



Univerzita Karlova v Praze
2. lékařská fakulta



Implantace kryoprezervovaného mitrálního alograftu do
trikuspidální pozice v experimentu u ovcí:
Technické aspekty implantace a bezprostřední výsledky
hodnocené pomocí epikardiální echokardiografie

Doktorandská disertační práce

Jan Vojáček

Školitel: MUDr. Jaroslav Špatenka, CSc.
Kardiochirurgická klinika UK 2. LF a Transplantační centrum FN Motol, Praha 5

Konzultant: MUDr. Aleš Mokráček, CSc.
Kardiochirurgické oddělení Nemocnice České Budějovice a.s.

Praha 2006

PODĚKOVÁNÍ:

V první řadě musím poděkovat svým školitelům, MUDr. J. Špatenkovi, CSc. a MUDr. A. Mokráčkovi, CSc.

Po celou dobu mého působení na Kardiochirurgické klinice UK 2. LF byl MUDr. Špatenka vždy přítelem a výborným pedagogem. Pod jeho vedením jsem získal zkušenosti s odběrem a zpracováním aortálních a pulmonálních alograftů a zejména pak i klinické zkušenosti s použitím aortálního alograftu u pacientů s endokarditidou aortální chlopně. Tato problematika mě vždy velmi zajímala, a proto jsem uvítal, když mi MUDr. Mokráček a MUDr. Špatenka nabídli možnost účastnit se na jejich experimentálním projektu, který se týkal použití kryoprezervovaného mitrálního alograftu v trikuspidální pozici v experimentu na ovčích a který probíhal a v současnosti stále pokračuje na experimentálním pracovišti IKEM.

Duchovní otec tohoto projektu, MUDr. Mokráček, se posléze stal spolu s MUDr. Špatenkou mým druhým školitelem. Bez jejich invence a přátelské pomoci by tato práce jistě nevznikla.

Dále bych rád poděkoval doc. MUDr. L. Červenkovi, CSc. přednostovi Centra Experimentální medicíny IKEM, všem dalším pracovníkům tohoto experimentálního pracoviště a ostatním lékařům a sestřám, kteří se tohoto projektu účastnili. Zejména jsem pak zavázán MUDr. Šuldovi a MUDr. Vamberovi, CSc. z Kardiocentra Nemocnice České Budějovice a.s., kteří měli na starost echokardiografické hodnocení funkce mitrálního alograftu a kteří byli tak laskaví a poskytli echokardiografickou dokumentaci.

V neposlední řadě musím poděkovat i Doc. MUDr. T. Hoňkovi, CSc. mému původnímu školiteli, a dále pak bývalému přednostovi Kardiochirurgické kliniky UK 2. LF, MUDr. P. Pavlovi, CSc., kteří mě oba během mého doktorandského studia podporovali.

Nakonec zbývá poděkovat mým rodičům a hlavně mé manželce Nadě a dětem Jakubovi a Magdaleně, kteří měli vždy dostatek trpělivosti a pochopení pro mou práci.

Pozn.: Uskutečnění tohoto výzkumného projektu bylo umožněno i díky grantové podpoře, No. NR9086-3/2006 udělené MUDr. A. Mokráčkovi, CSc.

Praha, duben 2006

Obsah:

PODĚKOVÁNÍ:	1
1. Literární úvod a přehled dané problematiky	4
1.1. Stručná historie kardiochirurgie	4
1.2. Historie a přehled mechanických chlopní a xenograftů	8
1.2.1. Mechanické chlopně	9
1.2.2. Biologické chlopně – Xenografty	10
1.2.2.1. Mitrální Stentless xenografty	11
1.2.3. Srovnání mechanických chlopní a biologických chlopní - xenograftů	12
1.3. Alografty - přehled	13
1.4. Aortální alograft	15
1.5. Mitrální alograft	15
1.5.1. Historie mitrálního alograftu a československý výzkum	15
1.5.2. Mitrální alograft v mitrální pozici	16
1.5.3. Mitrální alograft v trikuspidální pozici	18
1.6. Budoucnost biologických chlopních náhrad	19
1.7. Problematika infekční endokarditidy trikuspidální chlopně	21
1.7.1. Kardiochirurgická léčba endokarditidy trikuspidální chlopně	23
2. Cíle práce	26
2.1. Způsob zpracování mitrálního alograftu	26
2.2. Vypracování reprodukovatelného způsobu implantace mitrálního alograftu v trikuspidální pozici	26
2.3. Zhodnocení bezprostřední funkce mitrálního alograftu v trikuspidální pozici	26
2.4. Příprava na II. fázi pokusů	26
3. Popis použitých experimentálních metod	27
3.1. Legislativa	27
3.2. Odběr mitrálního alograftu	27
3.2.1. Echokardiografické vyšetření – metodika	27
3.2.2. Explantace srdce a odběr mitrálního alograftu	28
3.3. Zpracování a uskladnění mitrálního alograftu	28
3.4. Implantace mitrálního alograftu	29
3.4.1. Příprava mitrálního alograftu	29
3.4.2. Příprava zvířete a anestézie	30
3.4.3. Technické provedení implantace mitrálního alograftu	30
3.4.3.1. Orientace mitrálního alograftu v trikuspidálním anulu	31
3.5. Hodnocení funkce mitrálního alograftu	31
3.5.1. Hodnocení funkce mitrálního alograftu podle simultánního měření tlaků	32
3.5.2. Hodnocení funkce mitrálního alograftu epikardiální echokardiografií	32
3.6. Explantace srdce a morfologické vyšetření mitrálního alograftu	32
3.7. Provedení trhací zkoušky	33
4. Výsledky	43
4.1. Výsledky odběru a zpracování mitrálního alograftu	43
4.2. Výsledky vlastní implantace	43
4.3. Výsledky hemodynamické studie	43
4.4. Výsledky epikardiálního echokardiografického vyšetření	45
4.6. Výsledky trhací zkoušky	46
5. Diskuze	51
5.1. Vlastní provedení experimentu	51

5.2.	Mitrální alograft v trikuspidální pozici	51
5.2.1.	Experimentální použití	51
5.2.2.	Klinické použití mitrálního alograftu	53
5.3.	Mitrální alograft v mitrální pozici	57
5.3.1.	Experimentální použití	57
5.3.2.	Klinické použití mitrálního alograftu v mitrální pozici	59
5.4.	Xenografty a mechanické chlopně v trikuspidální pozici	62
5.5.	Způsoby prezervace mitrálního alograftu	64
5.6.	Pokračování experimentální studie	64
6.	Závěry a zhodnocení cílů práce	66
7.	Anglický souhrn	67
8.	Seznam použité literatury	69

1. Literární úvod a přehled dané problematiky

1.1. Stručná historie kardiochirurgie

Počátky moderní kardiochirurgie, tak jak ji známe v dnešní době, jsou úzce spojené se zavedením a rutinním používáním mimotělního oběhu. Srdeční chirurgie se ale samozřejmě rozvíjela již před vynálezem extrakorporální cirkulace. První, v odborné literatuře dokumentované publikace, jsou datované na konci 19. století a jedná se většinou o kasuistiky ošetření bodných poranění srdce a velkých cév mediastina.¹ Dále sem rovněž patří chirurgická léčba plicní embolie, tzv. Trendelenburgova operace a chirurgická léčba nemocí perikardu, nejčastěji tuberkulózní perikarditidy.² Dalším milníkem bylo rovněž provedení pravostranné srdeční katetrizace. Forssmann, který pravostrannou srdeční katetrizaci provedl poprvé, byl posléze odměněn Nobelovou cenou za medicínu.³

Rozvoj kardiochirurgie před érou mimotělního oběhu je úzce spojen s problematikou vrozených srdečních vad a léčby získaného poškození aortální a mitrální chlopně. První kardiochirurgickou operaci vrozené srdeční vady provedl v roce 1937 John Streider v Massachusetts General Hospital v USA a jednalo se o podvaz dučeje.⁴ Další kardiovaskulární vrozená malformace, kterou se podařilo úspěšně odstranit, byla koarktace hrudní aorty. Doktor Crafoord ze Švédska v roce 1944 poprvé provedl úspěšnou resekci koarktace hrudní aorty s provedením přímé anastomózy u 12 let starého chlapce.⁵ V roce 1945 americký chirurg Alfred Blalock provedl na návrh kardioložky Heleny Taussigové úspěšné přímé napojení levé podklíčkové tepny na levou větev plicnice u 15ti měsíčního dítěte z diagnózou Fallotovy tetralogie.⁶ Následovalo pak řešení dalších vad jako je aortopulmonální okénko, anomální odstup věnčitých tepen nebo Fallotovy tetralogie pomocí kávpulmonálního spojení.^{7, 8, 9}

Chirurgie získaných chlopněních vad v éře před zavedením mimotělního oběhu spočívala zejména v léčbě revmatické stenózy aortální a mitrální chlopně pomocí dilatace poškozené chlopně prstem nebo později speciálním instrumentariem. První popsany klinický pokus o dilataci zúžené aortální chlopně provedl Tuffier v roce 1914 následován o několik let později Cuttlerem, který provedl v roce 1923 uzavřenou valvulotomii mitrální chlopně.¹⁰ Tyto výkony se vzhledem k nepříliš dobrým výsledkům nikdy výrazněji nerozšířily a až do

50. let nedošlo v oboru kardiologie k zásadnějšímu rozvoji. Počátkem 50. let Charles Hufnagel vyvinul první mechanickou chlopu a v experimentu na psech ji implantoval do sestupné hrudní aorty.¹¹ Z důvodu aortální regurgitace pak tuto chlopu použil u 23 pacientů.¹² Jednalo se o unikátní a jediný soubor pacientů operovaných pro nedomykavost chlopu před zavedením mimotělního oběhu a vyvinutím aortálních protéz, které se implantovaly do aortálního anulu.

Princip extrakorporální cirkulace a oxygenace a následně vyvinutí prvních přístrojů pro mimotělní oběh umožnilo obrovský rozmach kardiologie. Mimotělní oběh a principy ochrany myokardu během srdeční zástavy a ischemie umožnily provádět složité operace na otevřeném srdci, korigovat komplexní vrozené srdeční vady, transplantovat srdce event. blok srdce a plíce, řešit poškození hrudní aorty a samozřejmě se tím umožnil rozvoj koronární chirurgie. Největší zásluhu na vytvoření mimotělního oběhu má americký kardiolog John Gibbon, který jako první na mimotělním oběhu operoval v roce 1953 defekt septa síní.^{13, 14} Paralelně s rozvojem extrakorporální oxygenace je třeba zmínit ještě další metody, které ačkoli se v tomto kontextu více nerozšířily, přece jen přispěly k rozvoji kardiologie. V roce 1954 Walton Lillehei a spol. z USA publikovali možnost tzv. kontrolované zkřížené cirkulace a následně tuto metodu s úspěchem použili ke korekci několika typů vrozených srdečních vad.^{15, 16} Principem metody je zkřížená cirkulace mezi dítětem a nejčastěji jedním z rodičů s kompatibilní krevní skupinou. Dále se k zástavě srdce a možnosti zastavení cirkulace použila v experimentu a ojedinele i v klinice hluboká hypotermie. V roce 1950 Bigelow a spol. publikovali tuto techniku, kterou v experimentu ověřili na psech.¹⁷ O dva roky John Lewis s úspěchem použil tuto techniku v klinice, kdy v hluboké hypotermii uzavřel defekt síňového septa.¹⁸ Ačkoli se tato technika nerozšířila (kromě některých pracovišť v SSSR a Japonsku) a brzy byla nahrazena extrakorporální cirkulací, studium hypotermie mělo pro následný rozvoj kardiologie velký význam. Princip hluboké hypotermie se dodnes používá během cirkulační zástavy a je jednou z metod ochrany mozku a myokardu během srdeční zástavy.

Koncepce ochrany myokardu během srdečních operací má v historii kardiologie svoji nezastupitelnou roli. Nutnost zastavit srdeční akci je nezbytný předpoklad většiny srdečních operací a ischemicko-reperfúzní poškození srdce z důvodu ischemie myokardu představuje i dnes závažný problém. S vývojem kardiologie se vyvíjely i techniky ochrany myokardu. Melrose již v roce 1955 publikoval experimentální studii, kdy pomocí

kardioplegie s vysokým obsahem kalia docílil srdeční zástavy.¹⁹ Pro vysokou kardiotoxicitu se ale od této metody dočasně ustoupilo. Z dalších technik ochrany myokardu je nutno zmínit intermitentní nakládání příčně svorky na aortu, operace v komorové fibrilaci a samozřejmě hypotermii myokardu. Některé techniky, jako např. komorová fibrilace, se příležitostně používají dodnes. Koncept diastolické zástavy srdce pomocí kardioplegie s obsahem kalia se nakonec ukázal jako nejlepší. Gay a Bert prokázali, že sníží-li se koncentrace kalia, udávaná kardiotoxicita vymizí a tento způsob ochrany myokardu se postupně stal zlatým standardem.²⁰ V roce 1978 Follette publikoval koncepci tzv. krevní kardioplegie, která ve srovnání s klasickou krystaloidní plegií prokazatelně snižuje riziko ischemicko-reperfúzního poškození.²¹ Koncem šedesátých let byl tedy dostupný jak mimotělní oběh, tak i techniky ochrany myokardu během srdeční zástavy a byly tedy vytvořeny předpoklady pro další prudký rozvoj kardiochirurgie.

První náhrada aortální chlopně mechanickou protézou byla provedena v březnu 1960 Harkenem v Bostonu, mitrální pak v září téhož roku Starrem v Portlandu. V obou případech byla použita kuličková protéza. S rozvojem materiálů, zejména silikonu, se používané materiály staly méně trombogenní a chirurgická léčba chlopenních vad pomocí mechanické kuličkové protézy se stala rutinní kardiochirurgickou metodou. V roce 1967 bylo celosvětově implantováno již přes 2000 takovýchto protéz. Přes velký úspěch mechanickým protéz se v experimentu zkoušely tzv. biologické chlopenní náhrady a začátkem sedmdesátých let se s úspěchem začaly používat i biologické xenografty a alografty. Nejprve to byly stentované vepřové chlopně a postupně i chlopně vyráběné z hovězího perikardu. Detailní rozbor chlopenních náhrad včetně historie je probrán v následující kapitole.

Další významnou kapitolou dětské i dospělé kardiochirurgie je vývoj záchovných operací na mitrální chlopni, méně častěji na chlopni trikuspidální a aortální. Záchovné operace mají u většiny afekcí mitrální chlopně prokazatelně lepší výsledky ve srovnání s náhradou. Největší vliv na rozvoj v současnosti používaných technik měl francouzský chirurg Alan Carpentier. V roce 1984 publikoval tzv. „French correction“, tedy techniky používané až do současnosti k plastikám mitrální chlopně.²²

Dalším významným krokem v historii kardiochirurgie jsou transplantace srdce a transplantace bloku srdce + plíce. Koncepci ortotopické transplantace srdce vypracovali američtí chirurgové Richard Lower and Norman Shumway.²³ První úspěšná transplantace

srdce proběhla v roce 1967 v Kapském Městě a provedl ji Christian Barnard.²⁴ Ačkoli první pacient zemřel několik dní po operaci, druhý transplantovaný pacient úspěšně opustil nemocnici a stal se „celebritou“, na které se prokázalo, že srdeční transplantace může být řešením pro pacienty v terminálním stadiu srdečního selhání. V následujícím roce bylo celosvětově provedeno téměř 100 srdečních transplantací. Posléze ale většina chirurgů vzhledem k nepříznivým výsledkům daným rejekcí srdce, od transplantace ustoupila. Další rozvoj srdečních transplantací nastal až v éře moderní imunosupresivní terapie. První transplantace bloku srdce a plíce byla provedena na Stanford University v roce 1981 a provedl ji Reitz a spol.²⁵

Poslední velkou kapitolou historie kardiochirurgie je chirurgická problematika ischemické choroby srdce (ICHS). Stejně jako u chlopenních vad, se chirurgové zabývali problematikou ischemické choroby srdeční již před érou mimotělního oběhu. Ve třicátých letech minulého století americký chirurg Beck vymyslel metodu tzv. nepřímé revaskularizace myokardu. Cílem této metody bylo vytvoření kolaterál mezi svalovinou srdce a okolními strukturami mediastina, tj. perikardem, omentem nebo nejčastěji pektorálním svalem. Tuto metodu, ověřenou nejprve v experimentu, posléze použil i u několika pacientů, z nichž někteří udávali po operaci vymizení anginózních obtíží.²⁶ Dalším krokem v chirurgické léčbě ICHS je tzv. Vinebergova operace. Artur Vineberg, kanadský chirurg, již v roce 1951 implantoval prsní tepnu do tunelu v myokardu levé komory. Nejednalo se tedy o přímou anastomózu na koronární tepnu, ale cílem bylo docílit neovaskularizace a vznik kolaterál mezi věnčitou tepnou a implantovanou prsní tepnou.²⁷ Vznik těchto kolaterál byl prokázán a tato operace se před érou přímých koronárních revaskularizací poměrně rozšířila a používala se i v Československé republice.

Zásadní význam pro rozvoj aortokoronárních rekonstrukcí a následně i pro vznik perkutánních koronárních intervencí mělo zavedení angiografického vyšetření věnčitých tepen. Tzv. selektivní koronarografii provedl poprvé Sones a Spirey z Cleveland Clinic v roce 1962.²⁸ První aortokoronární bypass provedl v roce 1964 Garrett a DeBakey. Jednalo se o pacienta, který byl původně indikován k endarterektomii ramus interventricularis anterior. Pro příliš difúzní nález se autoři rozhodli k provedení aortokoronárního žilního bypassu pomocí velké safény. Ačkoli se jednalo o první úspěšný aortokoronární bypass, autoři jej publikovali až v roce 1973, kdy zároveň dokumentovali 7 letou průchodnost štěpu.²⁹ První, kdo použil levou prsní tepnu ke konstrukci koronární anastomózy, byl ruský chirurg Kolesov. V roce

1967 publikoval v americkém časopise soubor 6 pacientů, u kterých byla arteria mammaria použita, první pacient byl operován v roce 1964.³⁰ Z dalších průkopníků koronární chirurgie je nutno zmínit kardiochirurga argentinského původu Rene Favalora z Cleveland Clinic. V roce 1968 publikoval soubor 15 pacientů, u kterých provedl aortokoronární bypass na pravou věnčitou tepnu.³¹ Zajímavostí je, že distální anastomóza byla provedena technikou end to end.

Všichni tito chirurgové ovlivnili rozvoj koronární chirurgie a otevřeli tak cestu svým pokračovatelům, kteří dále chirurgickou problematiku ischemické choroby rozvíjeli. Aortokoronární rekonstrukce se tak staly nejčastější kardiochirurgickou operací. Výhody této metody, ve srovnání s konzervativní léčbou, v sedmdesátých letech prokázaly multicentrické randomizované studie.^{32, 33, 34} Dominantní postavení srdeční chirurgie v léčbě ischemické choroby srdce ukončilo v devadesátých letech minulého století zavedení koncepce koronárních angioplastik. Vzájemný vztah kardiochirurgie a intervenční kardiologie se nadále vyvíjí. V současnosti je stále více pacientů indikováno k perkutánním koronárním intervencím. Naopak kardiochirurgie disponuje možností kompletních arteriálních revaskularizací a operací bez mimotělního oběhu a je pravděpodobné, že v léčbě ischemické choroby bude i v budoucnosti hrát významnou úlohu.

1.2. Historie a přehled mechanických chlopní a xenograftů

Vymezení pojmů: Pro lepší orientaci v následujícím textu je nutné definovat některé pojmy. Vzhledem k určitým nepřesnostem v terminologii biologických chlopní, kdy pro určitou chlopní náhradu existuje několik možných výrazů, je nezbytné vymežit pojmy, které se v následujícím textu budou používat.

Biologické chlopně (bioprotézy) se dělí na xenografty, alografty a autografty. V textu se bude používat výraz **biologické chlopně**.

- xenografty (heterografty, xenotransplantáty, heterotransplantáty): biologické chlopně pocházející z jiného druhu (např. vepřové aortální chlopně nebo chlopně vyrobené z hovězího perikardu). V následujícím textu se bude používat výraz **xenograft**. Xenografty se dále dělí na tzv. stentované, kdy jsou cípy chlopně ukotveny na rigidním stentu a na bezstentové (stentless), kdy je chlopně bez stentu.

- alografty (homografty, alotransplantáty): biologická chlopeň pocházející ze stejného druhu (např. aortální, plicnicový nebo mitrální alograft). V následujícím textu se bude používat výraz **alograft**.
- autografty: chlopně pocházející ze stejného jedince (plicnicové autografty používané k náhradě kořene aorty u Rossovy operace). V textu se bude používat výraz **autograft**.

1.2.1. Mechanické chlopně

První náhrada aortální chlopně mechanickou protézou byla provedena v březnu 1960 Harkenem v Bostonu, mitrální pak v září téhož roku Starrem v Portlandu. V obou případech byla použita kuličková chlopeň Starr-Edwards. Uzavíracím tělesem je silastiková kulička, která v otevřené pozici naléhá na stelitovou klec. Při uzavěru chlopně je kulička uložena v kovovém prstenci, který je opleten teflonem a slouží k fixaci chlopně do srdečního anulu. Z dlouhé vývojové řady těchto chlopní se dodnes ojediněle používá v aortální pozici model 1260 a v mitrální 6120.

Další vývojovou skupinou chlopenních mechanických protéz byly tzv. chlopně diskové. V sedmdesátých letech se začaly používat nevyklápějící diskové chlopně, které měly podobný design, jako chlopně kuličkové, ale kulička byla nahrazena diskem. Výhodou těchto chlopní byl nízký profil, jednodušší implantace, nízká otevírací rezistence a malá regurgitace. Nevýhodou naopak vyšší průtokový gradient a turbulence, častější výskyt hemolýzy a tromboembolických komplikací. Nejznámějšími zástupci byly např. chlopně Kay-Shiley, Beall, Kay-Suzuki, Starr-Edwards, Cooley-Cutter apod. Dnes se již tyto chlopně nepoužívají.

Dalším vývojovým stadiem této skupiny mechanických chlopní byly diskové vyklápějící chlopně. V sedmdesátých a osmdesátých letech byly nejčastěji používané chlopně Björk-Shiley. Pozdější modifikace této chlopně, tzv. konvexo-konkávní, byla následně stažena z trhu vzhledem k popisovaným mechanickým závadám – po několika letech docházelo ojediněle k prasknutí vtokové vzpěry a vycestování disku.

Dnes se z diskových chlopní nejvíce implantuje chlopeň Medtronic-Hall, která je v klinickém použití od roku 1977.³⁵

V současnosti jsou nejčastěji používány dvojlisté mechanické chlopně. Nejznámějším zástupcem je chlopeň St. Jude Medical. Tyto chlopně mají velmi dobré hemodynamické vlastnosti i při použití nižších velikostí, což je významné zejména u pacientů s malým aortálním anulem. Obecně mají diskové a dvojlistkové chlopně lepší hemodynamické vlastnosti a nižší riziko tromboembolických komplikací ve srovnání s kuličkovými chlopněmi.³⁶

1.2.2. Biologické chlopně – Xenografty

Historie, rozdělení a použití alograftů bude probráno v samostatné kapitole. Předmětem této kapitoly jsou zejména xenografty. První biologickou chlopeň vyvinul v roce 1960 Binet a spol.³⁷ Na konstrukci této chlopně se podílel i Alan Carpentier. V roce 1964 Duran a Gunning nahradili aortální chlopeň vepřovou aortální chlopní. K fixaci chlopně se používal formaldehyd a ačkoli časné výsledky byly dobré, záhy docházelo k degeneraci a kalcifikaci chlopně, a proto se od fixace xenograftů formaldehydem a částečně i od obecného použití xenograftů v kardiochirurgii upustilo.³⁸ Alan Carpentier jako první začal používat k fixaci i sterilizaci vepřových chlopní glutaraldehyd a rovněž je začal upevňovat na stent.³⁹

První biologické komerčně vyráběné chlopně – Carpentier-Edwards a Hancock se staly velmi populární a byly implantovány velkému počtu pacientů.⁴⁰ Přes počáteční velký entusiasmus se s postupem času ukázalo, že i tyto xenografty podléhají časem degeneraci a kalcifikaci, a to zejména u mladších pacientů. V dnešní době se používají dva základní druhy xenograftů: vepřové aortální chlopně a chlopně z hovězího perikardu. Během uplynulých 40 let došlo k velkým pokrokům ve zpracování a fixaci biologických chlopní. Fixace glutaraldehydem probíhá nyní při nízkém až nulovém tlaku, což zlepšuje biofyzikální vlastnosti chlopně.⁴¹ Chemické, tzv. dekalciфикаční ošetření snižuje riziko kalcifikace chlopně.

Naprostá většina v současnosti používaných aortálních biologických chlopní se implantuje do supraanulární pozice, což umožňuje použití chlopně větší velikosti.

Kromě klasických xenograftů upevněných na stent se s oblibou používají i biologické chlopně bezstentové, tzv. „stentless“, rovněž vepřové i z hovězího perikardu. Rutinně tyto chlopně začal používat v aortální pozici začátkem 90. let David a spol.⁴² Konstrukčně jsou aortální stentless chlopně, ve srovnání se stentovanou protézou, bližší nativní aortální chlopní, s čímž souvisí i příznivější hemodynamika a biofyzikální vlastnosti těchto náhrad. Vzhledem

k absenci stentu a našivacího prstence mají větší efektivní plochu ústí, nižší gradient a příznivější hemodynamické vlastnosti. S tím souvisí i rychlejší regrese hypertrofie levé komory u pacientů operovaných pro aortální stenózu.^{43,44} Určitou nevýhodou je technická náročnost implantace těchto protéz, navíc někteří autoři výhody bezstentových chlopní, ve smyslu rychlejší regrese hypertrofie levé komory nebo lepšího přežívání, nepotvrdili.⁴⁵ Nejznámějšími zástupci jsou St. Jude Medical Toronto SPV a Medtronic Freestyle.

1.2.2.1. Mitrální Stentless xenografty

Problémy s dostupností mitrálních alograftů a zejména neuspokojivé výsledky vedly některé medicínské firmy, které se zabývají problematikou chlopenních náhrad, k vyvinutí mitrálních xenograftů. Jedná se o bezstentové vepřové mitrální chlopně včetně subvalvulárního aparátu a hovězí perikardiální čtyřcípé chlopně s vytvořeným závěsným aparátem (Physiological Mitral Valve, Medtronic). Výhody těchto chlopenních náhrad jsou dostupnost a možnost výběru podle potřebné velikosti. Další výhodou, ve srovnání s klasickými mitrálními mechanickými nebo biologickými chlopněmi, je zachování kontinuity mezi srdečním skeletem a svalovinou levé komory – anuloventrikulární kontinuita.^{46, 47} To vede k zachování systolické funkce a tvaru levé komory. Lepší hemodynamické vlastnosti a snížený mechanický stres na chlopenní cípy, může snižovat riziko degenerace chlopně.⁴⁸ Nevýhodou těchto xenograftů, stejně jako u mitrálních alograftů, je technická náročnost operace s nutností implantace závěsného aparátu. Další nevýhodou je zatím nejistá dlouhodobá dobrá funkce těchto chlopní. Rovněž fakt, že dominantní patologií mitrální chlopně je, po ústupu revmatické choroby, srdeční nedomykavost, která je u velké většiny nemocných řešitelná plastikou, brání výraznějšímu rozšíření bezstentových mitrálních protéz.

