sérové hladiny a dynamika IL-18

Předoperační hladiny IL-18 byly 313 pg/ml, 305 pg/ml a 329 pg/ml ve skupině A, B a C. Po ukončení operace poklesly hladiny IL-18 pod hodnoty předoperační, kdy dosahovaly zároveň minima (276 pg/ml, 210 pg/ml a 216 pg/ml ve skupině A, B a C). Následoval postupný vzestup hladin a maximum bylo pozorováno 3. pooperační den ve skupině A a C (347 pg/ml a 478 pg/ml). Ve skupině B dosáhly hodnoty maxima 7. pooperační den (360 pg/ml). Během sledované periody nebyl mezi skupinami sledán statisticky významný rozdíl (Obr. 23).

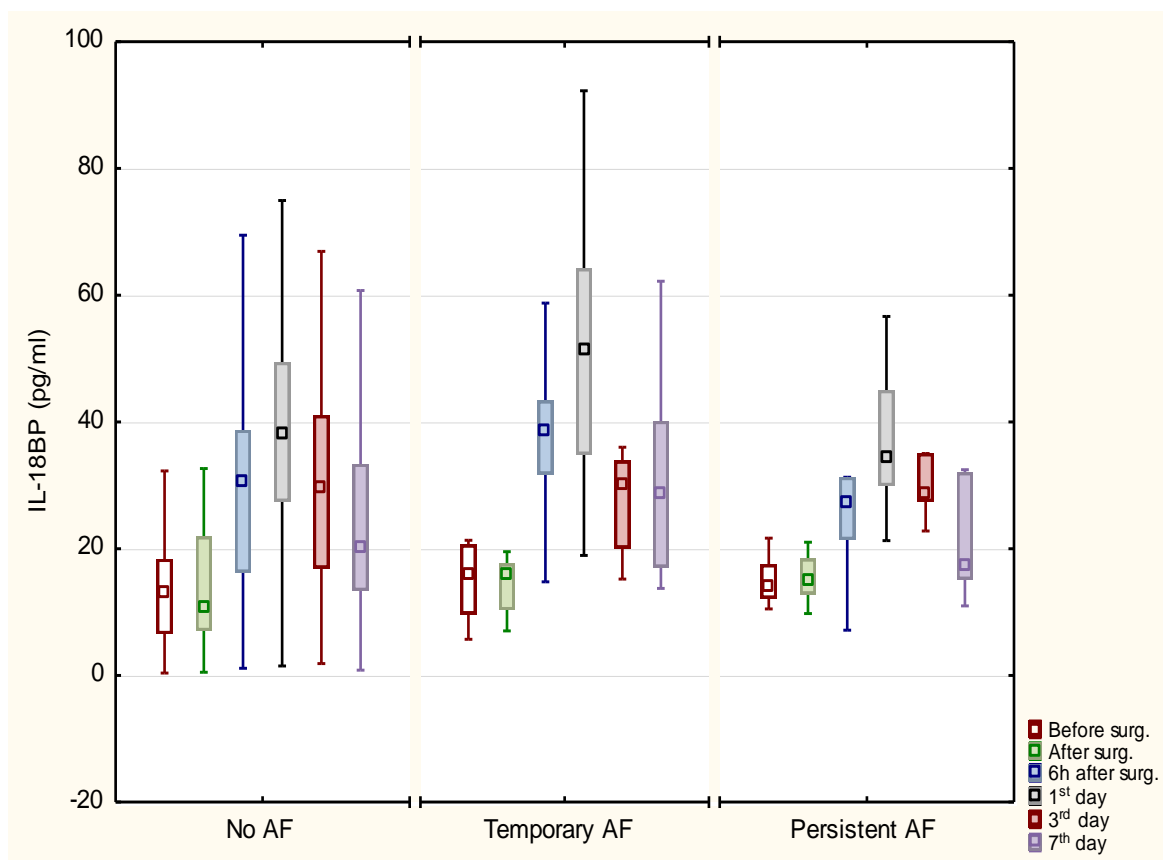
Obrázek 23. Sérové hladiny a dynamika IL-18. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.



4.2.6 Sérové hladiny a dynamika IL-18BP

Předoperační hladiny IL-18BP byly 13 pg/ml ve skupině A, 16 pg/ml ve skupině B a 14 pg/ml ve skupině C. Maxima dosahovaly hodnoty ve všech třech skupinách 1. pooperační den (38 pg/ml, 51 pg/ml a 34 pg/ml). Následoval pokles hladin, nicméně ani sedmý pooperační den nepoklesly hodnoty na úroveň předoperační (20 pg/ml ve skupině A, 29 pg/ml ve skupině B a 17 pg/ml ve skupině C). V průběhu sledovaného období nebyl mezi skupinami shledán statisticky významný rozdíl (Obr. 24).

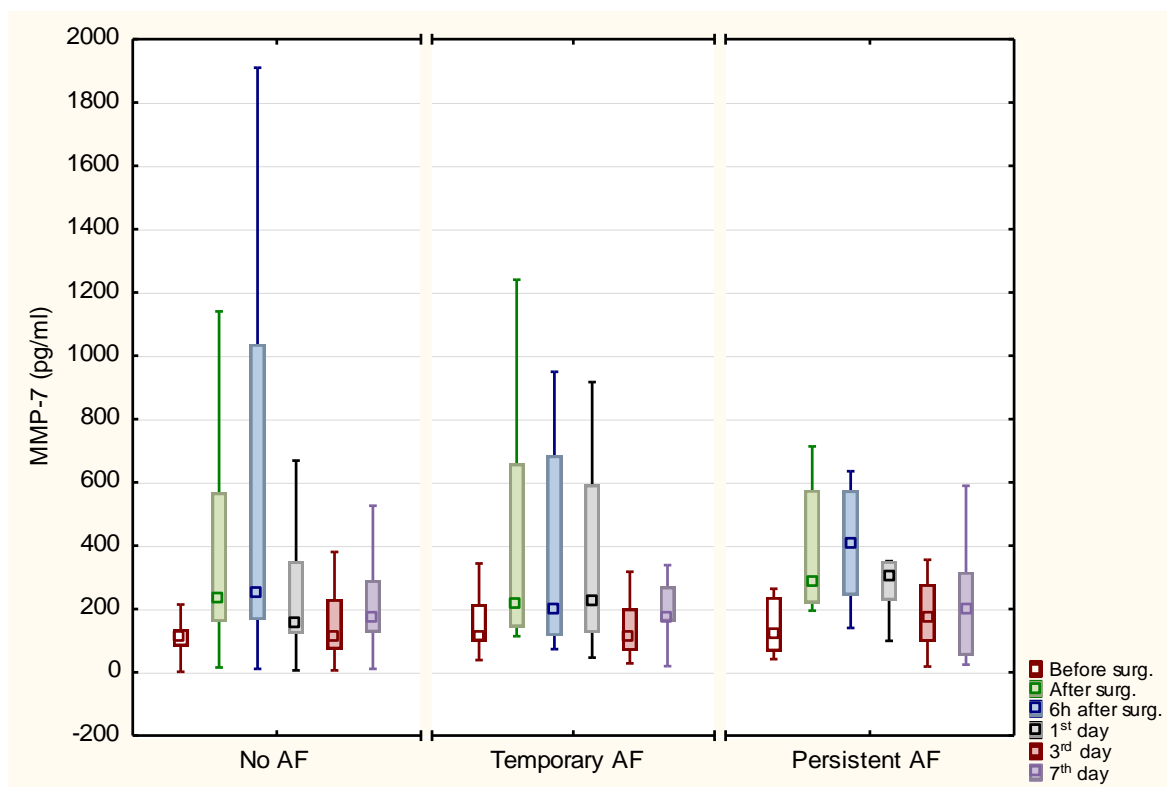
Obrázek 24. Sérové hladiny a dynamika IL-18BP. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.



4.2.7 Sérové hladiny a dynamika MMP7

Předoperační hladiny sérového MMP7 byly 110 pg/ml ve skupině A, 114 pg/ml ve skupině B a 123 pg/ml ve skupině C. Maximum bylo dosaženo 6 hodin po operaci (253 pg/ml a 411 pg/ml) ve skupině A a C. Ve skupině B zůstaly hladiny na podobné úrovni s hodnotami 219 pg/ml bezprostředně po ukončení operace, 200 pg/ml šest hodin po operaci a 223 pg/ml 1. pooperační den. Hodnoty předoperační byly opět dosaženy třetí pooperační den ve skupině A a B (110 pg/ml a 115 pg/ml), následované mírným vzestupem 7. pooperační den (176 pg/ml a 172 pg/ml). Ve skupině C zůstaly třetí a sedmý pooperační den hladiny zvýšené (169 pg/ml a 196 pg/ml) oproti skupinám A a B, nedosahovaly však statisticky významného rozdílu (Obr. 25).

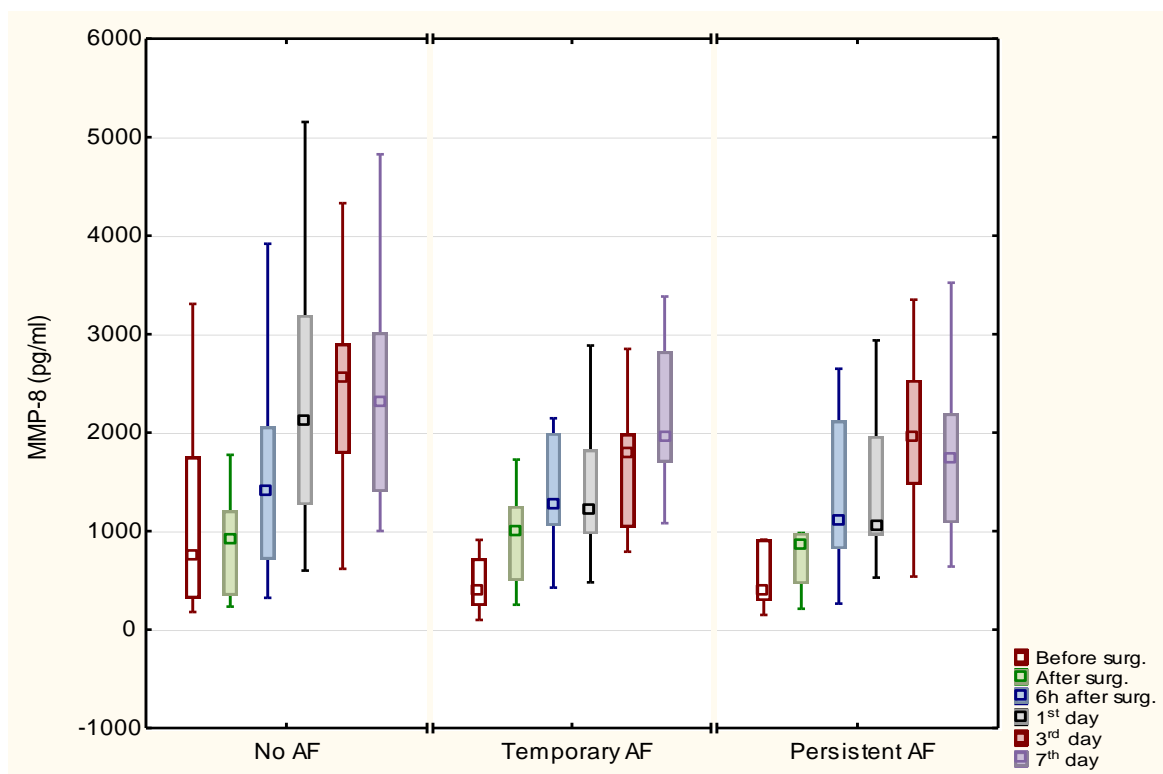
Obrázek 25. Sérové hladiny a dynamika MMP7. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.



