

Levélcím: I. sz. Belgyógyászati Klinika, 6701 Szeged, Korányi fasor 8-10.

A kutatási terv közérdekű adatainak kivonata

beavatkozással járó vizsgálatok¹ számára²

A kitöltött nyomtatvány adatait az etikai véleményt adó Regionális Kutatásetikai Bizottságnak korlátozás nélkül hozzáférhetővé kell tennie bárki számára.

A kutatás-fejlesztési tevékenység során létrejövő szellemi javakat Magyarországon több törvény is védi.³ Ugyanakkor a Helsinki Nyilatkozat 16. pontja, az Ovideoi Egyezményt hatályba léptető 2002. évi VI. törvény, és az orvosi kutatások végzéséről szóló miniszteri rendelet az emberen végzett orvosi kutatások etikus folytatása érdekében megkövetelik az etikai bizottságoktól, hogy a közvéleményt tájékoztassák az általuk véleményezett kutatások fontosabb adatairól. A közvélemény tájékoztatásának célja: az etikai bizottság munkájának nyilvánossága, a kutatások alanyai alapvető emberi jogainak biztosítása.

A 2007. III. 10-től hatályos 1/2007. (I. 24.) EüM rendelettel módosított 23/2002. (V. 9.) EüM rendelet szerint az alább felsorolt, a kutatási tervben megtalálható adatok közérdekű adatok, amelyeket bárki korlátozás nélkül megismerhet. Kérjük, hogy a szellemi alkotások oltalmának védelmét is szem előtt tartva, a nem nyilvános kutatási terv alapján töltsék ki ezt a táblázatot. A közvélemény és az alanyok tisztessége, lényegre törő tájékoztatását tartsa elsődleges szempontnak. A kutatási terv szakmai-etikai jóváhagyása után, az etikai bizottság a saját honlapján minden érdeklődő számára közzé teheti az itt megadott közérdekű adatokat. **Szakmai vagy szolgálati titoknak minősülő, illetve a kutatás érdekeit veszélyeztető adatot ne közöljön!**

A téma megnevezése (nem kell, hogy megegyezzen a kutatási protokoll címével)

A hemosztázis elváltozásainak vizsgálata a szívsebészeti perioperatív ellátás során

A kérelem iktatási száma: 275/2018-SZTE

A kérelmező neve, munkaköre és beosztása:

Prof. Dr. Babik Barna, aneszteziológus, egyetemi tanár, SZTE, AITI

1. A kutatás célja, indokoltsága és várható eredményének összefoglalása

A szívsebészeti ellátás morbiditásának és mortalitásának csökkentése céljából a vérárvadási rendszer élettanának, kórélettanának, valamint az akut (azonnali) perioperatív

¹ A 23/2002. (V. 9.) számú EüM rendelet 20/B. § g) és h) pontjai szerint:

g.) *beavatkozással járó vizsgálat (interventional trial)*: fizikai beavatkozással járó orvostudományi kutatás és minden olyan beavatkozással járó kutatás, amely a vizsgálati alany lelki egészségére nézve kockázattal jár

² Ez a nyomtatvány a 23/2002. (V. 9.) számú EüM rendelet 8. § (3) és (4) bekezdéseinek 2008. szeptember 1-jén hatályos szövege alapján készült.

³ A találmányok szabadalmi oltalmáról szóló 1995. évi XXXIII. törvény, a szerzői jogról szóló 1999. évi LXXVI. törvény.

diagnosztikus és terápiás klinikai lépések ismerete nélkülözhetetlen. A primér, szekundér, terciér hemosztázis prothrombotikus és antithrombotikus folyamatai egyensúlyi helyzetének helyreállítása, illetve megtartása egyszerre fontos a vérvesztés csökkentése és a felhasznált allogén transzfúziós készítmények megtakarítása céljából [1]. A szívsebészeti perioperatív hemosztázis klinikai megjelenését jelentősen befolyásolhatják a véralvadást érintő megbetegedések, a műtéti időszakra terjedő hemosztatikus gyógyszeres kezelések, és bizonyos rendszerbetegségek, mint diabetes mellitus [2-4]. A vérzéses szövődmények és a nagy mennyiségű allogén transzfúzió jelentősen növelik a perioperatív szívsebészeti mortalitást és morbiditást [5, 6] így csökkentésük alapvető sebészi és aneszteziológiai feladat [7].