Na rozdíl od mitrálního alograftu je v odborné literatuře pouze několik zmínek o experimentálním použití mitrálních xenograftů u zvířat. Dagum a spol. v roce 1999 publikovali zkušenosti s použitím vepřového bezstentového mitrálního xenograftu v experimentu na ovcích. Cílem bylo zjištění bezprostřední funkce chlopně hodnocené pomocí epikardiální echokardiografie.⁴⁹ Výsledky této experimentální hemodynamické studie byly příznivé. Stejná skupina publikovala o několik let později obdobný experiment a prokázala dobré krátkodobé výsledky s pouze stopovou až mírnou regurgitací na implantované

chlopni.⁵⁰ U 3 zvířat, která se dožila 3 měsíců, se po explantaci prokázaly dobře vhojené papilární svaly i anulus.

Jako jeden z prvních autorů publikoval klinické zkušenosti s použitím mitrálního xenograftu u lidí Morea a spol.⁵¹ Ve své studii použili bezstentovou vepřovou mitrální chlopeň (St. Jude Medical - Biocor). Jedná se o vepřovou mitrální chlopeň včetně subvalvulárního aparátu. Našivací prstenec je vytvořen z hovězího perikardu. Tuto chlopeň použili u 7 pacientů s dobrým perioperačním výsledkem. U tří pacientů byla ale do jednoho roku nutná reoperace, jejíž příčinou byla ruptura šlašinek nebo perforace cípu. Vzhledem k neuspokojivým výsledkům přestali autoři tuto chlopeň používat.

Middlemost a spol publikovali v roce 2003 větší soubor pacientů, u kterých byl k náhradě mitrální chlopně použit xenograf vyrobený z hovězího perikardu.⁵² Jedná se o čtyřcípou bezstentovou chlopeň Quattro. Střednědobé výsledky v souboru 47 pacientů byly slibné.

Mohr a spol, kteří použili stejnou chlopeň, publikovali v roce 2005 obdobně povzbudivé střednědobé výsledky v souboru 52 pacientů.⁵³

1.2.3. Srovnání mechanických chlopní a biologických chlopní - xenograftů

V odborné literatuře existují pouze dvě velké randomizované studie, které porovnávají dlouhodobé výsledky mechanických a biologických chlopní. Jsou to the Veterans Affairs Cooperative Study on Valvular Heart Disease (VA) a Edinburg heart valve study.^{54, 55, 56} Obě studie porovnávaly obdobné chlopně, tj. diskovou mechanickou chlopeň Björk-Shiley (v době před uvedením poruchového konvexo-konkávního typu) a biologickou vepřovou chlopeň Hancock (U Edinburg heart valve studie to byla navíc ještě biologická chlopeň Carpentier-Edwards). Chlopně byly použity v aortální i mitrální pozici a doba sledování byla 15 až 20 let. Výsledky byly o obou studiích obdobné: přežívání bylo delší u skupiny pacientů s implantovanou mechanickou chlopní. U biologických chlopní byly častější reoperace z důvodu degenerace chlopně. K degeneraci dochází dříve v mitrální pozici (8-10 let) než v aortální pozici (10-12 let). Riziko tromboembolických komplikací a vzniku endokarditidy je u obou typů chlopní obdobné. Pacienti s implantovanou mechanickou chlopní měli signifikantně vyšší riziko krvácivých komplikací z důvodu antikoagulační léčby.

Z Edinburské studie a následně i z celé řady dalších observačních studií vyplynulo, že k degeneraci biologických chlopní dochází nejrychleji u mladších pacientů. Nemocní v pokročilém věku mají naopak riziko degenerace chlopně poměrně nízké. Biologické chlopně v mitrální pozici degenerují rychleji ve všech věkových skupinách. U trikuspidální pozice je degenerace pomalejší a nejlepší výsledky vykazují biologické chlopně v aortální pozici u pacientů nad 60 let.^{57, 58}

Na základě výsledků těchto dvou velkých randomizovaných studií, které jsou v souladu s celou řadou dalších observačních studií, se stanovila obecně platná a známá doporučení pro volbu chlopní náhrady.⁵⁹ Detailnější rozbor a přesná doporučení jsou nad rámec této kapitoly.

1.3. Alografty - přehled

Použití biologických chlopních náhrad, tj. xenograftů, alograftů a později i autograftů, se datuje prakticky od počátků moderní kardiologie. Na rozdíl od klasických chlopních náhrad, tj. mechanických protéz a xenograftů, které během posledních desetiletí zaznamenaly obrovský rozvoj a jsou zcela běžně používány, je použití alograftů limitované a četnost jeho použití se výrazněji nemění. Aortální i plicnicový alograft se úspěšně používá přes 40 let a v dětské i dospělé kardiologii se v určitých indikacích na některých pracovištích považuje za metodu volby.^{60, 61, 62}

Ačkoli experimentální pokusy s mitrálním alograftem začaly již před 50 lety, tedy dříve než s aortálním alograftem, mitrální alograft se nikdy nedočkal širšího klinického použití.^{63, 64, 65} Důvody jsou tyto:

- Mitrální alograft se musí implantovat i se svým závěsným aparátem včetně papilárních svalů, což je technicky obtížné.
- V naprosté většině případů se mitrální alograft používal v mitrální pozici, tj. v levé komoře, kde je vystaven velkému tlaku, což vedlo k častějším dehiscencím papilárních svalů nebo rupturám šlašinek.

- Problémy s fixací chlopně, nejasnosti s viabilitou alograftu a riziko časně degenerace spolu s již výše uvedenými důvody vedly často k nepříznivým dlouhodobým výsledkům.
- Zdokonalení techniky záchovných operací na mitrální chlopni společně s dostupností kvalitních mechanických protéz i xenograftů.

Od počátků moderní kardiologické éry až dodnes se kardiologové, ve spolupráci s výrobcí chlopní, snaží vyvinout tzv. ideální chlopní náhradu. Tím máme na mysli protézu, která má ideální hemodynamické vlastnosti srovnatelné s nativní chlopní, je rezistentní k infekci, netrombogenní, nehluká, jednoduše implantabilní, lehce dostupná a cenově přijatelná. Vývoj probíhal ve dvou základních směrech, tj. biologické a mechanické protézy.

Na rozdíl od mechanických chlopní, kde byl designový vývoj od kuličkových, diskových až k dnešním dvojlístkovým chlopním mnohem přímočařejší, byla a je historie biologických chlopní mnohem rozmanitější. Kardiologové si uvědomovali potenciální výhody biologických chlopní a výzkum i vývoj probíhal současně v několika rovinách.

- Xenografty, tj. vepřové aortální chlopně nebo chlopně vyrobené z hovězího perikardu.
- Alografty: nejčastěji je používán aortální alograft, méně často pak plicnicový alograft, který se používá zejména v kardiologii vrozených srdečních vad nebo při tzv. Rossově operaci, kdy se plicnicový alograft používá k náhradě vlastní plicnice. Plicnicový alograft byl ojedinele použit k náhradě mitrální chlopně.⁶⁶ Mezi alografty patří i chlopně vytvořené z lidské tvrdé pleny mozkové.⁶⁷ Tyto chlopně se ale nikdy výrazněji nerozšířily a přestaly se brzy používat.
- Autografty: jako první použil autologní chlopně plicnice v roce 1967 Ross, který ji implantoval do aortální pozice.⁶⁸ Výhody této tzv. Rossovy operace jsou možnost růstu viabilního autograftu, což je zásadní v dětské kardiologii, a dále pak výborné hemodynamické vlastnosti.^{69, 70, 71} Určitou nevýhodou jsou technická náročnost operace, která se může podílet na vyšší mortalitě, a riziko degenerace autograftu i plicnicového alograftu.⁷²

Dále se plicnicový autograft výjimečně používá i v mitrální pozici. Tato operace se nazývá Ross 2.^{73, 74}

Mezi autografty je možné zahrnout i chlopně vytvořené z vlastní fascia lata nebo autologního perikardu.⁷⁵ Tyto druhy chlopní se v současnosti již nepoužívají.

1.4. Aortální alograft

První aortální alograft implantoval v experimentu Gordon Murray v roce 1956.⁷⁶ Po ukončení experimentální práce implantoval v klinické praxi aortální alograft do sestupné aorty z důvodu aortální regurgitace. Dobrá funkce alograftu byla ověřena po 4 letech.⁷⁷

Hemodynamický benefit heterotopické implantace aortálního alograftu byl v experimentu dále ověřen Bellem, dobrá dlouhodobá funkce v klinice Kerwinem.^{78, 79}

První ortotopickou implantaci aortálního alograftu provedl v klinické praxi Bigelow, následován pak Rossem a Barratt-Boyesem, kteří v roce 1961 publikovali téměř simultánně první úspěšné série ortotopické implantace aortálního alograftu.^{80, 81, 82}

Aortální alograft se kromě své obvyklé aortální pozice používal ojediněle v experimentu ale i v klinické praxi v mitrální nebo trikuspidální pozici.^{83, 84, 85, 86} Jedním z prvních průkopníků byl i slovenský kardiochirurg Hubka.^{87, 88, 89}

V současnosti je aortální alograft uznávanou alternativou ostatních typů náhrad aortální chlopně. Jeho výhodou jsou výborné hemodynamické vlastnosti a viabilita tkáně, které je přičítána rezistence k infekci. Proto je dnes řadou kardiochirurgů považován za metodu volby u infekční endokarditidy aortální chlopně. Nevýhodou je obecný nedostatek všech biologických chlopních náhrad, tedy riziko degenerace alograftu, zejména u mladších pacientů.⁹⁰

1.5. Mitrální alograft

1.5.1. Historie mitrálního alograftu a československý výzkum

Jedním z významných průkopníků alograftů v šedesátých a sedmdesátých letech minulého století byl slovenský chirurg M. Hubka. V experimentu na psech použil mitrální

alograf v mitrální i trikuspidální pozici. Rovněž jako jeden z prvních v experimentu a následně v klinice popsal použití aortálního alograftu v mitrální pozici.⁹¹ Jeho přínos k této problematice je obrovský, o čemž svědčí vysoká citovanost jeho publikací, zabývajících se touto problematikou.^{91, 92, 93}

1.5.2. Mitrální alograft v mitrální pozici

První experimentální implantaci mitrálního alograftu do mitrální pozice provedl v roce 1964 Cachera v pařížské nemocnici Broussais.⁹⁴ V experimentu transplantoval u 34 psů parciální i totální mitrální alograft do mitrální pozice včetně jeho závěsného aparátu.

Obdobný experiment provedl i slovenský chirurg Hubka. Rastelli a spol. z Mayo Clinic publikovali v roce 1964 náhradu mitrální chlopně mitrálním alograftem v experimentu na deseti psech.⁹⁵ Zvířata byla po necelém roce usmrcena a mitrální alograft explantován. Z morfologického hlediska se zdál být alograft dobře funkční. Papilární svaly (vaskularizovaná část transplantovaného alograftu) podlely ischemické nekróze a tkáň byla nahrazena jizevnatou tkání příjemce.⁹⁶

V průběhu šedesátých let proběhlo několik dalších významných experimentů s podobnou tematikou. O'Brien a spol. a Bernard a spol. publikovali relativně příznivé výsledky ortotopické transplantace mitrálního alograftu.^{97, 98} V roce 1969 Baird a spol. z Toronta zveřejnili rozsáhlé zkušenosti s transplantací mitrálního alograftu u psů a telat.⁹⁹ Sledované období bylo relativně krátké a během průměrné doby 2 let pozorovali u několika zvířat dobrou funkci implantované chlopně. Po usmrcení zvířat a explantaci měly implantované chlopně pliabilní cípy, šlašinky bez ruptury a papilární svaly bez dehiscence.

Pappas a spol. z Mayo Clinic publikovali dlouhodobé výsledky funkce mitrálního alograftu u psů s dobou sledování až 6 let.¹⁰⁰ U většiny zvířat byla prokázána dobrá funkce chlopně a po explantaci vypadaly alografty morfologicky téměř normálně. Výsledky byly prokazatelně lepší v případě, kdy zvířata nebyla léčena imunosupresí a když byl použit čerstvý alograft.

Použití parciálního mitrálního alograftu v experimentu pracoval Revuelta a spol.¹⁰¹ Na ovčím modelu nahrazoval pouze zadní cíp mitrální chlopně čerstvým nebo kryoprezervovaným parciálním mitrálním alograftem. Během sledovaného období 7 měsíců pozoroval dobrou funkci čerstvého i kryoprezervovaného alograftu. Po explantaci a

histologickém vyšetření vykazoval čerstvý mitrální alograft lepší viabilitu, u obou typů se prokázala dobrá strukturální integrita.

Vetter a spol v experimentu použil anatomicky upravený mitrální alograft.^{102, 103} V experimentu na ovčích použil kryoprezervovaný mitrální alograft v mitrální pozici, u kterého byl anulus zpevněn autologním perikardem, papilární svaly byly překryty záplatou z polytertafluorethylenové (PTFE) protézy a šlašinky byly vyztužené pomocí PTFE vláken. Během sledovaného období 5ti měsíců prokázal velmi dobré výsledky hodnocené pomocí echokardiografie.

Klinické použití mitrálního alograftu v humánní medicíně bylo publikováno poprvé v roce 1967 Senningem a Largiaderem.¹⁰⁴ Bezprostřední a krátkodobá funkce implantované chlopně byla dobrá, s postupem času ale alograft selhal a byla nutná reoperace.

První dlouhodobé klinické výsledky publikovali v roce 1975 Huber a spol.¹⁰⁵ V letech 1966 až 1969 použili mitrální alograft k náhradě mitrální chlopně v souboru 11ti pacientů. Tři pacienti zemřeli v časném pooperačním období. Ze zbývajících 8 byla u 4 nemocných nutná reoperace z důvodu degenerace a špatné funkce chlopně. Výsledky byly neuspokojivé a Senning od této metody nadále odstoupil.

Na přelomu šedesátých a sedmdesátých let se vyskytly pouze sporadické publikace a kasuistiky týkající se této problematiky. V roce 1973 Ohta z Hokkaido University publikoval kasuistiky 2 pacientů s čerstvým mitrálním alograftem v mitrální pozici, které sledoval po dobu 2 let.¹⁰⁶ Funkce chlopně byla v obou případech dobrá.

Silvers a spol implantovali mitrální alograft u 3 nemocných s mitrální stenózou, u jednoho z nich byla 2 měsíce po výkonu nutná reoperace. Příčinou byla pravděpodobně technická chyba.¹⁰⁷ Zbývajících dva pacienti byli reoperováni 9 a 44 měsíců po implantaci z důvodu endokarditidy a dehiscence papilárního svalu.¹⁰⁸

Mimo Evropu byl mitrální alograft použit Vrendecicem a spol. v roce 1992 v Brazílii a dále pak zejména Kumarem v Indii v New Delhi.^{109, 110, 111, 112}

Použití parciálního mitrálního alograftu u endokarditidy mitrální chlopně publikoval v roce 1994 Dossche a spol.¹¹³ Dvě třetiny zadního cípu nahradil odpovídající částí alograftu včetně závěsného aparátu. Po ročním sledování měl pacient mírnou mitrální regurgitaci. Ve stejném roce obdobnou techniku popsal i Revuelta.¹¹⁴

Největší zkušenosti s použitím mitrálního homograftu mají ve Francii, a to zejména Acar a spol.^{115, 116, 117, 118, 119} Jejich současná technika spočívá v použití kryoprezervovaného mitrálního homograftu a rutinní aplikaci anuloplastického prstence. V chirurgické technice používají extenzivní zkušenosti se záchovnými operacemi mitrální chlopně. Tito autoři rovněž jako první publikovali v roce 1994 simultánní náhradu mitrální i trikuspidální chlopně dvěma mitrálními alografty u pacienta s endokarditidou obou atrioventrikulárních chlopní.¹²⁰ Stejná skupina autorů publikovala i použití mitrálního alograftu k náhradě mitrální chlopně v dětském věku. Střednědobé výsledky byly ale nepříznivé.¹²¹

Další autoři, kteří se touto problematikou v posledních letech zabývali, jsou Radermecker a Gulbins.^{122, 123}

Z výše uvedeného historického přehledu vyplývá, že implantace mitrálního alograftu do mitrální pozice je technicky náročná operace, která má přijatelné krátkodobé výsledky. Střednědobé výsledky jsou ale suboptimální a dlouhodobé nejsou k dispozici. Je evidentní, že je nezbytné provést další experimenty s cílem zjistit, která technika prezervace a implantace mitrálního alograftu je nejlepší a jaké jsou střednědobé event. dlouhodobé výsledky.

1.5.3. Mitrální alograft v trikuspidální pozici

První experimenty s ortotopickou transplantací trikuspidálních chlopní proběhly již v roce 1951-1952.¹²⁴ Během těchto experimentů na psím modelu byla odstraněna trikuspidální chlopně a nahrazena čerstvým trikuspidálním alograftem. Z celkového počtu 38 operací přežilo 25 zvířat (1 měsíc – 3,5 roku). Trikuspidální alograft se skládal s chlopněmi cípů, závěsného aparátu a papilárních svalů. Dobrá funkce alograftu se prokázala u 18 z 25 přežívajících zvířat (hodnocena na základě absence šelestu a hodnot centrálního žilního tlaku). Po usmrcení zvířat a explantaci alograftu se u většiny prokázaly pouze mírné degenerativní změny. Transplantované papilární svaly se u několika dlouhodobě přežívajících zvířat zdály být anatomicky i histologicky viabilní.

Podobné experimenty a s obdobnými závěry provedli o něco později Pollock a Thomas a slovenský kardiochirurg Hubka, který implantoval mitrální alograft do mitrální i trikuspidální pozice u psů za použití mimotělního oběhu.¹²⁵ Přežívání zvířat bylo od několika dnů do dvou let, u některých došlo k dobrému vhojení alograftu a nebyla pozorována žádná imunologická reakce. Z těchto experimentálních studií bylo zjevné, že je nutné

implantovat mitrální i trikuspidální alograft jako tzv. funkční jednotku, která se skládá s anulu, chlopenních cípů, šlašinek a papilárních svalů.

V roce 1993 byla popsána jediná klinická implantace čerstvého trikuspidálního alograftu do trikuspidální pozice. Jednalo se o mladou pacientku s endokarditidou trikuspidální chlopně. Dobrá střednědobá funkce alograftu byla ověřena 6 měsíců po operaci.¹²⁶ Trikuspidální alograft se vzhledem k anatomické rozmanitosti a nekonstantnosti jeho papilárních svalů nikdy dále v humánní medicíně ani v experimentu nepoužil.

Experimentální použití mitrálního alograftu v trikuspidální pozici je v současné odborné literatuře ojedinělé a publikované práce jsou spíše zaměřeny na způsoby prezervace než na technické aspekty implantace a hodnocení funkce štěpu¹²⁷

V klinické praxi je mitrální alograft implantovaný do trikuspidální pozice používán zřídka. Implantaci mitrálního alograftu do trikuspidálního ústí z důvodu endokarditidy poprvé publikoval v roce 1993 španělský kardiochirurg JL Pomar.¹²⁸

Chirurgická technika i taktika implantace mitrálního alograftu do trikuspidální pozice je různá, rozdíl je rovněž v orientaci chlopně v trikuspidálním anulu a různý je také způsob prezervace.

1.6. Budoucnost biologických chlopenních náhrad

Od počátků chlopenní chirurgie se chirurgové snaží vyvinout tzv. ideální chlopenní náhradu. V uplynulých čtyřech desetiletích došlo k obrovskému pokroku v technologiích, používaných materiálech, ale i v konstrukci mechanických a biologických chlopní. Přesto žádnou ze v současnosti používaných chlopní nelze pokládat za vsutku revoluční, ideální chlopenní náhradu. To znamená takovou chlopeň, která by měla vlastnosti odpovídající nativní zdravé lidské chlopní (ideální hemodynamické vlastnosti, minimální trombogenicita, rezistence k infekci). Dále by takováto chlopeň musela být cenově přijatelná, široce dostupná a lehce implantabilní.

Ideální chlopeň budoucnosti by mohla být vyvinuta pomocí tkáňového inženýrství – vědního oboru kombinujícího principy bioinženýrství, buněčných transplantací, hematologie a materiálových technologií s cílem vytvořit novou chlopeň z buněk event. příjemce - pacienta. Pokrok v tomto vědním oboru by mohl znamenat revoluční obrat v léčbě srdečních chorob.

Určitý pokrok v aplikaci tkáňového inženýrství do kardiochirurgie znamenalo vytvoření decelularizovaného aortálního alograftu a xenograftu – Synegraft. Tato kryoprezervovaná a kompletně decelularizovaná chlopeň může být teoreticky osídlena migrujícími hostitelskými buňkami, které by zajišťovaly dlouhodobou dobrou funkci chlopně (růst, regenerace, rezistence k infekci, tvorbu extracelulárních substrátů jako je matrix a dalších biologicky aktivních součástí). Ačkoli histologické studie takovýchto explantovaných chlopní prokázaly přítomnost viabilních hostitelských buněk, funkčnost těchto buněk je nejistá.¹²⁹ Některé klinické studie těchto decelularizovaných biologických chlopní skutečně neprokázaly jednoznačné výhody a u některých dokonce docházelo k častým degeneracím.^{130, 131} Vysvětlení, proč se předpokládané experimentální výhody těchto chlopní v praxi neprokázaly, je obtížné a spočívá v porozumění základních konceptů tkáňového chlopenního inženýrství jako jsou chlopenní skelet, znovuosídlení skeletu buňkami, podpora neovaskularizace a mechanické podmínky vedoucí k diferenciaci kmenových buněk.

Chlopenní skelet

Vytvoření ideální chlopenní konstrukce – skeletu, je velice obtížné. Tento skelet by měl být biodegradabilní, imunologicky inertní a musí splňovat podmínky nezbytné pro osídlení hostitelskými buňkami. Všechny tyto vlastnosti musí být obsaženy ve formě, která je velmi komplexní a na kterou jsou kladeny, tak jako na nativní chlopeň, velké biomechanické nároky. Tyto poslední předpoklady splňuje např. decelularizovaný alograft. Naopak nejistá zůstává biodegradabilita této chlopně a schopnost kompletní přestavby hostitelskou tkání, což je nezbytný předpoklad schopnosti růstu a regenerace.

Další biologické skelety se vytvářejí za použití fibrinového gelu a extracelulární matrix. Jednou z výhod skeletu, vytvořeného z fibrinového gelu, může být kontrolovaná biodegradace aplikací aprotininu.¹³²

Osídlení skeletu buňkami

Osídlení skeletu hostitelskou tkání – celularizace – může probíhat pasivně nebo aktivně, kdy jsou buňky in vitro aktivně implantovány do matrix. Implantované buňky mohou být autologní endoteliální buňky nebo myofibroblasty. Další možností je použití progenitorových buněk kostní dřeně, tzv. kmenových buněk. Kmenové buňky mají tu vlastnost, že se mohou v různých podmínkách různě diferencovat. Jsou-li vystaveny určitým definovaným biomechanickým podmínkám, mohou se diferencovat v kardiovaskulární tkáň. Je možno použít i alogenní kmenové buňky získané z embryonálních tkání.

Vytvoření biologické chlopně pomocí tkáňového inženýrství

Princip vývoje „nové lidské chlopně“ je založen na osídlení trojrozměrného biodegradačního trojcípého chlopenního skeletu kmenovými buňkami a následném vystavení tohoto modelu pulzatilnímu toku. Biomechanické stimuly podporují diferenciaci kmenových buněk v myofibroblasty produkující extracelulární matrix a mající in vitro shodné mechanické vlastnosti jako nativní chlopeň.¹³³ Doba nutná k vytvoření cípů chlopně na základě těchto principů se odhaduje na 6-8 týdnů, což je z klinického hlediska akceptovatelné. Určitou variantou, která by umožnila časnější zavedení těchto chlopní do klinické praxe, je napojení takto vytvořených chlopenních cípů na permanentní stent, tak jak je tomu u klasických stentovaných xenograftů. Tato metoda není ale vhodná pro dětskou kardiologii, protože chlopeň nemůže růst.

1.7. Problematika infekční endokarditidy trikuspidální chlopně

Infekční endokarditida trikuspidální chlopně se nejčastěji vyskytuje u intravenózních narkomanů, často nositelů viru HIV.¹³⁴ Právě obava z nákazy AIDS a s tím související snaha narkomanů o lepší hygienu, vedla k relativnímu poklesu výskytu tohoto závažného onemocnění.¹³⁵

Infekce jsou hlavní zdravotní komplikací i.v. narkomanie.¹³⁶ Infekční endokarditida nitrožilních narkomanů patří k relativně novým formám tohoto onemocnění se specifickými

rysy, a je jednou z nejzávažnějších komplikací i. v. narkomanie.¹³⁷ Častější výskyt tohoto onemocnění po druhé světové válce souvisí s přechodem narkomanů od podkožní aplikace drogy k aplikaci nitrožilní.

Příčinou vzniku infekční endokarditidy u i. v. narkomanů je usazení mikroorganismů na poškozeném povrchu chlopně při dlouhodobém podávání drogy nitrožilní cestou. Drogy nemusí být v době aplikace zcela rozpuštěné nebo obsahují různé zbytkové látky a příměsi. Prvním místem, kde se tyto částičky dostávají do silných turbulentních proudů, je oblast trikuspidální chlopně. Zde dochází k poškození endokardu, apozici destiček a fibrinu a při současné nebo následné bakteriémii k uchycení infekčního agens.¹³⁸

Nejčastěji je postižena trikuspidální chlopeň (70%), ale ušetřeny nejsou ani chlopně levého srdce, které mohou být poškozeny částičkami o velikosti 8-10 μm , které projdou plicním kapilárním řečištěm. Mitrální a aortální chlopně jsou postiženy zhruba stejně často – (20-30%), naopak postižení chlopně plicnice je velmi vzácné – méně než 1%. Více než jedna chlopeň je postižena v 5 – 10% případů.

Kromě popsaných mechanických vlivů působí zřejmě i další faktory, které se uplatňují při predilekčním postižení chlopní pravého srdce. Významnou roli hrají vlastnosti infekčního agens a imunologické mechanismy. *Staphylococcus aureus* např. u nitrožilních narkomanů vykazuje značnou afinitu k trikuspidální chlopni a naopak enterokoky nemocných se stejnou diagnózou vyvolávají predilekčně postižení chlopní levého srdce.¹³⁹

Mezi vyvolávajícími mikroorganismy jsou podstatné rozdíly zeměpisné a časové. Nejčastěji se vyskytujícím infekčním agens je *Staphylococcus aureus* – (44-66%), zbytek případů vyvolávají streptokoky, enterokoky, gramnegativní tyče, kandidy a další méně obvyklé mikroorganismy. Zdrojem zlatého stafylokoka je kožní a nasofaryngeální nosičství. U narkomanů je vyšší incidence kolonizace kůže a nosohltanu zlatým stafylokokem než jak je tomu u běžné populace a při opakovaném zraňování kůže jsou narkomani vystaveni zvýšenému riziku infekce tímto kolonizujícím kmenem. Pseudomonády a jiné bakterie odolné vůči zevním vlivům mohou kontaminovat drogy, ředidlo nebo náčiní k aplikaci.