4.2.8 Sérové hladiny a dynamika MMP8

Předoperační hladiny MMP8 byly 756 pg/ml ve skupině A, 398 pg/ml ve skupině B a 397 pg/ml ve skupině C. Hladiny stouply od operace k dosažení maxima třetí pooperační den (2 562 pg/ml) a postupně klesaly na 2 308 pg/ml 7. pooperační den ve skupině A. Ve skupině B vzrůstaly postupně hodnoty po celé sledované období (předoperační hodnota 398 pg/ml a 7. pooperační den 1 966 pg/ml). Dynamika hladin ve skupině C byla podobná dynamice hladin ve skupině A s maximem 3. pooperační den (1 941 pg/ml) a mírným poklesem na 1 762 pg/ml 7. pooperační den. Během sledované periody nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl, ačkoliv ve skupině A byly hodnoty po celé sledované období vyšší ve srovnání s ostatními dvěma skupinami (Obr. 26).

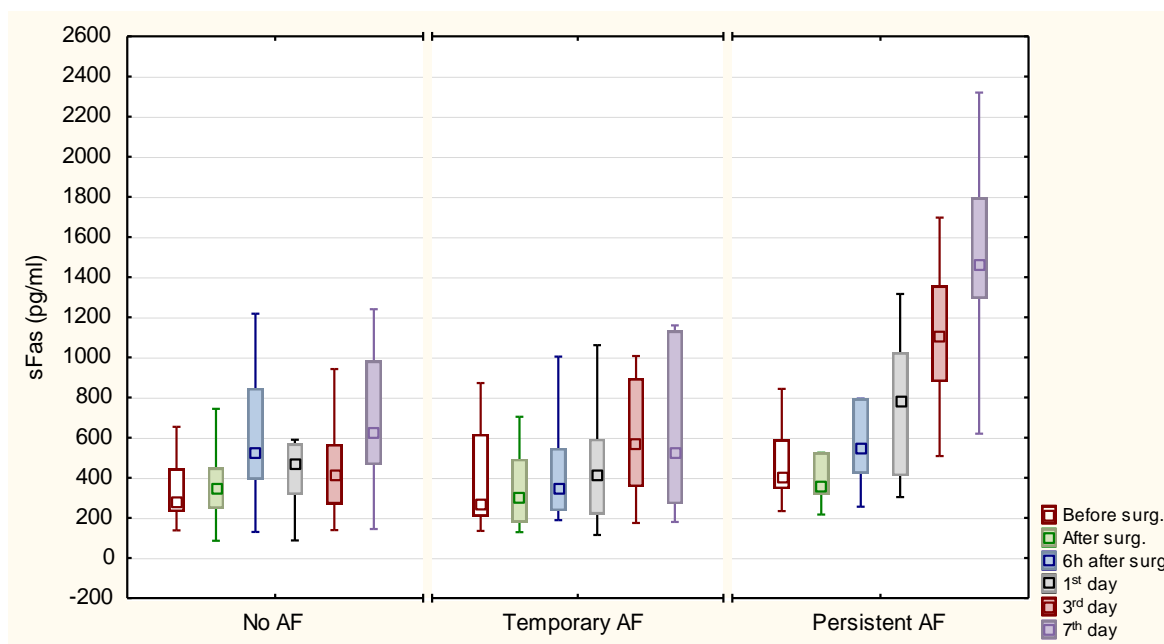
Obrázek 26. Sérové hladiny a dynamika MMP8. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.



4.2.9 Sérové hladiny a dynamika sFas

Předoperační hodnoty sFas byly 275 pg/ml ve skupině A, 272 pg/ml ve skupině B a 406 pg/ml ve skupině C. Statisticky významný rozdíl v sFas hladinách byl pozorován 3. pooperační den (409 pg/ml oproti 1103 pg/ml; $p < 0,010$) a 7. pooperační den (627 pg/ml oproti 1459 pg/ml; $p < 0,050$) mezi skupinami A a C. Statisticky významný rozdíl byl pozorován 7. pooperační den (527 pg/ml oproti 1459 pg/ml; $p < 0,050$) mezi skupinami B a C (Obr. 27).

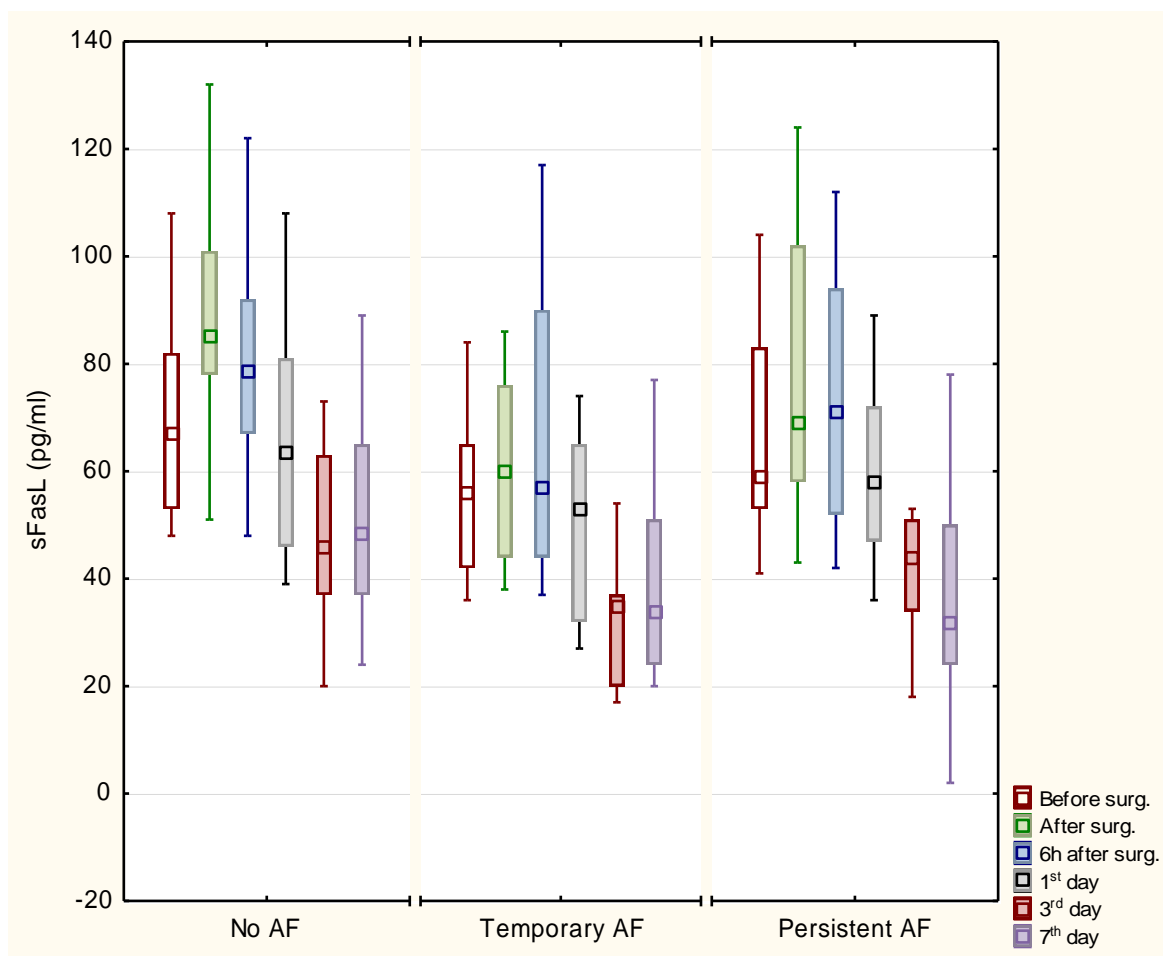
Obrázek 27. Sérové hladiny a dynamika sFas. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehklých hodnot.



4.2.10 Sérové hladiny a dynamika sFasL

Předoperační hladiny solubilní FasL byly ve skupině A 67 pg/ml, ve skupině B 56 pg/ml a 59 pg/ml ve skupině C. Bezprostředně po ukončení operace byl mezi skupinami A a B zaznamenán statisticky významný rozdíl v hladinách (85 pg/ml ve skupině A oproti 60 pg/ml ve skupině B; $p < 0,010$). V těchto skupinách dosahovala tato hodnota zároveň maxima. Minima a zároveň statisticky významného rozdílu mezi skupinami A a B bylo dosaženo 3. pooperačního dne (46 pg/ml oproti 35 pg/ml; $p < 0,050$). Sedmý pooperační den došlo opět k mírnému vzestupu hladin ve skupině A a B, nicméně tyto hodnoty byly nižší než výchozí předoperační hodnoty (49 pg/ml ve skupině A oproti 34 pg/ml ve skupině B). Ve skupině C byla zaznamenána mírně odlišná dynamika hladin s iniciálním vzestupem a dosažením maxima na 71 pg/ml šest hodin po operaci. Následoval pokles pod hodnoty předoperační od prvního pooperačního dne (58 pg/ml) až k sedmému dni (32 pg/ml) (Obr. 28).

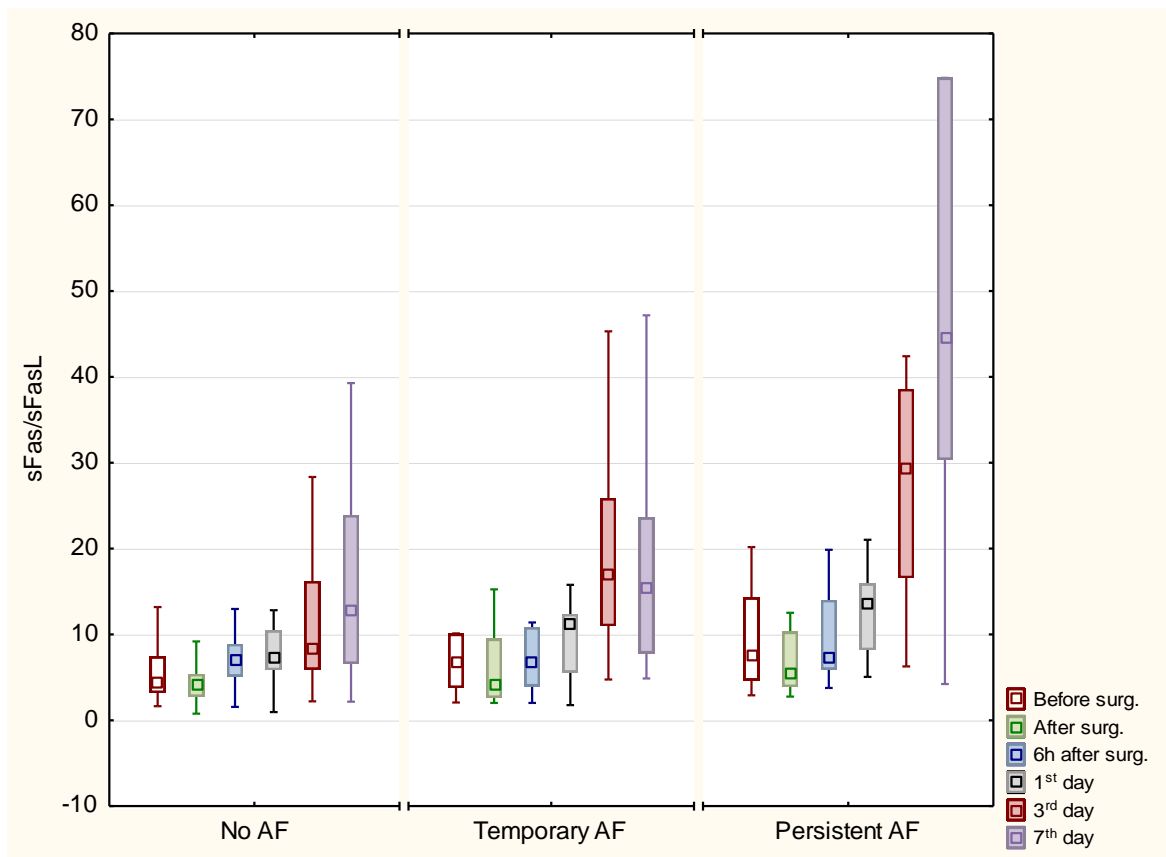
Obrázek 28. Sérové hladiny a dynamika sFasL. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.