1. Intraoperatív allogén vérmegtakarítás néhány eszköze

A. Intraoperatív vérmentés (cell saver)

A műtét közben lehetséges a steril műtéti területre kiömlő vér mennyiségében és minőségében részleges megmentése. Különböző sebészi beavatkozások és manőverek mellett a műtéti területre került vér mintegy fele a cell saver alkalmazásával a retranszfúziós procedúrába vonható, és menthetővé válik a beteg számára [8, 9]. A technikával jelentősen csökkenthető az idegen vér felhasználás az érsebészetben [10], ortopédiában [11], szívsebészetben [12]. A cell saver működéséből fakadó lehetséges problémaként jelentkezhet azonban dilucionális koagulopáthia [13, 14], mert a mentett vér plazmája a jelenlegi gyakorlat szerint a mosófolyadékkal kidobásra kerül.

B. Ultrafiltráció

Az ultrafiltráció (UF) a vértisztító eljárások egyik csoportját képezi, a szívsebészeti klinikai gyakorlatban elterjedt áttételes vérmentő technika [15, 16]. Az UF segítségével a víz, az elektrolitok, és bizonyos kis molekula-súlyú szerves anyagok, mint pl. a gyulladáshoz vezető mediátorok gyorsan és egyszerűen eltávolíthatóak a vérből [15, 17].

C. Intraoperatív akut normovolémiás hemodilúció

Shívsebészeti beavatkozások során, cardiopulmonális bypass (CPB) előtt alkalmazott intraoperatív akut normovolémiás hemodilúció (ANH) csökkenti az alakos elemek károsodását CPB alatt, ezért ANH alkalmazásával csökken a CPB utáni hemolízis, a véralvadási zavar, és a szisztémás gyulladáshoz vezető válaszreakció. Az ANH során a levett friss, teljes saját vért CPDA-1 tartalmú standard zsákokban, szobahőmérsékleten tároljuk kb. 2-3 óra hosszúra, majd az autológ friss teljes vér a CPB sikeres megszüntetése után, még a műtőben retranszfúzióra kerül. Az esetek egy részében, ha kevés idő áll rendelkezésre a CPB előtt, akkor a beteg már a vérdonáció közben már megkapja a CPB alatti antikoagulációhoz feltétlenül szükséges 3 mg/kg heparint, következésképpen a CPDA-1 tartalmú tasakba levett vér ebben az esetben heparint is tartalmaz.

Ismert ugyanakkor, hogy a heparin mellékhatása lehet a ritka immunmediált thrombocytopenia (HIT-2) [18], a gyakoribb, nem immunmediált thrombocytopenia (HIT-1), és a thrombocyták aktiváció [19, 20]. Utóbbi során a heparin kapcsolódik a thrombocyták α IIB β 3 (régiesen GP IIB-IIIa-nak nevezett) receptorához [21-23], annak az egy molekuláris clusterben elhelyezkedő α IIB alegységéhez [21]. Az α IIB β 3 receptor

bidirekcionális receptor [24, 25], így képes outside-in-, és inside-out szignál-út vonal közvetítésére egyaránt. A heparin kapcsolódás önmagában nem elég a thrombocytá teljes aktiválásához, de elindíthatja, illetve felerősítheti azt [21]. Ez a heparinhoz kötött aktivációs augmentáció szerepet játszhat a thrombocytá aktivációban arteriosclerosisban, akut miokardiális infarktus után [26].