Incidence infekční endokarditidy u narkomanů v České republice není známá, v USA podle údajů z roku 2002 dosahovala 2 – 5% za rok, byla důvodem 5 – 20% hospitalizací a příčinou 5 – 10% úmrtí i. v. narkomanů. Nejčastější příčinou smrti bývají opakované plicní

embolizace s karnifikací a fibrotizací plic a de facto zničení plicního parenchymu a/nebo multiorgánové selhání s event. vznikem ARDS. ¹⁴⁰

Mortalita tohoto závažného onemocnění je vysoká a udává se 5 – 17%. Prognóza pacientů s postižením trikuspidální chlopně je považována za relativně příznivější ve srovnání s levostrannou endokarditidou postihující aortální nebo mitrální chlopně. Na těžkém a komplikovaném průběhu a vysoké mortalitě se podílí v mnoha případech i pozdní stanovení diagnózy. Je zřejmé, že na pozdním zahájení kauzální léčby a fatálním konci se podílí obvykle sám pacient, který pozdě vyhledá lékařskou péči nebo nedodrжуje lékařská doporučení. Při pozdním zahájení antibiotické léčby jsou častější těžká plicní postižení a pomalá odpověď na podávaná antibiotika.

Podíl operovaných – chirurgicky léčených pacientů dosahuje v zahraničí až 32% a zdá se, že včasější indikace ke kardiochirurgickému výkonu by mohla do jisté míry zlepšit nepříznivé výsledky. Nejčastější indikací k chirurgické léčbě je u levostranných srdečních forem srdeční selhání, u pravostranných forem endokarditidy nezvládnutelná sepe a recidivující embolizace do plic. ¹⁴¹ Infekční endokarditida postihující pravostranné srdeční oddíly se ve srovnání s levostranným postižením doposud častěji řeší konzervativně.

1.7.1. Kardiochirurgická léčba endokarditidy trikuspidální chlopně

Selhání konzervativní terapie vede k nutnosti kardiochirurgického výkonu. Důvodem může být nezvládnutelná sepe nebo mohutné vegetace na trikuspidální chlopni s opakovanou embolizace do plic a s následným vznikem abscedujících pneumonií.

1.7.1.1. Excize trikuspidální chlopně

Excize postižené, infikované chlopně a její náhrada klasickou biologickou nebo mechanickou protézou v jedné době nebo s odstupem se příliš neosvědčila. Někteří autoři udávají až 100% mortalitu. Hlavní příčinou je vysoké riziko perzistující infekce nebo reinfekce dané přítomností protetického materiálu anebo přetrvávající návyk na drogu (až

50%). Rovněž se udávají i častější komplikace antikoagulační léčby, které jsou dané špatnou spoluprací pacientů.¹⁴²

Výhodou prosté excize trikuspidální chlopně je radikální odstranění infekční tkáně a jednoduché technické provedení. Nevýhodou je vzniklá inkompetence na trikuspidálním ústí, která může být dobře snášena za předpokladu absence plicní hypertenze. Někteří autoři udávají s touto technikou velmi dobré dlouhodobé výsledky.^{142, 143} Z jejich publikace bohužel jednoznačně nevyplývá, zda-li měli pacienti plicní hypertenzi či nikoli.

1.7.1.2. Plastika trikuspidální chlopně

Nejčastěji bývá infekcí postižen přední cíp trikuspidální chlopně, méně často zadní cíp a pouze výjimečně cíp septální. Provedení zachovné operace trikuspidální chlopně, nejčastěji pomocí autologního perikardu, má tyto výhody: kombinace důsledné excize infekční tkáně a vegetací dohromady s plastikou zbývající, nepostižené části chlopně, eliminuje infekci a zároveň zachovává kompetentní trikuspidální ústí. Je zde rovněž, ve srovnání s protetikou náhradou, nižší riziko perzistující infekce nebo reinfekce. To platí zejména v případě, kdy není použit anuloplastický prstenec. Ne vždy je ale plastika z důvodu rozsáhlého postižení technicky možná.^{144, 145}

1.7.1.3. Náhrada trikuspidální chlopně xenograftem nebo mechanickou protézou

Excize trikuspidální chlopně a její náhrada xenograftem nebo mechanickou protézou představuje zvýšené riziko perzistující infekce anebo reinfekce u pacientů – intravenózních narkomanů, u kterých závislost na drogu přetrvává i po kardiochirurgické operaci.^{142, 143} Dále jsou zde obecně platné nevýhody těchto chlopní v trikuspidální pozici.^{185, 186} Nejsou žádné literární údaje, které by prokázaly, že xenografty jsou více odolné k infekci ve srovnání s mechanickými chlopněmi.¹⁴⁶

1.7.1.4. Implantace mitrálního alograftu do trikuspidální pozice

Je známo, že čerstvý i kryoprezervovaný alograft, je více odolný k infekci.¹⁴⁷ Proto u pacientů, u kterých není plastika trikuspidální chlopně technicky proveditelná, představuje

mitrální alograft další možnou léčebnou strategií. Jeho výhodou, ve srovnání s klasickými chlopními náhradami, je vyšší rezistence k infekci. Nevýhodou naopak nedokonale propracovaná technika prezervace, implantace a nejasné střednědobé a dlouhodobé výsledky.

2. Cíle práce

2.1. Způsob zpracování mitrálního alograftu

Prvním cílem našeho experimentu bylo ověřit, zda je možné zpracovávat a kryoprezervovat ovčí mitrální alografty obdobným způsobem, jakým jsou zpracovávány lidské alografty v Tkáňové bance Transplantačního centra FN Motol.^{148, 149}

2.2. Vypracování reprodukovatelného způsobu implantace mitrálního alograftu v trikuspidální pozici

Hlavním cílem experimentu bylo vypracování reprodukovatelné chirurgické metody implantace mitrálního alograftu a jeho subvalvulárního aparátu do trikuspidální pozice včetně způsobu ukotvení papilárních svalů. Tato chirurgická technika by pak mohla být použita v přísně indikovaných případech i v klinické praxi.

2.3. Zhodnocení bezprostřední funkce mitrálního alograftu v trikuspidální pozici

Dalším cílem bylo zhodnotit časnou funkci mitrálního alograftu po odpojení pokusného zvířete z mimotělního oběhu a jeho hemodynamické stabilizaci. Funkce chlopně byla hodnocena pomocí epikardiální echokardiografie a invazivního měření tlaků v pravé síni a v plicnici.

2.4. Příprava na II. fázi pokusů

Tento experiment je přípravou na II. fázi pokusů, která v současnosti již probíhá a jejímž cílem je zjistit střednědobé výsledky mitrálního alograftu v trikuspidální pozici. Jeden rok po implantaci bude funkce alograftu hodnocena pomocí magnetické nukleární rezonance. Po usmrcení zvířete se implantovaná chlopeň explantuje. Součástí tohoto projektu bude i histologické vyšetření alograftu a vyšetření viability.

Rovněž se budou zjišťovat mechanické vlastnosti alograftů, a to po odběru chlopně před kryoprezervací, po rozmražení a nakonec po explantaci.

3. Popis použitých experimentálních metod

3.1. Legislativa

Všechny pokusy provedené v rámci následující studie byly provedeny dle celosvětově přijatých standardů a odborné komise na ochranu zvířat proti týrání v Institutu Klinické a Experimentální Medicíny v Praze a jsou plně v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání. Pro každou studii byl vypracován vlastní projekt pokusu, který byl schválen příslušnou rezortní komisí MZ ČR.¹⁵⁰

3.2. Odběr mitrálního alograftu

V první fázi experimentu bylo odebráno 20 mitrálních homograftů. Dvacet ovcí ve věku 1 roku a hmotnosti 23 – 36 kg bylo operováno v celkové anestézii. Pro přístup k odběru srdce byla zvolena anterolaterální pravostranná torakotomie v 5. mezižebří.

3.2.1. Echokardiografické vyšetření – metodika

U všech ovcí bylo nejprve provedeno epikardiální echokardiografické vyšetření za použití echokardiografického přístroje VIVID 7, (GE Medical Systems se sondou 7S a 5S). Cílem tohoto vyšetření bylo seznámit se s echokardiografickou anatomií ovčího srdce při epikardiálním přístupu a vytvořit reprodukovatelný způsob zobrazení a hodnocení funkce trikuspidální chlopně/mitrálního alograftu v trikuspidální pozici. Bylo proto vytvořeno 5 echokardiografických epikardiálních projekcí:

- 4-dutinová projekce: projekce zachycující současně obě komory i síně. Tuto projekci získáme naložením sondy na inferolaterální stěnu pravé síně v blízkosti ústí horní duté žíly v horizontální rovině (obr. 1).
- Laterální pravostranná komorová projekce: tato projekce zobrazuje trikuspidální a aortální ústí v dlouhé ose. Získáme ji naložením sondy na pravou komoru laterálně, poblíž atrioventrikulární rýhy.

- Mediální pravostranná komorová projekce: tato projekce zobrazuje trikuspidální a mitrální ústí v dlouhé ose. Získáme ji naložením sondy na pravou komoru mediálně, poblíž atrioventrikulární rýhy.
- Krátká osa (vtoková projekce): tato projekce zachycuje trikuspidální a mitrální ústí v krátké ose. Získáme ji naložením sondy na pravou komoru mediálně, poblíž atrioventrikulární rýhy, za současné rotace sondy.
- Pravokomorová vtoková/výtoková projekce: tato projekce zachycuje mitrální chlopeň, výtokový trakt pravé komory a chlopeň plicnice. Získáme ji naložením a rotací sondy na atrioventrikulární rýze pravé komory

3.2.2. Explantace srdce a odběr mitrálního alograftu

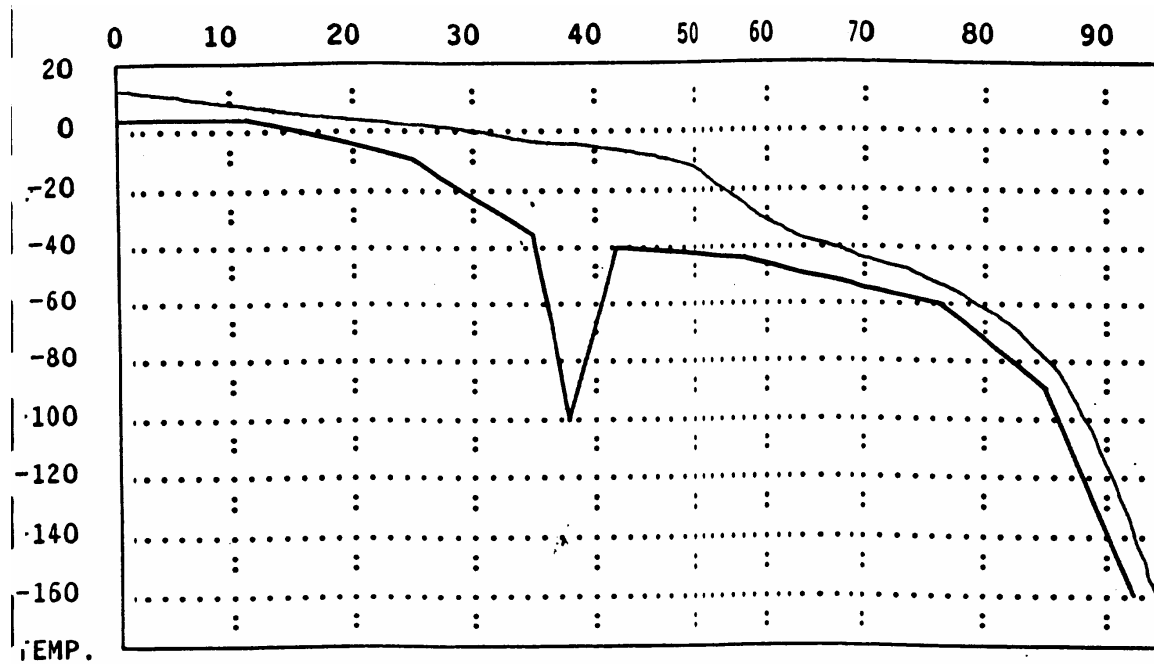
Po ukončení echokardiografického vyšetření bylo zvíře usmrceno intravenózním podáním Thiopentalu (Thiopental, ICN, Czech Republic a.s. - 10mg/kg) a KCl (Kalium Chloratum, Zentiva a.s., Praha - 20ml/kg) a srdce explantováno. Za sterilních podmínek byl odebrán mitrální alograft s okrajem levé síně a levé komory a s celým subvalvulárním aparátem včetně obou papilárních svalů a přilehlého myokardu levé komory (obr. 2, 3, 4). Byla zaznamenána anatomie papilárních svalů a velikost alograftu hodnocena pomocí Hegarových dilatátorů (obr. 5).

3.3. Zpracování a uskladnění mitrálního alograftu

Mitrální alografty byly zpracovány a kryoprezervovány v Tkáňové Bance Transplantačního centra FN Motol, a to obdobným způsobem jako lidské alografty. Odebrané mitrální chlopně byly spolu se svým subvalvulárním aparátem uloženy přímo do kultivačního media E 199 s koktejlem antibiotik - Cefuroxime 0.2 mg/ml, (Zinacef, GlaxoWellcome) + Piperacillin 0.2 mg/ml (Pipril, Lederle) + Amikacin 0.1 mg/ml (Amikin, Bristol-Myers Squibb) + Fluconazol 0.1 (Diflucan, Pfizer). Po 24 hod. uložení při teplotě 37.0°C byly chlopně skladovány při teplotě + 5 - 7 °C po dobu 3–5 dnů. V laminárním boxu byly potom přemístěny superseptickou technikou do kryoprotekčního roztoku (E 199 s 10% dimethylsulfidoxydem) a zataveny do plastických vaků (Gambro Hemofreeze bags NPBI BV DF 1200, The Netherlands) dvouvrstevnou technikou. Nakonec byly programovaně

zmrazeny s řízeným poklesem teploty v rozmezí + 10 až - 60 °C (- 1 °C/min.) – viz. graf. 1 a uloženy do samostatného kontejneru do tekuté fáze tekutého dusíku s teplotou - 196 °C.

Graf 1: Spodní křivka ukazuje průběh teploty v chladicí komoře přístroje během programovaného mražení. Horní křivka potom dokumentuje výslednou teplotu ve tkáni podchlazovaného štěpu během procesu programovaného zamrazování.



3.4. Implantace mitrálního alograftu

Druhá fáze pokusu: s odstupem 1 až 3 měsíců proběhla druhá fáze, kdy byly uskladněné kryoprezervované alografty implantovány 13ti ovčím do trikuspidální pozice. Zvířata byla 1 rok stará, vážící 24 - 38kg.

3.4.1. Příprava mitrálního alograftu

Štěpy byly rozmrazeny opět standardním způsobem, který se používá pro lidské alografty aortální i pulmonální. Alografty byly na experimentální pracoviště dopraveny v kontejneru

(Transportní Dewarova nádoba CP 500, Taylor Wharton HARSCO) v plynné fázi tekutého dusíku s trvale kontrolovanou teplotou (Registrační teploměr D0221, COMET SYSTEM s.r.o. Rožnov pod Radhoštěm) v rozmezí – 160 - 190 °C (obr. 6, 7). Štěpy byly vyjmuty z obalu a během 30 min. rozmrazeny (15 min. ekvilibrace při teplotě operačního sálu a dalších 30 min. ve vodní lázni, teplé 37°C). Sterilně byl otevřen dvouvrstevný vak a štěpy byly položeny na instrumentační stůl. Vyplavení kryoprotektiva (10% dimetylsulfidoxid) bylo provedeno postupným trojnásobným promytím štěpů v ledovém fyziologickém roztoku. Následně byl ještě mitrální alograft definitivně chirurgicky ošetřen tak, aby byl zbaven přebytečné svaloviny přilehající k mitrálnímu anulu i k oběma papilárním svalům (obr. 9). Tak byly štěpy připraveny k implantaci.

3.4.2. Příprava zvířete a anestézie

Ovce byly premedikovány 1 hodinu před výkonem Ketaminem (Narkamon, Spofa a.s. - 10% 5mg/kg), Dexmedetomidinem (Precedex, Abbott Logistics, B.V. - 50µg/kg) a Atropinem 2mg (Atropini sulfas monohydricus, Atropin, Hoechst-Biotika, Slovak Republic). Následně bylo zvíře převezeno na operační sál, uvedeno do celkové anestézie a intubováno. Celková anestézie byla navozena kontinuálním intravenózním podáváním Sufentanilu (Sufenta, Janssen Pharmaceutica N.V.) a Propofolu (Diprivan, Fresenius KABI, Austria GMBH). Kontinuální měření krevního a centrálního žilního tlaku bylo zajištěno kanylací femorální tepny a vnitřní jugulární žíly. Zvíře bylo položeno na levý bok a pravý hemithorax byl zbaven ochlupení (obr. 8).

3.4.3. Technické provedení implantace mitrálního alograftu

Operačním přístupem byla pravostranná anterolaterální torakotomie v 5. mezižebří. Po otevření perikardu byly pravostranné srdeční oddíly dobře přístupné. Nejprve jsme invazivně změřili tlaky v a. pulmonalis a v pravé síni a naměřené hodnoty zaznamenali včetně středních tlaků. Pak bylo zvíře heparinizováno podáním Heparinu v dávce 2mg/kg (Zentiva, Česká republika) a zavedeny kanyly mimotělního oběhu – selektivní kanylace obou dutých žil pro žilní drenáž a ascendentní aorty pro perfúzi (obr. 10). Po zahájení mimotělního oběhu (oxygenator Jostra, typ Quadrox, Maquet Cardiopulmonary AG, NSR) byla na ascendentní

aortu naložena příčná svorka a srdce bylo zastaveno antegrádním podáním krystaloidní kardioplegie do kořene aorty (St.Thomas, Infusia a. s., Česká republika).

Princip i názorné schéma implantace mitrálního alograftu do trikuspidální pozice ukazuje obr. 11. Přístupem k trikuspidální chlopni byla pravostranná atriotomie. Nativní trikuspidální chlopeň byla odstraněna včetně šlašinek, které byly odstřiženy od hlaviček papilárních svalů (obr. 12). Ponechána byla pouze baze septálního cípu, aby se usnadnila následná implantace alograftu a snížilo se riziko poranění převodního systému srdečního.

Oba papilární svaly mitrálního alograftu byly upraveny a zkráceny. Do každého papilárního svalu byly naloženy 1 až 2 matracové polypropylenové stehy s teflonovou podložkou (Johnson & Johnson, Ethicon, New Brunswick, NJ, USA) a po správné anatomické rotaci alograftu byly tyto svaly transventrikulárně ukotveny do volné stěny pravé komory. Epikardiálně byl steh zauzlen přes další teflonovou podložku, aby nedošlo k jeho prořezání. Následně byl mitrální anulus fixován do trikuspidálního ústí pomocí pokračovacího polypropylenového stehu (obr. 13, 14, 15, 16).

Po uvolnění příčné svorky jsme pravou síň uzavřeli pokračovacím stehem na bijícím srdci. Event. komorová fibrilace byla vertována na sinusový rytmus přímou defibrilací. Následně jsme ukončili mimotělní oběh a odstranili kanyly mimotělního oběhu. V případě hemodynamické nestability byla použita inotropní podpora v kombinaci Dobutamin a Noradrenalin. Účinek Heparinu byl zrušen podáním Protaminu (ICN, Switzerland AG, Biersfelden, Švýcarsko).

3.4.3.1. Orientace mitrálního alograftu v trikuspidálním anulu

Mitrální alograft je orientován v trikuspidálním anulu tzv. anatomicky. Přední cíp mitrální chlopně naléhá na bazi septálního cípu trikuspidální chlopně. Zadní cíp mitrální chlopně je orientován směrem k volné stěně pravé komory (obr. 11)

3.5. Hodnocení funkce mitrálního alograftu

Po hemodynamické stabilizaci jsem hodnotili bezprostřední, časnou funkci mitrálního alograftu v trikuspidální pozici.

3.5.1. Hodnocení funkce mitrálního alograftu podle simultánního měření tlaků

Funkci mitrálního alograftu jsme hodnotili pomocí invazivního kontinuálního měření tlaků v arteria pulmonalis a v pravé síni. Dále jsme při měření tlaků v pravé síni sledovali přítomnost vlny V. Naměřené tlaky jsme zaznamenali včetně středních hodnot. Získané hodnoty jsem statisticky zpracovali pomocí Studentova t-testu.

3.5.2. Hodnocení funkce mitrálního alograftu epikardiální echokardiografií

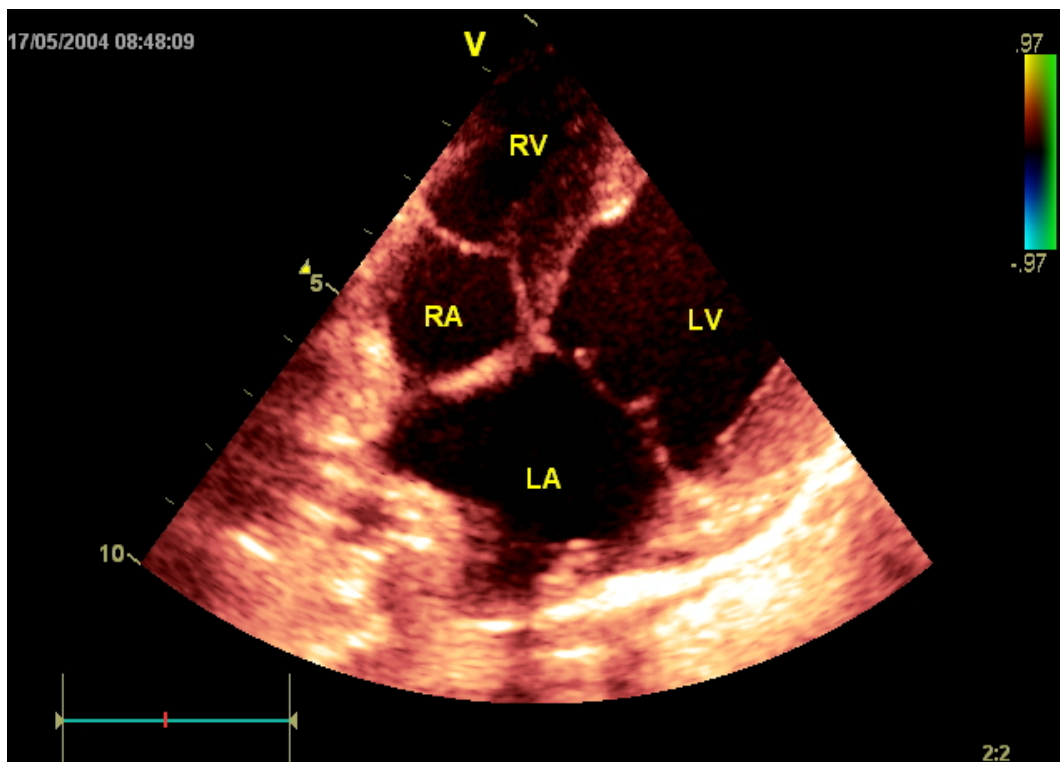
Dále byla funkce a morfologie mitrálního alograftu v trikuspidální pozici hodnocena pomocí epikardiální echokardiografie VIVID 7 (GE Medical Systems se sondou 7S a 5S). Obdobně jako při první fázi pokusů bylo zobrazeno 5 následujících projekcí – viz. kapitola 3.2.1. s cílem zobrazit co nejlépe mitrální alograft včetně jeho subvalvulárního aparátu (obr. 17). Průměr trikuspidálního anulu byl hodnocen během diastoly komor. Pohyb cípů mitrálního alograftu byl analyzován v 2D modu během celého srdečního cyklu. Průtok přes mitrální alograft byl hodnocen Dopplerovskou barevnou echokardiografií.

3.6. Explantace srdce a morfologické vyšetření mitrálního alograftu

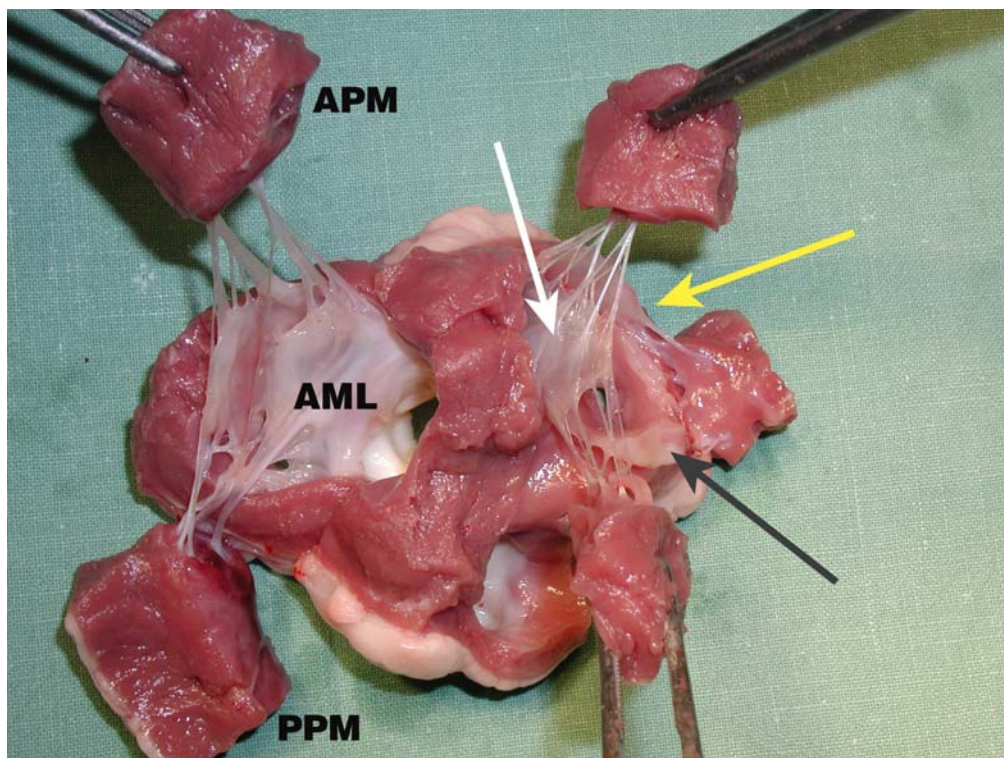
Bezprostředně po ukončení hemodynamické studie a epikardiálním echokardiografickým vyšetřením byla pokusná zvířata usmrcena intravenózním podáním Thiopentalu (Thiopental, ICN, Czech Republic a.s. - 10mg/kg) a KCl (Kalium Chloratum, Zentiva a.s., Praha - 20ml/kg). Srdce bylo explantováno a pravostranné srdeční oddíly otevřeny následujícím způsobem: pravá síň byla v místě atriotomie široce otevřena tak, aby bylo trikuspidální ústí s mitrálním alograftem dobře přístupné a přehledné. Srdeční hrot byl oddělen a pravá komora byla otevřena na ventrální straně směrem k trikuspidálnímu anulu mezi oběma implantovanými papilárními svaly tak, aby bylo dobře přehledné místo jejich inzerce.