4.2.11 Vzájemný poměr hodnot sFas/sFasL

V případě porovnání hodnot sFas ku sFasL bylo statisticky významného rozdílu dosaženo třetí ($p < 0,010$) a sedmý ($p < 0,050$) pooperační den mezi skupinami A a C. Mezi skupinami A a B, ani mezi skupinami B a C nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl (Obr. 29).

Obrázek 29. Vzájemný poměr $sFas/sFasL$. Čtverečky znázorňují medián, krabičky interkvartilové rozpětí a vnitřní ploty znázorňují variační rozpětí neodlehých hodnot.



5 DISKUZE

Kardiochirurgická operace s použitím mimotělního oběhu slouží jako model zánětové odpovědi charakterizovaný zvýšením hladin jak prozánětových, tak protizánětových biomarkerů. Zvýrazněná zánětová odpověď může vést ke klinické manifestaci, k pooperačním komplikacím, orgánovým dysfunkcím či selhání až ke smrti organismu. Cílem je rozeznat tuto nežádoucí reakci co nejdříve, aby byla včasně zahájena adekvátní léčba vedoucí ke snížení pooperační morbidity a mortality pacientů.

V této práci došlo k pooperačnímu zvýšení všech sledovaných zánětových biomarkerů. U některých byla potvrzena jejich známá dynamika po infarktu, jímž kardiochirurgická operace je. U některých biomarkerů nebyla dynamika po kardiochirurgické operaci doposud popsána.

V případě sledování hladin PTX3 a CRP, TLR2, IL-8 ve skupinách rozdělených na podkladě vystupňované zánětové reakce byl nalezen statisticky významný rozdíl hladin PTX3 mezi oběma skupinami třetí pooperační den s vyšší hladinou ve skupině A, definované pooperačními známkami hypoperfuze a/nebo orgánovou dysfunkcí vyžadující terapii kombinací vazoaktivních léků a podáním glukokortikoidů. Nicméně očekávaný signifikantní rozdíl, již první pooperační den, nebyl potvrzen. Je možné, že kardiochirurgická operace má nejspíše dlouhodobější a komplexnější pooperační průběh a tím se pravděpodobně možné komplikace na podkladě vystupňované zánětové odpovědi objeví později. Hladiny PTX3 v naší studii výrazně převyšovaly hladiny PTX3 popisované Kunešem a spol. ve studii srovnávající pooperační průběh pacientů po kardiochirurgické revaskularizaci myokardu s použitím, respektive bez použití mimotělního oběhu.¹⁶² Rozdíl je možné vysvětlit zcela nekomplikovaným pooperačním průběhem pacientů v jejich studii, hladiny PTX3 nepřekročily meze normálních hodnot. Jimi popsaná dynamika se však shodovala s naší zjištěnou dynamikou PTX3. Podobně ve studii Salia a spol., kdy dynamika hladin PTX3 byla pozorována na myším modelu po akutním infarktu myokardu, zjistili, že k vzestupu hladin PTX3 dochází po 8 hodinách po permanentním uzávěru věnčité tepny myši. Hladina dosahovala maxima za 24 hodin a zůstala zvýšená po dobu 72 hodin od infarktu.¹⁶³ Ve studii publikované Perim a spol. s 37 pacienty po akutním infarktu myokardu dosahovaly sérové hodnoty PTX3 maxima mnohem dříve, již 7,5 hodiny po infarktu.³² Tento rozdíl může být dán rozdílným časem prvotního infarktu. V naší studii je prvotní infarkt jasně definován začátkem kardiochirurgické operace,

v případě myšího modelu podvazem věnčité tepny. U pacientů z Periho souboru byl první odběr proveden při příjmu na jednotku intenzivní péče, což nebývá časem prvních klinických symptomů infarktu myokardu. Naopak v naší práci může být dřívější vrchol sérových hladin PTX3 schován v delším časovém rozmezí mezi odběrem dvou po sobě jdoucích vzorků (6 hodin po ukončení chirurgického zákroku a 1. pooperační den). U ostatních sledovaných biomarkerů nebyl pozorován statisticky významný rozdíl mezi skupinami pacientů rozdělených dle odlišného klinického projevu poškozující zánětové odpovědi po kardiochirurgické operaci (s odlišnou závažností SIRS a/nebo jeho komplikací).

Co se týče studie zabývající se zánětovými biomarkery u kardiochirurgických pacientů v peroperačním období s ohledem na fibrilaci síní je z literatury známé, že zánětová reakce není pouze jediným z faktorů, který může ovlivnit vznik a udržování fibrilace síní. Zánětová reakce se nejspíše významněji podílí na vzniku fibrilace síní u takzvané izolované (*lone*) fibrilace síní a nikoliv však u strukturálně postiženého srdce. Řada publikovaných prací zabývajících se zánětlivými biomarkery s ohledem k fibrilaci síní byla prováděna u pacientů bez strukturálního srdečního postižení.^{114,164,165} Námi zařazení pacienti podstupovali kardiochirurgickou operaci z důvodu strukturálního postižení srdce. Kardiochirurgická operace slouží nejen jako výborný model zánětové odpovědi, ale zároveň může být i spouštěčem fibrilace síní.¹⁵¹ Kardiochirurgická operace dovoluje sledovat dynamiku biomarkerů v daných, přesně známých, časových intervalech, což je výhodou oproti řadě klinických situací, kdy prvotní inzult či začátek zánětové odpovědi nemusí být znám (sepsa, infarkt myokardu, apod.).

Dynamika hladin CRP ve vztahu k fibrilaci síní a kardiochirurgické operaci byla často studována, nicméně publikovaná data jsou různorodá a nekoherentní. Ve studii publikované Lo a spol. měli kardiochirurgičtí pacienti s předoperačně zvýšenou hladinou CRP (≥ 3 mg/l) vyšší riziko vzniku pooperační fibrilace síní v obou sledovaných skupinách (skupina pacientů operovaných s použitím mimotělního oběhu, i skupina pacientů operovaných bez použití mimotělního oběhu).¹⁶⁶ Naproti tomu Hogue a spol. dokumentoval, že předoperační hladiny CRP nemají vliv na vznik pooperační fibrilace síní u pacientek podstupující kardiochirurgickou operaci.⁷⁵ Studie publikovaná Ahlssonem a spol. taktéž nepotvrdila korelaci mezi hladinou CRP a nově vzniklou pooperační fibrilaci síní u kardiochirurgických pacientů.¹⁵¹ V naší studii jsme byli schopni ukázat a potvrdit známou dynamiku CRP s dosažením maxima třetí pooperační den po prvotním inzultu

(kardiochirurgické operaci). V průběhu sledování nebyl mezi jednotlivými skupinami zaznamenán statisticky významný rozdíl hladin CRP.

Zatímco bylo publikováno mnoho studií zabývajících se problematikou CRP při fibrilaci síní u kardiochirurgické operace, v případě pentraxinu 3 a fibrilace síní u kardiochirurgické operace jsou publikovaná data spíše vzácností. Při důkladné rešerši literatury v databázi PubMed v březnu 2016 byla nalezena pouze jediná studie zabývající se touto problematikou. V této studii pacienti, kteří měli vyšší hladiny PTX3, měli vyšší četnost výskytu pooperační fibrilace síní, než ti, kteří měli hodnoty PTX3 nižší.¹⁶⁷ Soeki a spol. zjistil významně vyšší hladiny PTX3 v krvi odebrané z levého ouška síně oproti hladinám zjištěným z periferně odebrané krve u pacientů s fibrilací síní (3,7 ng/ml oproti 3,3 ng/ml; $p < 0.010$). Toto však nebylo prokázáno u kontrolní skupiny pacientů s *Wolff-Parkinson-White* syndromem (2,4 ng/ml oproti 2,4 ng/ml). Odběry byly prováděny u pacientů podstupujících katetrizační izolaci plicních žil.⁴⁹ Masson a spol. zahrnul do své studie 382 pacientů s anamnézou fibrilace síní, kteří však v době zařazení do studie měli sinusový rytmus. Vstupní hodnoty IL-6, hsCRP ani PTX3 nebyly významně spojeny s vyšším rizikem návratu (opětovné epizody) fibrilace síní.⁵⁰ V naší studii došlo k vzestupu hladin PTX3 bezprostředně po operaci s dosažením maxima první pooperační den. Byl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi skupinou A (*no AF*) a skupinou C (*persistent AF*) třetí a sedmý pooperační den, nicméně nebyl pozorován statisticky významný rozdíl mezi skupinami A a B. Toto by mohlo být vysvětleno krátkým biologickým časem PTX3, dlouhým intervalem mezi jednotlivými odběry vzorků a většinou pouze krátce trvající epizodou fibrilace síní v pooperačním období (řádově hodiny).

Ve studii publikované Wu a spol. byly hladiny IL-8 významně vyšší dvě hodiny po chirurgické revaskularizaci myokardu a první a druhý pooperační den u pacientů s pooperační fibrilací síní ve srovnání s těmi, u kterých v pooperačním období žádná epizoda fibrilace síní pozorována nebyla. Nicméně v této studii nebyl pozorován statisticky významný rozdíl mezi skupinami šest hodin po operaci.¹⁶⁸ Tento výsledek je v rozporu s naším pozorováním, kdy statisticky významné rozdíly byly pozorovány bezprostředně po operaci, šest hodin po operaci a první pooperační den mezi skupinami A a C. Dynamika hladin v naší studii byla shodná s dynamikou popsanou Tsakiridisem a spol. u pacientů podstupujících chirurgickou koronární revaskularizaci. Na rozdíl od naší studie byly v této studii pozorované hodnoty IL-8 vyšší (maximum až 200 pg/ml).¹⁶⁹ Tato studie se však nezabývala vztahem dynamiky IL-8 k fibrilaci síní. Hladiny IL-8 byly v naší studii zvýšené

ve všech třech skupinách již předoperačně (skupina A: 13 pg/ml, skupina B: 14 pg/ml a skupina C: 18 pg/ml) oproti normě (< 3 pg/ml⁹⁵), nedosahovaly však statisticky významného rozdílu.