Szívsebészeti beavatkozások alatt, heparin melletti ANH után a thrombocytá funkció nem jobb, mint a perfuzatumból (CPB-n lévő betegből) vett vérminta thrombocytá funkciója [27]. Ezzel szemben, állat modellben (juhok), CPDA-1 tartósítással vett teljes vérben a thrombocyták funkciója impedancia- és turbidimetrikus aggregometriával valamint rezonancia thrombográfiával szobahőmérsékleten tárolva 24 óráig megtartottak voltak [28].

2. Hemosztázis reszuszcitáció életveszélyes perioperatív vérzések során, CPB után

Életveszélyes perioperatív vérzések során a szöveti sérülés, vérzésem sokk, és következményes, akut, korai koagulopátia a beteg életét közvetlenül fenyegeti. A szívsebészeti ellátásban a súlyos vérzések előfordulása 2-24,1% [5, 29, 30]. A súlyos vérzésem szövödményt szenvedett szívsebészeti betegek száma a teljes beteglétszámhoz viszonyítva alacsony, ellátásuk azonban igen jelentős emberi és anyagi erőforrást köt le. A transzfúziós készítmények 10 %-a szív-mellkasebészeti környezetben kerül felhasználásra, ennek a nagy vérmennyiségnek a 90%-t viszont csak a betegek 10%-a kapta [31]. A vérzésem szövödmények jelentősen növelik a periprocedurális morbiditást valószínűségét, és magukkal vonják a kórházi költségek emelkedését. A súlyos periprocedurális vérzések hozzájárultak ahhoz a világszerte érvényesülő tendenciához, hogy 1997-2008 között a transzfúziós beavatkozások száma 50 %-kal megnőtt [32].

A nemzetközi transzfúziológiai gyakorlatban 2008-ben azonban csökkenésnek indult a transzfúzióra került allogén készítmények mennyisége, a tendencia azóta is fennáll [32]. Az alapvető változás több, de egy irányba ható innovatív törekvés együttes hatásának tulajdonítható, melyek a Patient Blood Management (PBM) multimodális koncepció keretein belül értelmezhetőek [33]. A PBM részét képezi a korai, célvezérelt hemosztázis reszuszcitáció (EGD HR), mely paradigma váltást jelent a periprocedurális masszív vérzések nemzetközi és hazai klinikai ellátásában. A teranosztikus klinikusi alapállást tükröző EGD HR meghatározó két meghatározó eleme, hogy széles körben elterjedtek a műtőasztal/betegágy melletti viszkoelasztikus véralvadási tesztek [34, 35], és a stabil koagulációs faktor-koncentrátum készítmények [36, 37]. Az EGD HR elve és gyakorlata már alapgondolatként jelenik meg a masszív perioperatív ellátásról szóló, napjainkban érvényes, 2013-ban kiadott magyar [1], és a 2016-ban kiadott, európai irányelvben [38]. Ezek egyértelművé teszik, hogy egy súlyosan vérző beteg fibrinogén szintjét a nagy mennyiségű FFP segítségével csak tartani lehet, de a vérszintjét megemelni, azaz pótolni a veszteségeket csak fibrinogén koncentrátummal lehetséges [38]. Az EGD HR lényege tehát a minél előbb megkezdett, VE POC teszteken alapuló, tradicionális vizsgálatokkal kiegészített hemosztázis diagnosztika, valamint a faktor koncentrátumokkal végzett hemosztázis reszuszcitáció, mely a veszteségeket célzottan pótolva kezel, és további veszteségeket megelőz [2]. A stabil véralvadási faktorok és viszkoelasztikus koagulációs POC tesztek alkalmazásával a szívsebészetben csökkent a perioperatív vérzés és az allogén transzfúziós igény mennyisége [6, 34, 39, 40].