3.7. Provedení trhací zkoušky

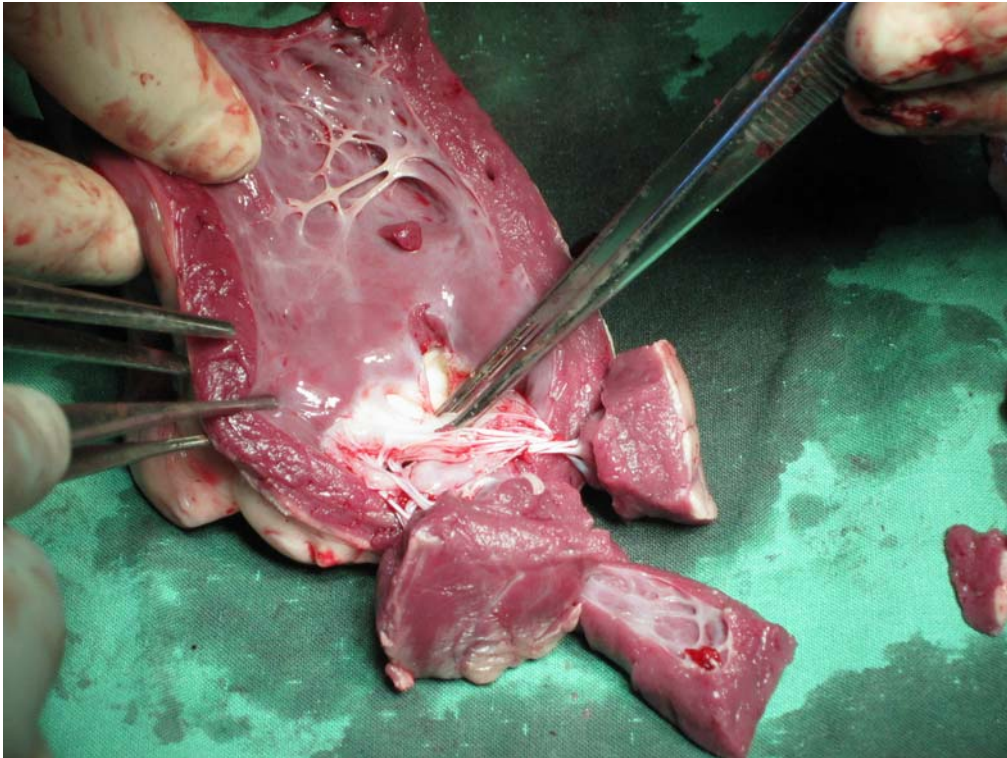
Mechanické vlastnosti mitrálního alograftu (cípy, šlašinky, papilární svaly) včetně pevnosti a pružnosti byly stanoveny pomocí tzv. trhací zkoušky, kterou kardiochirurg ověřil pevnost štěpu před implantací. V každém operačním sezení byl použit a rozmražen jeden náhodně vybraný štěp. Pevnost obou cípů byla ověřena založením monofilního polypropylenového stehu (Johnson & Johnson, Ethicon, New Brunswick, NJ, USA) vždy do středu cípu. Operatér potom hodnotil sílu, kterou musel vyvinout k vytržení stehu z tkáně. Obdobně byla ověřována pevnost anulu štěpu. Byl založen stejný monofilní steh, jaký se používal k vlastní implantaci anulu mitrálního alograftu do trikuspidálního ústí a opět byla hodnocena síla, nutná k jeho vytržení z tkáně štěpu.



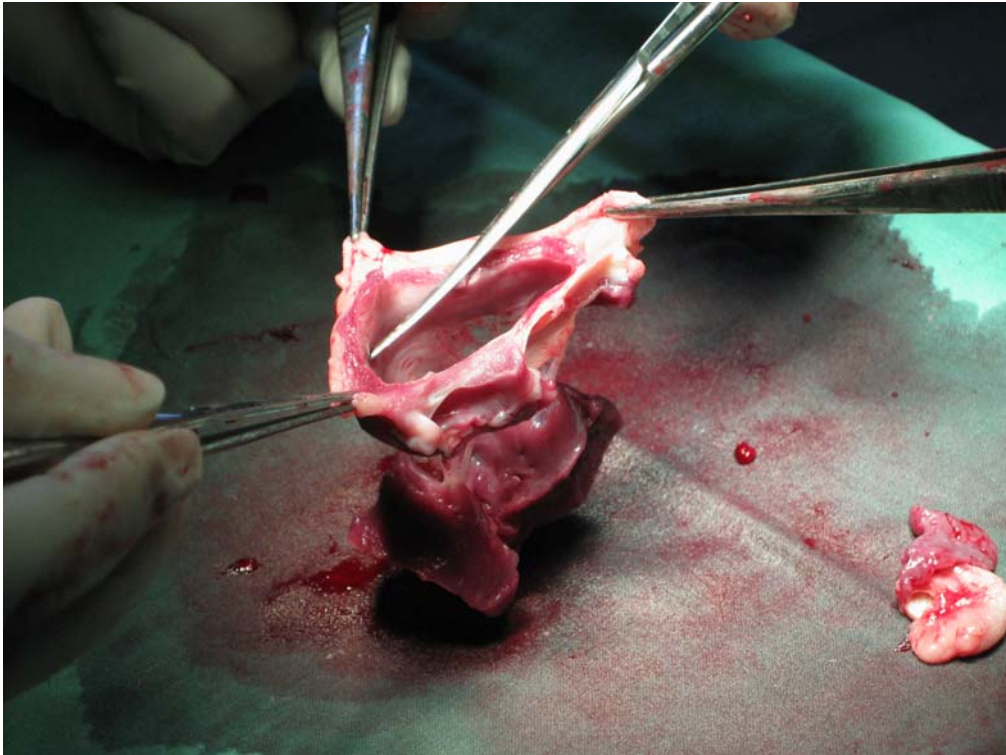
Obr. 1: Echokardiografické vyšetření srdce před odběrem mitrálního alograftu – čtyřdutinová projekce. RV: pravá komora, RA: pravá síň, LV: levá komora, LA: levá síň.



Obr. 2: Srdeční skelet a obě atrioventrikulární chlopně s papilárními svaly. APM: přední papilární sval, PPP: zadní papilární sval, AML: přední cíp mitrální chlopně. Bílá šipka ukazuje septální cíp trikuspidální chlopně, žlutá šipka přední cíp a černá šipka zadní cíp trikuspidální chlopně.



Obr. 3: Preparace mitrálního alograftu I. - explantace mitrální chlopně včetně závěsného aparátu a obou papilárních svalů. Z pohledu z rozstřížené levé komory jsou vidět oba vystřížené papilární svaly včetně přilehajícího myokardu levé komory.



Obr. 4: Preparace mitrálního alograftu II. - explantovaná mitrální chlopeň s oběma papilárními svaly. Před definitivním zpracováním a kryoprezervací je vhodné odstranit přebytečnou svalovinu přiléhající levé síně, levé komory a také část levého koronárního a nekoronárního cípu aortální chlopně.



Obr. 5: Preparace mitrálního alograftu III. - měření velikosti mitrálního alograftu pomocí Hegarových dilatátorů.



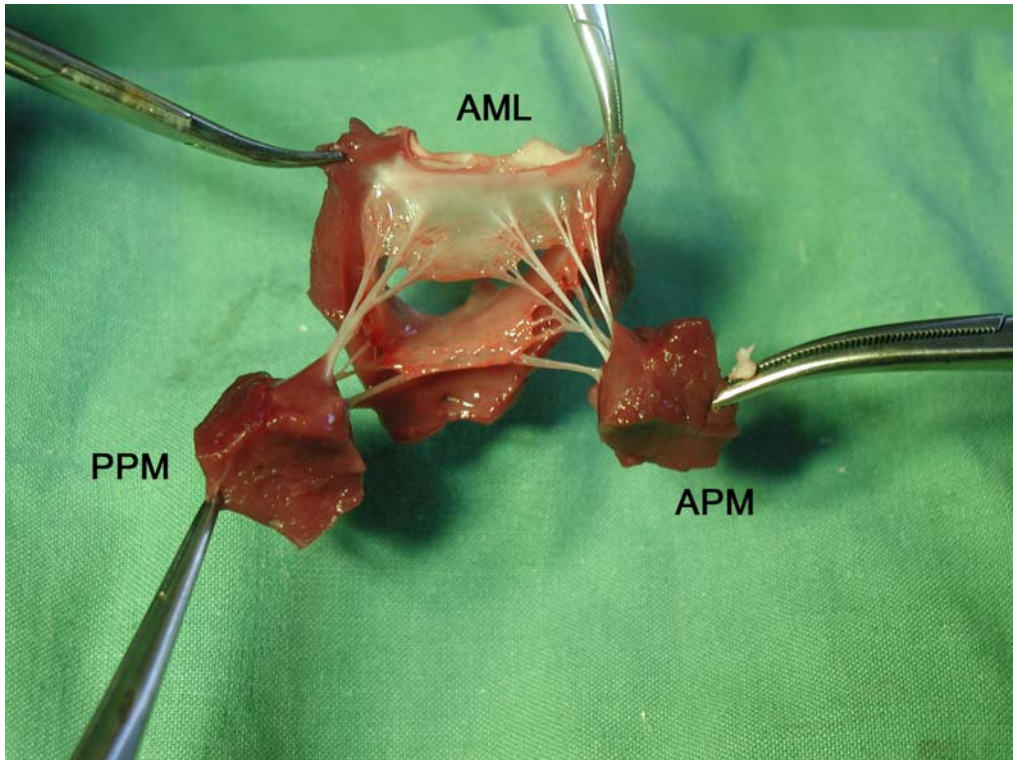
Obr. 6: Transportní kontejner (Transportní Dewarova nádoba CP 500, Tailor Wharton HARSCO) s možností měření teploty.



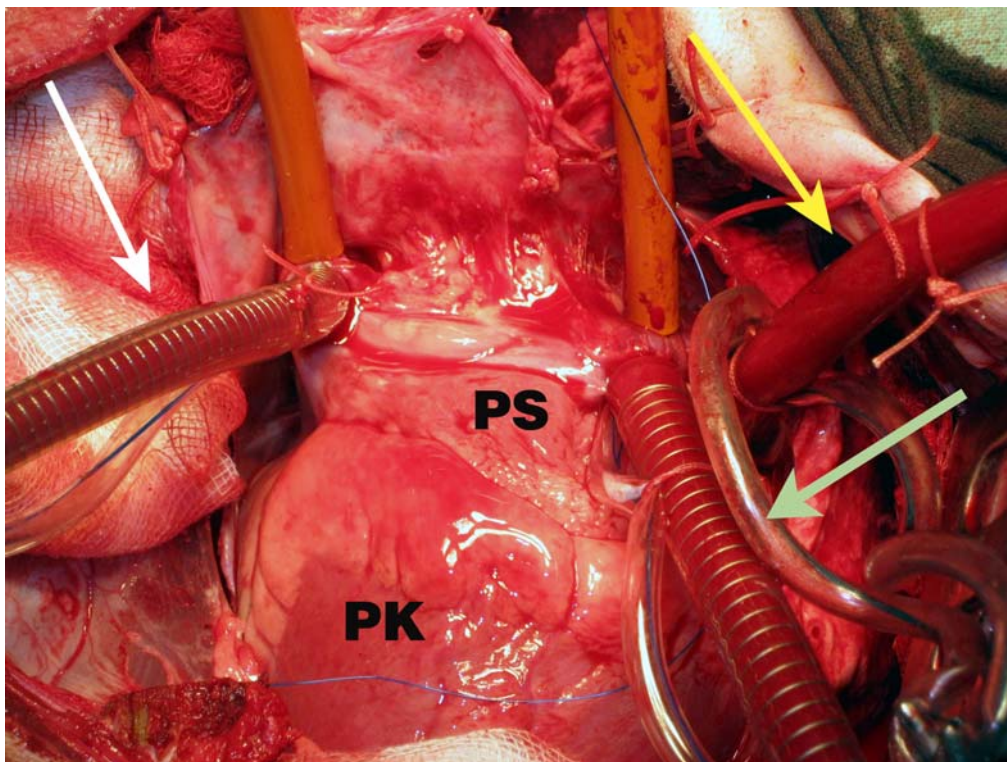
Obr. 7: Detail víka transportního kontejneru a registračního teploměru (COMET SYSTEM s.r.o.). Je vidět, že teplota uvnitř kontejneru je aktuálně -170°C .



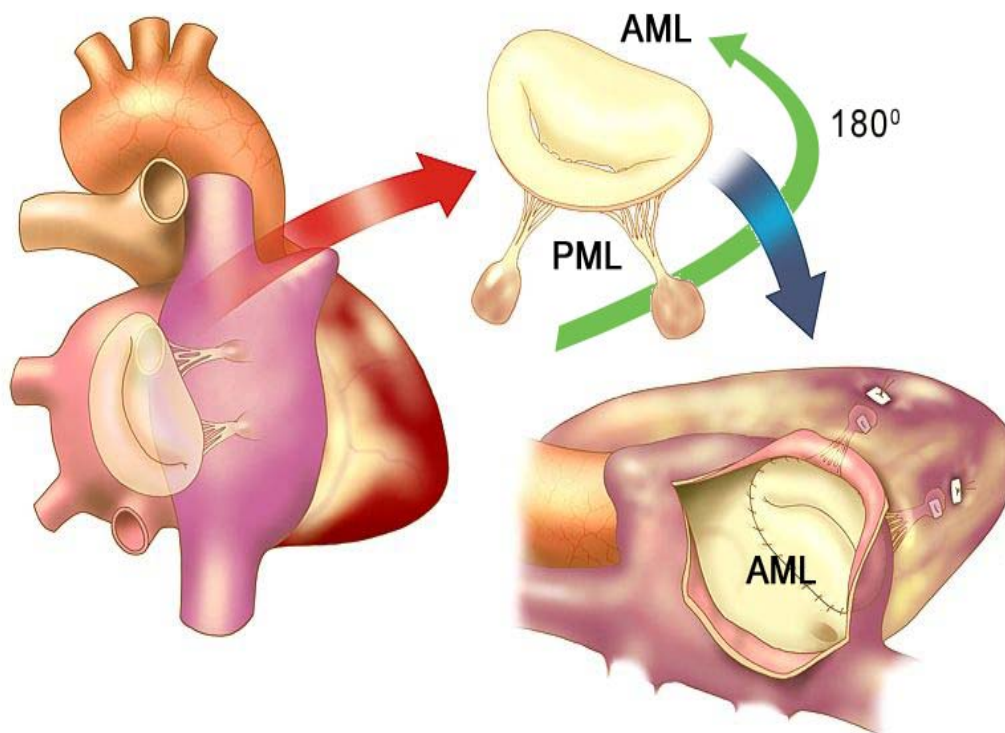
Obr. 8: Příprava zvířete a operačního pole k operaci. Hrudník je zbaven srsti, natřen desinfekční látkou a jsou na něj připevněny EKG elektrody. Ovce je intubovaná, do levé v. jugularis interna je zaveden třícestný centrální žilní katetr k měření centrálního žilního tlaku. Arteriální tlak je invazivně měřen kanylou v levé arteria femoralis. V močovém měchýři je zavedena močová cévka.



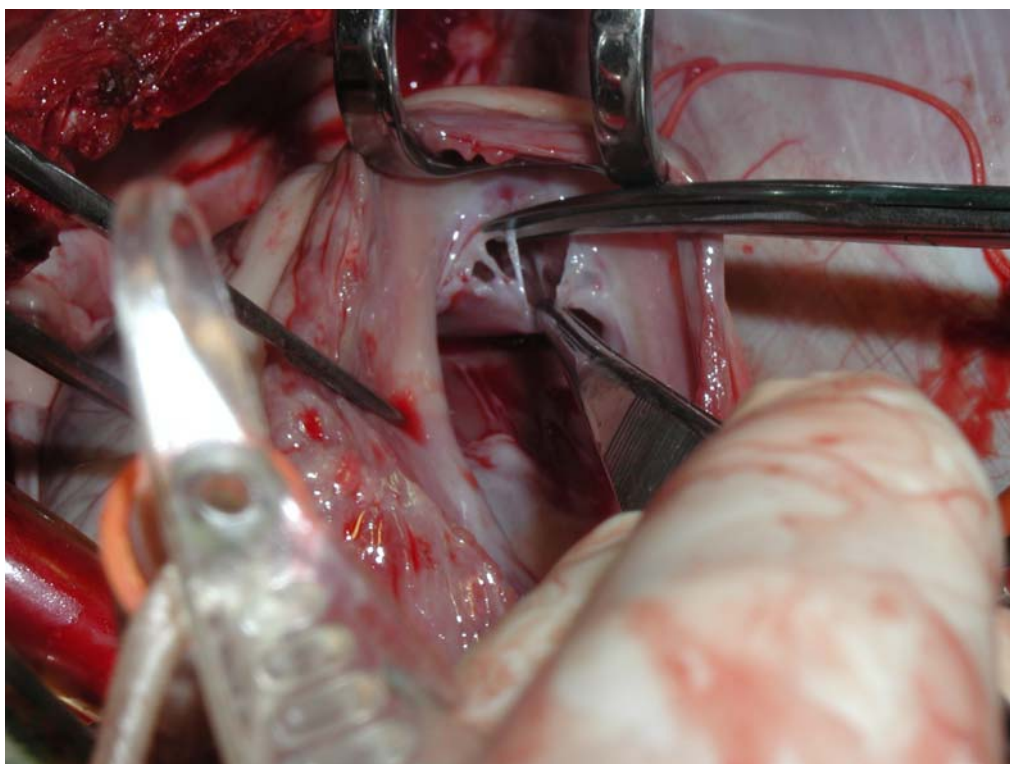
Obr. 9: Preparace mitrálního alograftu IV. - definitivně upravený mitrální alograft připravený k implantaci. AML: přední cíp mitrální chlopně, PPM: zadní papilární sval, APM: přední papilární sval.



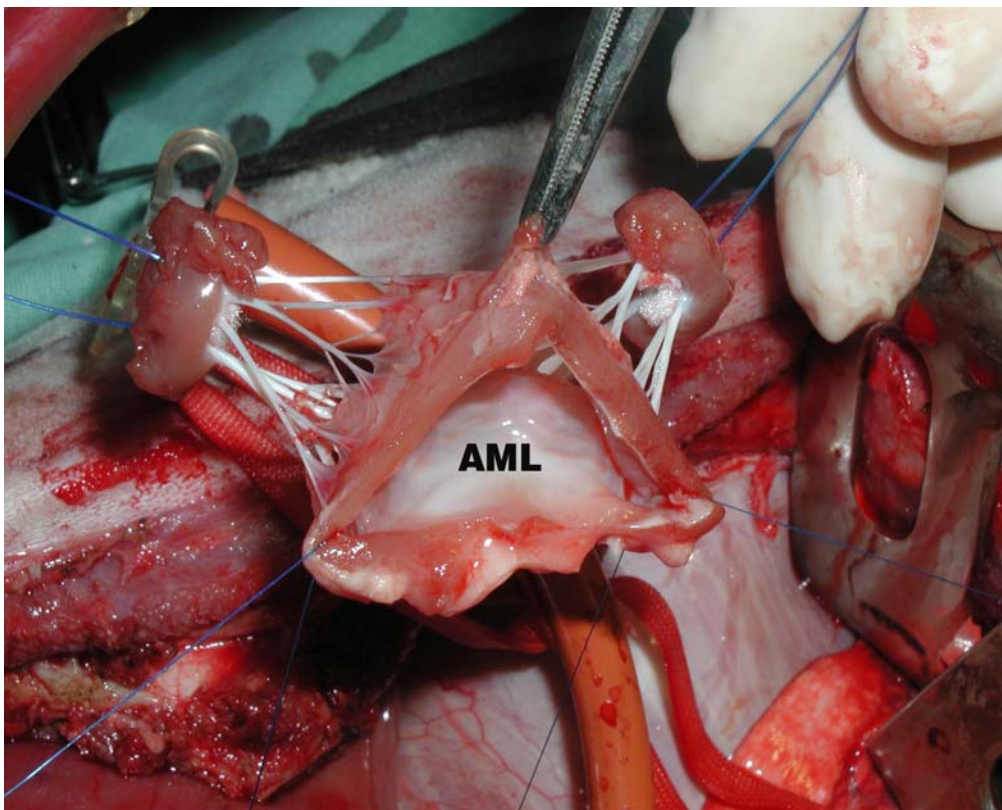
Obr. 10: Implantace MA do trikuspidální polohy – operační postup I. - Kanyly mimotělního oběhu. Selektivní kanylací dutých žil ukazují žlutá šipka (v. cava superior) a bílá šipka (v. cava inferior). Zelená šipka ukazuje na arteriální kanylu zavedenou do ascendentní aorty. PK: pravá komora, PS: pravá síň.



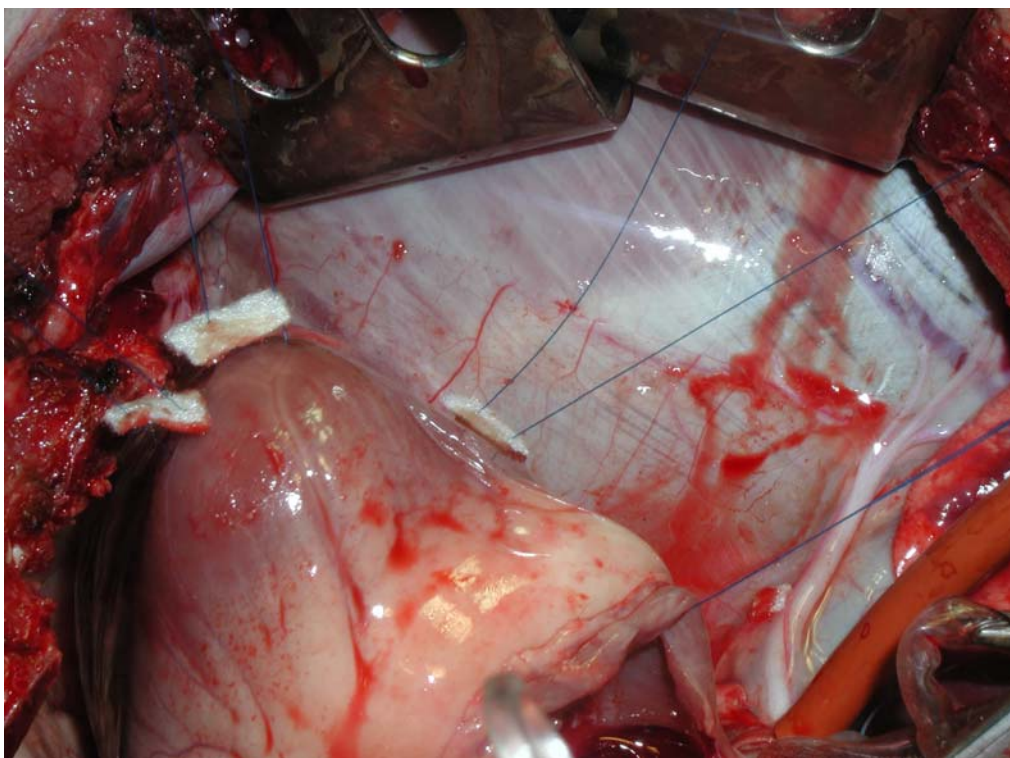
Obr. 11: Princip a schéma implantace mitrálního alograftu do trikuspidální pozice. Po explantaci je alograft rotován o 180 stupňů a tzv. anatomicky je implantován do trikuspidálního anulu. Přední cíp mitrální chlopně tak naléhá na původní septální cíp trikuspidální chlopně. AML: přední cíp mitrální chlopně, PML: zadní cíp mitrální chlopně. (MUDr. Pavel Žáček, Kardiochirurgická klinika FN Hradec Králové)



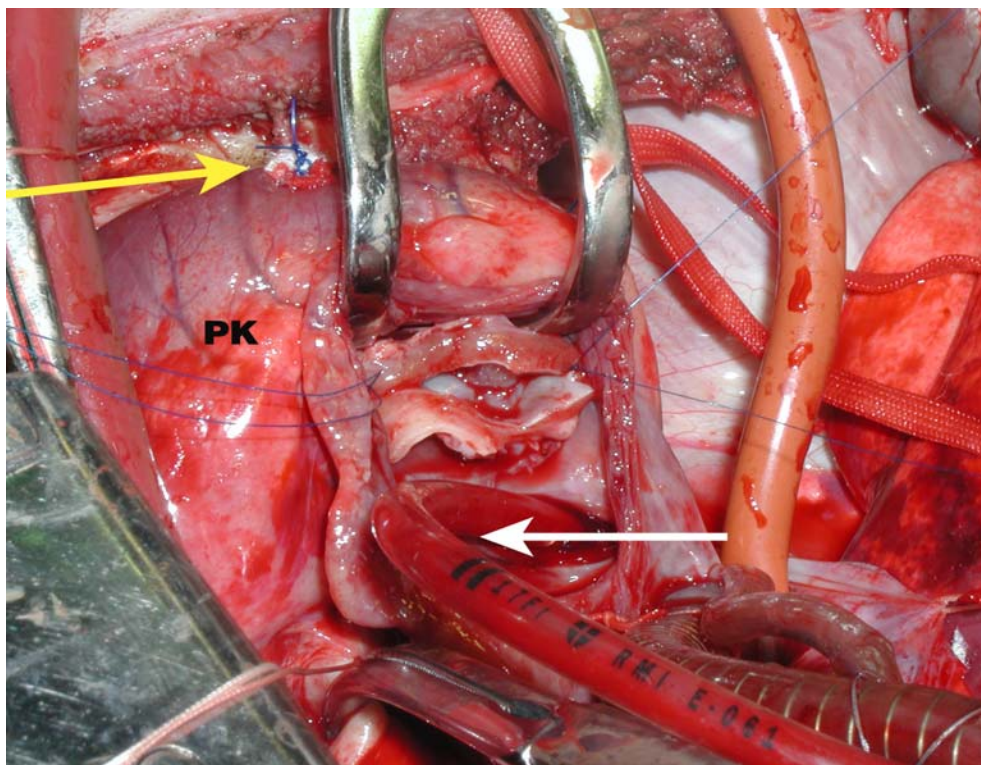
Obr. 12: Implantace MA do trikuspidální polohy – operační postup II. - Excize trikuspidální chlopně včetně šlašinek. Ponechána je pouze база septálního cípu z důvodu snížení rizika poranění převodního systému srdce během implantace alograftu.



