

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



**SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU HEPARINOVÉ REZISTENCE U POPULACE  
NEMOCNÝCH PŘED OPERACÍ SRDCE V MIMOTĚLNÍM OBĚHU**

**Vladimír Brzek**

**Autoreferát disertační práce**

**Doktorský studijní program *chirurgie***

**Hradec Králové**

**2010**

Disertační práce byla vypracována v rámci *kombinovaného* studia doktorského studijního programu chirurgie na Katedře chirurgie Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Vladimír Brzek  
Kardiochirurgická klinika  
Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní  
Nemocnice v Hradci Králové

Školitel: doc. MUDr. Jan Harrer, CSc.  
Kardiochirurgická klinika  
Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní  
Nemocnice v Hradci Králové

Školitel konzultant: doc. MUDr. Vladimír Lonský, Ph.D.  
Kardiochirurgická klinika  
Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice  
Olomouc

Oponenti: doc. MUDr. Jan Tošovský, CSc.  
II. chirurgická klinika kardiovaskulární chirurgie  
1. Lékařská fakulta v Praze, Univerzity Karlovy v Praze a Všeobecná  
Fakultní Nemocnice v Praze

Doc. MUDr. Marek Gwozdziwicz, Ph.D.  
Kardiochirurgická klinika  
Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice  
Olomouc

Tato práce vznikla za podpory grantu č. 1A/8590-4 IGA MZ ČRlfhf

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel. 495 816 131).

*Obhajoba se koná před Komisí pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu Chirurgie ve středu dne 23.6. 2010 od 11.00 hodin. Bedrnův pavilon, budova č. 21, 1. poschodí, konferenční místnost, areál Fakultní nemocnice Hradec Králové.*

Doc. MUDr. RNDr. Milan Kaška, Ph.D.  
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací  
v doktorském studijním programu chirurgie

## Obsah

1. Souhrn.....	4
2. Summary.....	5
3. Úvod do problematiky.....	6
3.1. Heparin a heparinová rezistence.....	6
3.2. Přímé inhibitory trombinu.....	10
3.3. Přehledné rozdělení koagulačních testů.....	11
3.3.1. ACT.....	12
3.3.2. TEG.....	12
3.4. Srážlivost.....	13
3.5. Mímotělní oběh a koagulační systém.....	14
3.5.1. Stručný přehled příčin a mechanismů alterace hemostázy při použití MO.....	15
3.6. Antitrombin.....	16
4. Cíle dizertační práce.....	17
5. Materiál a metodika.....	17
5.1. Soubor nemocných.....	17
5.2. ACT.....	17
5.3. Stanovení AT.....	17
5.4. Heparin a výpočet množství AT.....	18
5.5. Vedení anestezie.....	18
5.5.1. Premedikace.....	18
5.5.2. Úvod do anestezie.....	18
5.5.3. Vedení anestezie a analgezie.....	19
5.6. Vedení mímotělního oběhu.....	19
5.7. Použité statistické metody.....	20
6. Výsledky.....	20
6.1. Skutečný výskyt heparinové rezistence.....	21
6.2. Vliv předoperační hladiny antitrombinu na heparinovou rezistenci.....	21
6.3. Předoperační léčba heparinem.....	21
6.4. Heparinová rezistence u pacientů s počtem trombocytů $300 \cdot 10^9/l$ a více.....	22
6.5. Výskyt heparinové rezistence u pacientů s věkem 65 let a starších.....	22
6.6. Kombinace všech rizikových faktorů.....	22
7. Diskuze.....	22
8. Závěr.....	24
9. Použitá literatura.....	25
10. Přehled publikační činnosti autora.....	26

## 1. Souhrn

Přibližně u 20% populace se vyskytuje heparinová rezistence. V tom případě po podání běžné dávky heparinu, která je 2-3mg/kg nedojde k dostatečnému prodloužení ACT.

**Cíl:** Stanovit skutečný výskyt heparinové rezistence u pacientů před kardiochirurgickou operací. Zjistit, zda je závislost mezi předoperační léčbou heparinem a výskytem heparinové rezistence. Dále zjistit, zda je závislost mezi počtem trombocytů, koncentrací antitrombinu, věkem pacientů a heparinovou rezistencí.

**Soubor pacientů a metodika:** Během tří let jsme postupně zahrnuli do prospektivní studie celkem 624 pacientů před operací v mimotělním oběhu. U pacientů jsme sledovali hodnoty ACT (activated clotting time) před operací a během operace. U všech nemocných jsme sledovali čtyři faktory, které jsou v literatuře považovány za možné příčiny výskytu heparinové rezistence: věk  $\geq 65$  let, počet trombocytů předoperačně  $\geq 300 \times 10^9/l$ , předoperační podávání různých druhů heparinů, koncentrace antitrombinu  $\leq 60$  % a kombinace všech faktorů. Pokud dávka heparinu  $\geq 5$  mg/kg nevyvolala antikoagulační odpověď  $\geq 480$  s podle ACT, pak jsme pacienty zařadili do skupiny heparin-rezistentních. K vyhodnocení našich výsledků byl použit test shody relativní četnosti a  $\chi^2$  test nezávislosti.

**Výsledky:** V našem souboru se heparinová rezistence vyskytla u 203 z 624 pacientů, tj. u 32,5 %. Výskyt heparinové rezistence se statisticky významně lišil od předpokládaných 22 %. Z celkového počtu 624 pacientů bylo 363 (58,2 %) starších 65 let. Hypotéza závislosti na věku  $\geq 65$  let se zamítá ( $p = 0,0391$ ), resp. je na hranici statistické významnosti. Pro počet trombocytů před operací vyšší než  $300 \times 10^9/l$  byla testována hypotéza nezávislosti vůči alternativě závislosti. Hypotéza nezávislosti byla zamítnuta ( $p = 0,000027$ ). Před operací byl heparin podán 192 pacientům (30,8 %). Byla testována hypotéza závislosti vůči alternativě nezávislosti. Hypotéza nezávislosti byla zamítnuta ( $p < 0,001$ ). Pro koncentraci antitrombinu  $\leq 60$  % před operací se testovala hypotéza nezávislosti vůči alternativě závislosti. Pro antitrombin byla zamítnuta hypotéza nezávislosti heparinové rezistence na koncentraci antitrombinu ACT  $\leq 60$  % ( $p < 0,001$ ).

**Závěr:** Výsledky naší práce potvrdily statisticky významně vyšší výskyt heparinové rezistence, než byl předpoklad. Výsledky potvrdily také statisticky významnou závislost výskytu heparinové rezistence na rizikových faktorech, které jsme sledovali kromě věku pacientů, který byl na hranici statistické významnosti.

## 2. Summary

Heparin resistance occurs in about 20% of population. In that case, after application of a usual dose of heparin (2-3 mg/kg) ACT will not be sufficiently extended.

**Aim:** To determine the real incidence of heparin resistance in patients scheduled for a cardiac surgical procedure. To determine whether there is an association between preoperative treatment with heparin and the incidence of heparin resistance. Also, to establish whether there is an association between platelet count, patients' age, and heparin resistance.

**Patients and methods:** A total of 624 patients scheduled for on-pump surgery were included into a prospective study over a period of three years. Preoperative and intraoperative activated clotting time (ACT) values were recorded. Additionally, four factors referred to in the relevant literature as potential causes of developing heparin resistance were monitored in all patients: age  $\geq 65$  years, preoperative platelet count  $\geq 300 \times 10^9/l$ , preoperative administration of various types of heparin, antithrombin concentration  $\leq 60\%$ , and a combination of all. Patients were considered heparin-resistant if a heparin dose  $\geq 5$  mg/kg had not produced an anticoagulation response with ACT  $\geq 480$  s. Our data were evaluated using the test of agreement of relative frequency and the  $\chi^2$  test.

**Results:** In our group, heparin resistance was detected in 203 of the 624 patients (32.5%). The incidence of heparin resistance differed significantly from the anticipated 22%. Among the 624 patients, 363 (58.2%) were older than 65 years. The hypothesis of age-dependence  $\geq 65$  years is rejected ( $p = 0.0391$ ) or is of borderline statistical significance. Regarding preoperative platelet count higher than  $300 \times 10^9/l$ , the hypothesis of independence was tested as opposed to the hypothesis of dependence. The hypothesis of independence was rejected ( $p = 0.000027$ ). Before surgery, heparin was administered to 192 patients (30,8%). The hypothesis of dependence was tested as opposed to the alternative hypothesis of independence. The independence hypothesis was rejected ( $p < 0.001$ ). Regarding preoperative antithrombin levels  $\leq 60\%$ , the hypothesis of independence was tested as opposed to the alternative hypothesis of independence. The hypothesis of independence of heparin resistance on antithrombin levels  $\leq 60\%$  was rejected ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Results of our study have confirmed an incidence of heparin resistance significantly higher than anticipated. Furthermore, our results have confirmed the incidence of heparin resistance to depend significantly on the tested risk factors, except for patients' age, which was of borderline statistical significance.

### 3. Úvod do problematiky

Chirurgická léčba srdečních onemocnění operacemi prováděnými v mimotělním oběhu dnes patří k rutinním léčebným metodám. I přes neustálý vývoj v mnoha oborech, který umožnil současnou vysokou úroveň užívaných zařízení, přes všechny tyto pokroky celý systém stále postrádá nesmáčivou endotelovou výstelku.

#### 3.1. Heparin a heparinová rezistence

Hypokoagulační substance byla náhodně objevena McLeanem v roce 1916. Izolována byla z jaterní tkáně a Howellem byla nazvána heparinem (1). Chemicky byl přiřazen k cukrům. Nefrakcionovaný heparin (UFH) byl poprvé izolován v roce 1922 (2).