Míndezek alapján, a vizsgálat alapkérdései a szívsebészeti perioperatív allogén transzfúzió megtakarítására, és a vérzéses szövődmények kezelésére valamint megelőzésére irányulnak. Irodalmi adatok alapján feltételezzük, hogy:

- i. cell saver mosófolyadékának ultrafiltrálásával a plazma különböző fehérjéi a krisztalloid frakciótól különválaszthatóak, és a plazmára jellemző elektrolit és kolloid összetételű saját plazma frakció is menthetővé válik;
- ii. az *ex vivo* saját plazma nem tartalmaz aktivált szöveti faktort, mely a véralvadás extrinsic triggere, mert annak molekulásúlya 48 000 D, így az, ha volt is a mentett vérben, az ultrafiltrátumba kerül, vagy a filter megköti;
- iii. heparin kontamináció a thrombocyták funkcióját, ezen keresztül az ANH hatásosságát rontja, ezzel szemben CPDA-1 tartósítóval antikoagulált heparin mentes, friss, teljes, saját vérben a vérlemezkék funkciója megtartott marad;
- iv. korai, célvezérelt hemosztázis reszuszcitáció segítségével a hemosztázis percekén belül szignifikáns javulást okoz összetett, nyitott szívműtétek után

2. A kutatás tudományos megalapozottságát, indokoltságát megalapozó irodalmi hivatkozások megjelölése (elegendő a kutatás irányát jelző néhány irodalmi hivatkozás)

Irodalom

- [1] Babik BF, J. et al. Az életveszélyes perioperatív vérzések ellátása. MAITT irányelv. 2013;
- [2] Babik B. A véralvadási rendszer adaptációja terhességben: a hemosztázisreszuszcitáció természetes modellje masszív vérzésben. *Aneszteziol Intenz Ter.* 2017; 47: 9-23.
- [3] Babik B. Csak öltés és töltés, vagy több? A perioperatív véralvadás klinikai élettana I. *Aneszteziológia és intenzív terápia.* 2015; 45: 24-37.
- [4] Babik B. Csak öltés és töltés vagy több? A perioperatív véralvadás klinikai élettana II. *Aneszteziológia és Intenzív Terápia.* 2015; 45: 98-107.
- [5] Petrou A, Tzimas P and Siminelakis S. Massive bleeding in cardiac surgery. Definitions, predictors and challenges. *Hippokratia.* 2016; 20: 179-186.
- [6] Ranucci M and Baryshnikova E. Fibrinogen supplementation after cardiac surgery: insights from the Zero-Plasma trial (ZEPLAST). *Br J Anaesth.* 2016; 116: 618-23.
- [7] Gorlinger K, Shore-Lesserson L, Dirkmann D, et al. Management of hemorrhage in cardiothoracic surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2013; 27: S20-34.
- [8] Sikorski RA, Rizkalla NA, Yang WW, et al. Autologous blood salvage in the era of patient blood management. *Vox Sang.* 2017; 112: 499-510.
- [9] Waters JH, Lee JS and Karafa MT. A mathematical model of cell salvage efficiency. *Anesth Analg.* 2002; 95: 1312-7, table of contents.
- [10] Takagi H, Sekino S, Kato T, et al. Intraoperative autotransfusion in abdominal aortic aneurysm surgery: meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Surg.* 2007; 142: 1098-101.
- [11] Sinclair KC, Clarke HD and Noble BN. Blood management in total knee arthroplasty: a comparison of techniques. *Orthopedics.* 2009; 32: 19.
- [12] Wang G, Bainbridge D, Martin J, et al. The efficacy of an intraoperative cell saver during cardiac surgery: a meta-analysis of randomized trials. *Anesth Analg.* 2009; 109: 320-30.
- [13] Rollins KE, Trim NL, Luddington RJ, et al. Coagulopathy associated with massive cell salvage transfusion following aortic surgery. *Perfusion.* 2012; 27: 30-3.
- [14] Rudra P and Basak S. Coagulopathy during intraoperative cell salvage in a patient with major obstetric haemorrhage. *Br J Anaesth.* 2011; 106: 280-1.
- [15] Tassani P, Richter JA, Eising GP, et al. Influence of combined zero-balanced and modified ultrafiltration on the systemic inflammatory response during coronary artery bypass grafting. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1999; 13: 285-91.
- [16] Nalesso F, Garzotto F and Ronco C. Technical aspects of extracorporeal ultrafiltration: mechanisms, monitoring and dedicated technology. *Contrib Nephrol.* 2010; 164: 199-208.
- [17] Mongero L, Stammers A, Tesdahl E, et al. The effect of ultrafiltration on end-cardiopulmonary bypass hematocrit during cardiac surgery. *Perfusion.* 2018; 33: 367-374.
- [18] Greinacher A, Selleng K and Warkentin TE. Autoimmune heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost.* 2017; 15: 2099-2114.
- [19] Kelton JG and Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: a historical perspective. *Blood.* 2008; 112: 2607-16.
- [20] Capodanno D, Musumeci G, Lettieri C, et al. Impact of bridging with