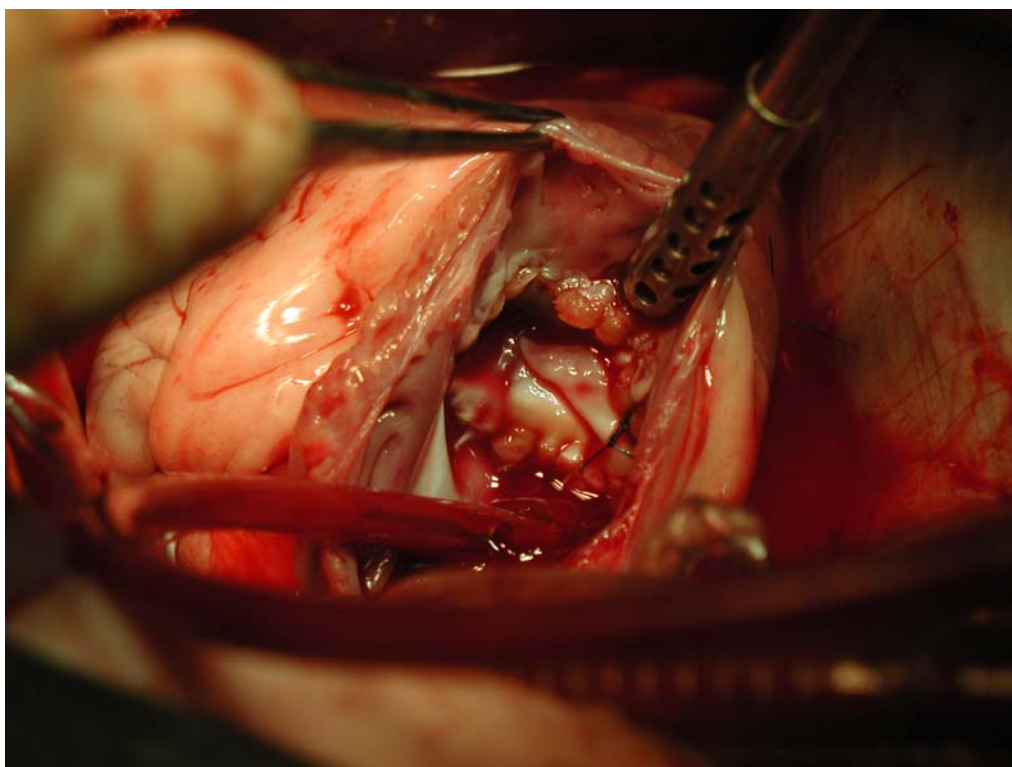
Obr. 13: Implantace MA do trikuspidální polohy – operační postup III. - Příprava mitrálního alograftu k implantaci do trikuspidální pozice. V komisurách alograftu jsou připravené stehy. V obou papilárních svalech je již matracový steh s dakronovou podložkou. AML: přední cíp mitrální chlopně.



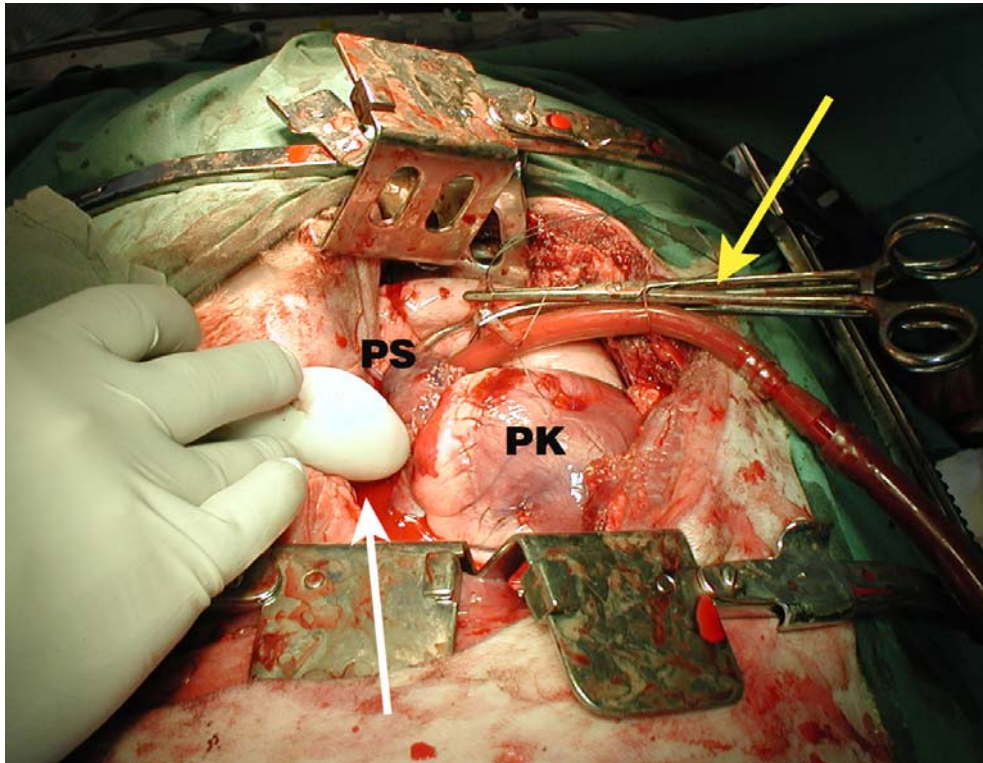
Obr. 14: Implantace MA do trikuspidální polohy – operační postup IV. - Ukotvení papilárních svalů. Papilární svaly jsou transventrikulárně fixovány do volné stěny pravé komory pomocí matracových stehů s teflonovou podložkou.



Obr. 15: Implantace MA do trikuspidální polohy – operační postup V. - Implantace mitrálního alograftu. Po ukotvení papilárních svalů (žlutá šipka) se pokračujícím stehem fixuje alograft do trikuspidálního anulu. Bílá šipka označuje vent zavedený do koronárního sinu. PK: pravá komora.



Obr. 16: Implantace MA do trikuspidální polohy – operační postup VI. - Dokončená implantace mitrálního alograftu – pohled z otevřené pravé síně.



Obr. 17: Epikardiální echokardiografické vyšetření srdce po ukončení mimotělního oběhu. Bílá šipka ukazuje na echokardiografickou sondu, která je přiložena na oblast atrioventrikulární rýhy. Žlutá šipka ukazuje na arteriální kanylu zavedenou do ascendentní aorty. PS: pravá síň, PK: pravá komora.

4. Výsledky

4.1. Výsledky odběru a zpracování mitrálního alograftu

U všech dvaceti laboratorních zvířat se po usmrcení zvířete a explantaci srdce podařilo odebrat kvalitní mitrální alograft. Papilární svaly byly u všech ovcí dobře vytvořené. Dle klasifikace papilárních svalů byly papilární svaly mitrální chlopně u všech zvířat I. II. anebo III. typu, což usnadnilo následnou implantaci závěsného aparátu alograftu do stěny pravé komory.¹⁵¹ Papilární svaly IV. typu, kdy je sval vytvořen z mnohočetných hlaviček, které odstupují na různé úrovni přímo ze stěny levé komory, se v našem souboru neobjevily.

Kryoprezervace i uskladnění mitrálních alograftů bylo provedeno obdobným způsobem, jakým zpracováváme lidské aortální a pulmonální alografty. Po rozmražení, těsně před vlastní implantací, byly všechny mitrální alografty kvalitní, dostatečně pevné a bez porušeného subvalvulárního aparátu.

4.2. Výsledky vlastní implantace

Implantace mitrálního alograftu do trikuspidální pozice proběhla u všech 13 ovcí bez technických obtíží. Průměrná doba mimotělního oběhu byla 58 minut (42 – 88), doba trvání kardioplegické srdeční zástavy byla 36 minut (28 – 45). Mímotělní oběh byl ukončen u všech zvířat pouze s mírnou inotropní podporou. U 11 ovcí akce srdeční nastoupila spontánně, u dvou ovcí byla nutná defibrilace. U všech se obnovil pravidelný sinusový rytmus. Srdeční stimulace nebyla nutná.

4.3. Výsledky hemodynamické studie

Hemodynamické invazivní měření tlaků v pravé síni a v plicnici před začátkem mimotělního oběhu bylo: průměrný systolický, diastolický a střední tlak v pravé síni byl $10 \pm 1,5$; $2 \pm 1,6$; $5 \pm 1,5$. Průměrný systolický, diastolický a střední tlak v plicnici byl $25 \pm 4,4$; $12 \pm 2,1$; $17 \pm 2,8$.

Po ukončení mimotělního oběhu byly tlaky v pravé síni a v plicnici tyto: průměrný systolický, diastolický a střední tlak v pravé síni byl $15 \pm 1,6$; $6 \pm 1,9$; $10 \pm 1,3$. Průměrný systolický, diastolický a střední tlak v plicnici byl $29 \pm 2,7$; $15 \pm 2,7$; $21 \pm 2,4$. – viz. tabulka 1, 2. Na tlakové křivce zaznamenaného tlaku z pravé síně nebyla ani u jednoho zvířete po ukončení mimotělního oběhu přítomna významná vlna V, která by svědčila pro regurgitaci mitrálního alograftu.

Rozdíly v systolických i diastolických tlacích v pravé síni před a po ukončení mimotělního oběhu byly statisticky významné (pro systolické tlaky je $p < 10^{-6}$, pro diastolické tlaky je $p < 0,0001$). Rozdíly v systolických tlacích v plicnici před a po ukončení mimotělního oběhu byly na hranici statistické významnosti ($p = 0,01$), rozdíly v diastolických tlacích v plicnici byly statisticky významné ($p < 0,0001$).

Tabulka 1: Hodnoty centrálního žilního tlaku invazivně měřeného v pravé síni před začátkem a po ukončení mimotělního oběhu. Uváděn je systolický, diastolický a střední tlak v milimetrech Hg včetně směrodatných odchylek (SD). MO – mimotělní oběh, syst. – systolický, diast. – diastolický.

		Hodnoty tlaků v pravé síni – syst/diast (střední)	
		Před MO	Po MO
Ovce 1		11/5 (6)	15/2 (9)
Ovce 2		10/2 (5)	17/8 (12)
Ovce 3		8/0 (2)	15/6 (12)
Ovce 4		10/2 (4)	14/5 (9)
Ovce 5		12/3 (6)	12/6 (8)
Ovce 6		9/0 (3)	16/6 (10)
Ovce 7		11/4 (6)	17/8 (11)
Ovce 8		9/2 (4)	15/5 (11)
Ovce 9		13/4 (5)	13/2 (8)
Ovce 10		12/2 (4)	16/5 (10)
Ovce 11		8/0 (3)	13/6 (9)
Ovce 12		11/4 (6)	17/8 (11)
Ovce 13		12/4 (6)	16/7 (10)
Průměrná hodnota ± SD	systolický tlak	$10 \pm 1,5$	$15 \pm 1,6$
	diastolický tlak	$2 \pm 1,6$	$6 \pm 1,9$
	střední tlak	$5 \pm 1,5$	$10 \pm 1,3$

Tabulka 2: Hodnoty tlaků v plicnici (v milimetrech Hg) před začátkem a po ukončení mimotělního oběhu. Uváděn je systolický, diastolický a střední tlak v milimetrech Hg včetně směrodatné odchylky (SD).

		Hodnoty tlaků v arteria pulmonalis – systolický/diastolický (střední)	
		před mimotělním oběhem	po mimotělním oběhu
Ovce 1		28/14 (22)	28/13 (19)
Ovce 2		26/13 (19)	30/18 (23)
Ovce 3		19/12 (15)	26/19 (22)
Ovce 4		26/12 (18)	23/13 (17)
Ovce 5		27/15 (22)	30/20 (25)
Ovce 6		22/10 (15)	30/18 (24)
Ovce 7		28/14 (20)	34/18 (25)
Ovce 8		25/10 (16)	30/12 (21)
Ovce 9		20/8 (13)	27/14 (19)
Ovce 10		24/12 (17)	30/14 (22)
Ovce 11		19/8 (13)	25/13 (18)
Ovce 12		25/12 (18)	29/15 (21)
Ovce 13		23/10 (15)	29/13 (22)
Průměrná hodnota ± SD	systolický tlak	25 ± 4,4	29 ± 2,7
	diastolický tlak	12 ± 2,1	15 ± 2,7
	střední tlak	17 ± 2,8	21 ± 2,4

4.4. Výsledky epikardiálního echokardiografického vyšetření

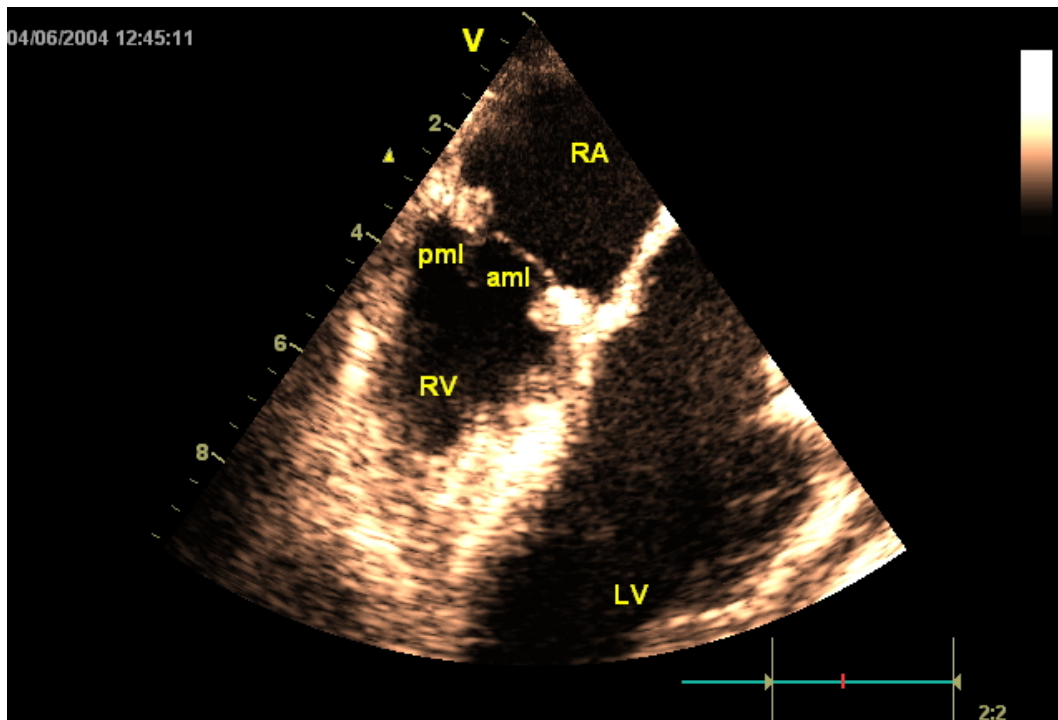
Následně po ukončení hemodynamického vyšetření jsme provedli epikardiální echokardiografické vyšetření. Všechny 13 mitrálních alograftů mělo uspokojivou funkci (obr. 18, 19). U 8 zvířat byla zjištěna zcela normální funkce bez známek stenózy nebo regurgitace. Ve třech případech jsme detekovali pouze stopovou regurgitaci a u dvou homograftů mírnou regurgitaci. Příčina této mírné regurgitace I. stupně byla u jednoho zvířete restrikce zadního cípu mitrálního alograftu a u druhého pravděpodobně disproporce mezi velikostí implantovaného alograftu a trikuspidálního anulu, tj. příliš malý alograft implantovaný do velkého trikuspidálního anulu.

4.5. Výsledky morfologického vyšetření mitrálního alograftu po explantaci srdce

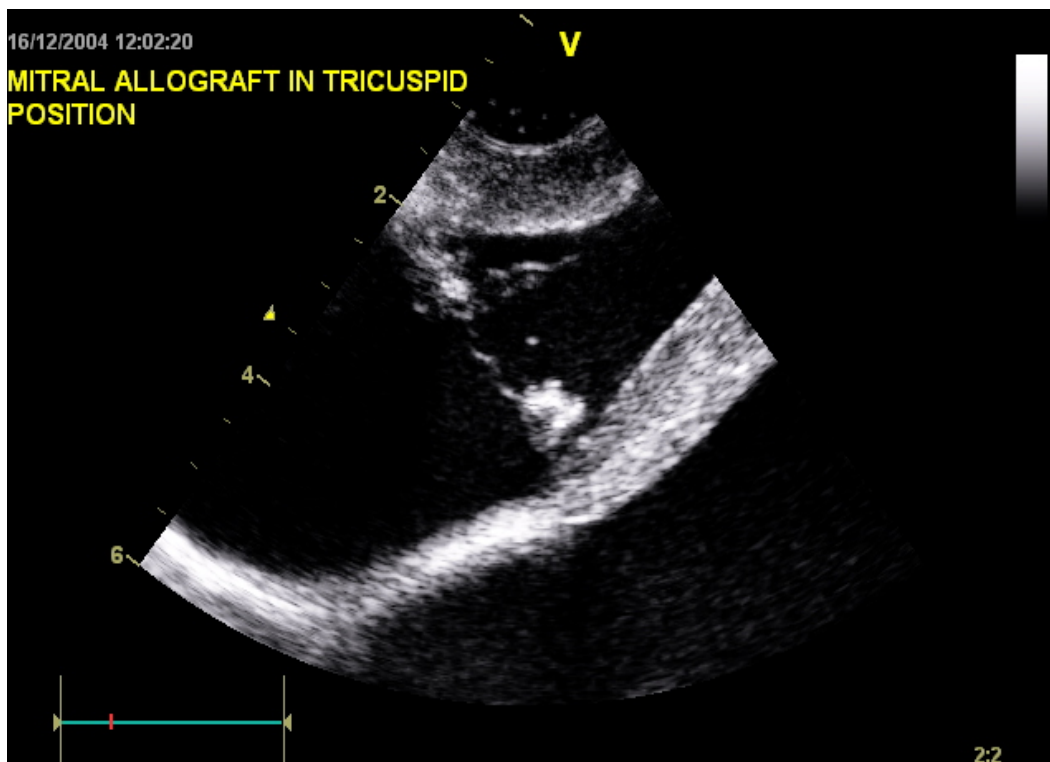
Po ukončení echokardiografického vyšetření bylo zvířete usmrceno a srdce explantováno. Přední i zadní cíp všech 13ti mitrálních alograftů byl bez signifikantního, morfologicky prokazatelného prolapsu nebo restrikce (obr. 20, 21, 22, 23). Jedenkrát jsme zjistili technickou chybu - špatnou orientaci, tj. přetočení jednoho papilárního svalu kolem své osy o 360° (obr. 24). Na bezprostřední funkci alograftu, hodnocenou echokardiograficky, neměla tato technická chyba vliv. U ostatních alograftů byly oba papilární svaly dobře orientované a výše popsanou technikou pevně ukotvené do volné stěny pravé komory. Papilární svaly mitrálního alograftu byly u většiny ovcí implantovány poblíž nativních papilárních svalů. Zejména mediální (přední) papilární sval ovčího srdce byl u všech zvířat dobře vytvořen.

4.6. Výsledky trhací zkoušky

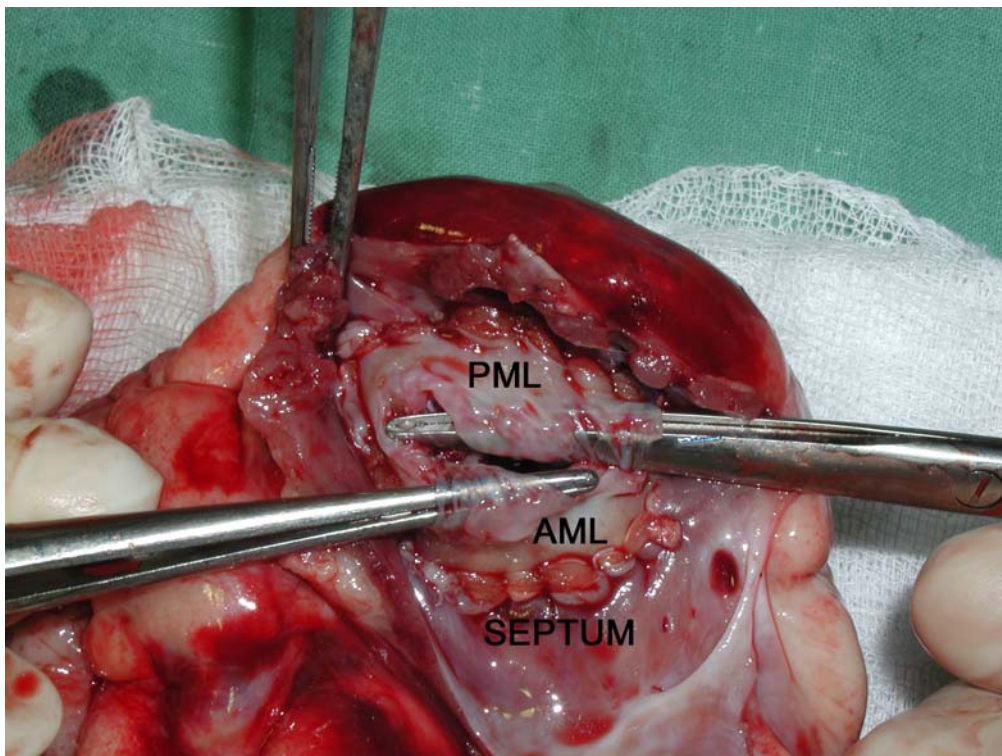
Jednoduchá trhací zkouška, kterou provedl zkušený kardiochirurg ukázala, že anulus, cípy, závěsný aparát i papilární svaly kryoprezervovaného mitrálního alotransplantátu mají orientačně dostatečnou pevnost pro implantaci.



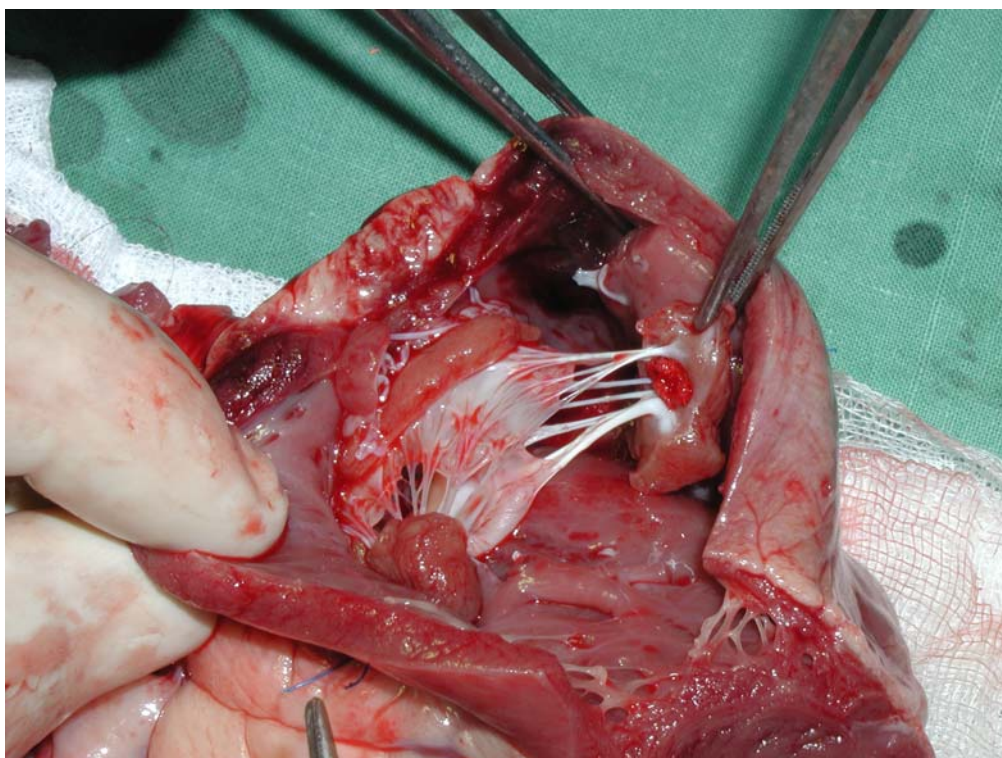
Obr. 18: Epikardiální echokardiografické vyšetření – čtyřduťové. V trikuspidálním anulu je vidět implantovaný mitrální alograft. Cípy chlopně jsou bez prolapsu nebo restrikce. RA: pravá síň, RV: pravá komora, LV: levá komora, pml: zadní cíp mitrální chlopně, aml: přední cíp mitrální chlopně.



Obr. 19: Epikardiální echokardiografické vyšetření: Na snímku jsou vidět pravostranné srdeční oddíly, tj. pravá síň a pravá komora. Je patrný implantovaný mitrální alograft do trikuspidální pozice. Ani v této projekci nejsou známky prolapsu nebo restriktivního pohybu obou cípů.



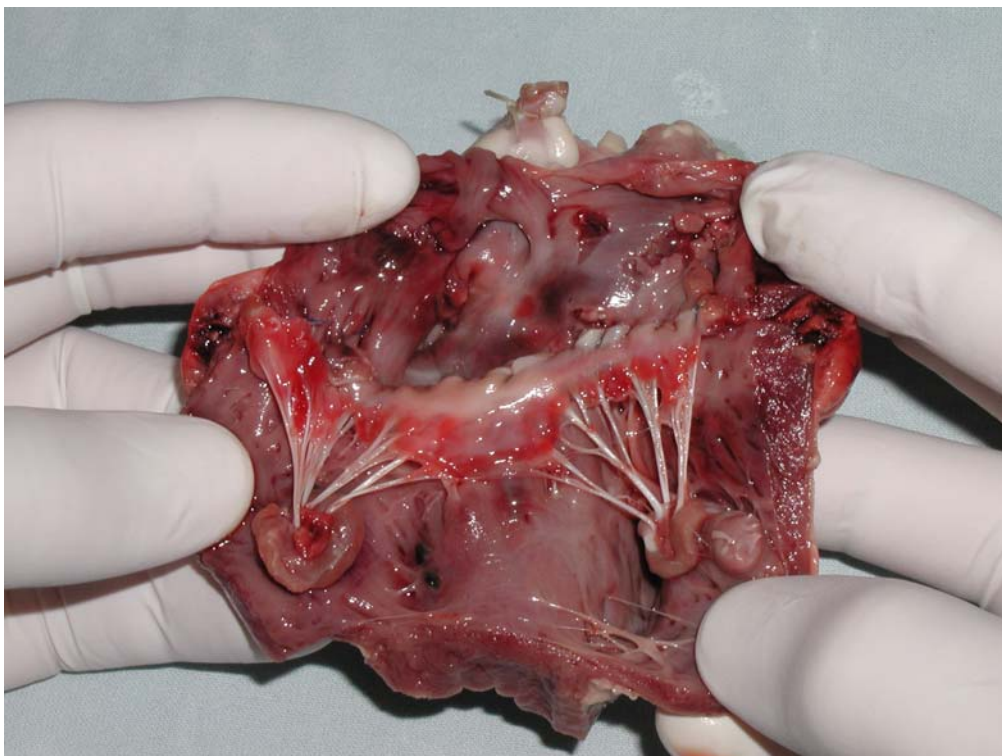
Obr. 20: Pohled na implantovanou chlopně z pravé síně po explantaci srdce. Pod oba cípy chlopně jsou zasunuty pinzety demonstrující dobrou pohyblivost cípů, které jsou opět bez známek prolapsu nebo restrikce. PML: zadní cíp mitrální chlopně, AML: přední cíp mitrální chlopně.