Bylo zjištěno, že se jedná o směs různě dlouhých mukopolysacharidových řetězců. Vyskytuje se nejvíce v plicích, střevě a v lymfatické tkáni. Je strukturálně podobný heparanu, který se vyskytuje na povrchu buněk vmezeřené tkáně a endotelu a je důležitým faktorem atrombogenity endotelu (3).

Standardní nefrakcionovaný heparin je směs mukopolysacharidových řetězců u kterých molekulární hmotnost kolísá mezi 3000 až 40 000 daltony. Mukopolysacharidy se skládají z ekvimolárního množství D glukosaminu a kyseliny D glukuronové. Frakce heparinu, které obsahují pentasacharidové sekvence mají vysokou schopnost vázat se na antitrombin (AT). Vysokou afinitu k AT mají frakce heparinu s nízkou molekulární hmotností, pod 6000 daltonů. Vysokomolekulární, či nefrakcionovaný heparin má nízkou afinitu k antitrombinu a vyvolává tedy i nižší antikoagulační odpověď. Jeho účinek je vždy zprostředkován, především vazbou na AT. Potenciace účinku AT se projevuje inhibicí faktorů XII, XI a IX, dále především inhibicí faktoru Xa a trombinu. Pro vazbu na AT je nutná specifická pentasacharidová sekvence, která je přítomná jen asi u třetiny molekul nefrakcionovaného heparinu. Heparin je rychle vázán na endotel a makrofágy, čímž rychle mizí z cirkulace. Dále se heparin váže na různé plazmatické bílkoviny, jako jsou fibronectin, vitronektin, destičkový faktor 4 a von Willebrandův faktor. Tím je dále omezováno množství heparinu, které je schopné vázat se s antitrombinem a proto se dále snižuje antikoagulační účinek UHF. Heparin se také váže na proteiny akutní fáze, které jsou zvýšeny také při tromboembolické nemoci. Tato skutečnost také částečně vysvětluje rezistenci na antikoagulační léčbu heparinem při fixovaných dávkách heparinu. Poločas účinku je přibližně jedna hodina.

K udržení účinné plazmatické hladiny je nutná trvalá infuze, nebo opakované podávání heparinu. Heparin je odbouráván především heparinázou v játrech a vylučuje se spolu s metabolity močí.

Farmakokinetiku heparinu poznamenává značná interindividuální variabilita. Hrozí proto jak poddávkování, tak i předávkování heparinem se všemi s tím spojenými riziky. Je tedy nezbytné laboratorně monitorovat koagulační parametry (aPTT testem, který je zaměřen na zjištění funkce tzv. vnitřní cesty koagulace a dává tedy přehled o antikoagulačním působení heparinu).

U operací v mimotělním oběhu je používán, i přes nesporné nevýhody, nefrakcionovaný heparin k zajištění antikoagulace. Během operací se setkáváme se situací, kdy nelze dosáhnout obvyklými dávkami heparinu potřebné antikoagulace. Takovému stavu říkáme heparinová rezistence.

Heparinová rezistence je definována několika definicemi:

- Heparinová rezistence je definována jako potřeba vyšší dávky než 35 000 U/24 hod k prodloužení aktivovaného parciálního tromboplastinového srážecího času (aPTT) do terapeutického rozmezí (1,5 – 2 násobek normálních hodnot) (4).

- O heparinovou rezistenci se jedná, jestliže po dávce 3 mg/kg nepřesáhne hodnota ACT 400 s (5).

- Jestliže po dávce 5 mg/kg nedosáhne ACT hodnoty 480 s jedná se také o heparinovou rezistenci (6).

Faktorů, které jsou udávány jako vyvolávající příčiny vedoucí k vzniku heparinové rezistence je mnoho:

- zvýšení hladiny faktoru VIII a fibrinogenu,
- zvýšení destičkového faktoru 4 (PF 4),
- trombocytóza,
- snížení AT,
- gravidita,
- předoperační léčba heparinem,
- nefrotický syndrom,
- diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC),
- sepse,
- rozsáhlý trombus (venózní, plicní, v levé komoře po IM),
- heparinem indukovaná trombocytopenie (HIT),
- některé léky (kortikoidy, aprotinin, nitroglycerin),
- orální kontraceptiva,

- věk nemocných.

Některé faktory se u pacientů operovaných v mimotělním oběhu uplatňují ojedinele vzhledem k spektru našich pacientů. S ostatními faktory se můžeme v naší praxi setkat téměř kdykoliv. Některé faktory se mohou vzájemně kombinovat.

Zvýšená koncentrace faktoru VIII byla zjištěna u pacientů s žilní trombózou v 25 %. Zvýšené koncentrace faktoru VIII může způsobit také těhotenství a užívání perorálních kontraceptiv. U velkých chirurgických výkonů je zvýšené riziko trombembolie způsobeno aktivací koagulace, stázou, sníženou fibrinolýzou a poškozením endotelu. Genetický podklad zvýšené koncentrace faktoru VIII není zatím znám (7).

Fibrinogen – fyziologické hodnoty: 2,0 – 4,0 g/l. Zvýšená hodnota fibrinogenu se může vyskytnout u nádorových onemocnění, gravidity, stresu a u autoimunitních chorob.

Destičkový faktor 4 (PF 4) je uvolňovaný z alfa granulí při aktivaci trombocytů.

Trombocyty jsou bezjaderné buňky, vznikající v kostní dřeni odštěpováním cytoplazmy megakaryocytů. V inaktivním stavu mají diskovitý tvar s průměrem 2 – 4  $\mu\text{m}$ . V aktivním stavu je jejich tvar nepravidelný. Počet trombocytů u dospělého člověka je 150 – 400  $\cdot 10^9/\text{l}$ . Asi dvě třetiny trombocytů z celkového počtu jsou zadržovány ve slezině a třetina cirkuluje v krvi. Doba přežívání trombocytu po jeho vyplavení z kostní dřene je 9 – 12 dnů. Cytoplazma trombocytů obsahuje tři typy granulí: delta granule – obsahují ADP, ATP, Ca, serotonin; alfa granule – obsahují PF 4, PDGF, vWF, FV, fibrinogen; gama granule - jsou totožné s liposomy.

Trombocyty mají v hemostáze několik funkcí:

- jsou součástí primární hemostázy, podílejí se na tvorbě bílého trombu,
- jejich povrch je místem interakcí koagulačních faktorů,
- jsou zdrojem různých látek účastnících se hemostázy a její regulace,
- jsou schopné přímo aktivovat faktory IX a XI.

Trombocytóza je stav se zvýšeným počtem krevních destiček v periferní krvi. Při trombocytóze dochází k sekundárnímu zvýšení počtu trombocytů na hodnoty 400 – 600  $\cdot 10^9/\text{l}$ . Může se vyskytnout při infekčních a zánětlivých onemocněních, po splenektomii, při krvácení, přechodně při fyzické námaze a při nádorových onemocněních. Po odstranění příčiny dochází většinou k normalizaci počtu trombocytů (8). U trombocytémie jde o trvalé zvýšení počtu trombocytů, většinou na hodnoty 600  $\cdot 10^9/\text{l}$  a více. Stav je způsobený myeloproliferativním procesem v kostní dřeni. Vyskytuje se u chronické myeloidní leukémie, pravé polycytémie, esenciální trombocytémie a u celulární fáze idiopatické myelofibrózy (9).

Trombocyty mají vliv na vznik heparinové rezistence od počtu 300  $\cdot 10^9/\text{l}$ .



Antitrombin je glykoprotein syntetizovaný v játrech a endotelových buňkách. Je nejsilnějším přirozeným inhibítoem koagulace. Inhibuje koagulační proteázy – faktor Xa a faktory: XIa, XIIa, plazmin a kalikrein. Pro funkci AT je nezbytné vytvoření komplexu s heparine.

Deficit AT dělíme na vrozený a získaný.

Vrozený deficit je autozomálně-dominantní dědičné onemocnění s prevalencí 0,2 – 0,5/1000 obyvatel. Typ I – klesá aktivita i celková hodnota AT. Typ II – dochází k snížení aktivity, celková hodnota AT je v normě.

Získaný deficit je způsobený několika příčinami – snížená syntéza AT při onemocnění jater. Zvýšená konzumpce u šoku, operačních zákroků, v těhotenství a u DIC. Zvýšené ztráty u nefrotického syndromu. Vliv léků – heparin, cytostatika, kontraceptiva, aprotinin, nitroglycerin, kortikoidy.

Předoperační léčba heparinem je uváděna jako další faktor, který má vliv na vznik heparinové rezistence. Stejně ovlivňuje vznik heparinové rezistence předoperační léčba UHF, jako LMWH. S podáváním heparinu před operací se setkáváme stále častěji vzhledem k polymorbiditě pacientů. Heparin je před operací např. podáván u našich pacientů s nestabilní angínou pectoris a u pacientů s fibrilací síní. Předoperační podávání heparinu je uvedeno jako jeden z rizikových faktorů i v naší práci.

DIC – diseminovaná intravaskulární koagulace je získaným syndromem komplexní poruchy krevního srážení provázejícím vždy druhotně jiné základní onemocnění, či jiný patologický stav (10). Z kardiochirurgických onemocnění je DIC nejčastěji spojován s aortálním aneuryzmatem bez ohledu na lokalizaci. Jen několik procent nemocných má klinicky manifestní DIC před operací. Avšak téměř 40% má zvýšenou hladinu fibrinogen-fibrinových degradačních produktů jako projev aktivace koagulace. Přesný mechanismus rozvoje DIC u těchto stavů není znám, předpokládá se však, že hlavním vyvolávajícím mechanismem aktivace hemostázy je obnažení subendotelu.