- perioperative low-molecular-weight heparin on cardiac and bleeding outcomes of stented patients undergoing non-cardiac surgery. *Thromb Haemost.* 2015; 114: 423-31.
- [21] Yagi M, Murray J, Strand K, et al. Heparin modulates the conformation and signaling of platelet integrin α IIb β 3. *Thromb Res.* 2012; 129: 743-9.
- [22] Sobel M, Fish WR, Toma N, et al. Heparin modulates integrin function in human platelets. *J Vasc Surg.* 2001; 33: 587-94.
- [23] Gao C, Boylan B, Fang J, et al. Heparin promotes platelet responsiveness by potentiating α IIb β 3-mediated outside-in signaling. *Blood.* 2011; 117: 4946-52.
- [24] Bennett JS, Berger BW and Billings PC. The structure and function of platelet integrins. *J Thromb Haemost.* 2009; 7 Suppl 1: 200-5.
- [25] Li Z, Delaney MK, O'Brien KA, et al. Signaling during platelet adhesion and activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30: 2341-9.
- [26] Mikhailidis DP, Barradas MA, O'Donoghue S, et al. Evidence for in vivo Platelet Activation Following the Injection of Conventional Unfractionated Heparin. *Platelets.* 1990; 1: 189-92.
- [27] Gallandat Huet RC, de Vries AJ, Cernak V, et al. Platelet function in stored heparinised autologous blood is not superior to in patient platelet function during routine cardiopulmonary bypass. *PLoS One.* 2012; 7: e33686.
- [28] Baumgarten A, Wilhelmi M, Ganter M, et al. Changes of platelet function and blood coagulation during short-term storage of CPDA-1-stabilised ovine blood. *Res Vet Sci.* 2011; 91: 150-8.
- [29] Thiele RH and Raphael J. A 2014 Update on Coagulation Management for Cardiopulmonary Bypass. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* 2014; 18: 177-89.
- [30] Karkouti K, Callum J, Wijeyesundera DN, et al. Point-of-Care Hemostatic Testing in Cardiac Surgery: A Stepped-Wedge Clustered Randomized Controlled Trial. *Circulation.* 2016; 134: 1152-1162.
- [31] Besser MW, Ortmann E and Klein AA. Haemostatic management of cardiac surgical haemorrhage. *Anaesthesia.* 2015; 70 Suppl 1: 87-95, e29-31.
- [32] Ellingson KD, Sapiano MRP, Haass KA, et al. Continued decline in blood collection and transfusion in the United States-2015. *Transfusion.* 2017; 57 Suppl 2: 1588-1598.
- [33] Beckman N, Yazer M, Land K, et al. Blood banks meet the paradox of Gabriel's Horn: what are the options to maintain supply as demand decreases? *Transfus Med.* 2016; 26: 170-6.
- [34] Bolliger D and Tanaka KA. Point-of-Care Coagulation Testing in Cardiac Surgery. *Semin Thromb Hemost.* 2017; 43: 386-396.
- [35] Schochl H, Maegele M, Solomon C, et al. Early and individualized goal-directed therapy for trauma-induced coagulopathy. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2012; 20: 15.
- [36] Costa-Filho R, Hochleitner G, Wendt M, et al. Over 50 Years of Fibrinogen Concentrate. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016; 22: 109-14.
- [37] Franchini M and Lippi G. Prothrombin complex concentrates: an update. *Blood Transfus.* 2010; 8: 149-54.
- [38] Kozek-Langenecker SA, Ahmed AB, Afshari A, et al. Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology: First update 2016. *Eur J Anaesthesiol.* 2017; 34: 332-395.
- [39] Deppe AC, Weber C, Zimmermann J, et al. Point-of-care thromboelastography/thromboelastometry-based coagulation management in