Doposud nebyla publikovaná žádná studie zabývající se sérovou hladinou TLR2 u pacientů s fibrilací síní. Publikované studie se zabývaly a měřily lokální expresi TLR2 v srdečních strukturách (nejčastěji v oušku pravé síně) anebo na krevních buňkách. Xu a spol. publikoval studii ukazující vzestup lokální hladiny TLR2 u pacientů s perzistentní nebo permanentní fibrilací síní ve srovnání s pacienty, kteří měli sinusový rytmus či paroxysmální fibrilací síní.¹⁶⁴ Jiné studie ukázaly, že exprese genu a proteinu TLR2 v oušku pravé síně byly zvýšené u pacientů s paroxysmální fibrilací síní a perzistentní fibrilací síní oproti skupině se sinusovým rytmem. Zajímavé je, že ve skupině pacientů s paroxysmální fibrilací síní byly hodnoty lokální exprese vyšší, než ve skupině pacientů s perzistentní fibrilací síní.¹⁷⁰ Pacienti podstupující katetrizační ablaci pro *non-valvular* paroxysmální fibrilací síní měli vyšší hladiny exprese TLR2 na monocytech ve srovnání s pacienty se sinusovým rytmem.¹⁶⁵ Naším cílem bylo potvrdit tyto výsledky měřením sérové hladiny TLR2 odebrané z periferní krve, jelikož tato metoda odběru je klinicky nejjednodušší. Bohužel tato hypotéza nebyla našimi výsledky potvrzena. Jediný pozorovaný rozdíl v sérových hladinách TLR2 byl bezprostředně po ukončení operace s nejvyššími hodnotami ve skupině C (*persistent AF*), ale rozdíly mezi skupinami nedosahovaly statistické významnosti ($p = 0,093$).

Podobně jako sérové hodnoty TLR2, doposud nebyly publikovány studie zabývající se sérovými hladinami lidského MMP8 a pouze jedna studie zabývající se problematikou MMP7 s ohledem na fibrilací síní byla publikovaná v *Chinese Biomedical Literature*, která neprokázala vztah mezi MMP7 a fibrilací síní.¹⁷¹ Podle nedávno publikované metaanalýzy Liu a spol. nejvíce sledované sérové hladiny matrixových metaloproteináz se týkají MMP9. Všechny tyto studie ukazují, že sérové hladiny cirkulujícího proteinu MMP9 jsou vyšší u pacientů s fibrilací síní. Jiné studie se týkaly lokální exprese matrixových metaloproteináz v srdečních síních, také převážně MMP9. I tyto studie ukázaly, že pacienti s fibrilací síní mají významně vyšší expresi matrixových metaloproteináz.^{164,171-177} Tento fakt může přispět k strukturálnímu a elektrickému remodelingu síní a tím pádem inhibice matrixových metaloproteináz může ovlivnit síňovou přestavbu a náchylnost ke vzniku fibrilace síní.¹⁷³ Stejně tak jako zmiňovaná studie týkající se cirkulující MMP7¹⁷¹, tak ani naše studie nepotvrdila statisticky významně rozdílné sérové hladiny MMP7 ani MMP8

mezi skupinami. Zdá se, že tyto biomarkery nemají žádný diagnostický ani prognostický potenciál u pacientů s fibrilací síní.

Pouze jedna studie publikovaná Luanem a spol. se týkala sérových hladin IL-18 u pacientů s perzistentní, paroxyzmální fibrilací síní a pacientů bez fibrilace síní u nestrukturálního postižení srdce. Tato studie ukázala, že sérové hladiny lidského IL-18 byly nezávislým prediktorem pro fibrilaci síní (perzistentní > paroxyzmální) a tento marker by mohl být nadřazen jiným biomarkerům ve vztahu k fibrilaci síní.¹¹⁴ Tato studie se zabývá pouze jednou, výchozí hladinou IL-18 (odběr byl proveden před srdeční katetrizací). V naší studii jsme byli schopni ukázat dynamiku tohoto markeru v peroperačním období. Předoperační hladiny se mezi jednotlivými skupinami statisticky významně nelišily ($p = 0,796$) a to i přesto, že pacienti ve skupině C měli již předoperačně pozitivní anamnézu fibrilace síní. Současně sérové hladiny IL-18 ve skupině perzistentní fibrilace síní byly vyšší než v naší studii a dosahovaly hodnot vyšších, než námi naměřené maximum třetí pooperační den ve skupině C (535 pg/ml oproti 478 pg/ml). Tento fakt může přispět k teorii, že fibrilace síní u pacientů se strukturálním postižením srdce nemusí být tak významně spojena se zánětovou reakcí, jako je tomu u izolovaných (*lone*) fibrilací síní.

Několik studií se zabývalo solubilním Fas v oblasti kardiologie, především u chronického srdečního selhání.¹⁷⁸⁻¹⁸¹ Pouze jedna studie zabývající se solubilním Fas a fibrilací síní u neoperovaných pacientů ukázala vzájemný vztah.¹⁸² My jsme tento výsledek mohli potvrdit. Statisticky významný rozdíl solubilního Fas mezi skupinami A a C byl pozorován třetí a sedmý pooperační den. Statisticky významný rozdíl v podílu sFas/sFasL byl v naší studii pozorován taktéž mezi skupinami A a C třetí a sedmý pooperační den.

Limitace práce:

Studie provedené v rámci této disertační práce mají několik limitací. I když data byla shromažďována prospektivně, jejich vyhodnocování bylo prováděno retrospektivně. Další limitací je samotná definice SIRS díky její klinické heterogenitě, přestože byla definována dle nejnovějších publikovaných dat. Dále potom možné ovlivnění hladin PTX3 ve skupině A rozdělené dle poškozující zánětové reakce v pooperačním období díky podaným glukokortikoidům. Malý počet pacientů v jednotlivých skupinách může vést k nepřesné interpretaci vyhodnocených výsledků a některé rozdíly v předoperačních datech mezi skupinami mohou být zavádějící.

6 ZÁVĚRY

Studie zabývající se dynamikou zánětových biomarkerů u pacientů s odlišným klinickým projevem poškozující zánětové odpovědi po kardiochirurgické operaci (s odlišnou závažností SIRS a/nebo jeho komplikací) ukázala statisticky významný rozdíl hladin sérového PTX3 u pacientů s/bez SIRS po kardiochirurgické operaci. Dá se tedy předpokládat, že by tento relativně nový biomarker mohl rozšířit v současné době klinicky používané spektrum zánětových biomarkerů k diagnostice poškozující zánětové reakce v peroperačním období. Díky lepší a především časnější diagnostice této nežádoucí reakce by mohla být zahájena adekvátní léčba a tím snížena četnost možných komplikací, délka hospitalizace, včetně z toho vyplývajícího vyššího komfortu a spokojenosti pacientů. Při současných znalostech však stále není možné stanovit hranici hladin (*cut-off*) PTX3, která by poukazovala na zvýšené riziko vzniku nežádoucí zánětové odpovědi. Proto jsou nutné další studie, které by objasnily skutečný diagnostický a prognostický potenciál PTX3.

Ve studii zabývající se zánětovými biomarkery v peroperačním období kardiochirurgických pacientů s ohledem na fibrilaci síní (pacienti bez výskytu fibrilace síní, pacienti s nově vzniklou fibrilací síní pooperačně a pacienti s již předoperačním výskytem fibrilace síní, u kterých byla provedena MAZE procedura) bylo sledováno velké množství zánětových markerů, včetně jejich dynamiky. Studie prokázala statisticky významné rozdíly v dynamice PTX3, IL-8, sFas a sFasL. Naproti tomu studie neprokázala statistické rozdíly mezi skupinami rozdělenými dle fibrilace síní v případě CRP, TLR2, MMP7, MMP8 a IL-18 a IL-18BP. Zajímavé je, že u žádného ze sledovaných biomarkerů nebyly pozorovány statistické rozdíly mezi skupinami již předoperačně. Zdá se tedy, že žádný ze sledovaných biomarkerů není silným prediktivním faktorem ve vztahu k fibrilaci síní. Slibným faktorem ve vztahu k fibrilaci síní u kardiochirurgické operace se zdá být IL-8, k jehož zvýšení a zároveň statistickým rozdílům mezi skupinami došlo již bezprostředně po operaci a tyto rozdíly přetrvávaly až do třetího pooperačního dne. Nadále však zůstává nejasné, zda vzestup zánětových biomarkerů je možnou spolupodílejší příčinou vzniku fibrilace síní nebo naopak reakce na vzniklou fibrilaci síní.

Další studie, zejména s vyšším počtem pacientů a případně s delší a intenzivnější dobou sledování, budou nutné k definitivním závěrům objasňujícím tyto specifické

mechanizmy. V současné době stále není jasné, zdali pentraxin 3 a další studované biomarkery mají diagnostickou či prediktivní schopnost zánětové odpovědi u nemocných operovaných na srdci.

7 POUŽITÁ LITERATURA

1. Hořejší V, Bartůňková J *Základy imunologie*. 4. vydání edition, 2009. Triton, Praha. ISBN 978-80-7387-280-9.
2. Krejsek J, Kuneš P, Andrýs C, Holička M, Novosad J, Kudlová M, Koláčková M Přírozená imunita, receptory pro exogenní a endogenní nebezpečné vzory v imunopatogenezi aterosklerózy I. část: Přírozená imunita, rozlišení signálů nebezpečí. *Časopis lékařů českých*, 2005, vol. 144, no. 12, s. 785-789.
3. Iwasaki A, Medzhitov R Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science (New York, N.Y.)*, 2010, vol. 327, no. 5963, s. 291-295.
4. Akira S, Uematsu S, Takeuchi o Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 2006, vol. 124, no. 4, s. 783-801.
5. Kang JY, Lee JO Structural biology of the Toll-like receptor family. *Annual review of biochemistry*, 2011, vol. 80, no. s. 917-941.
6. Moalli F, Jaillon S, Inforzato A, Sironi M, Bottazzi B, Mantovani A, Garlanda C Pathogen recognition by the long pentraxin PTX3. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2011, vol. 2011, no. s. 830421.
7. Murphy JE, Tedbury PR, Homer-Vanniasinkam S, Walker JH, Ponnambalam s Biochemistry and cell biology of mammalian scavenger receptors. *Atherosclerosis*, 2005, vol. 182, no. 1, s. 1-15.
8. Meylan E, Tschopp J, Karin M Intracellular pattern recognition receptors in the host response. *Nature*, 2006, vol. 442, no. 7098, s. 39-44.
9. Bottazzi B, Doni A, Garlanda C, Mantovani a An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annual review of immunology*, 2010, vol. 28, no. s. 157-183.
10. Bottazzi B, Garlanda C, Salvatori G, Jeannin P, Manfredi A, Mantovani a Pentraxins as a key component of innate immunity. *Current opinion in immunology*, 2006, vol. 18, no. 1, s. 10-15.
11. Holmskov U, Thiel S, Jensenius JC Collections and ficolins: humoral lectins of the innate immune defense. *Annual review of immunology*, 2003, vol. 21, no. s. 547-578.
12. Deban L, Jaillon S, Garlanda C, Bottazzi B, Mantovani a Pentraxins in innate immunity: lessons from PTX3. *Cell and tissue research*, 2011, vol. 343, no. 1, s. 237-249.