Heparinem indukovaná trombocytémie (HIT)

HIT I. typ – objevuje se při léčbě heparinem za 3-5 dnů. Je způsobena hyperagregabilitou trombocytů vyvolanou heparinem a není klinicky závažná. Stačí vysazení heparinu.

HIT II. typu – je velmi závažnou komplikací léčby heparinem. Příčinou je tvorba protilátek, nejčastěji třídy IgG, proti komplexu heparin-trombocytární faktor 4. Aktivované trombocyty se váží na tento komplex a současně je aktivována tvorba trombinu, která vede k vytvoření hyperkoagulačního stavu. Následně vznikají arteriální a žilní trombózy. HIT II. typu se objevuje mezi 5. – 21. dnem léčby heparinem. Počet trombocytů klesá pod  $20 - 150 \cdot 10^9/l$ , nebo pod  $30 -$

50 % počáteční hodnoty. HIT II. typu se může objevit až u 0,4 % nemocných užívajících heparin. Je méně častá u nemocných léčených LMWH. V případě výskytu HIT II. typu jsme nuceni použít přímé inhibitory trombinu o kterých je pojednáno v této práci dále (11).

Z výše uvedeného vyplývá, že vznik heparinové rezistence je multifaktoriální problém. S heparinovou rezistencí se setkáváme u pacientů operovaných v mimotělním oběhu poměrně často. Podáním heparinu, potřebujeme dosáhnout dostatečně vysokého ACT. Pouze v tom případě můžeme zahájit mimotělní oběh bez rizika trombotického uzávěru oxygenátoru.

### 3.2. Přímé inhibitory trombinu

Přímé inhibitory trombinu (direct trombin inhibitors – DTI) patří do skupiny nových antitrombotik. DTI ovlivňují koagulaci komplexně, ale na rozdíl od nepřímých antitrombotik inhibují nejen volný trombin, ale i trombin navázaný na fibrin, tedy přímo v trombu. Jejich aktivita není namířena proti faktoru Xa, některá DTI jsou také však schopny inhibice enzymů fibrinolýzy (12).

Poměrně nově byl do antikoagulační terapie zaveden hirudin, látka izolovaná z pijavice (*Hirudo medicinalis*). Jedná se o jednořetězcový polypeptid (65 aminokyselinových zbytků) o průměrné molekulární hmotnosti 7000 daltonů. Hirudin má protisrážlivou aktivitu nezávislou na, takže působí nejen na trombin v plazmě, ale i na trombin vázaný na fibrin. Podání hirudinu musí být, podobně jako u heparinu, parenterální. Poločas hirudinu v plazmě je 1–2 hodiny (cca 1 hodinu při i. v. podání a 2 hodiny při s. c. podání). Komplexy hirudin-trombin kolují v krvi 4–6 hodin a následně jsou vychytány monocytomakrofágovým systémem. Volný hirudin se vylučuje ze 70–90 % ledvinami a u nemocných s renální insuficiencí bývá poločas výrazně prodloužen (dávkování je nutné redukovat až o 90 %). Vazba hirudinu na bílkoviny je méně než 10 %. Hirudin v závislosti na dávce ovlivňuje jak aktivovaný parciální tromboplastinový čas (aPTT), tak protrombinový test (PT) a trombinový čas (TT). Má úzké terapeutické rozmezí a jeho dávkování se musí monitorovat a upravovat dle aPTT (doporučené rozmezí je mezi R 1,5–2,0 měřené čtyři hodiny po podání). APTT se prodlouží za 5 minut po podání hirudinu a návrat k původní hodnotě nastává za 24 hodin (jasnou indikací podání hirudinu je HIT (heparinem indukovaná trombocytopenie). Ke klinickému užití je k dispozici lepirudin (Refludan®) a desirudin (Revasc®), bivalirudin (Hirulog® či Angiomax®).

Bivalirudin je syntetický analog hirudinu odvozený z hirulogu. Na rozdíl od hirudinu se jedná o reverzibilní inhibitor trombinu. Podáván je rovněž parenterálně s poločasem 25 minut po i.v. aplikaci. Bivalirudin je metabolizován endogenní proteolýzou především v játrech, pouze

malá část je vylučována ledvinami. Léčebný účinek je monitorován aktivovaným srážecím časem (ACT).

Melagatran je dipeptid analogický fibrinopeptidu A. Váže se reverzibilně na aktivní místo trombinu, a tím jej kompetitivně inhibuje. Inhibuje také jeho aktivaci a podporuje fibrinolýzu. Podání je opět parenterální, ale má nízkou biologickou dostupnost, proto byl podáván ve formě prekursoru (ximelagatranu). Asi 80 % je vylučováno ledvinami.

Dabigatran etexilát (Pradaxa®) je mocným kompetitivním, reverzibilním a přímým inhibitorem trombinu. Po perorálním podání se dabigatran etexilát rychle vstřebává a je v plazmě a v játrech konvertován na dabigatran cestou hydrolýzy katalyzované esterázou, přičemž dochází k rychlému nárůstu plazmatických koncentrací s dosažením C<sub>max</sub> do 0,5 až 2,0 hodin po podání. Dabigatran je vylučován zejména v nezměněné formě močí.

Danaparoid - jde o směs glykosaminoglykanů (heparan sulfát 84%, dermatan sulfát 12%) s predominantním anti-Xa působením. Poměr aktivity anti-Xa/FIIa je u této látky 22 : 1 v porovnání s hodnotou 1 : 1 u nefrakcionovaného heparinu či 3–4 : 1 u nízkomolekulárních heparinů. Nejčastěji je užíván u heparinem indukované trombocytopenie. Je možné jak subkutánní, tak i intravenózní podání.

Idraparinux - jde o modifikovaný hypermetylovaný derivát fondaparinuxu, který váže antitrombin s tak velkou afinitou, že se poločas léku vyrovná poločasu antitrombinu (80–130 hodin). Tento dlouhý poločas umožňuje dávkování jednou týdně v subkutánní aplikaci (13).

Fondaparinux (Arixtra) - jde o jediný preparát skupiny, který byl schválen k běžnému použití US FDA (US Food and Drug Administration) a EMEA (European Medicine Evaluation Agency).

### **3.3. Přehledné rozdělení koagulačních testů**

A/ Funkční vyšetření koagulace: Activated clotting time (ACT), Heparin management test (HMT), High-dose thrombin time (HiTT) a point-of-care měření protrombinového času (systém CoaguCheck®) či aPTT.

B/ Metody založené na monitorování koncentrace heparinu v krvi pomocí titrace protaminem, či s použitím iontově selektivních elektrod.

C/ Metody založené na měření viskoelastických vlastností koagula: TEG®, Sonoclot®

D/ Analyzátoři destičkových funkcí: např. PFA-100

### 3.3.1. ACT

Sledování antikoagulace během mimotělního oběhu (MO) je rutinně založeno na aktivovaném koagulačním čase (ACT - Activated Clotting Time). Vyšetření spočívá v měření času tvorby koagula po aktivaci malého množství (2 ml) plné krve velkoplošným nesmáčivým povrchem, kterým je kaolin nebo křemelina, komerčně dostupná jako Celite (International Technidyne Inc., Edison, NJ, USA). Nesmáčivý povrch aktivuje faktor XII a vnitřní koagulační systém. Odběr vzorku se provádí za 3-5 minut od podání heparinu. Závislost je lineární mezi dávkou heparinu a prodloužením času srážení. Zkumavka je umístěna do přístroje, kde je udržována standardní teplota 37 °C. U zdravého člověka dojde k tvorbě koagula do 90 - 120 sekund. K prodloužení dochází vlivem heparinu nebo deficitu koagulačních faktorů. Obecně se uznává, že během MO by hodnota ACT měla být 480 sekund. Technické řešení je možné například přístrojem Hemochron® (International Technidyne Inc., Edison, NJ, USA) a spočívá ve vychýlení kovového válečku od magnetického detektoru vzniklým koagulem.

### 3.3.2. TEG

Druhým, poměrně již široce rozšířeným způsobem monitorování viskoelastických vlastností krve je tromboelastografie (TEG). Metoda je užívána od roku 1947. Tromboelastogram zachycuje zjednodušeně řečeno vznik koagula v přechodu z tekuté fáze do gelu. Zachycuje dynamiku tvorby koagula od iniciace přes akceleraci k retrakci, eventuálně lýze. Z hlediska kliniky unikátnost techniky spočívá v dynamickém charakteru vyšetření a možností odpovědi na klíčové otázky: 1) zda se koagulum vytvoří, 2) jak rychle se vytvoří, 3) jak je pevné, 4) zda vydrží pevné nebo se předčasně rozpadá. Jedním z limitujících faktorů je časová náročnost vyšetření. Původní technologie používala nativní plnou krev. Současné přístroje využívají aktivátorů nejčastěji na bázi křemeliny (Celite), či kaolinu.

Principem metody je měření viskoelastických vlastností plné krve in vitro. Existuje několik technických řešení, z nichž nejvíce rozšířeným je použití přístroje TEG® Coagulation Analyzer series 5000 (Haemoscope Corp., Niles, IL, USA). Základem přístroje je kyveta vyhřívaná na 37 stupňů Celsia obsahující vzorek krve o definovaném objemu (0,36 ml). Do vzorku je ponořen měřicí trn zavěšený na torzním drátě. Pohonná jednotka vykonává rotační pohyb kyvety se vzorkem s úhlovou amplitudou 4 stupně 45 minut každých 10 sekund, po nichž následuje 1 sekundová pauza. Jakmile se začnou vytvářet první fibrinová vlákna, začne se pohyb kyvety přenášet na měřicí trn. S nárůstem fibrinové sítě se mění amplituda výkyvu trnu a jeho zpoždění za pohonnou jednotkou. Elektromagnetický snímač registruje změny elektromagnetického pole vyvolané pohybem torzního drátu na němž je zavěšen měřicí trn.