- cardiac surgery: a meta-analysis of 8332 patients. *J Surg Res.* 2016; 203: 424-33.
- [40] Weber CF, Gorlinger K, Meininger D, et al. Point-of-care testing: a prospective, randomized clinical trial of efficacy in coagulopathic cardiac surgery patients. *Anesthesiology.* 2012; 117: 531-47.
- [41] Hartert H. [Not Available]. *Klin Wochenschr.* 1948; 26: 577-83.
- [42] Briggs C, Guthrie D, Hyde K, et al. Guidelines for point-of-care testing: haematology. *Br J Haematol.* 2008; 142: 904-15.
- [43] Grottke O, Henzler D and Rossaint R. Use of blood and blood products in trauma. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2007; 21: 257-70.
- [44] Paniccia R, Priora R, Liotta AA, et al. Platelet function tests: a comparative review. *Vasc Health Risk Manag.* 2015; 11: 133-48.
- [45] Janssen PW and ten Berg JM. Platelet function testing and tailored antiplatelet therapy. *J Cardiovasc Transl Res.* 2013; 6: 316-28.
- [46] Mukherjee S, Duan F, Kolb MR, et al. Platelet derived growth factor-evoked Ca²⁺ wave and matrix gene expression through phospholipase C in human pulmonary fibroblast. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013; 45: 1516-24.
- [47] Carless PA, Henry DA, Moxey AJ, et al. Cell salvage for minimising perioperative allogeneic blood transfusion. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; CD001888.

3. A résztvevők toborzásának, beválasztásának, kizárásának rendszere

- A heparin hatását a thrombocytá funkcióra vérdonáció során, a klinikai paraméterek alapján akut normovolémiás hemodilúciós kezelésben részesülő betegek körében kívánjuk vizsgálni. A betegeket prospektív konszekutív vizsgálati elrendezésben kívánjuk bevonni. A betegek felében a vérdonáció meg a heparin beadása előtt befejeződik, a másik csoportot azon betegek képezik, akiknél a műtét menete miatt a vérdonáció a CPB előtt, de már a heparin beadását követően történik meg.
- A saját plazma esetleges megmenthetőségének lehetőségét klinikai szempontból indokolt, rutin cell saver kezelésben részesülő betegek jelenleg kidobásra kerülő mosófolyadékának további, *in vitro* feldolgozásával kívánjuk elemezni. A vizsgálati céllal létrehozott plazma-frakció jelen munka során kizárólag vizsgálati célokat szolgál, a saját plazma-frakció visszaadhatóságára vonatkozó távlati törekvésekre irányul.
- A korai, célvezérelt hemosztázis reszuszcitáció hatékonyságát kiterjesztett nyitott szívűműtétek során, a CPB után, prospektív konszekutív vizsgálati elrendezésben kívánjuk vizsgálni.