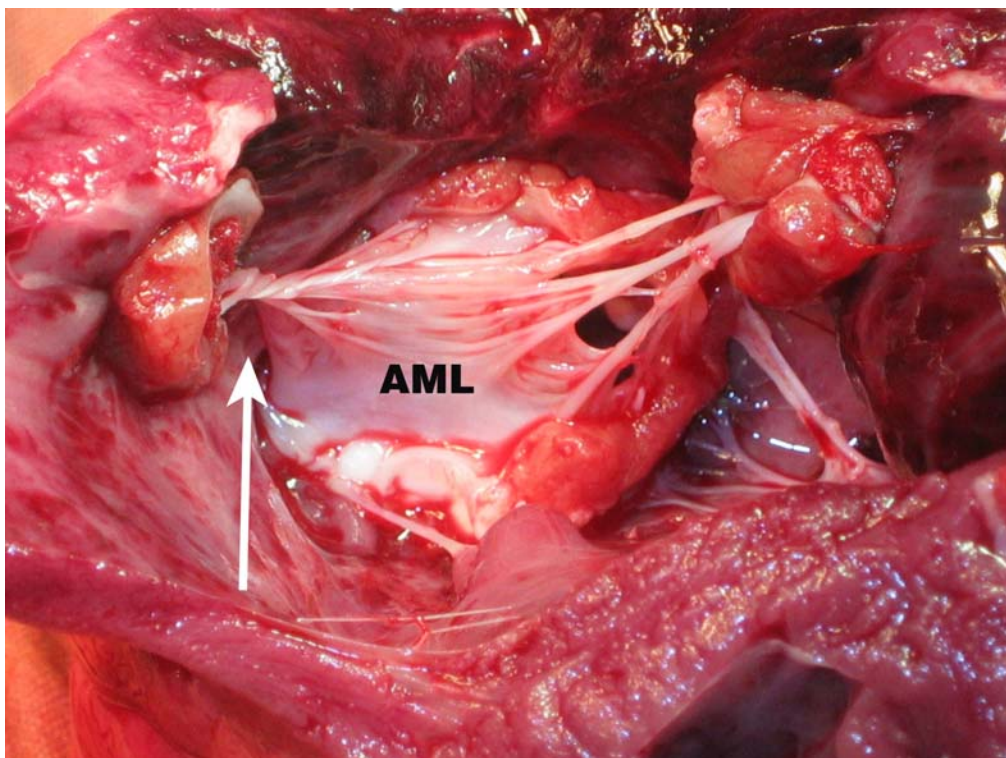
Obr. 21: Pohled na implantovaný alografit z podélně otevřené pravé komory, po explantaci srdce. Jsou patrné dobře fixované papilární svaly.



Obr. 22: Pohled z podélně otevřené pravé komory. Oba papilární svaly jsou dobře ukotveny.



Obr. 23: Podélně otevřená pravá komora a pravá síň, napříč trikuspidálním anulem. Mitrální alograft je dobře fixován do trikuspidálního anulu pokračovacím monofilamentním stehem. Papilární svaly jsou transventrikulárně ukotveny pomocí matracových stehů s dakronovou podložkou.



Obr. 24: Technická chyba. Bílá šipka ukazuje na šlašinky vedoucí k přednímu papilárnímu svalu, které jsou rotované o 360°. AML: přední cíp mitrální chlopně.

5. Diskuze

5.1. Vlastní provedení experimentu

Implantace mitrálního alograftu do trikuspidální pozice proběhla v našem experimentu hladce, bez technických obtíží. Z pravostranné torakotomie jsou dobře přístupné pravostranné srdeční oddíly, obě duté žíly i ascendentní aorta, což usnadňuje zavedení mimotělního oběhu i samotnou implantaci chlopně. Jedinou anatomickou anomálií, ve srovnání s anatomíí lidského srdce, je průběh v. azygos, která u ovcí obvykle ústí do pravé síně nebo do soutoku dolní duté žíly a pravé síně. To ve fázi implantace alograftu v kardioplegické srdeční zástavě, kdy je otevřená pravá síň, způsobuje značné krvácení, které znesnadňuje chirurgický výkon.

Trikuspidální chlopeň a následně i mitrální alograft jsou dobře vyšetřitelné pomocí epikardiální echokardiografie, která je technicky jednodušší než jícnová echokardiografie a která se v našem experimentu, ve shodě s dalšími autory, velmi osvědčila.

Hodnoty tlaků v pravé síni po ukončení mimotělního oběhu byly statisticky významně vyšší oproti tlakům v pravé síni před zahájením mimotělního oběhu. Vzhledem k echokardiograficky prokázané dobré funkci mitrálního alograftu i absenci vlny V na pooperační křivce tlaků v pravé síni, nelze toto navýšení tlaku vysvětlovat špatnou funkcí implantované chlopně. Pravděpodobné příčiny jsou větší intravaskulární objem tekutin a pooperační dysfunkce pravé i levé komory srdeční z důvodu kardioplegické srdeční zástavy. Statisticky významné zvýšení tlaků v plicnici po ukončení mimotělního oběhu toto vysvětlení podporuje.

Prostá trhací zkouška provedená operátérem je jen orientačním vyšetřením mechanické pevnosti štěpu. Detailní vyšetření mechanických vlastností mitrálního alograftu přesahovalo možnosti této studie a bude součástí další fáze projektu – viz. kapitola 5.6.

5.2. Mitrální alograft v trikuspidální pozici

5.2.1. Experimentální použití

Experimentální použití mitrálního alograftu v trikuspidální pozici nebylo v experimentu dostatečně propracováno. Ačkoli první experimenty proběhly před více jak 40

lety, není dosud vypracovaná jasná a jednoznačná technika implantace. Kromě již dříve citovaných historických prací je v současné odborné literatuře pouze jedna významná experimentální práce. Bernal a spol. v roce 1998 použili čerstvý, antibiotiky sterilizovaný ovčí mitrální alograft v trikuspidální pozici v experimentu u 20 ovcí. Střednědobé výsledky (střední doba sledování 13 měsíců) byly příznivé. V době usmrcení nemělo žádné zvíře známky významné regurgitace alograftu. Explantované chlopně neměly makroskopické známky degenerace nebo kalcifikace, pouze u jednoho zvíře se prokázala ruptura šlašinek. Mitrální alograft byl následně vyšetřen pomocí elektronové mikroskopie a histologicky. Vyšetření světelným mikroskopem prokázalo, že povrch cípů explantovaných alograftů je pokryt fibrózní pojivovou tkání obsahující kolagen produkující fibroblasty, které nahradily původní pojivovou tkáň chlopně. Až na malé výjimky byl povrch cípů kompletně zbaven endoteliálních buněk a alografty byly diskrétně infiltrovány monocyty. Subvalvulární aparát byl složen z pojivové tkáně a kolagenových vláken a povrch šlašinek byl kompletně acelulární. Vyšetření pomocí elektronového mikroskopu mělo obdobné výsledky.

Určitým nedostatkem této studie je, že byla zaměřena zejména na histologické a mikroskopické vyšetření explantovaných chlopní. Samotná funkce chlopně nebyla bohužel hodnocena pomocí echokardiografie ani jiného zobrazovacího vyšetření, ale pouze pomocí simultánního měření tlaků v pravé síni a komoře. Dalším nedostatkem je i velikost souboru - déle než jeden týden přežilo pouze 11 zvířat, bezprostřední mortalita tedy byla 42% (9/20).

Chirurgický přístup a technika implantace mitrálního alograftu, kterou autoři popisují, je podobná naší. Přístupem byla pravostranná anterolaterální torakotomie, implantace byla provedena na mimotělním oběhu, v normotermii. Na rozdíl od nás ale výkon proběhl na bijícím srdci, tj. bez použití kardioplegické srdeční zástavy. Žilní drenáž byla zajištěna selektivní kanylací horní a dolní duté žíly, arteriální perfúze pak kanylací a. femoralis. Kanylací arteria femoralis jsme v našem souboru použili pouze jednou, a to u prvního zvířete. U dalších zvířat jsme již kanylovali ascendentní aortu, která byla přijatelně přístupná, a neměli jsme s tímto přístupem obtíže.

Orientace mitrálního alograftu v trikuspidálním anulu byla, stejně jako v našem souboru, anatomická. U prvních 10 zvířat autoři implantovali papilární svaly mitrálního alograftu endokardiálně v místě původních papilárních svalů trikuspidální chlopně. U následujících 10 ovcí pak použili obdobnou chirurgickou techniku, jakou jsem použili i my – t.j. transventrikulární fixaci obou papilárních svalů do volné stěny pravé komory. Tuto

jednoduchou techniku fixace papilárních svalů pokládáme v nízkotlakém systému pravé komory za dostatečnou.

V našem experimentu jsme se, na rozdíl od Bernala a spol, zaměřili mnohem více na vypracování reprodukovatelné chirurgické techniky implantace a dále pak na zjištění bezprostřední funkce mitrálního alograftu, která byla hodnocena pomocí epikardiální echokardiografie¹⁵²

Dá se tedy říci, že obě studie se do jisté míry doplňují. V další fázi našeho experimentu, která v současnosti již probíhá, se zaměřujeme na zjištění střednědobé funkce alograftu, která bude hodnocena epikardiální echokardiografií, a hlavně pak pomocí magnetické nukleární rezonance. Histologické vyšetření kryoprezervovaného mitrálního alograftu včetně zjištění viability bude rovněž součástí této druhé fáze experimentu.

5.2.2. Klinické použití mitrálního alograftu

Klinické použití mitrálního alograftu v mitrální i trikuspidální pozici není rovněž příliš časté. Mitrální alograft v trikuspidální pozici se nejčastěji používá u endokarditidy trikuspidální chlopně. Z této indikace poprvé použil mitrální alograft k náhradě trikuspidální chlopně Pomar a spol. roce 1993¹⁵³ V roce 1999 stejní autoři publikovali až 6ti leté výsledky u 5ti pacientů, u kterých byla trikuspidální chlopeň nahrazena kryoprezervovaný mitrálním alograftem.¹⁵⁴ Střední dobou sledování byla 51 měsíců (21-72 měsíců). Všichni nemocní byli HIV pozitivní intravenózní narkomani a indikací byla endokarditida trikuspidální chlopně. Během sledovaného období došlo u 3 nemocných k recidivě endokarditidy, která byla ale vyřešena konzervativní léčbou. Funkce alograftu byla hodnocena echokardiograficky. Bezprostřední pooperační funkce mitrálního alograftu byla dobrá. V průběhu sledování došlo u 3 pacientů k výrazné progresi regurgitace na III. – IV. stupeň. Jeden pacient měl mírnou regurgitaci I. stupně, další pak střední regurgitaci II. stupně. Echokardiografické vyšetření neprokázalo známky kalcifikace cípů alograftu, rupturu šlašinek nebo dehiscence papilárních svalů.

Ačkoli u většiny pacientů nebyla funkce implantované chlopně optimální, funkční stav všech nemocných byl uspokojivý (NYHA I. – II. stupně). Je to vysvětlitelné tím, že pomalu se vyvíjející regurgitace mitrálního alograftu je pacienty poměrně dobře tolerována. To je v souladu i s další chirurgicko – léčebnou strategií u endokarditidy trikuspidální chlopně, kterou je prostá excize postižené chlopně. Zde někteří autoři udávají rovněž dobré výsledky.

Předpokladem dobrého funkčního stavu u takovýchto pacientů je ale absence plicní hypertenze.

Příčina postupného zhoršování funkce mitrálního alograftu v tomto souboru může být vysvětlitelná absencí anuloplastického prstence.

Klinické zkušenosti s náhradou trikuspidální chlopně mitrálním alograftem z důvodu endokarditidy publikovali posléze i další autoři.^{155, 156, 157, 158, 159} Miyagishima a spol. publikovali, podobně jako Pomar, střednědobé výsledky v souboru 5ti pacientů – intravenózních narkomanů s endokarditidou trikuspidální chlopně, u kterých použili kryoprezervovaný mitrální alograft k náhradě trikuspidální chlopně. Na rozdíl od Pomara orientovali mitrální alograft v trikuspidálním anulu anatomicky, tj. přední list mitrální chlopně naléhal na septum (původní septální cíp trikuspidální chlopně). U všech nemocných byl implantován anuloplastický rigidní mitrální prstenec. Papilární svaly byly fixovány transventrikulárně do volné stěny pravé komory. U žádného pacienta nedošlo k reinfekci. Do jednoho roku po operaci autoři provedli echokardiografické vyšetření pouze u 3 pacientů, dva vypadli ze sledování. U dvou z nich nebyla přítomná žádná regurgitace, jeden nemocný měl pouze stopovou regurgitaci. Podstatné ale je, že ve dvou případech byla nutná implantace kardiostimulátoru z důvodu pooperačního atrioventrikulárního bloku III. stupně.

Oba autoři, tj. Pomar i Miyagishima, mají stejně velké soubory pacientů, Miyagishima má ale kratší dobu sledování a neúplný follow-up. Implantace anuloplastického prstence, který brání dilataci trikuspidálního anulu, může zlepšovat střednědobé výsledky. Nevýhodou je riziko poranění převodního systému s nutností implantace pacemakeru.

Z důvodu endokarditidy obou atrioventrikulárních chlopní jsou popsány i kazuistiky s tzv. dvojnáhradou mitrální i trikuspidální chlopně dvěma mitrálními alografty. Určitou modifikací náhrady a zároveň plastiky trikuspidální chlopně je použití pouze části mitrálního homograftu, tzv. parciálního mitrálního alograftu.^{160, 161} Výhodou této techniky, je-li technicky možná, je event. implantace pouze jednoho papilárního svalu.

Výjimečně se mitrální alograft používá při revmatickém postižení chlopně.¹⁶² V této studii byl mitrální alograft použit v průběhu 10ti let v souboru 8 dětí, průměrného věku 8 let, s významným a symptomatickým revmatickým postižením trikuspidální chlopně takového rozsahu, že záchovná operace nebyla technicky možná. U všech pacientů se jednalo o reoperaci po předchozím pokusu o záchovnou operaci trikuspidální chlopně, která proběhla

souběžně s operací mitrální vady. Střední doba sledování byla 58 ± 12 měsíců. Během sledovaného období nezemřel žádný pacient a funkce alograftu, hodnocená echokardiograficky, byla velmi dobrá. Střednědobé až dlouhodobé výsledky mitrálního alograftu u dětí z indikace revmatického poškození chlopně jsou tedy slibné. Náhrada trikuspidální chlopně mechanickou protézou nebo xenograftem v dětském věku je problematická a mitrální alograft je potenciálně vhodnou alternativou.

V odborné literatuře je rovněž popsán jeden případ, kdy byl mitrální alograft použit k náhradě trikuspidální chlopně u transplantovaného srdce.¹⁶³ Z důvodu časně degenerace ale musel být po jednom roce odstraněn a nahrazen xenograftem.

Výše uvedení autoři popisují různé techniky implantace mitrálního alograftu do trikuspidálního anulu. Jedná se zejména o orientaci chlopně v trikuspidálním anulu, event. použití anuloplastického prstence a o techniku implantace papilárních svalů.

S výjimkou Pomara a spol. všichni autoři orientují mitrální alograft tzv. anatomicky, tj. přední cíp mitrálního alograftu naléhá na septum (původní septální cíp trikuspidální chlopně). Důvodem je obava, že v případě tzv. antianatomické orientace by mohl přední cíp mitrální chlopně způsobovat obstrukci výtokového traktu pravé komory.

Většina autorů, rovněž s výjimkou Pomara a spol., implantovala anuloplastický prstenec. Vzhledem k tomu, že se do trikuspidálního anulu implantuje mitrální chlopeň, autoři použili mitrální anuloplastický ring. Teoretická výhoda implantace prstence spočívá ve zpevnění a zmenšení obvodu trikuspidálního anulu, což může z dlouhodobého hlediska předcházet zhoršování funkce mitrálního alograftu a vzniku regurgitace. Naopak nevýhodou je přítomnost protetického materiálu, což může zvyšovat riziko reinfekce. To je u intravenózních narkomanů, u kterých závislost na drogách přetrvává i po operaci, poměrně vysoké.

Technik implantace papilárních svalů je rovněž několik. Pomar a spol. implantovali papilární svaly alograftu end to end do pahýlu pomocí několika 5-0 polypropylenových matracových stehů s perikardiální podložkou. Acar a spol. upevňují papilární svaly alograftu tak, že je side to side kotví k původním svalům trikuspidální chlopně. Tuto techniku používají i při implantaci mitrálního alograftu do mitrální pozice, kde se jim rovněž osvědčila. Někteří

z dalších autorů fixovali papilární svaly epikardiálně po jejich protažení malými otvory ve volné stěně pravé komory.

Mitrální alograft má odlišnou anatomii a velikost než trikuspidální chlopeň, která se nahrazuje. Papilární svaly alograftu se tedy nemusí kotvit do míst původních papilárních svalů trikuspidální chlopně. Proto jsme se rozhodli použít transventrikulární fixaci papilárních svalů do volné stěny pravé komory pomocí jednoho až dvou 3-0 polypropylenových matracových stehů s teflonovou podložkou. V nízkotlaké pravé komoře je riziko dehiscence papilárních svalů podstatně nižší než v komoře levé a tento způsob implantace pokládáme za dostatečný. Bernal a spol. použili u ovcí obdobnou techniku a během jednoho roku nedošlo ani u jednoho zvířete k dehiscenci papilárních svalů. Rovněž ostatní autoři, kteří použili mitrální alograft v trikuspidální pozici v klinice, nepopisují případ dehiscence papilárních svalů.

V našem souboru jsme alograft orientovali anatomicky. Rovněž se nám osvědčilo ponechání baze septálního cípu původní trikuspidální chlopně, což snižuje riziko poranění převodního systému srdce. Jedná se o modifikaci již dříve popsané transvalvulární implantace.¹⁶⁴

Bezprostřední funkce mitrálního alograftu, hodnocená pomocí epikardiální echokardiografie a tlaků v pravé síni, byla u všech zvířat dobrá. U žádného zvířete se po odpojení z mimotělního oběhu nezjistila závažnější regurgitace alograftu. Koaptace cípů mitrálního alograftu byla dobrá, beze známek prolapsu nebo restriktivního pohybu.

Je známo, že alografty obecně mají vyšší rezistenci k infekci. Z toho důvodu jsou používány k náhradě chlopně u pacientů s infekční endokarditidou. V současnosti se užívá buďto čerstvý, antibiotiky sterilizovaný alograft nebo kryoprezervovaný alograft. Rezistence k infekci není způsobem prezervace ovlivněna. Většina autorů použila v trikuspidální pozici kryoprezervovaný alograft.

Další event. indikací k implantaci mitrálního alograftu do trikuspidální pozice je Ebsteinova anomálie trikuspidální chlopně, zejména typ B a C, kde je záchovná operace velmi obtížná.⁶⁰ Mitrální alograft má ve srovnání s mechanickou chlopní nebo xenograftem tu výhodu, že dilatuje. Předběžné výsledky II. fáze našeho experimentu potvrdily, že funkce alograftu vydržela celý rok, a to přesto, že hmotnost ovcí se zdvojnásobila. Jedná se o předběžné, ale slibné výsledky.

5.3. Mitrální alograft v mitrální pozici

5.3.1. Experimentální použití

Podobně jak tomu je v případě použití mitrálního alograftu v trikuspidální pozici, ani u ortotopické transplantace mitrální chlopně není mnoho současných experimentálních prací. Většina z nich vznikla v 60. – 70. letech minulého století. Větší zkušenosti s technikou záchovných operací mitrální chlopně a s prezervací alograftů zvýšily zájem o tuto problematiku. Ze současnějších experimentálních prací je nutné zmínit Revuelta, který použil parciální mitrální alograft k částečné náhradě mitrální chlopně v experimentu na ovcích. U 30ti ovcí nahradil přední nebo zadní cíp mitrální chlopně korespondující částí mitrálního alograftu včetně subvalvulárního aparátu, a to čerstvým nebo kryoprezervovaným alograftem. V odstupu 3, 6, 9 a 12 měsíců byla zvířata usmrcena, alograft explantován a podroben histologickému vyšetření pomocí světelné a elektronové mikroskopie s následujícím výsledkem: makroskopicky byly implantované části alograftu beze známek degenerace, tj. perforace, kalcifikace nebo ruptury závěsného aparátu. Světelná i elektronová mikroskopie prokázala známky reendotelizace, tj. přítomnost příjemcovských viabilních endoteliálních buněk, které přerostly na povrch implantované chlopně a dále organizovanou, hustou sítí kolagenových vláken. Původní endoteliální buňky byly sporadicky nalezeny pouze u čerstvého alograftu, a to 9 měsíců po implantaci. Strukturální integrita byla rovněž více vyjádřena u čerstvých mitrálních alograftů. Základní hmota transplantované mitrální chlopně (matrix) byla kompletně acelulární u obou typů alograftu a beze známek infiltrace monocyty, tj. bez známek rejekce.

Výše uvedená experimentální práce je v rozporu s publikací Tamury a spol., kteří v experimentu na ovčím modelu porovnávali glutaraldehydem ošetřený mitrální alograft (skupina I) s čerstvým mitrálním alograftem (skupina II), které byly použity k náhradě mitrální chlopně.¹⁶⁵ Krátkodobé výsledky (12-24 týdnů) byly u obou skupin nepříznivé. Většina zvířat skupiny I zemřela z důvodu dysfunkce chlopně, která byla způsobena velmi časnou degenerací. U skupiny II bylo před usmrcením provedeno echokardiografické vyšetření, které prokázalo u většiny zvířat mitrální regurgitaci III. – IV. stupně. Glutaraldehydem ošetřené chlopně selhaly z důvodu časně, extenzivní kalcifikace, která vedla ke stenóze nebo event. k regurgitaci z důvodu ruptury kalcifikovaných šlašinek. Tyto kalcifikace způsobené prezervací mitrálního alograftu glutaraldehydem jsou histologicky

podobné těm, které byly v experimentu na ovčím modelu pozorovány u aortálních vepřových alograftů nebo alograftů z hovězího perikardu.^{166, 167} Poškození pojivové tkáně naopak ve skupině I nebylo téměř vyjádřeno.

U antibiotiky prezervovaného mitrálního alograftu, který byl použit ve skupině II, došlo k časně degeneraci pojivové tkáně, která se projevila perforací cípů chlopně a rupturou šlašinek a která vedla k selhání alograftu. Pravděpodobná příčina rozpadu pojivové tkáně je dána autolytickými změnami, ke kterým dochází v době před implantací chlopně a dále zánětlivou reakcí. U mitrálních alograftů skupiny II byla rovněž pozorována buněčně zprostředkovaná imunologická reakce, která se projevila výraznou infiltrací lymfocyty, plazmatickými buňkami a makrofágy. Tato infiltrace byla vždy spojena s významným poškozením pojivové tkáně, zejména kolagenu. U skupiny I, tj. glutaraldehydem prezervovaných mitrálních alograftů, se podobná imunologická reakce nikdy neprokázala, což podporuje koncept, že fixace tkání pomocí glutaraldehydu významně snižuje jejich antigenicitu.¹⁶⁸ Zároveň tato studie potvrdila, že fixace glutaraldehydem zlepšuje integritu a stabilitu kolagenu.¹⁶⁹ Pouze ve skupině II se ojediněle prokázala přítomnost viabilních dárcovských pojivových nebo endoteliálních buněk, které se ale funkčně nijak neprojevovaly, tj. nepodílely se na tkáňovém obratu. Tyto závěry jsou ve shodě s pracemi, které se zabývaly antibiotiky prezervovaným aortálními alograftem.¹⁷⁰

Velmi důležitý je skutečnost, že antibiotiky prezervovaný mitrální alograft degeneroval mnohem rychleji, než obdobným způsobem zpracovaný aortální nebo pulmonální alograft, používaný v experimentu i v humánní chirurgické praxi. Jedno z logických vysvětlení je toto: anatomicko-funkční design aortální chlopně, zejména ve smyslu uspořádání a struktury pojivové tkáně, je více odolný ke vzniku poškození, které je dané mechanickým namáháním - otevíráním a zavíráním cípů chlopně. Konkrétně převážná většina kolagenových vláken je u cípů semilunárních chlopní uspořádána do fibrózních vazů, které jsou orientovány paralelně k okraji cípů a upínají se v komisurách chlopně. Toto uspořádání pojivové tkáně aortální chlopně je z biofyzikálního hlediska velmi odolné k napětí, ke kterému dochází během systoly a diastoly.

Uspořádání kolagenových vláken u mitrální chlopně jejích šlašinek je zcela odlišné. Zejména šlašinky, tj. struktura, která u aortální chlopně chybí, jsou velmi náchylné k poškození z důvodů mechanických sil a napětí, kterému je subvalvulární aparát mitrálního alograftu vystaven během srdečního cyklu. Výrazně nižší riziko degenerace antibiotiky

prezervovaného mitrálního alograftu implantovaného do trikuspidální pozice v experimentu je dáno nízkotlakým systémem pravé komory a tedy nižším mechanickým namáháním chlopně.

Obě výše uvedené práce jsou tedy ve značném rozporu. Oba autoři zkoumali ortotopickou transplantaci mitrálního alograftu na ovčím modelu. Revuelta udává uspokojivé střednědobé výsledky u kryoprezervovaného i antibiotiky sterilizovaného parciálního mitrálního alograftu. Tamura naopak udává velmi špatné krátkodobé výsledky u glutaraldehydem nebo antibiotiky prezervované chlopně. Vysvětlení je nejednoznačné a může souviset s rozdílnou metodikou experimentu (parciální versus totální mitrální alograft). Snad i proto většina autorů, kteří publikovali ortotopickou transplantaci mitrálního alograftu v klinice, použili kryoprezervovanou mitrální chlopně. Jejich výsledky jsou ale v podobném rozporu jako je tomu u experimentálních prací.

5.3.2. Klinické použití mitrálního alograftu v mitrální pozici

Jak již bylo zmíněno v úvodu, první klinické použití mitrálního alograftu v mitrální pozici bylo popsáno již v roce 1967 Senningem. V následujících letech se mitrální alograft ojediněle používal a výsledky byly rozporuplné, tj. pozitivní i negativní. Renesance mitrálního alograftu začala v 90. letech minulého století, kdy se tento typ chlopní náhrady začal v mitrální pozici ojediněle a pouze v několika kardiologických centrech používat.

Největší zkušenosti s ortotopickou transplantací mitrální chlopně má francouzská skupina chirurgů původně koncentrovaných kolem Carpentiera a Acara. Acarova skupina publikovala následující dlouhodobé výsledky.¹⁷¹ V průběhu 8 let implantovali kryoprezervovaný mitrální alograft 104 pacientům průměrného věku 38 ± 15 let s revmatickým postižením mitrální chlopně nebo s infekční endokarditidou. Operační mortalita byla nízká a střední doba sledování 52 ± 35 měsíců. U 13ti pacientů (15%) byla nutná reoperace z důvodu selhání alograftu (3x časná do 3 měsíců a 10x pozdní). Příčina časného selhání byla pravděpodobně způsobena rozdílem velikostí implantovaného alograftu a nativní mitrální chlopně. Bez následné kardiální příhody bylo během sledovaného období 71% nemocných. Ačkoli výskyt degenerace mitrálního alograftu v 15% je poměrně vysoký, je stále podobný výskytu degenerace xenograftů v mitrální pozici v souboru takto mladých

pacientů. Operační mortalita byla nízká a dobrý byl i funkční stav nemocných. Výsledky lze tedy považovat za příznivé.