Elektrický signál je počítačově zpracován. Výsledkem je grafický záznam změn smykového napětí (elasticity) v reálném čase v podobě tromboelastografické křivky. Testovací kyvety pro nativní vzorek jsou z průhledného plastu. Kyvety z modře zbarveného plastu obsahují heparinasu. Heparinasa je enzym získavaný z bakterie *Flavobacterium heparinum*, štěpí heparin na inaktivní fragmenty. Analýzu lze provést i u pacienta právě plně heparinizovaného, tedy např. v průběhu MTO.

Z pohledu kardiochirurga je časné provedení TEG v případě výskytu pooperačního krvácení vodítkem pro indikaci časné revize, není-li na TEG přítomna koagulační porucha, lze považovat za více pravděpodobnou chirurgickou příčinu krvácení (14) .

### 3.4. Srážlivost

Koagulace krve je složitý proces, na kterém se podílejí enzymatické, buněčné a molekulární mechanismy. Cílem je utěsnění porušené cévy, na kterém se podílejí krevní destičky a koagulační kaskáda glykoproteinů. Hlavním spouštěcím mechanismem je poškození endotelu, které umožňuje kontakt aktivních krevních elementů krve a trombogenní extravaskulární tkáně. Nerovnováha mezi prokoagulačním a antikoagulačním systémem způsobená vrozenými, nebo získanými poruchami může vyústit v krvácivé, nebo trombotické komplikace. Koagulační kaskáda je rozdělena na vnější a vnitřní cestu a vzájemně spolu souvisejí. Zjednodušeně lze současný pohled shrnout tak, že vnitřní (kontaktní) systém spíše zesiluje koagulační proces zahájený účinky tkáňového faktoru. Poznatky, že povrch buněk a zejména glykoproteinové receptory na něm, hrají významnou roli v lokalizaci jednotlivých kroků koagulační kaskády, přispěly k novému pohledu na koagulaci jako na proces, řízený nejen hladinou a kinetikou koagulačních faktorů, ale také různými povrchy buněk. Na buněčný povrch vázaná koagulace má tři fáze. Ve fázi iniciace má hlavní roli exprese tkáňového faktoru, jeho vazba na faktor VII a aktivace faktorů IX a X vzniklým komplexem TF/F VIIa. Aktivované destičky hrají zásadní roli v následné fázi amplifikace. Destičky i plazma se dostávají do kontaktu s extracelulární matrix a adherují v místě poškození. K počáteční adhezi přispívá trombin generovaný v iniciační fázi na endotelu a leukocytech. Iniciační fáze amplifikuje plnou adhezi a aktivaci destiček. Během propagační fáze koagulace se na povrchu destiček tvoří tenázový a protrombinázový komplex. Jejich spoluúčastí dochází k obrovské produkci trombinu nutné k přeměně fibrinogenu na fibrin. Fibrin je stabilizován aktivovaným faktorem XIIIa, který katalyzuje kovalentní překřížení fibrinových polymerů (15). Koagulační proces je regulován, aby nedocházelo k nežádoucí hyperkoagulaci. Inhibiční působení na hemostázu je spojeno hlavně s endotelovými buňkami.

Regulace koagulace se projevuje na všech stupních koagulační kaskády, a to inhibicí enzymů, nebo inaktivací kofaktorů.

S ohledem na patofyziologii MO je vhodné připomenout důležité poznámky k aktivaci krevních destiček. Aktivace může probíhat dvojí cestou - jednak mohou destičky v klidovém stavu adherovat k místu v cévě, kde došlo k obnažení endotelu. Tento děj je zprostředkován vazbou von Willebrandova faktoru na glykoproteinový integrinový receptor Ib/X/V. Adheze vede k aktivaci destiček a dochází k vystupňování agregace destiček za vzniku bílého a později červeného trombu. Aktivace a agregace destiček je poté zprostředkována některým z humorálních mechanismů – účinkem silných aktivátorů (trombin, tromboxan A<sub>2</sub>, kolagen), či vysokou hladinou slabých destičkových aktivátorů (adenosindifosfát, serotonin, adrenalin). Druhá cesta je aktivace působením střížných sil při intaktní endotelové vrstvě v důsledku např. vazokonstrikce nebo koronární stenózy. Nízké smykové napětí (do 12 dyn/cm<sup>2</sup>) vede k reverzibilní aktivaci destiček, způsobené vazbou fibrinogenu na membránové receptory GP IIb/IIIa. Nízký průtok krve a nízké smykové napětí zejména v oblastech distálně od bifurkací cév jsou spojeny také s rozvojem hypertrofie cévní stěny a vývojem aterosklerotických plátů. Při hodnotách smykového napětí 15-24 dyn/cm<sup>2</sup> se zvyšuje produkce tkáňového aktivátoru plasminogenu (t-PA) ve snaze usnadnit rozpuštění trombu a také produkce vasodilatačně působícího NO. Při vysokých smykových napětích (až 100 dyn/cm<sup>2</sup>) je agregace destiček daná interakcí von Willebrandova faktoru s destičkovými receptory GP Ib/I a IIb/III ireverzibilní. Smykové napětí více než 100 dyn/cm<sup>2</sup> vede k lýze destiček, ještě vyšší hodnoty k jejich fragmentaci. Oba popsané mechanismy, hrají roli při aktivaci hemostatického systému MO (16).

### **3.5. Mimotělní oběh a koagulační systém**

Kardiochirurgický výkon s použitím mimotělního oběhu představuje vždy výraznou alteraci hemostatického systému, která může vést k dvěma potenciálně fatálními komplikacím – krvácení a trombóze. Hladina koagulačních faktorů klesá vlivem hemodiluce v MO. Pokles hladiny koagulačních faktorů se týká faktoru V (mechanismus poklesu není zatím vysvětlen) a fibrinogenu, který se adsorbuje na povrchu MO. Plazmatické faktory podléhají také denaturaci – kontakt krve se vzduchem, odsávání krve z operačního pole, styk s oxygenátorem. Trombocyty vykazují také pokles, jednak vlivem hemodiluce, jednak adhezí na fibrinogenem potažený povrch MO. Další pokles je vázán na délku MO, který je dokumentován prodloužením času krvácení. Trombocyty jeví částečnou aktivaci se ztrátou obsahu alfa-granulí a glykoproteinových receptorů Ib, IIb/IIIa. V literatuře jsou popsány mechanismy aktivace hemostatického systému při

mimotělním oběhu: Rovnováha mezi prokoagulačním a antikoagulačním systémem je posunuta směrem k prokoagulačním tendencím. Dosud není známa přesná role vnitřního a zevního systému hemokoagulace při mimotělním oběhu. Při kontaktu krve s umělým (neendoteliálním) povrchem se aktivuje vnitřní systém koagulace – konverzí prekalikreinu na kalikrein je aktivován faktor XII. Při poruše integrity cévní stěny se aktivuje zevní systém – dochází ke kontaktu plasmatického faktoru VII s tkáňovým faktorem (dříve tkáňový tromboplastin), vzniklý komplex aktivuje faktor X na Xa, který vede ke konverzi protrombinu na trombin. Tkáňový faktor je exprimován na povrchu většiny buněk, taktéž aktivovanými endoteliálními buňkami. Endotel má rozhodující roli v regulaci koagulace. Aktivace plasmatických i buněčných faktorů nekončí koncem mimotělního oběhu, ale je detekovatelná i po operačním výkonu.

### **3.5.1. Stručný přehled hlavních příčin a mechanismů alterace hemostázy při použití MO**

1) Endoteliální dysfunkce: kontakt krve s cizorodým povrchem aktivuje systémovou zánětlivou odpověď (SIRS) charakterizovanou aktivací koagulace, fibrinolýzy a molekulárně-celulární aktivací zánětu. Podstatou je abnormální endotel-celulární interakce.

2) Přetrvávající účinek heparinu – vzhledem k převážně plné neutralizaci málo častý.

3) Porucha destiček:

a/ trombocytopenie – relativně častá, způsobená hemodilucí, konzumpcí destiček a jejich sekvestrací. I závažná trombocytopenie (pod 50 G/l) při nepřítomnosti jiných hemostatických poruch většinou nevede k významnému krvácení.

b/ dysfunkce destiček: je udávána jako hemostatická porucha s nejvyšší prevalencí při MO. Uplatňují se poruchy indukované samotným MO a použitými léky.

4) Koagulopatie: hemodiluce a konzumpce koagulačních faktorů při mikrovaskulární koagulaci, užití vyšších dávek heparinu vede k aktivaci f XII a vnitřního systému koagulace.

5) Fibrinolýza :

a/ primární vyvolaná uvolněním endoteliálních aktivátorů plasminogenu.

b/ sekundární: aktivace plasminu jako zpětnovazebná odpověď na tvorbu fibrinu.

6) Léky podané při MO

Nejen heparin a protamin, ale řada jiných léků ovlivňuje in vitro koagulaci a funkci destiček, klinický význam většinou není zcela jasný.

7) Hypotermie : ovlivňuje enzymatické kaskády koagulace ve smyslu zpomalení. Destičky jsou mírnou hypotermií aktivovány, střední či hlubokou inhibovány.

Mimo popsaných mechanismů mají v klinické praxi zásadní význam léčiva podáváná v předoperačním období, zejména antiagregancia a antikoagulancia, ale i jiné léky s potenciálem ovlivnění hemostatického systému (některá vasodilatancia, nitráty).

### 3.6. Antitrombin

Antitrombin je glykoprotein syntetizovaný v játrech a v endotelových buňkách. Patří do skupiny serinových proteáz a je regulován proteázovými inhibitory – serpiny. Pro funkci AT je nutné aby vytvořil komplex s heparinem.