4. A kutatásba bevonni kívánt résztvevők száma (összesen és kutatóhelyenként), neme, életkora

Az összes vizsgálati protokoll végrehajtásához szükséges betegcsoportok osztályunkon várhatóan 3 év alatt elérik a kívánt számot:

- 20 akut normovolémiás hemodilúciós kezelésben részesülő beteg

- 12 cell saver kezelésben részesülő beteg
- 12 kiterjesztett, nyitott szívűműtetre kerülő beteg, akinek a valódi, vagy potenciális súlyos életveszélyes vérzését korai, célvezérelt hemosztázis reszuszcitációval kezeljük, illetve ezzel a klinikai megközelítéssel végezzük a további vérzések szekunder prevencióját.

5. A kutatás módszerei

A hemosztázisra irányuló tesztek

Betegágy melletti hemosztatikus vizsgálatok

A) Viszkoelasztikus tesztek

A viszkoelasztometrián alapuló thromboelastographiát (TEG) 1948-ban írta le először Hartert [41], de módszere nem terjedt el a klinikai gyakorlatban. A monitorozási technika évtizedekkel később keltett érdeklődést szélesebb körben, az eredeti TEG mellett megjelent a rotációs thromboelastometria (ROTEM), (TEM International, München, Németország) is. A ROTEM formális technikai újításait licenszjogi kérdések indokolták, a ROTEM által alkalmazott számítógépes adatfeldolgozás viszont valódi és hasznos újításnak tekinthető. A hemosztázis reszuszcitáció hatásosságának felmérése során ROTEM-t kívánunk alkalmazni.

A ROTEM betegágy mellett végezhető (POC) diagnosztikus teszt [42]. A módszer technikailag a teljes vér viszkoelaszticitásának valós idejű változását vizsgálja az alvadék kialakulásának, illetve ennek esetleges feloldódásának folyamata során, a v. cava-ban jellemző nyíródási stresszt generáló áramlási viszonyok, és állandó 37 °C mellett, *ex vivo*. A viszkoelasztikus vizsgálatok során különféle ágenseket tartalmazó vizsgáló-küvettek használata is lehetővé válik, így többféle véralvadást indító trigger hatás modellezhető, és bizonyos kórélettani elváltozások, illetve gyógyszerhatások feltérképezhetővé válnak. A dinamikus véralvadási tesztek gyorsan elérhető, jól ábrázolható és feldolgozható, grafikus és numerikus adatokat eredményeznek [34, 35, 39, 43].

A ROTEM működési elvét tekintve viszkoelasztométer. A vért tartalmazó küvetta fix, függőleges pozícióban van, a mérés során egy golyóscsapágyba ágyazott, rotációra képes tű merül függőlegesen a vérbe. A tűt állandó erőhatás folyamatos, lassú sebességgel oszcillálja, a kitérés 4° 75' 6 másodperc alatt. Ha a vér alvadni kezd, tehát sol állapotból géll állapotba megy át, akkor a tű kitérése akadályozottá válik, amit egy optikai rendszer érzékel. A fény foto-elektromos jelátalakító (CCD) révén elektromos jellé alakul, majd további feldolgozásra kerül. A ROTEM mozgó alkatrészének kitérései tehát a klasszikus TEG kitérésekkel megfeleltethetőek, de inverz változásokat adnak, hiszen először nagy amplitúdóval mozognak, alvadás után lassulnak, ebből következően vízszintes tükrözés után hasonlítanak a TEG-re és a klinikus számára könnyen értékelhetővé válnak [39].

A betegből vett teljes vért citrátot tartalmazó csöbe vesszük le. A mérés során a citrátos vérből 0,34 ml-t adagolunk automata pipettával a küvetta, melyben a citrát hatása rekalcifikálással azonnal közömbösítésre kerül, így az alvadás el tud indulni. Különböző típusú küvettek állnak rendelkezésre, mellyel a véralvadást extrinsic vagy intrinsic úton

lehet indítani. A véralvadás részfolyamatai modellezhetővé és jellemezhetővé válnak, így a fibrinogén szint, a fibrinolízis, heparin hatás szeparáltan vizsgálható. A hemosztatikus folyamatoknak a jellemzésére jelenleg ötféle standard ROTEM küvetta áll rendelkezésre, az INTEM, EXTEM, HEPTEM, FIBTEM, és APTEM vizsgálatoknak megfelelően (1. táblázat) [34, 35, 39].