Ostatní autoři udávají spíše horší výsledky. Chauvaud a spol., rovněž z francouzské skupiny, publikoval velmi nepříznivé výsledky kryoprezervovaného mitrálního alograftu, který byl použit u 13 adolescentů průměrného věku 15 ± 6 let. U většiny dětí se jednalo o reoperaci s diagnózou revmatického poškození chlopně, endokarditidy nebo vrozené srdeční vady. Střední doba sledování byla $4,1 \pm 2,2$ let. Bezprostřední funkce chlopně byla až na jednu výjimku u všech pacientů dobrá. Při střednědobém sledování se však prokázalo, že uspokojivá funkce mitrálního alograftu byla během sledovaného období zjištěna pouze u 2 pacientů, u dalších 7 byla nutná reoperace z důvodu selhání alograftu. Další dva nemocní zemřeli bez reoperace ale s potvrzenou významnou stenózou alograftu. Všechny explantované chlopně byly kalcifikované a těžce fibroticky změněné.

Kumar a spol publikovali rovněž velmi nepříznivé 5ti leté výsledky ortotopické transplantace kryoprezervovaného nebo čerstvého mitrálního alograftu v souboru 37 pacientů.¹⁷² Průměrný věk byl podobný jako u souboru Acara, tj. 32 ± 10 let a nejčastější indikací k náhradě chlopně byla revmatická mitrální stenóza. Operační mortalita byla 14% a střední doba sledování 27 ± 12 měsíců. Během sledovaného období byla u 25 z 32 nemocných, kteří přežili operaci, zjištěna těžká mitrální regurgitace III. – IV. stupně, tj. pouze u 7 pacientů (22%) se zjistila akceptovatelná funkce alograftu. Operační diagnóza, tj. stenóza nebo regurgitace, druh použitého mitrálního alograftu – čerstvý nebo kryoprezervovaný nebo provedení anuloplastiky mitrálního anulu neměly statisticky významný vliv na selhání implantované chlopně. Makroskopicky byly explantované chlopně – cípy a šlašinky degenerované. Odtržení jednoho z papilárních svalů se prokázalo ve dvou případech. Mikroskopicky se neprokázala přítomnost dárcovských viabilních buněk a nezjistili se ani známky rejekce nebo imunologického poškození chlopně.¹⁷³

Poněkud příznivější výsledky udává Doty a spol., kteří použili obdobnou techniku jako Acar a spol. v souboru 17ti pacientů.¹⁷⁴ Během jednoho roku musela být u 25% (4/17) nemocných provedena reoperace z důvodu selhání alograftu. Degenerace jako příčina selhání se vyskytla ale jen v 17% (3/17), u jednoho pacienta byl alograft postižen endokarditidou.

Uspokojivé 5ti leté výsledky publikoval Gulbins a spol. V souboru 14ti pacientů průměrného věku 46 ± 8 let použili parciální nebo totální kryoprezervovaný mitrální alograft z důvodu revmatického poškození mitrální chlopně nebo endokarditidy. Střední doba sledování byla 30 měsíců (6-60). Pacientů bez tzv. valve-related příhod bylo 93%, 86%, 79%

po 1, 2 a 3 letech. Echokardiograficky ověřená funkce transplantované chlopně byla rovněž u většiny z nich příznivá.

Kromě sporadických kasuistik jsou výše uvedené publikace jediné původní klinické práce, na jejichž základě se dají posuzovat střednědobé až dlouhodobé výsledky mitrálního alograftu implantovaného do mitrální pozice.

Z výše uvedených prací vyplývá:

- Mitrální alograft by se neměl používat v mitrální pozici u mladých pacientů a adolescentů, neboť zde dochází k urychlené degeneraci implantované chlopně.
- Použití mitrálního alograftu v mitrální pozici v dospělosti je rovněž problematické, technicky náročné a s nejasně predikovatelným dlouhodobým výsledkem. Ten je rovněž ovlivněn zkušeností chirurga s technikou záchovných operací mitrální chlopně a samozřejmě objemem operovaných pacientů, tzv. learning curve. Toto vyplývá i z publikací Acara a spol., kteří mají největší soubor a zároveň i nejlepší výsledky.
- Technika ukotvení papilárních svalů je různá. Nejčastěji používaná, a pravděpodobně i nejbezpečnější, je implantace podle Acara, který dárcovské papilární svaly fixuje side to side k nativním papilárním svalům mitrální chlopně. Významné je i použití anuloplastického mitrálního prstence, který snižuje riziko dehiscence sutury chlopně v mitrálním anulu.
- Na krátkodobé i dlouhodobé výsledky a funkci mitrálního alograftu má vliv správný výběr velikosti alograftu, tj. aby nedocházelo k diskrepanci mezi velikostí implantovaného mitrálního alograftu a velikostí nativní nahrazované mitrální chlopně.
- Způsob zpracování mitrálního alograftu (kryoprezervace versus antibiotiky sterilizovaný čerstvý alograft) nemá vliv na pravděpodobnost degenerace transplantované chlopně.
- Ani u jednoho z výše uvedených způsobů nedochází k významnějšímu zachování viability buněk. Sporadicky zachycené viabilní buňky pojivové tkáně pravděpodobně nemají funkčně žádný význam, tj. nepodílí se na tkáňovém obratu a neprodukují kolagen.¹⁰¹

Klinické zkušenosti s použitím mitrálního alograftu v mitrální pozici jsou samozřejmě větší než jak tomu je u použití této chlopně v trikuspidální pozici. To je především dáno sporadickou indikací k náhradě trikuspidální chlopně. Obecné výhody mitrálního alograftu v mitrální pozici jsou vyšší rezistence k infekci ve srovnání s konvenčními chlopenními protézami, nízká trombogenicita, dobré hemodynamické vlastnosti a zachování anuloventrikulární kontinuity, což je významné pro zachování systolické funkce a tvaru levé komory. Hlavní nevýhodou, která zatím nedovoluje širší klinické použití této metody, jsou neuspokojivé již střednědobé výsledky.

V trikuspidální pozici je z výše uvedených předností pravděpodobně nejvýznamnější rezistence k infekci a event. nižší trombogenicita alograftu. Anuloventrikulární kontinuita, která je tak důležitá v levé komoře, je zde méně významná. V nízkotlakém systému pravé komory se dá předpokládat pomalejší degenerace alograftu, s čímž by měly souviset i příznivější střednědobé a dlouhodobé výsledky. To částečně potvrzují i výsledky již dříve citovaných studií.

5.4. Xenografty a mechanické chlopně v trikuspidální pozici

Náhrada trikuspidální chlopně byla poprvé provedena v roce 1963. Obecně je náhrada trikuspidální chlopně spíše výjimkou a na celkovém počtu chlopenních operací se podílí pouze 2%. Náhrada této chlopně je často kombinována i s náhradou levostranných chlopní. Použití xenograftů nebo mechanických chlopenních náhrad je v trikuspidální pozici problematické. Nejsou k dispozici randomizované studie srovnávající výsledky mechanických a biologických chlopní v této pozici tak, jak tomu je v případě mitrální a aortální chlopně. Proto můžeme vycházet pouze z retrospektivně získaných dat nebo metaanalýz studií, které se zabývají náhradou trikuspidální chlopně. Přehled těchto studií porovnávající xenografty a mechanické chlopně v trikuspidální pozici ukazuje tabulka č. 1

Použití xenograftů nebo mechanických chlopenních náhrad je v trikuspidální pozici problematické. Biologické chlopně byly zpočátku považovány za ideální náhradu trikuspidální chlopně a to pro svou nižší trombogenicitu a očekávanou pomalejší degeneraci ve srovnání s mitrální pozicí. Tato očekávání se ale plně nenaplnila. Někteří autoři udávají limitovanou životnost chlopně 7-9 let.^{175, 176} Rovněž je popisován vznik panusu v oblasti

septálního cípu.¹⁷⁷ Navíc většina pacientů s implantovanou biologickou chlopní dlouhodobě užívala antikoagulaci, což dále snižuje výhody biologických náhrad.¹⁷⁸

Tabulka 1: Porovnání mortality a přežívání u mechanických a biologických chlopní v trikuspidální pozici. Xeno = xenografty, mech = mechanické chlopně

Studie	Počty náhrad xeno/všechny/mech	Operační mortalita (%)	Střední doba sledování (roky)	Xenografty 5ti leté přežívání (%)	Mechanické chlopně 5ti leté přežívání (%)
Van Nooten ¹⁷⁹	68/146/77	16,4	7,8	84,5	70
Sculy ¹⁸⁰	28/60/32	26,6	6,3	60	65
Munro ¹⁸¹	83/97/14	14,4	3,7	56	60
Ratnatunga ¹⁸²	225/425/200	17,2	-	61,5	57,9
Dalrymple ¹⁸³	52/87/35	10,3	8,1	66	73
Kaplan	32/129/97	23,2	6,3	65	77,5

Mechanické chlopně mají vyšší riziko tromboembolických a krvácivých komplikací. Riziko trombózy chlopně je u v současnosti používaných dvojlístkových chlopní poněkud nižší. Navíc mají tyto chlopně výborné hemodynamické vlastnosti, nižší turbulenci a nemají riziko degenerace.¹⁸⁴

Udávána perioperační mortalita je v publikovaných studiích poměrně vysoká. To je většinou dáno rozsahem onemocnění, tj. kombinací s postižením mitrální nebo aortální chlopně. Střednědobé i dlouhodobé výsledky u obou typů náhrad jsou podobné. Dodnes nejsou jednoznačné guidelines na výběr typu chlopní náhrady pro trikuspidální pozici. Obecně se většinou řídíme těmito doporučeními:

- Biologické chlopně používáme u starších pacientů, většinou nad 65 let.

- Mechanické chlopně naopak u mladších nemocných, kde použití biologické protézy v trikuspidální pozici zvyšuje pravděpodobnost reoperace z důvodu degenerace chlopně.^{185, 186}
- U operovaných s předpokládanou životní prognózou kratší než 10 – 15 let implantujeme přednostně biologické chlopně.
- V případě použití mechanické chlopně v aortální nebo mitrální pozici se přikláníme ke stejnému typu náhrady i v trikuspidální pozici.

5.5. Způsoby prezervace mitrálního alograftu

Není prokázáno, že kryoprezervace zlepšuje obecně viabilitu alograftů. Je ale pravděpodobné, že za určitých podmínek není viabilita pojivových buněk aortálních alograftů nutná pro dlouhodobou dobrou funkci těchto chlopní. Mitrální chlopně je anatomicky i funkčně zcela odlišná od chlopně aortální a její funkce je závislá na subvalvulárním aparátu. Je možné, že ztráta viability pojivových buněk vedoucí k jejich neschopnosti produkovat nová kolagenová vlákna, která by nahradila ty, která jsou odbourávána během metabolického obratu (tissue turnover), vede k ruptuře šlašinek i perforaci cípů mitrálního alograftu. Naopak viabilní buňky alograftu mohou vyvolávat imunologickou reakci vedoucí k infiltraci chlopně zánětlivými buňkami, což může urychlovat její degeneraci¹⁸⁷

5.6. Pokračování experimentální studie

Cílem této práce bylo vypracování chirurgické techniky implantace mitrálního alograftu. K úspěšnému zakončení tohoto experimentu tak, aby se získané zkušenosti daly bezpečně použít v humánní medicíně, je nutno zodpovědět následující 3 otázky. Odpovědi na tyto otázky by měly vzejít z další fáze tohoto experimentu.

1. Zjistit střednědobé výsledky a funkci mitrálního alograftu v trikuspidální pozici
2. Je v současnosti používaná technika kryoprezervace vhodná a zajišťuje dostatečně dlouhou trvanlivost?

3. Zjistit jaké jsou mechanické a biologické vlastnosti mitrálních alograftů a to před implantací i po explantaci. Součástí je i průkaz event. přítomnosti viabilních dárcovských buněk.

Jak již bylo stručně uvedeno dříve, zjištění střednědobých jednoročních výsledků bude naplní II. fáze studie, která v současnosti již započala. Výše popsaným způsobem se bude implantovat mitrální alograft a po jednoročním intervalu se v celkové anestézii pomocí magnetické nukleární rezonance zjistí funkce i morfologie transplantované chlopně. Následně se zvíře převezve na operační sál, provede se torakotomie a epikardiální echokardiografické vyšetření. Nakonec se zvíře usmrtí a mitrální alograft explantuje.

Součástí tohoto projektu je i zjištění mechanických vlastností cípů a závěsného aparátu mitrálního alograftu. Vyšetřovat se budou mechanické vlastnosti chlopně, dále jejich povrch scanovacím mikroskopem a viabilita a to vše v jednotlivých fázích zpracování, tj. vyšetření čerstvé tkáně po odběru, dále po sterilizaci antibiotiky, po rozmražení a po roce funkce v těle příjemce.

Mechanické experimenty představují jednoduché tahové zkoušky. K měření bude využit dynamický mechanický analyzátor DMA7e firmy Perkin-Elmer. Tento přístroj umožňuje proměřovat termomechanické vlastnosti (např. modul pružnosti a viskozitu v závislosti na frekvenci, teplotě, mechanickém zatížení, atd.) různých materiálů (polymery, léčiva, gely, biologické materiály).

6. Závěry a zhodnocení cílů práce

Výše popsaná experimentální práce je pilotní studií, kterou bylo nezbytné provést před provedením II. fáze experimentu, při které se budou zjišťovat střednědobé výsledky. Úspěšné dokončení obou fází je nezbytný předpoklad k zavedení této metody do klinické praxe a k rutinnímu odběru a zpracování mitrálních alograftů Tkáňovou bankou Transplantačního centra FN Motol.

Provedení experimentu na ovčím modelu bylo úspěšné, cíle práce byly splněny. Byla vypracována reprodukovatelná chirurgická technika odběru, přípravy, kryoprezervace a implantace mitrálních alograftů do trikuspidální pozice. Zároveň se zjistilo, že odebrané mitrální alografty, které byly zpracovány a kryoprezervovány podle rutinního a zaběhlého protokolu Tkáňové banky Transplantačního centra FN Motol (obdobně jako jsou zpracovávány lidské aortální a plicnicové alografty) mají dobré mechanické vlastnosti vhodné k implantaci do trikuspidální pozice. Detailnější zpracování biomechanických vlastností alograftů je ale předmětem další fáze tohoto experimentálního projektu.

Bezprostřední funkce mitrálních alograftů, která se stanovovala na základě epikardiální echokardiografie a měření tlaků v pravé síni a plicnici, byla velmi dobrá.

Zjištění střednědobých výsledků bude předmětem druhé fáze experimentu.

Z výše uvedených výsledků a z literárních zkušeností vyplývá, že použití mitrálního alograftu k náhradě trikuspidální chlopně je technicky schůdná a reprodukovatelná metoda. Budou-li výsledky II. fáze experimentu příznivé, Tkáňová banka Transplantačního centra FN Motol zavede rutinní přípravu a banking mitrálních alograftů, aby byly tyto chlopně dostupné pro nemocné s infekční endokarditidou trikuspidální chlopně, u kterých nebude provedení záchovné operace technicky schůdné.

7. Anglický souhrn

Introduction:

Aortic, mitral and pulmonary valve replacement is routinely performed with reasonable clinical results. But the optimal substitute for the tricuspid valve remains controversial. Contemporary prostheses either mechanical or bioprosthetic are associated with a high risk of thrombosis and/or structural failure. Mitral allografts could have advantages over existing prostheses, especially in patients with infectious endocarditis.

We describe our first experience with cryopreserved mitral allograft processing and implantation into the tricuspid position in a sheep experimental model.

Material and Methods:

We subjected 20 sheep (age 1 year, weight 23 - 36 kilograms) to general anesthesia and a left thoracotomy. An epicardial echocardiographic study was performed and the mitral valve was harvested. Donor animals were put to death by intravenous anesthetics injection. Allografts were immersed into cultivation medium E 199 with an antibiotic cocktail. After 24 hours storage at the temperature of 37.0°C the valves were kept at + 5 to + 7 °C over a period of 3-5 days. Then they were transferred into the cryoprotective solution (E 199 with 10% dimethylsulfoxide) and sealed into plastic bags using a double-layer technique. Finally, they were programmed cooled and stored in the liquid stage of liquid nitrogen (- 196 °C) in a separate container.

One month later, the cryopreserved mitral allograft valves were thawed, and removed from wrap under sterile conditions. A simple pulling test performed by an experienced cardiac surgeon showed that the annulus, cusps, the chordae tendineae and papillary muscles of the cryopreserved MAV were strong enough for implantation purposes. Thawed mitral allografts were transplanted into the tricuspid position in 13 sheep recipients (age 1 year, weight 22-37 kilograms). The operations were performed under general anesthesia, via right thoracotomy, with extracorporeal circulation and cold crystalloid cardioplegia. The recipient's tricuspid valve was exposed through the right atriotomy and totally excised. After proper anatomical rotation of the MA, both papillary muscles were transventricularly anchored with polypropylene monofilament mattress sutures and teflon pledgets into the free right

ventricular wall. Then the MA annulus was sewn into the recipient's tricuspid annulus by continuous running suture with the same sewing material, so that the anterior leaflet of the MA faced septum. Running suture of atriotomy was performed on the beating heart. After weaning from ECC and decannulation, the right atrial and pulmonary artery pressures were measured and recorded again. Subsequently, epicardial echocardiographic examination was performed with focus on the anatomy and function of the MA in the tricuspid position.

Results:

The implantation of the MA into the tricuspid position in all sheep was uneventful. The average duration of the ECC was 58 minutes (42 – 88), the cardioplegic heart arrest was 36 minutes (28 – 45). The EEC was discontinued in all animals without serious problems, with a mild or moderate inotropic support. Right atrial and pulmonary artery pressure measurements and epicardial echocardiography showed good function of all mitral allografts.

Conclusions:

It was proved, that mitral allografts, harvested, processed, and stored according to the Cardiovascular Tissue Bank Protocol remained mechanically strong enough for implantation into the tricuspid position. It was shown that the MA transplantation into the tricuspid position is feasible. The reproducible technique of this particular operation was developed. The immediate postoperative hemodynamic performance of MA in tricuspid position was excellent in all animals. The Mid-term results are already being evaluated.

8. Seznam použité literatury

¹ Williams DH: Stab wound of the heart, pericardium–Suture of the pericardium–Recovery–Patient alive three years afterward. *Med Record* 1897; 1–8

² Trendelenburg F: Operative management of pulmonary emboli. *Verh Dtsch Ges Chir* 1908; 89

³ Forssmann W: Catheterization of the right heart. *Klin Wochenshr* 1929; 8:2085

⁴ Graybiel A, Strieder JW, Boyer NH: An attempt to obliterate the patent ductus in a patient with subacute endarteritis. *Am Heart J* 1938; 15:621

⁵ Crafoord C, Nylin G: Congenital coarctation of the aorta and its surgical treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1945; 14:347

⁶ Blalock A, Taussig HB: The surgical treatment of malformations of the heart in which there is pulmonary stenosis or pulmonary atresia. *JAMA* 1945; 128:189

⁷ Gross RE: Surgical closure of an aortic septal defect. *Circulation* 1952; 5:858

⁸ Biorck G, Crafoord C: Arteriovenous aneurysm on the pulmonary artery simulating patent ductus arteriosus botalli. *Thorax* 1947; 2:65

⁹ Carlon CA, Mondini PG, de Marchi R: Surgical treatment of some cardiovascular diseases. *J Int Coll Surg* 1951; 16:1

¹⁰ Tuffier T: Etat actuel de la chirurgie intrathoracique. *Trans Int Congr Med* 1913 (London 1914), 7; *Surgery* 1914; 2:249

¹¹ Hufnagel CA: Aortic plastic valvular prostheses. *Bull Georgetown Med Cent* 1951; 4:128

¹² Hufnagel CA, Harvey WP, Rabil PJ, et al: Surgical correction of aortic insufficiency. *Surgery* 1954; 35:673

¹³ Gibbon JH Jr: Artificial maintenance of circulation during experimental occlusion of the pulmonary artery. *Arch Surg* 1937; 34:1105

¹⁴ Gibbon JH Jr: Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minn Med* 1954; 37:171

¹⁵ Lillehei CW: Historical development of cardiopulmonary bypass. *Cardiopulmonary Bypass* 1993; 1:26

¹⁶ Lillehei CW, Cohen M, Warden HE, et al: The results of direct vision closure of ventricular septal defects in eight patients by means of controlled cross circulation. *Surg Gynecol Obstet* 1955; 101:446

-
- ¹⁷ Bigelow WG, Callaghan JC, Hopps JA: General hypothermia for experimental intracardiac surgery. *Am Surg* 1950; 132:531
- ¹⁸ Lewis FJ, Taufic M: Closure of atrial septal defects with the aid of hypothermia: Experimental accomplishments and the report of one successful case. *Surgery* 1953; 33:52
- ¹⁹ Melrose DG, Dreyer B, Bentall MB, Baker JBE: Elective cardiac arrest. *Lancet* 1955; 2:21
- ²⁰ Gay WA Jr, Ebert PA: Functional metabolic and morphologic effects of potassium-induced cardioplegia. *Surgery* 1973; 74:284
- ²¹ Follette DM, Mulder DG, Maloney JV, Buckberg GD: J Thorac Cardiovasc Surg 1978; 78:604. Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion or intermittent ischemia. Experimental and clinical study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1978 Nov;76(5):604-19
- ²² Carpentier A: Cardiac valve surgery: the French correction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 86:23
- ²³ Lower RR, Shumway NE: Studies on orthotopic homotransplantation of the canine heart. *Surg Forum* 1960; 11:18
- ²⁴ Barnard CN: A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *S Afr Med J* 1967; 41:1271
- ²⁵ Reitz BA, Wallwork JL, Hunt SA, et al: Heart-lung transplantation: successful therapy for patients with pulmonary vascular disease. *N Engl J Med* 1982; 306:557
- ²⁶ Beck CS: The development of a new blood supply to the heart by operation. *Ann Surg* 1935; 102:805
- ²⁷ Vineberg AM: Development of an anastomosis between the coronary vessels and a transplanted internal mammary artery. *Can Med Assoc J* 1946; 55:117
- ²⁸ Sones FM, Shirey EK: Cine coronary arteriography. *Mod Concepts Cardiovasc Dis* 1962; 31:735
- ²⁹ Garrett EH, Dennis EW, DeBakey ME: Aortocoronary bypass with saphenous vein grafts: seven-year follow-up. *JAMA* 1973; 223:792
- ³⁰ Kolessov VI: Mammary artery–coronary artery anastomosis as a method of treatment for angina pectoris. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1967; 54:535
- ³¹ Favaloro RG: Saphenous vein autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion. *Ann Thorac Surg* 1968; 5:334
- ³² CASS Principal Investigators and Their Associates: Coronary Artery Surgery Study (CASS): a randomized trial of coronary artery bypass surgery; survival data. *Circulation* 1983; 68:939
- ³³ Veterans Administration Coronary Artery Bypass Surgery Cooperative Study Group: Eleven-year survival in the Veterans Administration Randomized Trial of Coronary Bypass Surgery for Stable Angina. *N Engl J Med* 1948; 311:1333

-
- ³⁴ Varnauskas E: European Coronary Surgery Study Group: Twelve-year follow-up of survival in the randomized European Coronary Surgery Study. *N Engl J Med* 1988; 319:332
- ³⁵ Dominik J. *Kardiochirurgie*. Grada Publishing, 1998; 61-67
- ³⁶ Fuster V, Pumphrey CW, McGoon MD, et al: Systemic thromboembolism in mitral and aortic Starr-Edwards prostheses: a 10–19 year follow-up. *Circulation* 1982; 66(2 pt 2):1157
- ³⁷ Binet JP, Carpentier A, Langlois J, et al: Implantation de valves heterogenes dans le traitement des cardiopathies aortiques. *C R Acad Sci Paris* 1965; 261:5733
- ³⁸ Binet JP, Planche C, Weiss M: Heterograft replacement of the aortic valve, in Ionescu MI, Ross DN, Wooler GH (eds): *Biological Tissue in Heart Valve Replacement*. London, Butterworth, 1971; 409
- ³⁹ Carpentier A: Principles of tissue valve transplantation, in Ionescu MI, Ross DN, Wooler GH (eds): *Biological Tissue in Heart Valve Replacement*. London, Butterworth, 1971; 49
- ⁴⁰ Kaiser GA, Hancock WD, Lukban SB, Litwak RS: Clinical use of a new design stented xenograft heart valve prosthesis. *Surg Forum* 1969; 20:137
- ⁴¹ Flomenbaum MA, Schoen FJ: Effects of fixation back pressure and antimicrobial treatment on the morphology of porcine aortic bioprosthetic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105:154
- ⁴² David TE, Pollick C, Bos J: Aortic valve replacement with stentless porcine aortic bioprosthesis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 99:113
- ⁴³ David TE, Feindel CM, Scully HE, et al: Aortic valve replacement with stentless porcine aortic valves: a ten-year study. *J Heart Valve Dis* 1998; 7:250
- ⁴⁴ Borger MA, Carson SM, Ivanov J, Rao V, Scully HE, Feindel CM, David TE. Stentless aortic valves are hemodynamically superior to stented valves during mid-term follow-up: a large retrospective study. *Ann Thorac Surg*. 2005 Dec;80(6):2180-5
- ⁴⁵ Doss M, Martens S, Wood JP, Aybek T, Kleine P, Wimmer Greinecker G, Moritz A. Performance of stentless versus stented aortic valve bioprostheses in the elderly patient: a prospective randomized trial. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2003 Mar;23(3):299-304
- ⁴⁶ Hansen DE, Cahill PD, DeCampi WM, Harrison DC, Derby GC, Mitchell RS, Miller DC. Valvular-ventricular interaction: importance of the mitral apparatus in canine left ventricular systolic performance. *Circulation* 1986;73:1310-1320
- ⁴⁷ Sarris GE, Miller DC. Valvular-ventricular interaction: the importance of the mitral chordae tendineae in term of global left ventricular systolic function. *J Card Surg* 1998;3:215-234
- ⁴⁸ Burdon TA, Miller DC, Oyer PE, Mitchell RS, Stinson EB, Shumway NE. Durability of porcine valves at fifteen years in a representative North American population. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;103:238-251