#### Deficit AT

Vrozený deficit: jde o řídké autozomálně-dominantní dědičné onemocnění s výskytem 0,2 – 0,5/1000 obyvatel. Typ I (kvantitativní defekt) – snížená syntéza AT, klesá aktivita i celková hodnota AT. Typ II (kvalitativní defekt) – dochází k snížení aktivity AT, celková hodnota AT je v normě.

Získaný deficit: má řadu příčin – snížená syntéza (u onemocnění jater), zvýšená konzumpce AT (šok, DIK, operační zákroky, těhotenství), zvýšené ztráty (nefrotický syndrom), lékové interakce (cytostatika, kontraceptiva, heparin).

Antikoagulační účinek heparinu je zprostředkován:

a) antitrombinem, který účinek mnohokrát akceleruje a je inhibitorem serinových proteáz – F IIa, F IXa, F Xa, F XIa.

b) uvolněním TFPI (a inhibicí F Xa a po vazbě na F Xa i inhibicí F VIIa + TF).

Pro uskutečnění vazby heparinu s antitrombinem je důležitá specifická pentasacharidová sekvence v řetězci heparinu, která má vysokou afinitu k antitrombinu. Tu obsahují jak UFH, tak nízkomolekulární hepariny – LMWH. Inhibice F IIa však vyžaduje navíc minimální délku řetězce o 18 sacharidech, aby mohl být vytvořen komplex heparin – antitrombin – F IIa. Nefrakcionovaný heparin se aktivně váže na endoteliální buňky a makrofágy a tím rychle mizí z cirkulace. Heparin se také váže na různé plazmatické bílkoviny, jako jsou fibronectin, vitronektin, destičkový faktor 4 a von Willebrandův faktor. Tak je dále omezováno množství heparinu, které je schopné vázat se s antitrombinem a tím se snižuje jeho antikoagulační účinek. Při kongenitálním deficitu antitrombinu, kdy hodnoty jsou pod 50 % a mohou vést k tzv. „heparinové rezistenci“, je nutné antitrombin substituovat. Častější je však získaný deficit AT, kdy bychom jej měli rovněž substituovat v případě, že hladina je nižší než 70%. Fyziologické hodnoty AT jsou 80 – 120% (funkční aktivita vyjádřena v %) (17).



#### **4. Cíle dizertační práce**

1. Zjistit skutečnou frekvenci výskytu heparinové rezistence v populaci nemocných přicházejících na kardiochirurgickou operaci.
2. Zjistit vztah mezi předoperační hodnotou antitrombinu a rezistencí na heparin.
3. Zjistit jaká je závislost mezi předoperační léčbou heparinem a vznikem heparinové rezistence.
4. Stanovit výskyt heparinové rezistence s počtem trombocytů  $300 \cdot 10^9/l$  a více.
5. Zjistit závislost výskytu heparinové rezistence na věku.
6. Sledovat kombinace všech rizikových faktorů.

#### **5. Materiál a metodika**

##### **5.1. Soubor nemocných**

V naší práci jsme prospektivně sledovali výskyt heparinové rezistence u pacientů plánovaných k operaci v mimotělním oběhu, bez ohledu na typ výkonu. Sběr dat probíhal 3 roky (2006-2008). U každého nemocného jsme při přijetí, kromě standardních vyšetření, vyšetřili i AT. Hodnoty ACT jsme sledovali v následujících intervalech: před podáním heparinu, po podání heparinu, po spuštění mimotělního oběhu, po podání protaminu a 1 hodinu po skončení MO. Kromě běžných demografických, předoperačních, peroperačních a pooperačních dat jsme u všech nemocných sledovali 4 faktory, které jsou v literatuře, kromě jiných, považovány za možné příčiny výskytu heparinové rezistence: věk - 65 let a více, počet trombocytů - předoperačně  $300 \times 10^9/l$  a vyšší, předoperační podávání různých druhů heparinu, hladinu  $AT \leq 60 \%$  a kombinaci všech faktorů.

Ve statistické části práce byly postupně testovány jednotlivé námi sledované rizikové faktory a jejich kombinace ve vztahu ke zjištěnému výskytu heparinové rezistence.

##### **5.2. ACT**

Ve studii jsme používali ke stanovení aktivovaného srážecího času (ACT) přístroj Hemochron 401 (*International Technidyne, Edison, NJ, USA*).

Za dostatečnou úroveň heparinizace jsme považovali hodnotu ACT 480 s a vyšší. Tato hodnota byla dána požadavky výrobců oxygenátorů, které jsme používali.

##### **5.3. Stanovení AT**

Metodika stanovení AT: testovaná plazma je v přítomnosti heparinu inkubována při  $37^{\circ}C$  s přebytkem aktivovaného faktoru X. Antitrombin přítomný ve vyšetřovaném vzorku tvoří s heparinem a faktorem Xa trimerní komplex. Zbytkový faktor Xa reaguje se substrátem a

uvolňuje z něj žlutě zbarvený chromofor (p-nitroanilin). Intenzita zbarvení je nepřímo úměrná koncentraci (funkční aktivitě) antitrombinu v plazmě a je detekována spektrofotometricky při 405 nm.

Reagencia: Biophen AT (LRT) – CE, výrobce Hyphen BioMed.

#### **5.4. Heparin a výpočet množství AT**

U všech pacientů byl používán Heparin Léčiva injekční roztok v balení 10ml (50 000 IU). Heparin byl aplikován v úvodní dávce 3mg/kg. V případě, že ACT nedosáhlo požadované výše 480s byl přidán heparin do celkové dávky 5mg/kg. Pokud ani poté nebylo dosaženo požadované hodnoty ACT byl podán antitrombin podle vzorce:

$$\text{Množství antitrombinu (IU)} = \text{hmotnost (kg)} \times (100 - \text{AT} (\%))$$

#### **5.5. Vedení anestézie**

Součástí předoperační rozvahy je odhad rizika časného pooperačního úmrtí pomocí některého z používaných skórovacích systémů a na základě tohoto odhadu pak naplánování postupů, které mohou tyto komplikace odvrátit. Během anesteziologické vizity je pacientům ordinována tzv. premedikace, jejímž cílem je navození amnézie a analgézie po dobu bezprostřední předoperační přípravy a eventuálního zajišťování cévních vstupů před úvodem do anestézie.

##### **5.5.1. Premedikace**

Večer před operací bromazepamum (Lexaurin, Krka, Slovinsko) + bisulepini hydrochloridum (Dithiaden, Zentiva, ČR). Zpravidla 1,5 mg Lexaurinu a 2 mg Dithiadenu p.o.. Ráno v den operace 1,5 mg Lexaurinu + 2 mg Dithiadenu p.o.

##### **5.5.2. Úvod do anestezie**

Pacient podstupující kardiochirurgický výkon v MO oběhu je obvykle zajištěn dvěma periferními žilními vstupy. Po kanylaci arteria radialis, nebo arteria brachialis a periferní žíly napředloktí byl podány intravenózně sufentanyl v dávce 1µg/kg (Sufenta, Janssen Pharmaceutica N.V., Belgie), propofol v dávce 1mg/kg (Propofol 1%, FreseniusKabi Deutschland GmbH, Německo), svalové relaxans cisatracurium v dávce 0,1 mg/kg (Nimbex, GSK, Itálie). Po podání medikace byla provedena intubace nemocného, kanylace centrálních žilních katétrů, obvykle zavedených do v.subclavia, nebo v. jugularis interna. Další vstupy jsou pak zajištěny po úvodu do anestézie, jde o močový katétr, nasopharyngeální a rektální teploměr, nasogastrickou sondu, eventuálně ultrazvukovou sondu.

### 5.5.3. Vedení anestézie a analgezie

Anestézie byla udržována intravenózně aplikovaným sufentanylem (0,5 µg/kg/hod) a propofolem (1 mg/kg/hod), dostatečná myorelaxe zajištěna cisatracuriem (0,04 mg/kg/hod) v dávkách zajišťujících adekvátní anestézii, myorelaxaci a hemodynamickou stabilitu v průběhu operace. Isoflurane (Forane, Abbot Laboratories, Velká Británie; 0,7-0,8%) byl inhalován spolu s kyslíkem a vzduchem.

Standardní monitorování během operace zahrnuje EKG, invazivně měřený krevní tlak, centrální žilní tlak, teplotu, diurézu, pulsní oxymetrii, kapnometrii. Peroperačně je prováděna i analýza krevních plynů, krevního obrazu a míry heparinizace. Dle stavu pacienta se monitorování rozšiřuje o plicnicový katétr a jícnovou echokardiografii. Nedostatečná kontraktilita je optimalizována pomocí inotropní podpory katecholaminy, může být zváženo podání milrinonu, nebo levosimendanu, jako další stupeň se nabízí podpora balonkovou kontrapulzací.

Jedním z nejdůležitějších momentů závěrečné fáze je udržení adekvátní hemostázy. U většiny výkonů je dostatečná optimální neutralizace heparinu protaminem (Protamin, Valeant Pharmaceuticals Germany GMBH, Eschborn, Německo).

### 5.6. Vedení mimotělního oběhu

Mimotělní oběh byl veden způsobem „alpha-stat“. Jedná se o způsob vedení MO, kdy hodnoty pH a CO<sub>2</sub> se udržují ve fyziologickém rozmezí pro teplotu 37°C a není prováděna korekce na aktuální teplotu pacienta.

Náplň MO: Manitol 10% 1g/kg

Volunen 500ml

Na HCO<sub>3</sub> 8,4% 1ml/kg

Ringerfundin

Heparin 5000j

Náplň je počítána podle váhy pacienta. Celková náplň MO činí 1500-1700ml v závislosti na délce hadicového systému. Celkové množství Ringerfundinu závisí na váze pacienta a slouží k doplnění celkového objemu náplně MO.