13. Janeway CA, Jr. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, 1989, vol. 54 Pt 1, no. s. 1-13.
14. Johnson GB, Brunn GJ, Tang AH, Platt JL Evolutionary clues to the functions of the Toll-like family as surveillance receptors. *Trends in immunology*, 2003, vol. 24, no. 1, s. 19-24.
15. Pepys MB, Baltz ML Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid a protein. *Advances in immunology*, 1983, vol. 34, no. s. 141-212.
16. Vilahur G, Badimon L Biological actions of pentraxins. *Vascular pharmacology*, 2015, vol. 73, no. s. 38-44.
17. Breviario F, D'aniello EM, Golay J, Peri G, Bottazzi B, Bairoch A, Saccone S, Marzella R, Predazzi V, Rocchi M, Et Al. Interleukin-1-inducible genes in endothelial cells. Cloning of a new gene related to C-reactive protein and serum amyloid P component. *The Journal of biological chemistry*, 1992, vol. 267, no. 31, s. 22190-22197.
18. Lee GW, Lee TH, Vilcek J TSG-14, a tumor necrosis factor- and IL-1-inducible protein, is a novel member of the pentaxin family of acute phase proteins. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 1993, vol. 150, no. 5, s. 1804-1812.
19. Schlimgen AK, Helms JA, Vogel H, Perin MS Neuronal pentraxin, a secreted protein with homology to acute phase proteins of the immune system. *Neuron*, 1995, vol. 14, no. 3, s. 519-526.
20. Omeis IA, Hsu YC, Perin MS Mouse and human neuronal pentraxin 1 (NPTX1): conservation, genomic structure, and chromosomal localization. *Genomics*, 1996, vol. 36, no. 3, s. 543-545.
21. Hsu YC, Perin MS Human neuronal pentraxin II (NPTX2): conservation, genomic structure, and chromosomal localization. *Genomics*, 1995, vol. 28, no. 2, s. 220-227.
22. Tsui CC, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Barnes C, Worley PF Narp, a novel member of the pentraxin family, promotes neurite outgrowth and is dynamically regulated by neuronal activity. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 1996, vol. 16, no. 8, s. 2463-2478.
23. Dodds DC, Omeis IA, Cushman SJ, Helms JA, Perin MS Neuronal pentraxin receptor, a novel putative integral membrane pentraxin that interacts with neuronal

- pentraxin 1 and 2 and taipoxin-associated calcium-binding protein 49. *The Journal of biological chemistry*, 1997, vol. 272, no. 34, s. 21488-21494.
24. Noland TD, Friday BB, Maulit MT, Gerton GL The sperm acrosomal matrix contains a novel member of the pentaxin family of calcium-dependent binding proteins. *The Journal of biological chemistry*, 1994, vol. 269, no. 51, s. 32607-32614.
 25. Martinez De La Torre Y, Fabbri M, Jaillon S, Bastone A, Nebuloni M, Vecchi A, Mantovani A, Garlanda C Evolution of the pentraxin family: the new entry PTX4. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 2010, vol. 184, no. 9, s. 5055-5064.
 26. Ketter P, Yu JJ, Cap AP, Forsthuber T, Arulanandam B Pentraxin 3: an immune modulator of infection and useful marker for disease severity assessment in sepsis. *Expert review of clinical immunology*, 2016, vol. 12, no. 5, s. 501-507.
 27. Alles VV, Bottazzi B, Peri G, Golay J, Introna M, Mantovani a Inducible expression of PTX3, a new member of the pentraxin family, in human mononuclear phagocytes. *Blood*, 1994, vol. 84, no. 10, s. 3483-3493.
 28. Lee GW, Goodman AR, Lee TH, Vilcek J Relationship of TSG-14 protein to the pentraxin family of major acute phase proteins. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 1994, vol. 153, no. 8, s. 3700-3707.
 29. Introna M, Alles VV, Castellano M, Picardi G, De Gioia L, Bottazzai B, Peri G, Breviario F, Salmona M, De Gregorio L, Dragani TA, Srinivasan N, Blundell TL, Hamilton TA, Mantovani a Cloning of mouse ptx3, a new member of the pentraxin gene family expressed at extrahepatic sites. *Blood*, 1996, vol. 87, no. 5, s. 1862-1872.
 30. Muller B, Peri G, Doni A, Torri V, Landmann R, Bottazzi B, Mantovani a Circulating levels of the long pentraxin PTX3 correlate with severity of infection in critically ill patients. *Critical care medicine*, 2001, vol. 29, no. 7, s. 1404-1407.
 31. Yamasaki K, Kurimura M, Kasai T, Sagara M, Kodama T, Inoue k Determination of physiological plasma pentraxin 3 (PTX3) levels in healthy populations. *Clinical chemistry and laboratory medicine: CCLM/FESCC*, 2009, vol. 47, no. 4, s. 471-477.
 32. Peri G, Introna M, Corradi D, Iacuitti G, Signorini S, Avanzini F, Pizzetti F, Maggioni AP, Moccetti T, Metra M, Cas LD, Ghezzi P, Sipe JD, Re G, Olivetti G, Mantovani A, Latini R PTX3, a prototypical long pentraxin, is an early indicator of acute myocardial infarction in humans. *Circulation*, 2000, vol. 102, no. 6, s. 636-641.

33. Daigo K, Hamakubo T Host-protective effect of circulating pentraxin 3 (PTX3) and complex formation with neutrophil extracellular traps. *Frontiers in immunology*, 2012, vol. 3, no. s. 378.
34. Mairuhu AT, Peri G, Setiati TE, Hack CE, Koraka P, Soemantri A, Osterhaus AD, Brandjes DP, Van Der Meer JW, Mantovani A, Van Gorp EC Elevated plasma levels of the long pentraxin, pentraxin 3, in severe dengue virus infections. *Journal of medical virology*, 2005, vol. 76, no. 4, s. 547-552.
35. Olesen R, Wejse C, Velez DR, Bisseye C, Sodemann M, Aaby P, Rabna P, Worwui A, Chapman H, Diatta M, Adegbola RA, Hill PC, Ostergaard L, Williams SM, Sirugo G DC-SIGN (CD209), pentraxin 3 and vitamin D receptor gene variants associate with pulmonary tuberculosis risk in West Africans. *Genes and immunity*, 2007, vol. 8, no. 6, s. 456-467.
36. Azzurri A, Sow OY, Amedei A, Bah B, Diallo S, Peri G, Benagiano M, D'elios MM, Mantovani A, Del Prete G IFN-gamma-inducible protein 10 and pentraxin 3 plasma levels are tools for monitoring inflammation and disease activity in Mycobacterium tuberculosis infection. *Microbes and infection/Institut Pasteur*, 2005, vol. 7, no. 1, s. 1-8.
37. Mauri T, Bellani G, Patroniti N, Coppadoro A, Peri G, Cuccovillo I, Cugno M, Iapichino G, Gattinoni L, Pesenti A, Mantovani a Persisting high levels of plasma pentraxin 3 over the first days after severe sepsis and septic shock onset are associated with mortality. *Intensive care medicine*, 2010, vol. 36, no. 4, s. 621-629.
38. Liu S, Qu X, Liu F, Wang C Pentraxin 3 as a prognostic biomarker in patients with systemic inflammation or infection. *Mediators of inflammation*, 2014, vol. 2014, no. s. 421429.
39. Daigo K, Mantovani A, Bottazzi B The yin-yang of long pentraxin PTX3 in inflammation and immunity. *Immunology letters*, 2014, vol. 161, no. 1, s. 38-43.
40. Bottazzi B, Inforzato A, Messa M, Barbagallo M, Magrini E, Garlanda C, Mantovani a The pentraxins PTX3 and SAP in innate immunity, regulation of inflammation and tissue remodelling. *Journal of hepatology*, 2016, vol. no. s.
41. Jaillon S, Mancuso G, Hamon Y, Beauvillain C, Cotici V, Midiri A, Bottazzi B, Nebuloni M, Garlanda C, Fremaux I, Gauchat JF, Descamps P, Beninati C, Mantovani A, Jeannin P, Delneste Y Prototypic long pentraxin PTX3 is present in breast milk, spreads in tissues, and protects neonate mice from Pseudomonas

- aeruginosa lung infection. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 2013, vol. 191, no. 4, s. 1873-1882.
42. Luchetti MM, Piccinini G, Mantovani A, Peri G, Matteucci C, Pomponio G, Fratini M, Fraticelli P, Sambo P, Di Loreto C, Doni A, Introna M, Gabrielli a Expression and production of the long pentraxin PTX3 in rheumatoid arthritis (RA). *Clinical and experimental immunology*, 2000, vol. 119, no. 1, s. 196-202.
 43. Fazzini F, Peri G, Doni A, Dell'antonio G, Dal Cin E, Bozzolo E, D'auria F, Praderio L, Ciboddo G, Sabbadini MG, Manfredi AA, Mantovani A, Querini PR PTX3 in small-vessel vasculitides: an independent indicator of disease activity produced at sites of inflammation. *Arthritis and rheumatism*, 2001, vol. 44, no. 12, s. 2841-2850.
 44. Latini R, Maggioni AP, Peri G, Gonzini L, Lucci D, Mocarelli P, Vago L, Pasqualini F, Signorini S, Soldateschi D, Tarli L, Schweiger C, Fresco C, Cecere R, Tognoni G, Mantovani a Prognostic significance of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction. *Circulation*, 2004, vol. 110, no. 16, s. 2349-2354.
 45. Jenny NS, Arnold AM, Kuller LH, Tracy RP, Psaty BM Associations of pentraxin 3 with cardiovascular disease and all-cause death: the Cardiovascular Health Study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2009, vol. 29, no. 4, s. 594-599.
 46. Liu H, Guo X, Yao K, Wang C, Chen G, Gao W, Yuan J, Yu W, Ge J Pentraxin-3 Predicts Long-Term Cardiac Events in Patients with Chronic Heart Failure. *BioMed research international*, 2015, vol. 2015, no. s. 817615.
 47. Nebuloni M, Pasqualini F, Zerbi P, Lauri E, Mantovani A, Vago L, Garlanda C PTX3 expression in the heart tissues of patients with myocardial infarction and infectious myocarditis. *Cardiovascular pathology: the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology*, 2011, vol. 20, no. 1, s. e27-35.
 48. Liu H, Guan S, Fang W, Yuan F, Zhang M, Qu X Associations between pentraxin 3 and severity of coronary artery disease. *BMJ open*, 2015, vol. 5, no. 4, s. e007123.
 49. Soeki T, Bando S, Uematsu E, Matsuura T, Niki T, Ise T, Kusunose K, Hotchi J, Ueda Y, Tomita N, Yamaguchi K, Yagi S, Fukuda D, Taketani Y, Iwase T, Yamada H, Wakatsuki T, Shimabukuro M, Sata M Pentraxin 3 is a local inflammatory marker in atrial fibrillation. *Heart and vessels*, 2014, vol. 29, no. 5, s. 653-658.
 50. Masson S, Aleksova A, Favero C, Staszewsky L, Bernardinangeli M, Belvito C, Cioffi G, Sinagra G, Mazzone C, Bertocchi F, Vago T, Peri G, Cuccovillo I, Masuda N, Barlera S, Mantovani A, Maggioni AP, Franzosi MG, Disertori M, Latini R Predicting atrial fibrillation recurrence with circulating inflammatory markers in