-
- ⁴⁹ Dagum P, Green GR, Timek TA, Daughters GT, Foppiano LE, Tye TL, Boler AF, Ingels NB, Miller DC. Functional evaluation of the Medtronic stentless porcine xenograft mitral valve in sheep. *Circulation* 1999;100[suppl II]:II-70-II-70
- ⁵⁰ Timek TA, Lai DT, Tibayan FA, Dagum P, Daughters GT, Liang D, Ingels NB Jr, Miller DC. Hemodynamic performance of an unstented xenograft mitral valve substitute. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002 Sep;124(3):541-52
- ⁵¹ Morea M, de Paulis R, Galloni M et al. Mitral valve replacement with Biocor stentless mitral valve: early results. *J Heart Valve Dis* 1994;3:476-482
- ⁵² Middlemost SJ, Manga P. The Quattro valve in rheumatic mitral valve disease: four-year follow up. *J Heart Valve Dis.* 2003 Nov;12(6):758-63
- ⁵³ Mohr FW, Lehmann S, Falk V, Metz S, Walther C, Doll N, Rastan A, Gummert J, Walther T. Clinical experience with stentless mitral valve replacement. *Ann Thorac Surg.* 2005 Mar;79(3):772-5
- ⁵⁴ Hammermeister K, Sethi GK, Henderson WG, et al. Outcomes 15 years after valve replacement with a mechanical versus a bioprosthetic valve: final report of the Veterans Affairs randomized trial. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1152–8
- ⁵⁵ Bloomfield P, Wheatley DJ, Prescott RJ, et al. Twelve-year comparison of a Bjork-Shiley mechanical heart valve with porcine bioprostheses. *N Engl J Med* 1991;324:573–9
- ⁵⁶ Oxenham H, Bloomfield P, Wheatley DJ, Lee RJ, Cunningham J, Prescott RJ, Miller HC. Twenty year comparison of a Bjork-Shiley mechanical heart valve with porcine bioprostheses. *Heart.* 2003 Jul;89(7):715-21
- ⁵⁷ Bottio T, Rizzoli G, Caprili L, Testolin L, Thiene G, Gerosa G. Biological versus mechanical aortic prosthesis? A nineteen-year comparison in a propensity-matched population. *J Heart Valve Dis.* 2005 Jul;14(4):493-500
- ⁵⁸ Bloomfield P. Choice of heart valve prosthesis. *Heart* 2002;87:583-589
- ⁵⁹ Bonow et al. ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease. *JACC* Vol. 32, No. 5, November 1998:1486-1588
- ⁶⁰ Hučín B. Dětská kardiologie. Grada Publishing, spol. s. r. o., 2001
- ⁶¹ Popelová J. Vrozené srdečné vady v dospělosti. Grada Publishing, spol. s. r. o., 2003
- ⁶² Stark J, M. De Leval. Surgery for congenital heart defects. Grune & Stratton LTD. 1983
- ⁶³ Hubka M, Siska K, Brozman M, Holec V. Replacement of mitral and tricuspid valves by mitral homograft. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1966 Feb;51(2):195-204
- ⁶⁴ Hubka M, Holec V. Experimental replacement of the mitral valve by mitral homograft *Bratisl Lek Listy.* 1966 Mar 15;46(5):261-72
- ⁶⁵ Bodnar E. Editorial. Clinical use of homologous and heterogenous mitral valves. *J Heart Valve Dis* 1994; 3:468-9

-
- ⁶⁶ Somerville J, Ross D, Ross JK. Mitral valve replacement with stored inverted pulmonary homograft valve. *Thorax*. 1972 Sep;27(5):583-5
- ⁶⁷ Nuno-Conceicao A, Puig LB, Verginelli G, Iryia K, Bittencourt D, Zdrbani EJ. Homologous dura mater cardiac valves. Structural aspects of eight implanted valves. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1975 Sep;70(3):499-508
- ⁶⁸ Ross DN: Replacement of aortic and mitral valves with a pulmonary autograft. *Lancet* 1967; 2:956-8
- ⁶⁹ Ross D, Jackson M, Davies J. The pulmonary autograft: a permanent aortic valve. *Eur J Cardiothorac Surg* 1992; 6:113-6
- ⁷⁰ Elkins RC: The Ross procedure: a 12-years experience. *Ann Thorac Surg* 1999; 68(3 Suppl):S14-8
- ⁷¹ Kouchoukos NT, Masetti P, Nickerson NJ, Castner CF, Shannon WD, Davila-Roman VG. The Ross procedure: long-term clinical and echocardiographic follow-up. *Ann Thorac Surg* 2004; 78:773-81
- ⁷² Kumar AS, Talwar S, Mohaparta R, Saxena, Sing R: Aortic valve replacement with the pulmonary autograft: mid-term results. *Ann Thorac Surg* 2005; 80:488-94
- ⁷³ Frigiola A, Badia T, Pome G, Fesslova V, Russo MG, Iacono C, Squarcia U, Di Donato M. Pulmonary autograft for mitral valve replacement in infants: the Ross-Kabani operation. *Ann Thorac Surg*. 2005 Jun;79(6):2150-1
- ⁷⁴ Roy S, Mohanty A, Kumar AS. Pulmonary autograft mitral valve replacement: initial experience with the Ross II procedure. *Indian Heart J*. 2002 May-Jun;54(3):276-8
- ⁷⁵ Ross JK, Johnson DC. Mitral valve replacement with homograft, fascia lata and prosthetic valves: a long term assessment of valve function. *J Cardiovasc Surg* 1974;15(2):242-8
- ⁷⁶ Murray G, Roschlau W, Loughheed W: Homologous aortic-valve-segment transplants as surgical treatment for aortic and mitral insufficiency. *Angiology* 1956;7:466
- ⁷⁷ Murray G: Aortic valve transplants. *Angiology* 1960; 11:99
- ⁷⁸ Beall ACJ, Morfia GJ, Cooley D, Debaquey M: Homotransplantation of the aortic valve. *J Thorax Cardiovasc Surg* 1961;42:497
- ⁷⁹ Erwin AJ, Willson DR: Aortic-valve homograft in the treatment of aortic insufficiency. *N Engl J Med* 1962; 266:852
- ⁸⁰ Bigelow WG, Kuypers PG, Heimbecker RO, Gunton RW: Clinical assessment of the efficiency and durability of direct vision annuloplasty. *Ann Surg* 1961; 154:320
- ⁸¹ Ross DN: Homograft replacement of the aortic valve. *Lancet* 1962; 2:487

-
- ⁸² Barratt-Boyes BG: Homograft aortic valve replacement in aortic incompetence and stenoses. *Torax* 1964; 19:131.
- ⁸³ Angell WW, Wuerflein RD, Shumway NE: Mitral valve replacement with the fresh aortic valve homograft: Experimental results and clinical application. *Surgery* 1967; 62:807
- ⁸⁴ Ross JK. Mitral valve replacement with the inverted aortic valve homograft. *Br Heart J*. 1969;31(6):796
- ⁸⁵ Angell WW, Iben AB, Gianelly R, Shumway NE. Aortic homografts for mitral valve replacement. *Circulation*. 1969 May;39(5 Suppl 1):I39-45
- ⁸⁶ Oh W, Somerville J, Ross DN, Ross KJ, Emanuel R. Mitral valve replacement with preserved cadaveric aortic homografts. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1973 May;65(5):712-21
- ⁸⁷ Hubka M, Siska K, Holec V. Replacement of the mitral valve with an aortic valve homograft implanted into the left atrium. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1967 Feb;53(2):260-7
- ⁸⁸ Hubka M, Holec V, Slezak J, Sventekova A. Experimental replacement of the mitral valve using an aortic valve homograft. *Rozhl Chir*. 1967 Mar;46(3):184-95
- ⁸⁹ Maliarikova O, Hubka M, Simkovic I, Smrecansky V. Congenital mitral valve stenosis treated by an aortic valve homograft. *Bratisl Lek Listy*. 1973;60(6):724-30
- ⁹⁰ Cohn LH, Edmunds LH. *Cardiac surgery in the adult*. Second Edition. McGRAW-HILL, Medical Publishing Division 2003: 867-888
- ⁹¹ Hubka M, Kay EB. Replacement of the mitral valve with a mitral or aortic valve homograft. *Bull Soc Int Chir*. 1969 May-Jun;28(3):359-65
- ⁹² Hubka M, Holec V, Slezak J, Sventekova A. Experimental replacement of the mitral valve using an aortic valve homograft. *Rozhl Chir*. 1967 Mar;46(3):184-95
- ⁹³ Hubka M. Homotransplantation of the cardiac valves. *Folia Biol (Praha)*. 1965;11(4):324-7
- ⁹⁴ Cachera JP, Salvatore L, Hermann TJ, Herbinet B: Reconstruction plastiques de l'appareil mitral chez auoyen de valves mitrale homologues conservees, *Ann Chir Thorac Cardiovasc* 1964, 3:494-501
- ⁹⁵ Rastelli GC, Berghius J, Stan JH: Evaluation of function of mitral valve after homotransplantation in the dog. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1965, 49:459-474
- ⁹⁶ Van Vliet PD, Titus JL, Berghisu J, Ellis HF. Morphologic features of homotransplanted canine mitral valves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1965, 49:504-510
- ⁹⁷ O'Brien MF, Gerdobe F. Homotransplantation of the mitral valve. Preliminary experimental report and review of the literature. *Aust and New Zealand J of Surg* 1964;34:81-88

-
- ⁹⁸ Bernard A Von, Ringdal R, Babotai I et al. Zür Homotransplantation der Mitralklappe. Technik und postoperative end funktionelle Resulte. *Torax-chirurgie* 1965;13:89-95
- ⁹⁹ Baird RJ, Williams WC, Spratt EH et al. Experimental homograft replacement of the mitral valve. *Canad J Surg* 1969;12:144-154
- ¹⁰⁰ Pappas G, Titus JL, Berghuis J et al. Dog mitral valve homografts and heterografts. *Surg Forum* 1966;17:175-176
- ¹⁰¹ Revuelta JM, Cagigas JC, Bernal JM et al. Partial replacement of the mitral valve by homografts: an experimental study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:1274-1279
- ¹⁰² Vetter HO, Dagge A, Liao K et al. Mitral allograft with chordal support: echocardiographic evaluation in Wheel. *J Heart Valve Dis* 1995;4:35-39
- ¹⁰³ Vetter H, Nerlich A, Welsch U, Liao K, Dagge A, Strenkert C, Reichart B. Total replacement of the mitral apparatus with a stentless, chordally supported mitral valve allograft: an experimental study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996 Mar;111(3):595-604
- ¹⁰⁴ Senning A, Largiader F: Homologe transplantation von mitralklappen bei menschen. Transplant atbeschaffung und erste anwendung. *Melsunger Medizinische Mitteilungen* 1967;41:79-84
- ¹⁰⁵ Huber R, Rothling M, Senning A. Spätresultate nach Atrioventrikularklappenersatz mit Mitralallotransplantat. *Thoraxchirurgie* 1975;23:33-38
- ¹⁰⁶ Okha S. Late results of valve replacement with biological grafts. *Nippon Kyoto Geko* 1973;5:499-509
- ¹⁰⁷ Sievers HH, Lange PE, Yankah AC et al. Allogeneous transplantation of the mitral valve. An open question. *Thorac Cardiovasc Surgeon* 1985;33:227-229
- ¹⁰⁸ Yankah AC, Hetzer R, Miller DC a spol. *Cardiac valve allografts 1962-1987: Current concepts on the use of aortic and pulmonary allografts for heart valve substitutes.* New York: Springer Verlag, 1988
- ¹⁰⁹ Vrandecic M, Gontijo BF, Fantini FA et al. Anatomically complete heterograft mitral valve substitute: surgical technique and immediate results. *J Heart Valve Dis* 1992;1:254-259
- ¹¹⁰ Vrandecic M, Gontijo B, Fantini F. Homograft replacement of the mitral valve. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996 Dec;112(6):1678-9
- ¹¹¹ Kumar AS, Trehan H. Homograft mitral valve replacement - a case report. *J Heart Valve Dis.* 1994 Sep;3(5):473-5
- ¹¹² Kumar AS, Kumar DA, Chander H, Saxena A. Experience with homograft mitral valve replacement. *J Heart Valve Dis.* 1998 Mar;7(2):225-8
- ¹¹³ Dossche K, Vanermen H, Wellens F. Partial mitral valve replacement with a mitral homograft in subacute endocarditis. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1994 Aug;42(4):240-2

-
- ¹¹⁴ Revuelta JM, Bernal JM, Rabasa JM. Partial homograft replacement of mitral valve. *Lancet*. 1994 Aug 20;344(8921):514
- ¹¹⁵ Acar C, Farge A, Ramsheyi A, Chachques JC, Mihaileanu S, Gouezo R, Gerota J, Carpentier AF. Mitral valve replacement using a cryopreserved mitral homograft. *Ann Thorac Surg*. 1994 Mar;57(3):746-8
- ¹¹⁶ Acar C, Berrebi A, Tolan M, Chachques JC. Partial mitral homograft: a new technique for mitral valve repair. *J Heart Valve Dis*. 1995 Nov;4(6):665-7; discussion 667-8
- ¹¹⁷ Acar C, Gaer J, Chauvaud S, Carpentier A. Technique of homograft replacement of the mitral valve. *J Heart Valve Dis*. 1995 Jan;4(1):31-4
- ¹¹⁸ Acar C, Tolan M, Berrebi A, Gaer J, Gouezo R, Marchix T, Gerota J, Chauvaud S, Fabiani JN, Deloche A, Carpentier A. Homograft replacement of the mitral valve. Graft selection, technique of implantation, and results in forty-three patients. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996 Feb; 111(2):367-78; discussion 378-80.
- ¹¹⁹ Acar C. Mitral valve homograft. *Adv Card Surg*. 1997;9:1-13. Review
- ¹²⁰ Acar C, Iung B, Cormier B, Grare P, Berrebi A, D'Attellis N, Acar J, Carpentier A. Double mitral homograft for recurrent bacterial endocarditis of the mitral and tricuspid valves. *J Heart Valve Dis*. 1994 Sep;3(5):470-2
- ¹²¹ Chauvaud S, Waldmann T, d'Attellis N, Bruneval P, Acar C, Gerota J, Jarraya M, Carpentier A. Homograft replacement of the mitral valve in young recipients: mid-term results. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2003 Apr;23(4):560-6
- ¹²² Radermecker MA, Canivet JL, Tambwe W, Lo Bue S, Francart D, Nelissen X, Larbuisson R, Limet R. Homograft mitral valve replacement *Rev Med Liege*. 2002 Jul;57(7):459-62.
- ¹²³ Gulbins H, Anderson I, Kilian E, Schrepfer S, Uhlig A, Kreuzer E, Reichart B. Five years of experience with mitral valve homografts. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2002 Aug;50(4):223-9.
- ¹²⁴ Robicsek F. The application of biological tissues in cardiac valve surgery. The history of the first two decades. *J Heart Valve Dis* 1994;3:613-626
- ¹²⁵ Pollock AV, Thomas V. Replacement of tricuspid cusp by homologous cusp in dogs. *Surg Gyn Obst* 1965;103:731-735
- ¹²⁶ Summa M, Donegani E, Zatlana G et al. Successful orthotopic transplantation of fresh tricuspid valve homograft in a human. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1407-1408
- ¹²⁷ Bernal JM, Rabasa JM, Cagigas JC, Val F, Revuelta JM. Behavior of mitral allografts in the tricuspid position in the growing sheep model. *Ann Thorac Surg*. 1998 May;65(5):1326-30
- ¹²⁸ Pomar JL, Mestres CA. Tricuspid valve replacement using a mitral homograft. Surgical technique and initial results. *J Heart Valve Dis*. 1993 Mar;2(2):125-8
- ¹²⁹ Elkins RC, Dawson PE, Goldstein S, Walsh SP, Black KS. Decellularized human valve allografts. *Ann Thorac Surg* 2002;71:S428-32

-
- ¹³⁰ Bechtel JF, Muller-Steinhardt M, Schmidtke C, Brunswik A, Stierle U, Sievers HH. Evaluation of the decellularized pulmonary valve homograft (SynerGraft). *J Heart Valve Dis* 2003;12:734-9
- ¹³¹ Simon P, Kasimir MT, Seebacher G, et al. Early failure of the tissue engineered porcine heart valve SYNERGRAFT in pediatric patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003;23:1002-6
- ¹³² Jockenhoevel S, Zund G, Hoerstrup PS, Chakani K, Sachweh JS, Demircan L, Menner BJ, Turina M. Fibrin gel – advantages of a new scaffold in cardiovascular tissue engineering. *Eur J Cardiothorac Surg* 19 (2001) 424-430
- ¹³³ Hoerstrup SP, Kadner A, Melnitchouk S, et al. Tissue engineering of functional trileaflet heart valves from human marrow stromal cells. *Circulation* 2002;106:I143-50
- ¹³⁴ Beneš J, Kabelková M, Džupová O, Vacek V, Helcl M, Myslivec O, Feuereisl R, Vondráček V. Infekční endokarditida - pacienti hospitalizovaní na Infekční klinice Fakultní nemocnice Bulovka v letech 1990-1999. *Cor Vasa* 2000;42(8):389-396
- ¹³⁵ Miro JM, Moreno A, Mestres CA. Infective Endocarditis in Intravenous Drug Abusers. *Curr Infect Dis Rep.* 2003 Aug;5(4):307-316
- ¹³⁶ Mathew J, Adai T, Nand A et al. Clinical features, site of involvement, bacteriologic findings, and outcome of infective endocarditis in intravenous drug users. *Arch Intern Med* 1995; 155:1641-8
- ¹³⁷ Miro JM, Del Rio A, Mestres CA. Infective endocarditis in intravenous drug abusers and HIV – 1 infected patients. *Infect Dis Clin North Am* 2002;16:273-97
- ¹³⁸ Veselka J, Honěk T, Špatenka J: *Získané chlopenní vady srdce*; Medcor Europe Publishing, 2000, 231-298
- ¹³⁹ Frontera JA, Gradon JD. Right-side endocarditis in injection drug users: Review of proposed mechanisms of pathogenesis. *Clin Infect Dis* 2000; 30:374-9
- ¹⁴⁰ Kabelková M, Beneš J, Helcl M, Příhodová J, Feuereisl R, Zeman J. Infekční endokarditidy u nitrožilních narkomanů. Pacienti hospitalizovaní na Infekční klinice Fakultní nemocnice Bulovka v letech 1981–2002. *Cor Vasa* 6/2004; 46(6):274 - 280
- ¹⁴¹ Frontera JA, Gradon JD. Right-side endocarditis in injection drug users: Review of proposed mechanisms of pathogenesis. *Clin Infect Dis* 2000; 30:374-9
- ¹⁴² Arbulu A, Holmes RJ, Asfaw I. Surgical treatment of intractable right-side endocarditis in drug addicts: 25 years' experience. *J Heart Valve Dis* 1993; 2:129-137
- ¹⁴³ Arbulu A: Trivalvular/Bivalvular heart: A philosophical, Scientific and therapeutic concept. *J Heart Valve Dis* 2000;9:353-358
- ¹⁴⁴ Sasaki H, Ihashi K, Ishikawa K. Sliding plasty using the triple-orifice technique for tricuspid endocarditis. *Ann Thorac Surg.* 2005 Aug;80(2):721-3

-
- ¹⁴⁵ Ide H, Ino T, Adachi H, Mizuhara A, Yamaguchi A, Kawahito K. A case report of tricuspid valve valvoplasty for tricuspid endocarditis. *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi*. 1994 Oct;42(10):1995-9
- ¹⁴⁶ Moon MR, Miller DC, Moore KA, et al: Treatment of endocarditis with valve replacement: the question of tissue versus mechanical prosthesis. *Ann Thorac Surg* 2001; 71:1164
- ¹⁴⁷ Haydock D, Barratt-Boyes B, Macedo T, et al: Aortic valve replacement for active infective endocarditis in 108 patients: a comparison of free-hand allograft valves with mechanical prostheses and bioprostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103:130
- ¹⁴⁸ Špatenka J, Honěk T, Kostelka M, Hučín B, Fišer B., Hájek T, Povýšilová V, Kobyłka P. Harvesting the heart for preparation of heart valve allografts. *Rozhl Chir* 1997; 76: 113-7
- ¹⁴⁹ Špatenka J., Kostelka M., Kobyłka P., Hučín B., Honěk T., Lochman O., Hájek T., Tláskal T., Povýšilová V., Fišer B. Preparation, storage, transportation and use of heart valves for allotransplantation. *Rozhl Chir* 1997;76:118-25
- ¹⁵⁰ National Institutes of Health. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Available on line at: <http://www.nap.edu/readingroom/books/labrats>.
- ¹⁵¹ Ramsheyi SA, Pargaonkar S, Lassau JP, Acar C. Morphologic classification of the mitral papillary muscles. *J Heart Valve Dis*. 1996 Sep;5(5):472-6
- ¹⁵² Vojáček J, Mokráček A, Špatenka J, Vambera M, Šulda M, Šetina M, Pavel P, Burkert J, Pepper J. Implantation of cryopreserved mitral allograft into the tricuspid position in an experimental study in sheep: Technical aspects of implantation and immediate results evaluated by epicardial echocardiography. *Zentralbl Chir* 2006 – v tisku
- ¹⁵³ Pomar JL, Mestres CA, Pare JC, Miro JM. Management of persistent tricuspid endocarditis with transplantation of cryopreserved mitral homografts. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1994 Jun;107(6):1460-3
- ¹⁵⁴ Mestres CA, Miro JM, Pare JC, Pomar JL. Six-year experience with cryopreserved mitral homografts in the treatment of tricuspid valve endocarditis in HIV – infected drug addicts. *J Heart Valve Dis* 1999; 8:575-577
- ¹⁵⁵ Concha M, Aranda PJ, Casares J, Merino C, Munoz I, Alados P, Gonzalez JR, Romo E. Mitral homograft in the tricuspid position, aortic homograft and mitral plasty in a drug addict with multiple valve endocarditis. *J Heart Valve Dis*. 2003 Sep;12(5):659-63
- ¹⁵⁶ Grinda JM, Zegdi R, Leroux R, Deloche A. Tricuspid bioprostheses replacement with cryopreserved mitral homograft. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2002 Apr;21(4):763-4
- ¹⁵⁷ Hvass U, Baron F, Fourchy D, Pansard Y. Mitral homografts for total tricuspid valve replacement: comparison of two techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 121:592-4

-
- ¹⁵⁸ Miyagishima RT, Brumwell ML, Jamieson WRE, Munt BI. Tricuspid valve replacement using a cryopreserved mitral homograft. Surgical technique and initial results. *J Heart Valve Dis* 2000;9:805-8
- ¹⁵⁹ Katsumata T, Westaby S. Mitral homograft replacement of the tricuspid valve for endocarditis. *Ann Thorac Surg*. 1997 May;63(5):1480-2
- ¹⁶⁰ Ramsheyi A, D'Attellis N, Le Lostec Z, Fegueux S, Acar C. Partial mitral homograft for tricuspid valve repair. *Ann Thorac Surg*. 1997 Nov;64(5):1486-8
- ¹⁶¹ Couetil JP, Argyriadis PG, Shafy A, Cohen A, Berrebi AJ, Loulmet DF, Chachques JC, Carpentier AF. Partial replacement of the tricuspid valve by mitral homografts in acute endocarditis. *Ann Thorac Surg*. 2002 Jun;73(6):1808-12
- ¹⁶² Kalangos A, Sierra J, Beghetti M, Trigo-Trindade P, Vala D, Christenson J. Tricuspid valve replacement with a mitral homograft in children with rheumatic tricuspid valvulopathy. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004 Jun;127(6):1682-7
- ¹⁶³ Alharethi R, Shaddy RE, Doty DB, Moore SA, Hammond ME, Dabbas B, Fuller TC, Renlund DG. Early failure of a tricuspid valve replacement with a mitral valve homograft in a heart transplant recipient. *J Heart Lung Transplant*. 2004 Dec;23(12):1460-2.
- ¹⁶⁴ Revuelta JM, Bernal JM, Rabasa JM. Transvalvular technique for implantation of a mitral valve homograft. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996, 111:281-282
- ¹⁶⁵ Tamura K, Jones M, Yamada I, Ferrans VJ. A comparison of failure modes of glutaraldehyde-treated versus antibiotic-preserved mitral valve allografts implanted in sheep. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1995 Jul;110(1):224-38
- ¹⁶⁶ Jones M, Barnhart GR, Chavez AM, et al. Experimental evaluation of bioprosthetic valves implanted in sheep. In: Cohn LH, Gallucci V, eds. *Cardiac bioprostheses*. New York: York Medical Books, 1982:275-92
- ¹⁶⁷ Barnhart GR, Jones M, Ishihara T, Chavez AM, Rose DM, Ferrans VJ. Bioprosthetic valvular failure. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982;83:618-31
- ¹⁶⁸ Carpentier A, Lemaigre G, Robert L, Carpentier S, Dubost C. Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1969;58:467-83
- ¹⁶⁹ Ferrans VJ, Boyce SW, Billingham ME, Jones M, Ishihara T, Roberts WC. Calcific deposits in porcine bioprostheses: structure and pathogenesis. *Am J Cardiol* 1980;46:721-34
- ¹⁷⁰ Gavin JB, Herdson PB, Monro JL, Barratt-Boyes BG. Pathology of antibiotic-treated human heart valve allografts. *Thorax* 1973;28:473-81
- ¹⁷¹ Ali M, Iung B, Lansac E, Bruneval P, Acar C. Homograft replacement of the mitral valve: eight-year results. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004 Oct;128(4):529-34
- ¹⁷² Kumar AS, Choudhary SK, Mathur A, Saxena A, Roy R, Chopra P. Homograft mitral valve replacement: five years' results. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2000 Sep;120(3):450-8

-
- ¹⁷³ Ray R, Choudhary SK, Kumar AS. Pathological aspects of explanted homograft mitral valve. *Cardiovasc Pathol*. 2002 May-Jun;11(3):177-80
- ¹⁷⁴ Doty DB, Flores JH, Doty JR, Millar RC. Mitral valve replacement with homograft. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 1999 Oct;11(4 Suppl 1):191-3
- ¹⁷⁵ Carrier M, Hebert Y, Pellerin M, et al. Tricuspid valve replacement: an analysis of 25 years of experience at a single center. *Ann Thorac Surg* 2003;75:47–50
- ¹⁷⁶ Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, et al. Meta-analysis of observational studies in epidemiology. *JAMA* 2000;283:2008–12
- ¹⁷⁷ Scully HE, Armstrong CS. Tricuspid valve replacement. Fifteen years of experience with mechanical prostheses and bioprostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109:1035–41
- ¹⁷⁸ Rizoli G, Vendramin I, Nesseris G, Bortil T, Guglielmi C, Schiavon L. Biological or mechanical prostheses in tricuspid position? A meta-analysis of intra-institutional results. *Ann Thorac Surg*;77:106-14
- ¹⁷⁹ Van Nooten G J, Caes F, Taeymans Y, et al. Tricuspid valve replacement: postoperative and long term results. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:672–9
- ¹⁸⁰ Scully HE, Armstrong CS. Tricuspid valve replacement. Fifteen years of experience with mechanical prostheses and bioprostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109:1035–41
- ¹⁸¹ Munro AI, Jamieson WR, Tyers GF, Germann E. Tricuspid valve replacement: porcine bioprostheses and mechanical prostheses. *Ann Thorac Surg* 1995;60:S470–3
- ¹⁸² Ratnatunga CP, Edwards MB, Dore CJ, Taylor KM. Tricuspid valve replacement: UK Heart Valve Registry mid-term results comparing mechanical and biological prostheses. *Ann Thorac Surg* 1998;66:1940–7
- ¹⁸³ Dalrymple Hay MJ, Leung Y, Ohri SK, et al. Tricuspid valve replacement: bioprostheses are preferable. *J Heart Valve Dis* 1999;8:644–8
- ¹⁸⁴ Kaplan M, Kut MS, Demirtas MM, Cimen S, Ozler A. Prosthetic replacement of tricuspid valve: bioprosthetic or mechanical. *Ann Thorac Surg* 2002; 73:467-73
- ¹⁸⁵ Glower DD, White WD, Smith LR, Zouny WG, Oldham HN, Wolfe WG, Lowe JE. In-hospital and long-term outcome after porcine tricuspid valve replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109:877-83
- ¹⁸⁶ Nakano K, Ishibashi-Ueda H, Kobayashi J, Sasako Y, Yagihara T. Tricuspid valve replacement with bioprostheses: long-term results and causes of valve dysfunction. *Ann Thorac Surg* 2001; 71:105-109
- ¹⁸⁷ Yankah AC, Yacoub MH, Hetzer R. Cardiac valve allografts: Science and practice. Springer, 1997: 99-108