Použit byl do náplně: Manitol 10%, Ardeapharma a.s., Ševětín, Česká republika.

Ringerfundin B.Braun, Melsungen AG, Německo.

NaHCO<sub>3</sub> 8,4% B.Braun, Melsungen AG, Německo.

Volunen, Fresenius KABI, Bad Homburg, Německo.

Heparin Léčiva injekční roztok 10ml (50 000 IU).

K vyvázání heparinu na konci operace byl použit: Protamin, Valeant Pharmaceuticals Germany GMBH, Eschborn, Německo.

K ochraně myokardu byla používána intermitentní antegrádní studená krevní kardioplegie. V našem případě byl použit kardioplegický roztok St. Thomas Hospital (Sol. Ardeapharma a.s., Ševětín, ČR). Koncentrace kalia se v podávaném kardioplegickém roztoku byla 36 mmol/l. Korigováno bylo také pH, které se pohybovalo v rozmezí 7,6 – 7,8. Ke korekci byl použit NaHCO<sub>3</sub> 8,4% B.Braun, Melsungen AG, Německo.

Na úvod byl podáván kardioplegický roztok A s vyšším obsahem kalia. Pokud bylo potřeba opakované podání kardioplegie po 20 minutách byl použit roztok B s poloviční koncentrací.

K vedení mimotělního oběhu byly použity oxygenátory: SAFE MAXI (*Jostra-Maquet Cardiopulmonary AG, Hirrlingen, Německo*), ošetřený biokompatibilním povrchem Safeline<sup>®</sup> a Dideco Avant 903 (*Sorin Group Company, Mirandola, Itálie*) Phosphorylcholin<sup>®</sup> hemokompatibilní povrch.

## 5.7. Použité statistické metody

Ke statistickému zhodnocení byly použity tyto metody a program.

### Použité metody : program NCSS 2007, Statistica

- Deskriptivní statistiky
- $\chi^2$  test nezávislosti v kontingenční tabulce, Fisherův přesný test
- Analýza rozptylu s následným mnohonásobným porovnáním Fisherovým LSD testem
- Test rozdílu relativní četnosti (one proportion test)
- Logistická regrese
- Jednofaktorová analýza rozptylu s opakovanými měřeními s následným mnohonásobným porovnáním Fisherovým LSD testem
- Dvouvýběrový t-test, neparametrické testy Mann-Whitney (MW), Kolmogorov-Smirnov (KS)
- One proportion test

## 6. Výsledky

Analyzovány byly údaje, které patří k potenciálním příčinám HR. V naší práci jsme hodnotili: skutečný výskyt HR u pacientů operovaných v MO, vliv předoperační hladiny AT na

HR, vliv předoperační léčby heparinem na HR, vliv počtu trombocytů na HR a kombinaci všech faktorů.

### **6.1. Skutečný výskyt heparinové rezistence**

V naší studii jsme chtěli stanovit skutečný výskyt heparinové rezistence v populaci nemocných před kardiochirurgickou operací s použitím mimotělního oběhu. Předpokládaný výskyt heparinové rezistence měl podle literárních údajů činit 22%. V našem souboru se heparinová rezistence vyskytla u 203 pacientů z celkového počtu 624, což je 32,5 %. U těchto pacientů nebyly rozlišeny jednotlivé rizikové faktory, které se na vzniku heparinové rezistence podílejí. Šlo o stanovení celkového výskytu heparinové rezistence.

Byl proveden test shody relativní četnosti s 22%. Test shody relativní četnosti byl zamítnut –  $p < 0,001$ . Z toho vyplývá, že procento výskytu heparinové rezistence se v našem souboru statisticky významně lišilo od předpokládaných 22%. Bylo tedy výrazně vyšší než předpoklad.

### **6.2. Vliv předoperační hladiny antitrombinu na heparinovou rezistenci**

Chtěli jsme stanovit, zda případný předoperační deficit antitrombinu má vliv na vznik HR. Normální koncentrace AT je 80 – 120% (220 – 390 mg/l). Pokud je hladina antitrombinu nižší než 60% vzniká riziko výskytu heparinové rezistence. V našem souboru mělo z celkového počtu 624 pacientů 43 hladinu AT nižší než 60%, což činilo 6,9 %.

Testovala se hypotéza nezávislosti vůči alternativě závislosti. Byl použit  $\chi^2$  test nezávislosti. Pro antitrombin byla zamítnuta hypotéza nezávislosti heparinové rezistence na hladině antitrombinu  $\leq 60\%$  ( $p < 0,001$ ). Znamená to, že hladina AT  $\leq 60\%$  statisticky významně zvyšuje riziko HR.

### **6.3. Předoperační léčba heparinem**

Předoperační podávání heparinu je považováno za jeden z rizikových faktorů pro vznik heparinové rezistence. Heparin byl předoperačně podán celkem u 192 pacientů, což činilo 30,8% z celkového počtu 624 pacientů.

Testovala se hypotéza nezávislosti vůči alternativě závislosti. Byl použit  $\chi^2$  test nezávislosti. Pro podání heparinu před operací v MO se hypotéza nezávislosti zamítá ( $p < 0,001$ ), to znamená, že podání heparinu před operací statisticky významně zvyšuje riziko vzniku heparinové rezistence.

#### **6.4. Heparinová rezistence u pacientů s počtem trombocytů $300 \cdot 10^9/l$ a více**

Jako další rizikový faktor, který má vliv na výskyt heparinové rezistence, je udáván počet trombocytů vyšší, nebo roven  $300 \cdot 10^9/l$ . Celkový počet pacientů s počtem trombocytů vyšším, nebo rovným  $300 \cdot 10^9/l$  byl 61, což bylo 9,8 %.

Testovala se hypotéza nezávislosti vůči alternativě závislosti. Byl použit  $\chi^2$  test nezávislosti. Hypotéza nezávislosti se zamítá pro počet trombocytů vyšší, nebo rovnající se  $300 \cdot 10^9/l$  ( $p=0,000027$ ). Počet trombocytů vyšší, nebo roven  $300 \cdot 10^9/l$  je statisticky významný pro vznik HR.

#### **6.5. Výskyt heparinové rezistence u pacientů s věkem 65 let a starších**

Věk pacientů tvoří další rizikový faktor výskytu heparinové rezistence. Celkový počet pacientů ve věku 65 let a více činil v naší skupině 363, což z celkového počtu tvořilo 58,2%.

Pro věk se hypotéza závislosti zamítá ( $p=0,0391$ ). Znamená to, že v našem souboru heparinová rezistence není závislá na věku 65 let a více, resp. je na hranici statistické významnosti.

#### **6.6. Kombinace všech rizikových faktorů**

S kombinací všech rizikových faktorů dochází k potenciaci rizika výskytu heparinové rezistence až na 90%. V naší práci nebyly splněny podmínky k statistickému vyhodnocení všech rizikových faktorů.

### **7. Diskuze**

K prevenci trombózy a sekundární fibrinolýzy v systému mimotělního oběhu poté, co se krev dostane do kontaktu s umělým povrchem systému, používáme heparin. Je tvořen heterogenní směsí sulfonových polysacharidů a jako glykosaminoglykan se skládá z řetězců, v nichž se střídají disacharidy. Jeho průměrná molekulová hmotnost se pohybuje od 5 000 do 30 000 D, s průměrnou hmotností 12 000 D. Je stále hojně používán v klinické praxi.

V souvislosti s použitím MO doposud v současné klinické praxi neexistuje alternativní antikoagulační prostředek, který by byl rutinně použitelný místo heparinu.

Kromě jiného je účinek heparinu závislý i na koncentraci AT v plazmě. Normální koncentrace AT je 80 – 120% (220 – 390mg/l).

Při monitorování antikoagulační terapie je používáno mnoho testů – čas srážlivosti, rekalcifikační čas, trombinový čas s nadbytkem trombinu, PTT – parciální tromboplastinový čas,

poslední dobou nejčastěji APTT (aktivovaný parciální tromboplastinový čas), stanovení anti Xa či ACT. Stanovení hladiny heparinu se běžně nepoužívá.

Ke kontrole účinku heparinu se v kardiouchirurgii se proto stále nejčastěji používá ACT test. Metoda je také známa pod názvem Hemochron<sup>®</sup>, podle jména nejrozšířenějšího přístroje (výrobce *International Technidyne Corp.(ITC), Edison,NJ,USA*). K dispozici jsou ještě přístroje Hepcon/HMS instrument (*Medtronic Perfusion Systems, Minneapolis, MN, USA*) a některé další. Hodnota normálního ACT se uvádí v rozmezí 90 - 120 sekund. Doposud se však podobně jednoduchý a rychlý test jako ACT nepodařilo do klinické praxe zavést.

Pokud by byla heparinizace při spuštění MO nedostatečná může dojít, po styku krve s umělým povrchem systému MO, ke tvorbě trombů a sekundární fibrinolýze. Pokud ACT nedosahuje 480s může dojít k tvorbě mikrotrombů a postupnému uzávěru oxygenátoru, při masivní trombóze dojde k okamžitému uzávěru oxygenátoru.

Ve shodě s dalšími studiemi jsme prokázali statisticky významný výskyt heparinové rezistence u pacientů, kterým byl předoperačně podáván heparin(18). Mnozí autoři upozorňují na možnost poklesu hladiny AT v důsledku předoperačního podávání heparinu, což může být jeden z mechanismů vzniku HR u těchto nemocných. V naší studii jsme sice prokázali statisticky významnou závislost mezi nízkou hladinou AT a vznikem HR, ale neprokázali jsme korelaci mezi předoperačně podávaným heparinem a poklesem hladiny AT.