- patients in sinus rhythm at high risk for atrial fibrillation: data from the GISSI atrial fibrillation trial. *Heart (British Cardiac Society)*, 2010, vol. 96, no. 23, s. 1909-1914.
51. Tillett WS, Francis T Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *The Journal of experimental medicine*, 1930, vol. 52, no. 4, s. 561-571.
 52. Abernethy TJ, Avery OT The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood : i. distribution of the reactive protein in patients' sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with C polysaccharide of pneumococcus. *The Journal of experimental medicine*, 1941, vol. 73, no. 2, s. 173-182.
 53. Volanakis JE Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Molecular immunology*, 2001, vol. 38, no. 2-3, s. 189-197.
 54. Russell AI, Cunninghame Graham DS, Shepherd C, Robertson CA, Whittaker J, Meeks J, Powell RJ, Isenberg DA, Walport MJ, Vyse TJ Polymorphism at the C-reactive protein locus influences gene expression and predisposes to systemic lupus erythematosus. *Human molecular genetics*, 2004, vol. 13, no. 1, s. 137-147.
 55. Rubio N, Sharp PM, Rits M, Zahedi K, Whitehead AS Structure, expression, and evolution of guinea pig serum amyloid P component and C-reactive protein. *Journal of biochemistry*, 1993, vol. 113, no. 3, s. 277-284.
 56. Emsley J, White HE, O'hara BP, Oliva G, Srinivasan N, Tickle IJ, Blundell TL, Pepys MB, Wood SP Structure of pentameric human serum amyloid P component. *Nature*, 1994, vol. 367, no. 6461, s. 338-345.
 57. Mold C, Gewurz H, Du Clos TW Regulation of complement activation by C-reactive protein. *Immunopharmacology*, 1999, vol. 42, no. 1-3, s. 23-30.
 58. Jones SA, Novick D, Horiuchi S, Yamamoto N, Szalai AJ, Fuller GM C-reactive protein: a physiological activator of interleukin 6 receptor shedding. *The Journal of experimental medicine*, 1999, vol. 189, no. 3, s. 599-604.
 59. Baumann H, Gauldie J The acute phase response. *Immunology today*, 1994, vol. 15, no. 2, s. 74-80.
 60. Shine B, De Beer FC, Pepys MB Solid phase radioimmunoassays for human C-reactive protein. *Clinica chimica acta; International journal of clinical chemistry*, 1981, vol. 117, no. 1, s. 13-23.

61. Hutchinson WL, Koenig W, Frohlich M, Sund M, Lowe GD, Pepys MB Immunoradiometric assay of circulating C-reactive protein: age-related values in the adult general population. *Clinical chemistry*, 2000, vol. 46, no. 7, s. 934-938.
62. Pepys MB, Hirschfield GM C-reactive protein: a critical update. *The Journal of clinical investigation*, 2003, vol. 111, no. 12, s. 1805-1812.
63. Hirschfield GM, Pepys MB C-reactive protein and cardiovascular disease: new insights from an old molecule. *QJM: monthly journal of the Association of Physicians*, 2003, vol. 96, no. 11, s. 793-807.
64. Danesh J, Muir J, Wong YK, Ward M, Gallimore JR, Pepys MB Risk factors for coronary heart disease and acute-phase proteins. a population-based study. *European heart journal*, 1999, vol. 20, no. 13, s. 954-959.
65. Ford ES Body mass index, diabetes, and C-reactive protein among U.S. adults. *Diabetes care*, 1999, vol. 22, no. 12, s. 1971-1977.
66. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 1999, vol. 19, no. 4, s. 972-978.
67. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet*, 1997, vol. 349, no. 9050, s. 462-466.
68. Sudharshana Murthy KA, Ashoka HG, Aparna AN Evaluation and comparison of biomarkers in heart failure. *Indian heart journal*, 2016, vol. 68 Suppl 1, no. s. S22-28.
69. Safranow K, Dziedziejko V, Rzeuski R, Czyzycka E, Bukowska H, Wojtarowicz A, Binczak-Kuleta A, Jakubowska K, Olszewska M, Ciechanowicz A, Kornacewicz-Jach Z, Machalinski B, Pawlik A, Chlubek D Inflammation markers are associated with metabolic syndrome and ventricular arrhythmia in patients with coronary artery disease. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)*, 2016, vol. 70, no. 0, s. 56-66.
70. Mostowik M, Siniarski A, Golebiowska-Wiatrak R, Nessler J, Gajos G Prolonged CRP Increase After Percutaneous Coronary Intervention Is Associated with High Thrombin Concentrations and Low Platelet' Response to Clopidogrel in Patients with

- Stable Angina. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 2015, vol. 24, no. 6, s. 979-985.
71. Harada M, Van Wagoner DR, Nattel s Role of inflammation in atrial fibrillation pathophysiology and management. *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*, 2015, vol. 79, no. 3, s. 495-502.
 72. Al-Zaiti SS Inflammation-induced atrial fibrillation: pathophysiological perspectives and clinical implications. *Heart & lung: the journal of critical care*, 2015, vol. 44, no. 1, s. 59-62.
 73. Galea R, Cardillo MT, Caroli A, Marini MG, Sonnino C, Narducci ML, Biasucci LM Inflammation and C-reactive protein in atrial fibrillation: cause or effect? *Texas Heart Institute journal/from the Texas Heart Institute of St. Luke's Episcopal Hospital, Texas Children's Hospital*, 2014, vol. 41, no. 5, s. 461-468.
 74. Ko D, Magnani JW, Hylek EM Biomarkers in lone atrial fibrillation - an additional 'fine tuning' of risk? *Current pharmaceutical design*, 2015, vol. 21, no. 5, s. 646-658.
 75. Hogue CW, Jr., Palin CA, Kailasam R, Lawton JS, Nassief A, Davila-Roman VG, Thomas B, Damiano R C-reactive protein levels and atrial fibrillation after cardiac surgery in women. *The Annals of thoracic surgery*, 2006, vol. 82, no. 1, s. 97-102.
 76. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 1996, vol. 86, no. 6, s. 973-983.
 77. Williams MJ, Rodriguez A, Kimbrell DA, Eldon ED The 18-wheeler mutation reveals complex antibacterial gene regulation in *Drosophila* host defense. *The EMBO journal*, 1997, vol. 16, no. 20, s. 6120-6130.
 78. Medzhitov R, Janeway CA, Jr. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*, 1997, vol. 91, no. 3, s. 295-298.
 79. Krejsek J, Kolackova M, Mand'ak J, Kunes P, Holubcova Z, Holmannova D, Abuattieh M, Andrys C TLR2 and TLR4 expression on blood monocytes and granulocytes of cardiac surgical patients is not affected by the use of cardiopulmonary bypass. *Acta medica (Hradec Kralove)/Universitas Carolina, Facultas Medica Hradec Kralove*, 2013, vol. 56, no. 2, s. 57-66.
 80. O'Neill LA, Bryant CE, Doyle SL Therapeutic targeting of Toll-like receptors for infectious and inflammatory diseases and cancer. *Pharmacological reviews*, 2009, vol. 61, no. 2, s. 177-197.

81. Gay NJ, Gangloff M Structure and function of Toll receptors and their ligands. *Annual review of biochemistry*, 2007, vol. 76, no. s. 141-165.
82. Furrie E, Macfarlane S, Thomson G, Macfarlane GT Toll-like receptors-2, -3 and -4 expression patterns on human colon and their regulation by mucosal-associated bacteria. *Immunology*, 2005, vol. 115, no. 4, s. 565-574.
83. Frantz S, Kelly RA, Bourcier T Role of TLR-2 in the activation of nuclear factor kappaB by oxidative stress in cardiac myocytes. *The Journal of biological chemistry*, 2001, vol. 276, no. 7, s. 5197-5203.
84. Akira S, Takeda K, Kaisho T Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature immunology*, 2001, vol. 2, no. 8, s. 675-680.
85. Iwasaki A, Medzhitov R Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nature immunology*, 2004, vol. 5, no. 10, s. 987-995.
86. Arslan F, Keogh B, Mcguirk P, Parker AE TLR2 and TLR4 in ischemia reperfusion injury. *Mediators of inflammation*, 2010, vol. 2010, no. s. 704202.
87. Hennessy EJ, Parker AE, O'neill LA Targeting Toll-like receptors: emerging therapeutics? *Nature reviews. Drug discovery*, 2010, vol. 9, no. 4, s. 293-307.
88. Casella CR, Mitchell TC Putting endotoxin to work for us: monophosphoryl lipid a as a safe and effective vaccine adjuvant. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 2008, vol. 65, no. 20, s. 3231-3240.
89. Baggiolini M, Imboden P, Detmers P Neutrophil activation and the effects of interleukin-8/neutrophil-activating peptide 1 (IL-8/NAP-1). *Cytokines*, 1992, vol. 4, no. s. 1-17.
90. Solomkin JS, Bass RC, Bjornson HS, Tindal CJ, Babcock GF Alterations of neutrophil responses to tumor necrosis factor alpha and interleukin-8 following human endotoxemia. *Infection and immunity*, 1994, vol. 62, no. 3, s. 943-947.
91. Baghel K, Srivastava RN, Chandra A, Goel SK, Agrawal J, Kazmi HR, Raj s TNF-alpha, IL-6, and IL-8 cytokines and their association with TNF-alpha-308 G/A polymorphism and postoperative sepsis. *Journal of gastrointestinal surgery: official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*, 2014, vol. 18, no. 8, s. 1486-1494.
92. Hoch RC, Rodriguez R, Manning T, Bishop M, Mead P, Shoemaker WC, Abraham E Effects of accidental trauma on cytokine and endotoxin production. *Critical care medicine*, 1993, vol. 21, no. 6, s. 839-845.