Potvrdili jsme také, že i další rizikový faktor - počet trombocytů před operací vyšší než  $300 \times 10^9/l$  - statisticky významně zvyšuje riziko výskytu HR. Možné vysvětlení je následující: během aktivace trombocytů je uvolňován destičkový faktor 4 (PF4), který je schopný heparin neutralizovat. Vysoký počet trombocytů má tedy za následek uvolnění nadměrného množství PF4 což vede k daleko intenzivnější neutralizaci heparinu.

Heparinová rezistence je úzce spojena s otázkou adekvátní úrovně antikoagulace během MO, která je pro jeho správnou funkci naprosto zásadní. Pokud se trombóza oxygenátoru vyskytne skončí úmrtím v 33 % případů a těžce je trvale poškozeno zdraví u dalších 7 % nemocných.

Poměrně značná pozornost je v současnosti věnována fenoménu, který je popisován jako abnormálně vysoký tlakový gradient na vstupu do oxygenátoru, jenž může být také důvodem k jeho okamžité výměně. Tento problém se začal manifestovat se zaváděním vysoce výkonných oxygenátorů, jež mají zároveň nízký plnicí objem (pod 300 ml). Aby bylo možno splnit tyto podmínky, musí výrobce oxygenátoru jednak snížit celkový povrch kapilár a výměníku tepla a zároveň zúžit prostor mezi jednotlivými vlákny a tím docílit co nejmenšího objemu náplně. Prostor mezi dutými vlákny pro průtok krve oxygenátorem je tak zmenšen. Jakákoliv další

redukce potom způsobí překážku v toku krve, což se projeví vzestupem tlaku před oxygenátorem. Bylo prokázáno, že se tento problém může vyskytnout u všech v současnosti používaných oxygenátorů s nízkou náplní. I když jsou za hlavní příčinu těchto komplikací považovány shluky fibrinu a trombocytů, adherujících na povrchu kapilár okamžitě po spuštění MO, jakýkoliv stupeň neadekvátní heparinizace může v kombinaci s popsáním fenoménem způsobit okamžitou trombózu oxygenátoru se všemi důsledky. Prevencí tohoto stavu je použití systémů, které jsou ošetřeny některým z hemokompatibilních povrchů.

## 8. Závěr

1. Naše studie potvrdila vysoký výskyt HR (32,5 %) u nemocných, kteří jsou v současnosti indikováni k operaci v MO. Na vysokém výskytu se podílí častá předoperační léčba heparinem.
2. Stejně tak se potvrdil statisticky významný výskyt heparinové rezistence u pacientů s počtem trombocytů  $300 \cdot 10^9/l$  a vyšším a u pacientů se sérovou koncentrací antitrombinu 60 % a méně ( $p < 0,001$ ).
3. HR se v našem souboru proti předpokladu 22 % vyskytla v 32,5 %, což je statisticky významný rozdíl ( $p < 0,001$ ).
4. Naopak závislost HR na věku pacientů 65 let a více, nedosáhla statistické významnosti ( $p = 0,391$ ).
5. Vezmeme – li v úvahu, že se s HR můžeme setkat u každého 3. nemocného, operovaného v mimotělním oběhu, lze doporučit standardní užívání hemokompatibilně ošetřených systémů pro mimotělní oběh.
6. Dále, pokud při dávce heparinu 5mg/kg nedosáhne ACT 480 s došli jsme k závěru nezvyšovat dávku heparinu, ale podat AT dle vzorce pro substituci, protože efektivita podání AT je statisticky významně vyšší než další zvyšování dávky heparinu.
7. Z našich zkušeností vyplývá, že po podání AT je vysoká pravděpodobnost dosažení dostatečné hodnoty ACT pro spuštění MO. U našich pacientů bylo dosaženo dostatečné hodnoty ACT v 97,7 % .



## 9. Použitá literatura

1. McLean J. The thromboplastic action of cephalin. *Am J Physiol*, 1916; 41: 250-257.
2. Dulíček, P., Malý, J., Pecka, M. a kol. *Lék. Zpr.* 2003; 48 (1-2): 72-73.
3. Wagner, R. *Kardioanestezie a perioperační péče v kardiochirurgii*. Praha, Grada Publishing 2009: 176.
4. Anderson, J.A.M., Saenko, E.L. Heparin resistance. *British Journal of Anaesthesia*, 2002; 88: 467-469.
5. Cloyd, G., D'Ambra, M., Akins, C. Diminished anticoagulant response to heparin in patients coronary artery bypass grafting. *I Thorac Cardiovasc Surg*, 1987; 94: 535-538.
6. Staples, M.H., Dunton, R.F., Karlson, K.J., et al. Heparin resistance after preoperative heparin therapy on intraaortic balloon pumping. *Ann Thorac Surg*, 1994; 57: 1211-16.
7. Chlumský, J. a kol. *Antikoagulační léčba*. Praha, Grada Publishing, 2005: 37.
8. Kubisz, P. a kol. *Hematologie a transfuziologie*. Praha, Grada Publishing, 2006: 160 – 161.
9. Kubisz, P. a kol. *Hematologie a transfuziologie*. Praha, Grada Publishing 2006: 175.
10. Penka, M., Bulíková, A., Matýšková, J., Zavřelová, J. Diseminovaná intravaskulární koagulace. Praha, Grada publishing, 2003: 21.
11. Chlumský, J. a kol. *Antikoagulační léčba*. Praha, Grada Publishing 2005: 19-20.
12. Fareed J., Callas D., Hoppensteadt DA., et al. Antithrombin agents as anticoagulants and antithrombotics: Implications in drug development. *Semin Hematol*, 1999, 36 (Suppl. 1), p. 42-56.
13. Weitz JL., Hirsch J., Samama MM. New anticoagulant drugs. The seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. *Chest*, 2004, 126, p. 265–286.
14. Hájek R. Trombelastografie jako standard monitorování hemostázy v kardiochirurgii. Masarykova univerzita v Brně, Disertační práce, 2006, s. 16-18.
15. Konstantinov IE., Alexi-Meskishvili V., Segei SB. The Development of the First Heart-Lung Machine for Total Body Perfusion. *Ann Thorac Surg*, 2000, 69, p. 962-966.
16. Hájek R. Trombelastografie jako standard monitorování hemostázy v kardiochirurgii. Masarykova univerzita v Brně, 2006, s. 7-8.
17. Chlumský J a kol. *Antikoagulační léčba*, Grada, 2005, s. 59.
18. Ranucci M, Isgrò G, Cazzaniga A. et al. Predictors for heparin resistance in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Perfusion*, 1999; 14, 437-442.

## 10. Přehled publikační činnosti autora

### Publikace

1. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S. a kol. Vliv předoperačního podání heparinu na vznik heparinové rezistence. *Rozhl. Chir.*, 2009, 88, 3, s. 103-105.
2. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S. a kol. Heparinová rezistence a její výskyt u nemocných operovaných v mimotělním oběhu. *CorVasa*, 2009, 51, s. 567-571.
3. Svitek V., Lonský V., Mandák J., Krejsek J., Kolackova M., **Brzek V.**, Kubicek J., Volt M., Bartos M., Harrer J. No clear clinical benefit of using mini-invasive extracorporeal circulation in coronary artery bypass grafting in low-risk patients. *Perfusion* 2009, 24, p. 389-395. **IF 0,667.**
4. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Žáček P., Černožský D., Solař M., Hroch T., Krajina A. Neobvykle komplikovaný průběh katetrizačního vyšetření. *Interv Akut Kardiolog* 2004, 3, s. 131-133.
5. Raupach J., Lojtek M., Krajina A., Dominik J., **Brzek V.**, Polanský P. Endovaskulární léčba disekce aorty typu B: kazuistické sdělení neobvyklé komplikace. *Čes Radiol* 2002, 56, s. 184-187.
6. **Brzek V.**, Dominik J., Šimek J., Procházka E. Výsledky otevřené valvotomie pro kongenitální stenózu aortální chlopně. *Rozhl Chir* 1997, 76, s. 173-175.
7. **Brzek V.**, Dominik J. Reoperace Starcovy-Edwardsovy chlopně po 22 letech. *CorVasa* 1997, 39, s. 61-62.
8. **Brzek V.**, Procházka E., Šiměk J., Brzek V.sen., Dominik J. Výsledky perikardektomie v léčbě konstriktivní perikarditidy. *Rozhl Chir* 1996, 75, s. 11-14.

### Abstrakta

1. **Brzek V.**, Lonský V., Mandák J., Žáček P., Harrer J., Dominik J. Úplná revaskularizace myokardu bez použití mimotělního oběhu – první výsledky. In: Sborník přednášek. V.Kardiochirurgické dny, Milovy, HK CREDIT spol.s.r.o, Devět skal, 2.-4.11.2000. ISBN 80-902753-1-1.
2. Kubíček J., Lonský V., Volt M., Mandák J., **Brzek V.**, Nováková D., Valentová P., Bímová J. Co bychom také měli vědět o současném mimotělním oběhu. In 8. Společná schodza slovenských a českých perfuziologov, Stará Lesná, Hotel Academia, 28.-30. 4. 2003. Sborník Abstrakt. Hradec Králové: ECC servis spol. s.r.o., 2003, s. 12. ISBN 80-903000-4-9.
3. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S. a et.al.: Neobvykle komplikovaný průběh katetrizačního vyšetření. *Intervenční a akutní kardiologie, suppl. A.* 2003, 2, A3. Abstrakta z 2 konference pracovní skupiny akutní kardiologie České kardiologické společnosti, ISSN 1213-807X.
4. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Žáček P., Černožský D., Solař M., Hroch T., Krajina A. Neobvykle komplikovaný průběh katetrizačního vyšetření. *Interv Akut Kardiolog.* 2004, vol. 3, s. 131-133, ISSN 1213-807X.
5. **Brzek V.**, Harrer J., Lonský V., Mandák J. Možnost rychlého napojení proximální anastomozy u urgentních revaskularizací myokardu. *Intervenční a akutní kardiologie, suppl. C.* 2004, 2, C8. Abstrakta z 3. konference pracovní skupiny akutní kardiologie České kardiologické společnosti, ISSN 1213-807X.
6. Lonský V., Mandák J., Tuna M., **Brzek V.**, Dvořák P., Dědek T., Harrer, J. Pneumoperikard - vzácná, ale potenciálně život ohrožující komplikace tupého poranění hrudníku In: *Intervenční a akutní kardiologie, roč. 4, č. suppl. A,* 2005, s. 14-15.

7. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J.  
Heparinová rezistence u pacientů nad 65 let (In: Nejčastější onemocnění ve stáří: strategie v terapii, diagnostice a následné péči) K REPRO, Hradec Králové, 2006, s. 17.
8. Lonský V., **Brzek V.**, Mandáček J. Použití iontových roztoků při ochraně myokardu během kardiochirurgické operace (In: Zpět k základům - voda, ionty, vnitřní prostředí), Ardeapharma a.s., Ševětín, 2006, s. 42-43
9. **Brzek V.**, Lonský V., Volt M., Jiška S., Kubíček J. Heparin resistance – first results. X. vědecká konference (LF a FNUK Hradec Králové), 24.1.2006; 21.
10. **Brzek V.**, Lonský V., Volt M., Jiška S., Kubíček J. Heparin resistance – first results. Acta Medica 2006; 49: 135.
11. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S. Heparinová rezistence u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. VIII. Kardioanesteziologické vědecké dny s mezinárodní účastí. 4.-6.května 2006; 12-13.
12. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Bímová S., Nováková D., Matoulková P. et al. Heparinová rezistence. 11. společná konference českých a slovenských perfuziologů. 11.-13.května 2006;26.
13. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J. Heparinová rezistence u pacientů nad 65 let. 12. celostátní gerontologický kongres. 15.-17.listopadu 2006; 17.
14. Lonský V., Mandáček J., **Brzek V.**, Kubíček J., Valek R., Volt M et al. Do centrifugal pump, heparin coated system and leucodepletion during elective coronary surgery really influence the overall clinical outcome in the elderly patients? (preliminary result). Cardiac Surgery Care 2006. 15.-16.12. 2006; 71-73.
15. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J. 10<sup>th</sup> International Congress of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia with Industrial Exhibits. August 27.-30. 2006;18.
16. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J., Nováková D. et al. Heparinová rezistence u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. II. sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie, 30. listopadu-1. prosince 2006; 17.
17. **Brzek V.**, Lonský V., Šimkovič D., Haman L. Je punkce perikardu rizikový výkon? CorVasa. 2007, vol. 49, /Suppl./ 4. s. 13, ISSN 0010-8650.
18. **Brzek V.**, Lonský V., Pojar M. Hojení rozsáhlých ran. In XI Harrachovské chirurgické dny, Harrachov, Hotel FIT FUN, 31.5.-1.6. 2007. Sborník Abstrakt. Hradec Králové: ECC servis spol. s.r.o., 2007, s. 7. ISBN 80-86857-11-5.
19. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška J., Kubíček J., Volt M., Nováková D., Bímová J., Valentová P. Vliv nepatinové rezistence na pooperační ztráty u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. Sborník přednášek. XIV Národní kongres ČSARIM, Praha, Hotel TOP, 19.-21.9.2007, str. 48 ISBN 978-807262-510-9.
20. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J. The incidence of heparin resistance in patients operated with the use of extracorporeal circulation. XI. Vědecká konference (LF a FNUK Hradec Králové), 23.1. 2007.
21. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J. The incidence of heparin resistance in patient operated with the use of extracorporeal circulation. Acta Medica 2007; 50: 64-65.
22. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Kubíček J., Volt M., Nováková D. et al. Vliv heparinové rezistence na pooperační ztráty u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. 5. konference pracovní skupiny akutní kardiologie České kardiologické společnosti. Intervenční a akutní kardiologie, Supplementum C, 2007; 6, 5-6.
23. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Kubíček J., Volt M., Nováková D. et al. Vliv heparinové rezistence na pooperační ztráty u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. XIV. Národní kongres ČSARIM, 2007; 48.

24. Lonsky V., **Brzek V.**, Jiska S., Volt M., Kubicek J., Novakova D. et al. The incidence of heparin resistance in patient operated with the use of extracorporeal circulation. 12<sup>th</sup> European Congress on Extracorporeal Circulation Technology, 2007; 14.
25. **Brzek V.**, Lonsky V., Jiska S., Volt M., Kubicek J. The incidence of heparin resistance in patients operated with the use of extracorporeal circulation. XII. Vědecká konference (LF a FN UK Hradec Králové), 22.1.2008.
26. **Brzek V.**, Lonsky V., Jiska S., Volt M., Kubicek J. The incidence of heparin resistance in patients operated with the use of extracorporeal circulation. Acta Medica 2008; 51: 68.
27. Lonsky V., **Brzek V.**, Jiska S., Kubicek J., Nováková D., Valentová P. et al. Heparinová rezistence. 6. konference pracovní skupiny akutní kardiologie České kardiologické společnosti. Intervenční a akutní kardiologie, 4.-6. prosince 2008, Supplementum C, 2008; 7, 9.
28. **Brzek V.**, Lonsky V., Jiska S., Kubicek J., Nováková D., Valentová P. et al. Heparinová rezistence. III. Sjezd České společnosti kardiiovaskulární chirurgie, 6.-7. listopadu 2008; 37.
29. **Brzek V.**, Lonsky V., Jiska S., Kubicek J., Nováková D., Valentová P. et al. Heparinová rezistence. Cor et vasa 2008; 50, K 217.
30. **Brzek V.**, Lonsky V., Jiska S., Volt M., Kubicek J. The incidence of heparin resistance in patients operated with the use of extracorporeal circulation. XIII. Vědecká konference (LF a FN UK Hradec Králové), 21.1.2009.
31. **Brzek V.**, Lonský V. Akutní řešení komplikací po PTCA. Intervenční a akutní kardiologie 2009, 8(Suppl.B), s. 7.

### Přednášky a poster

1. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S. Heparinová rezistence u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. VIII. Kardioanesteziologické vědecké dny s mezinárodní účastí. 4.-6.května, 2006, Pardubice, Czech Republic (přednáška).
2. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Bímová S., Nováková D., Matoulková P. et al. Heparinová rezistence. 11. společná konference českých a slovenských perfuziologů. 11.-13. května 2006, Darová, Czech Republic (přednáška).
3. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J. Heparinová rezistence u pacientů nad 65 let. 12. celostátní gerontologický kongres. 15.-17. listopadu 2006, Hradec Králové, Czech Republic (přednáška).
4. **Lonsky V.**, Mandak J., Brzek V., Kubicek J., Valek R., Volt M. et al. Do centrifugal pump, heparin coated system and leucodepletion during elective coronary surgery really influence the overall clinical outcome in the elderly patients? (preliminary result). Cardiac Surgery Care 2006. 15.-16.12. 2006, Lubeck, Germany (poster).
5. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J. 10<sup>th</sup> International Congress of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia with Industrial Exhibits. August 27.-30. 2006, Praha, Czech Republic (poster).
6. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J. Heparinová rezistence u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. 13. kongres ČSARIM, 13.-15.9.2006, Plzeň, Czech Republic (přednáška).
7. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Volt M., Kubíček J., Nováková D. et al. Heparinová rezistence u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. II. sjezd České společnosti kardiiovaskulární chirurgie, 30. listopadu-1. prosince 2006, Brno, Czech Republic (přednáška).
8. **Brzek V.**, Lonský V., Jiška S., Kubíček J., Volt M., Nováková D. et al. Vliv heparinové rezistence na pooperační ztráty u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. 5.

- konference pracovní skupiny akutní kardiologie České kardiologické společnosti, 6.-8.prosine 2007, Karlovy Vary, Czech Republic (poster).
- 9. Brzek V., Lonský V., Jiška S., Kubíček J., Volt M., Nováková D. et al.** Vliv heparinové rezistence na pooperační ztráty u pacientů operovaných v mimotělním oběhu. XIV. Národní kongres ČSARIM, 19.-21.září 2007, Praha, Czech Republic (poster).
  - 10. Lonsky V., Brzek V., Jiska S., Volt M., Kubicek J., Novakova D. et al.** The incidence of heparin resistance in patient operated with the use of extracorporeal circulation. 12<sup>th</sup> European Congress on Extracorporeal Circulation Technology, June 6<sup>th</sup> - 9<sup>th</sup>, 2007, Kyiv, Ukraine (přednáška).
  - 11. Brzek V., Lonský V.** Akutní řešení komplikací po PTCA. 7. konference Pracovní skupiny Akutní kardiologie České kardiologické společnosti, 3.-5. prosine 2009, Karlovy Vary.
  - 12. Brzek V., Lonsky V., Jiska S., Kubicek J., Nováková D., Valentová P. et al.** Heparinová rezistence. 6. konference pracovní skupiny akutní kardiologie České kardiologické společnosti, 4.-6. prosine 2008, Karlovy Vary, Czech republic (poster).
  - 13. Brzek V., Lonsky V., Jiska S., Kubicek J., Nováková D., Valentová P. et al.** Heparinová rezistence. III. Sjezd České společnosti kardiiovaskulární chirurgie, 6.-7. listopadu 2008, Brno, Czech Republic (přednáška).