93. Kukielka GL, Smith CW, Larosa GJ, Manning AM, Mendoza LH, Daly TJ, Hughes BJ, Youker KA, Hawkins HK, Michael LH, Et Al. Interleukin-8 gene induction in the myocardium after ischemia and reperfusion in vivo. *The Journal of clinical investigation*, 1995, vol. 95, no. 1, s. 89-103.
94. Huber AR, Kunkel SL, Todd RF, 3rd, Weiss SJ Regulation of transendothelial neutrophil migration by endogenous interleukin-8. *Science (New York, N.Y.)*, 1991, vol. 254, no. 5028, s. 99-102.
95. Ida N, Sakurai S, Hosoi K, Kunitomo T a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the measurement of interleukin-8 in biological fluids. *Journal of immunological methods*, 1992, vol. 156, no. 1, s. 27-38.
96. Kanda T, Hirao Y, Oshima S, Yuasa K, Taniguchi K, Nagai R, Kobayashi i Interleukin-8 as a sensitive marker of unstable coronary artery disease. *The American journal of cardiology*, 1996, vol. 77, no. 4, s. 304-307.
97. Zhao FX, Liu GH, Zhang J [Value of IL-6 and IL-8 in the diagnosis of neonatal sepsis]. *Zhongguo dang dai er ke za zhi = Chinese journal of contemporary pediatrics*, 2015, vol. 17, no. 12, s. 1311-1315.
98. Husebye T, Eritsland J, Arnesen H, Bjornerheim R, Mangschau A, Seljeflot I, Andersen GO Association of interleukin 8 and myocardial recovery in patients with ST-elevation myocardial infarction complicated by acute heart failure. *PloS one*, 2014, vol. 9, no. 11, s. e112359.
99. Velasquez IM, Frumento P, Johansson K, Berglund A, De Faire U, Leander K, Gigante B Association of interleukin 8 with myocardial infarction: results from the Stockholm Heart Epidemiology Program. *International journal of cardiology*, 2014, vol. 172, no. 1, s. 173-178.
100. Guo Y, Lip GY, Apostolakis s Inflammation in atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*, 2012, vol. 60, no. 22, s. 2263-2270.
101. Dinarello CA, Novick D, Puren AJ, Fantuzzi G, Shapiro L, Muhl H, Yoon DY, Reznikov LL, Kim SH, Rubinstein M Overview of interleukin-18: more than an interferon-gamma inducing factor. *Journal of leukocyte biology*, 1998, vol. 63, no. 6, s. 658-664.
102. Dinarello CA Interleukin-18. *Methods (San Diego, Calif.)*, 1999, vol. 19, no. 1, s. 121-132.

103. Nolan KF, Greaves DR, Waldmann H The human interleukin 18 gene IL18 maps to 11q22.2-q22.3, closely linked to the DRD2 gene locus and distinct from mapped IDDM loci. *Genomics*, 1998, vol. 51, no. 1, s. 161-163.
104. Taniguchi M, Nagaoka K, Kunikata T, Kayano T, Yamauchi H, Nakamura S, Ikeda M, Orita K, Kurimoto M Characterization of anti-human interleukin-18 (IL-18)/interferon-gamma-inducing factor (IGIF) monoclonal antibodies and their application in the measurement of human IL-18 by ELISA. *Journal of immunological methods*, 1997, vol. 206, no. 1-2, s. 107-113.
105. Novick D, Schwartsburd B, Pinkus R, Suissa D, Belzer I, Stoeber Z, Keane WF, Chvatchko Y, Kim SH, Fantuzzi G, Dinarello CA, Rubinstein M a novel IL-18BP ELISA shows elevated serum IL-18BP in sepsis and extensive decrease of free IL-18. *Cytokine*, 2001, vol. 14, no. 6, s. 334-342.
106. Nakamura A, Shikata K, Hiramatsu M, Nakatou T, Kitamura T, Wada J, Itoshima T, Makino H Serum interleukin-18 levels are associated with nephropathy and atherosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes care*, 2005, vol. 28, no. 12, s. 2890-2895.
107. Sun RQ, Zhang SL [The value of serum interleukin-18 and 10 in the evaluation of severity and prognosis in the early stage of sepsis]. *Zhongguo wei zhong bing ji jiu yi xue = Chinese critical care medicine = Zhongguo weizhongbing jijiuyixue*, 2011, vol. 23, no. 5, s. 299-301.
108. Tschoeke SK, Oberholzer A, Moldawer LL Interleukin-18: a novel prognostic cytokine in bacteria-induced sepsis. *Critical care medicine*, 2006, vol. 34, no. 4, s. 1225-1233.
109. Youssef AA, Chang LT, Hang CL, Wu CJ, Cheng CI, Yang CH, Sheu JJ, Chai HT, Chua S, Yeh KH, Yip HK Level and value of interleukin-18 in patients with acute myocardial infarction undergoing primary coronary angioplasty. *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*, 2007, vol. 71, no. 5, s. 703-708.
110. Novick D, Kim SH, Fantuzzi G, Reznikov LL, Dinarello CA, Rubinstein M Interleukin-18 binding protein: a novel modulator of the Th1 cytokine response. *Immunity*, 1999, vol. 10, no. 1, s. 127-136.
111. Ji Q, Zeng Q, Huang Y, Shi Y, Lin Y, Lu Z, Meng K, Wu B, Yu K, Chai M, Liu Y, Zhou Y Elevated plasma IL-37, IL-18, and IL-18BP concentrations in patients with acute coronary syndrome. *Mediators of inflammation*, 2014, vol. 2014, no. s. 165742.

112. Lee JH, Cho DH, Park HJ IL-18 and Cutaneous Inflammatory Diseases. *International journal of molecular sciences*, 2015, vol. 16, no. 12, s. 29357-29369.
113. Janiak A, Lesniowski B, Jasinska A, Pietruczuk M, Malecka-Panas E Interleukin 18 as an early marker or prognostic factor in acute pancreatitis. *Przegląd gastroenterologiczny*, 2015, vol. 10, no. 4, s. 203-207.
114. Luan Y, Guo Y, Li S, Yu B, Zhu S, Li S, Li N, Tian Z, Peng C, Cheng J, Li Q, Cui J, Tian Y Interleukin-18 among atrial fibrillation patients in the absence of structural heart disease. *Europace: European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology: journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 2010, vol. 12, no. 12, s. 1713-1718.
115. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery s Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1998, vol. 12, no. 12, s. 1075-1095.
116. Knox JD, Boreham DR, Walker JA, Morrison DP, Matrisian LM, Nagle RB, Bowden GT Mapping of the metalloproteinase gene matrilysin (MMP7) to human chromosome 11q21-->q22. *Cytogenetics and cell genetics*, 1996, vol. 72, no. 2-3, s. 179-182.
117. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *The Journal of biological chemistry*, 1999, vol. 274, no. 31, s. 21491-21494.
118. Woessner JF, Jr., Taplin CJ Purification and properties of a small latent matrix metalloproteinase of the rat uterus. *The Journal of biological chemistry*, 1988, vol. 263, no. 32, s. 16918-16925.
119. Kato R, Momiyama Y, Ohmori R, Taniguchi H, Nakamura H, Ohsuzu F Plasma matrix metalloproteinase-8 concentrations are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*, 2005, vol. 69, no. 9, s. 1035-1040.
120. Nagata s Apoptosis regulated by a death factor and its receptor: Fas ligand and Fas. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 1994, vol. 345, no. 1313, s. 281-287.
121. Trauth BC, Klas C, Peters AM, Matzku S, Moller P, Falk W, Debatin KM, Krammer PH Monoclonal antibody-mediated tumor regression by induction of apoptosis. *Science (New York, N.Y.)*, 1989, vol. 245, no. 4915, s. 301-305.

122. Yonehara S, Ishii A, Yonehara M a cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-downregulated with the receptor of tumor necrosis factor. *The Journal of experimental medicine*, 1989, vol. 169, no. 5, s. 1747-1756.
123. Inazawa J, Itoh N, Abe T, Nagata s Assignment of the human Fas antigen gene (Fas) to 10q24.1. *Genomics*, 1992, vol. 14, no. 3, s. 821-822.
124. Cheng J, Zhou T, Liu C, Shapiro JP, Brauer MJ, Kiefer MC, Barr PJ, Mountz JD Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science (New York, N.Y.)*, 1994, vol. 263, no. 5154, s. 1759-1762.
125. Janota J. *Syndrom systémové zánětové odpovědi organismu (Systemic inflammatory response syndrome – SIRS) a Syndrom multiorgánové dysfunkce (Multiple organ dysfunction syndrome – MODS)*. In., 2008.
126. Veselý J. Patofyziologická a klinická charakteristika SIRS a MODS. In., 2012.
127. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*, 1992, vol. 101, no. 6, s. 1644-1655.
128. Russell JA Management of sepsis. *The New England journal of medicine*, 2006, vol. 355, no. 16, s. 1699-1713.
129. Wheeler AP Recent developments in the diagnosis and management of severe sepsis. *Chest*, 2007, vol. 132, no. 6, s. 1967-1976.
130. Fosco MJ, Ceretti V, Agranatti D Systemic Inflammatory Response Syndrome Predicts Mortality in Acute Coronary Syndrome without Congestive Heart Failure. *The western journal of emergency medicine*, 2010, vol. 11, no. 4, s. 373-378.
131. Johnson GB, Brunn GJ, Platt JL Cutting edge: an endogenous pathway to systemic inflammatory response syndrome (SIRS)-like reactions through Toll-like receptor 4. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 2004, vol. 172, no. 1, s. 20-24.
132. Balk RA Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): Where did it come from and is it still relevant today? *Virulence*, 2013, vol. 5, no. 1, s. 20-26.
133. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992. *Chest*, 2009, vol. 136, no. 5 Suppl, s. e28.

134. Semler MW, Wheeler AP Systemic inflammatory response syndrome after cardiac surgery: time for a change. *Chest*, 2014, vol. 145, no. 6, s. 1181-1182.
135. Maccallum NS, Finney SJ, Gordon SE, Quinlan GJ, Evans TW Modified criteria for the systemic inflammatory response syndrome improves their utility following cardiac surgery systemic inflammatory response and cardiac surgery. *Chest*, 2014, vol. 145, no. 6, s. 1197-1203.
136. Historie kardiochirurgie. In.: MeDitorial, 2014.
137. Dominik J, Žáček J *Kardiochirurgie*. 1. edice, 1998. Grada Publishing, Praha. ISBN 80-7169-669-2.
138. Karthik S, Srinivasan AK, Grayson AD, Jackson M, Sharpe DA, Keenan DJ, Bridgewater B, Fabri BM Limitations of additive EuroSCORE for measuring risk stratified mortality in combined coronary and valve surgery. *European journal of cardio-thoracic surgery: official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 2004, vol. 26, no. 2, s. 318-322.
139. Karthik S, Grayson AD, Mccarron EE, Pullan DM, Desmond MJ Reexploration for bleeding after coronary artery bypass surgery: risk factors, outcomes, and the effect of time delay. *The Annals of thoracic surgery*, 2004, vol. 78, no. 2, s. 527-534; discussion 534.
140. Kuvin JT, Harati NA, Pandian NG, Bojar RM, Khabbaz KR Postoperative cardiac tamponade in the modern surgical era. *The Annals of thoracic surgery*, 2002, vol. 74, no. 4, s. 1148-1153.
141. Seigerman M, Cavallaro P, Itagaki S, Chung I, Chikwe J Incidence and outcomes of heparin-induced thrombocytopenia in patients undergoing cardiac surgery in north america: an analysis of the nationwide inpatient sample. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*, 2014, vol. 28, no. 1, s. 98-102.
142. Bidar E, Maesen B, Nieman F, Verheule S, Schotten U, Maessen JG a prospective randomized controlled trial on the incidence and predictors of late-phase postoperative atrial fibrillation up to 30 days and the preventive value of biatrial pacing. *Heart rhythm: the official journal of the Heart Rhythm Society*, 2014, vol. 11, no. 7, s. 1156-1162.
143. Hogue CW, Jr., Creswell LL, Gutterman DD, Fleisher LA Epidemiology, mechanisms, and risks: American College of Chest Physicians guidelines for the prevention and management of postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery. *Chest*, 2005, vol. 128, no. 2 Suppl, s. 9S-16S.

144. Mathew JP, Fontes ML, Tudor IC, Ramsay J, Duke P, Mazer CD, Barash PG, Hsu PH, Mangano DT a multicenter risk index for atrial fibrillation after cardiac surgery. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 2004, vol. 291, no. 14, s. 1720-1729.
145. Vojáček J, Kettner J *Klinická kardiologie*. edition, 2012.
146. Mu DL, Wang DX, Li LH, Shan GJ, Li J, Yu QJ, Shi CX High serum cortisol level is associated with increased risk of delirium after coronary artery bypass graft surgery: a prospective cohort study. *Critical care (London, England)*, 2010, vol. 14, no. 6, s. R238.
147. Go AS, Hylek EM, Phillips KA, Chang Y, Henault LE, Selby JV, Singer DE Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. *Jama: the journal of the American Medical Association*, 2001, vol. 285, no. 18, s. 2370-2375.
148. Maesen B, Nijs J, Maessen J, Allessie M, Schotten U Post-operative atrial fibrillation: a maze of mechanisms. *Europace: European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology: journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 2012, vol. 14, no. 2, s. 159-174.
149. Tsai FC, Chang GJ, Hsu YJ, Lin YM, Lee YS, Chen WJ, Kuo CT, Yeh YH Proinflammatory gene expression in patients undergoing mitral valve surgery and maze ablation for atrial fibrillation. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 2015, vol. no. s.
150. Chung MK, Martin DO, Sprecher D, Wazni O, Kanderian A, Carnes CA, Bauer JA, Tchou PJ, Niebauer MJ, Natale A, Van Wagoner DR C-reactive protein elevation in patients with atrial arrhythmias: inflammatory mechanisms and persistence of atrial fibrillation. *Circulation*, 2001, vol. 104, no. 24, s. 2886-2891.
151. Ahlsson AJ, Bodin L, Lundblad OH, Englund AG Postoperative atrial fibrillation is not correlated to C-reactive protein. *The Annals of thoracic surgery*, 2007, vol. 83, no. 4, s. 1332-1337.
152. Wu N, Xu B, Xiang Y, Wu L, Zhang Y, Ma X, Tong S, Shu M, Song Z, Li Y, Zhong L Association of inflammatory factors with occurrence and recurrence of atrial fibrillation: a meta-analysis. *International journal of cardiology*, 2013, vol. 169, no. 1, s. 62-72.

153. Camm AJ, Lip GY, De Caterina R, Savelieva I, Atar D, Hohnloser SH, Hindricks G, Kirchhof P 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation: an update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation--developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. *Europace: European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology: journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 2012, vol. 14, no. 10, s. 1385-1413.
154. Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY, Schotten U, Savelieva I, Ernst S, Van Gelder IC, Al-Attar N, Hindricks G, Prendergast B, Heidbuchel H, Alfieri O, Angelini A, Atar D, Colonna P, De Caterina R, De Sutter J, Goette A, Gorenek B, Heldal M, Hohloser SH, Kolh P, Le Heuzey JY, Ponikowski P, Rutten FH Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Europace: European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology: journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 2010, vol. 12, no. 10, s. 1360-1420.
155. Koláčková M. *Záněťová odpověď indukovaná kardiochirurgickou operací v mimotělním oběhu; vliv metylprednisolonu v náplni oběhu*. Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové, 2014.
156. Birdsall HH, Green DM, Trial J, Youker KA, Burns AR, Mackay CR, Larosa GJ, Hawkins HK, Smith CW, Michael LH, Entman ML, Rossen RD Complement C5a, TGF-beta 1, and MCP-1, in sequence, induce migration of monocytes into ischemic canine myocardium within the first one to five hours after reperfusion. *Circulation*, 1997, vol. 95, no. 3, s. 684-692.
157. Wehlin L, Vedin J, Vaage J, Lundahl J Peripheral blood monocyte activation during coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass. *Scandinavian cardiovascular journal: SCJ*, 2005, vol. 39, no. 1-2, s. 78-86.
158. Chernow B, Alexander HR, Smallridge RC, Thompson WR, Cook D, Beardsley D, Fink MP, Lake CR, Fletcher JR Hormonal responses to graded surgical stress. *Archives of internal medicine*, 1987, vol. 147, no. 7, s. 1273-1278.
159. Blichert-Toft M, Christiansen C, Engquist A, Kehlet H, Lindholm J, Hummer L, Dinesen B Comparison of pituitary-adrenocortical response to hypoglycaemia and surgery. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*, 1979, vol. 23, no. 1, s. 103-106.

160. Winterhalter M, Brandl K, Rahe-Meyer N, Osthaus A, Hecker H, Hagl C, Adams HA, Piepenbrock s Endocrine stress response and inflammatory activation during CABG surgery. a randomized trial comparing remifentanil infusion to intermittent fentanyl. *European journal of anaesthesiology*, 2008, vol. 25, no. 4, s. 326-335.
161. Balk RA Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): where did it come from and is it still relevant today? *Virulence*, 2014, vol. 5, no. 1, s. 20-26.
162. Kunes P, Lonsky V, Mandak J, Kolackova M, Andrys C, Kudlova M, Krejsek J The long pentraxin 3 in cardiac surgery: distinct responses in "on-pump" and "off-pump" patients. *Scandinavian cardiovascular journal: SCJ*, 2007, vol. 41, no. 3, s. 171-179.
163. Salio M, Chimenti S, De Angelis N, Molla F, Maina V, Nebuloni M, Pasqualini F, Latini R, Garlanda C, Mantovani a Cardioprotective function of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction. *Circulation*, 2008, vol. 117, no. 8, s. 1055-1064.
164. Xu Y, Sharma D, Du F, Liu Y The role of Toll-like receptor 2 and hypoxia-induced transcription factor-1alpha in the atrial structural remodeling of non-valvular atrial fibrillation. *International journal of cardiology*, 2013, vol. 168, no. 3, s. 2940-2941.
165. Ichiki H, Orihara K, Hamasaki S, Ishida S, Oketani N, Iriki Y, Ninomiya Y, Okui H, Kuwahata S, Fujita S, Matsushita T, Yoshifuku S, Oba R, Hirai H, Nagata K, Tei C The role of infection in the development of non-valvular atrial fibrillation: up-regulation of Toll-like receptor 2 expression levels on monocytes. *Journal of cardiology*, 2009, vol. 53, no. 1, s. 127-135.
166. Lo B, Fijnheer R, Nierich AP, Bruins P, Kalkman CJ C-reactive protein is a risk indicator for atrial fibrillation after myocardial revascularization. *The Annals of thoracic surgery*, 2005, vol. 79, no. 5, s. 1530-1535.
167. Sezai A, Nakai T, Hata M, Yoshitake I, Shiono M, Kunimoto S, Hirayama a Feasibility of landiolol and bisoprolol for prevention of atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting: a pilot study. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 2012, vol. 144, no. 5, s. 1241-1248.
168. Wu ZK, Laurikka J, Vikman S, Nieminen R, Moilanen E, Tarkka MR High postoperative interleukin-8 levels related to atrial fibrillation in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *World journal of surgery*, 2008, vol. 32, no. 12, s. 2643-2649.
169. Tsakiridis K, Zarogoulidis P, Vretzkakis G, Mikroulis D, Mpakas A, Kesisis G, Arikas S, Kolettas A, Moschos G, Katsikogiannis N, Machairiotis N, Tsiouda T,

- Siminelakis S, Belevelis T, Zarogoulidis k Effect of lornoxicam in lung inflammatory response syndrome after operations for cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Journal of thoracic disease*, 2014, vol. 6 Suppl 1, no. s. S7-S20.
170. Wang J, Xue L, Cao H, Cui F, Dai T, Chen Y TLR2 was overexpressed independent of IL-6 in patients with valvular atrial fibrillation. *Journal of biomedical research*, 2011, vol. 25, no. 3, s. 178-184.
171. Liu Y, Xu B, Wu N, Xiang Y, Wu L, Zhang M, Wang J, Chen X, Li Y, Zhong L Association of MMPs and TIMPs With the Occurrence of Atrial Fibrillation: a Systematic Review and Meta-analysis. *The Canadian journal of cardiology*, 2015, vol. no. s.
172. Hoit BD Matrix metalloproteinases and atrial structural remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*, 2003, vol. 42, no. 2, s. 345-347.
173. Nakano Y, Niida S, Dote K, Takenaka S, Hirao H, Miura F, Ishida M, Shingu T, Sueda T, Yoshizumi M, Chayama k Matrix metalloproteinase-9 contributes to human atrial remodeling during atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*, 2004, vol. 43, no. 5, s. 818-825.
174. Chen CL, Huang SK, Lin JL, Lai LP, Lai SC, Liu CW, Chen WC, Wen CH, Lin CS Upregulation of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases in rapid atrial pacing-induced atrial fibrillation. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2008, vol. 45, no. 6, s. 742-753.
175. Hu XR, Wang XH, Liu HF, Zhou WJ, Jiang H High mobility group box 1 protein: possible pathogenic link to atrial fibrillation. *Chinese medical journal*, 2012, vol. 125, no. 13, s. 2346-2348.
176. Wang W, Wu PS, Yang XL [Role of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase in atrial structural remodeling in patients with atrial fibrillation]. *Nan fang yi ke da xue xue bao = Journal of Southern Medical University*, 2010, vol. 30, no. 5, s. 1160-1162.
177. Wang X, Li Y, Liu L, Hu SS, Song YH, Wang W The role of matrix metalloproteinase-2 in the treatment of atrial fibrillation recurrence after a radiofrequency modified maze procedure. *Cardiology*, 2013, vol. 126, no. 1, s. 62-68.

178. Kinugawa T, Kato M, Yamamoto K, Hisatome I, Nohara R Proinflammatory cytokine activation is linked to apoptotic mediator, soluble Fas level in patients with chronic heart failure. *International heart journal*, 2012, vol. 53, no. 3, s. 182-186.
179. Hou YP, Wu JL, Fan Q, Liu MB, Yin BL, Zhang L Plasma concentration of Fas/Fas ligand and left ventricular function in response to metoprolol in conjunction with standard treatment. *Clinical science (London, England : 1979)*, 2007, vol. 112, no. 5, s. 299-304.
180. Setsuta K, Seino Y, Ogawa T, Ohtsuka T, Seimiya K, Takano T Ongoing myocardial damage in chronic heart failure is related to activated tumor necrosis factor and Fas/Fas ligand system. *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*, 2004, vol. 68, no. 8, s. 747-750.
181. Parissis JT, Adamopoulos S, Antoniadis C, Kostakis G, Rigas A, Kyrzopoulos S, Iliodromitis E, Kremastinos D Effects of levosimendan on circulating pro-inflammatory cytokines and soluble apoptosis mediators in patients with decompensated advanced heart failure. *The American journal of cardiology*, 2004, vol. 93, no. 10, s. 1309-1312.
182. Watson T, Shantsila E, Blann A, Lip GY Circulating progenitor cells in patients with atrial fibrillation and their relation with serum markers of inflammation and angiogenesis. *Thrombosis and haemostasis*, 2010, vol. 104, no. 2, s. 327-334.