A viszkoelasztogramot, mint mechanogramot foto-elektromos úton leképező görbe különböző szakaszokra bontható. A szakaszok hosszúsága időben kifejezve, illetve a kitérések mértéke milliméterben megadva jellemzi a normális és kóros alvadási, illetve alvadék feloldódási folyamatok erősségét és kinetikáját (1. ábra). A ROTEM technika által leképezett viszkoelasztikus változásokból a következő paramétereknek tulajdonítható élettani, kórélettani, klinikai jelentőség.

- A mérés indulása után kezdődő, zero (2mm-nél kisebb) kitérésnek megfelelő vonal az alvadási idő (Clotting Time, CT), mely élettanilag az alvadási folyamat inicializációját, tehát a szignál-thrombin kialakulását foglalja magába, tehát a fibrinszálak megjelenéséig tart. Megnyúlása klinikai szempontból alvadási faktor hiány és/vagy farmakológiai antikoagulációs hatás következménye. Normálértéke INTEM esetén 100-240 s, EXTEM esetén 38-79 s (1. ábra).
- A következő szakasz az alvadék képződési idő (Clot Formation Time, CFT); az az idő, melynél az alvadék erősség 20 mm-s kitérést eredményez. Ez az időtartam fiziológiailag a faktor tevékenység potenciálódását, a thrombin-robbanást, tehát az amplifikációt, valamint a polimerizáció indulását jelzi, klinikailag az alvadék kialakulásának empirikusan standardizált erősségét mutatja. Megnyúlása klinikailag fibrinogén hiány és/vagy thrombocytá funkció zavar/ hiány következménye. Normálértéke INTEM esetén 30-110 s, EXTEM esetén 34-159 s (1. ábra).
- A viszkoelasztogram további jellemzője az α szög, mely a görbére a 20 mm-s kitérés pontján húzott érintő vízszintessel bezárt szöge; ez az alvadékképződés propagációjának, illetve a fibrinháló képződés kinetikájának jellemzője. Meredekségének csökkenése klinikailag fibrinogén hiányt és/vagy thrombocytá funkció zavart tükröz. Normálértéke INTEM esetén 70-83°, EXTEM esetén 63-83° (1. ábra).
- A viszkoelasztogram maximális kitérése (maximum clot firmness, MCF) az alvadék erősségét jellemzi, normálértéke INTEM és EXTEM esetén egyaránt 50-72 mm, FIBTEM során 9-25 mm. Az MCF mellett az alvadék erősségéről hasznos korai információt ad a CT után (tehát a görbe nyílása után) 10 perccel mért kitérés, az A10. csökkenésének oka megegyezik a CFT rövidüléshez és α szög meredekség csökkenéséhez vezető kórélettani folyamatokkal. Normálértéke INTEM esetén 44-66 mm, EXTEM esetén 43-65 mm, FIBTEM során 7-23 mm (1. ábra).
- A maximális lízis (Maximum lysis, ML) csökkenő MCF érték mellett a legkisebb és legnagyobb kitérés közti különbség százalékos kifejezése. Ha ML 10%, akkor a vizsgált időben a kitérés már 10%-kal csökken az elindult fibrinolízis miatt. Az ML normálértéke INTEM és EXTEM esetén egyaránt <15%. A lízis index (LI) kitüntetett időpontokban, többnyire 30, illetve 60 perccel a CT után mért kitérés és az MCF arányát jelzi (LI30, LI60). ML, LI30, LI60 növekedése fokozott fibrinolízis jelez. Az LI30 normálértéke INTEM és EXTEM esetén egyaránt <6% (1. ábra).

B) Impedancia aggregometriás vizsgálatok

Az impedancia aggregometriás vizsgálatok elve az, hogy a thrombocyták *ex vivo* is képesek receptoraikkal idegen felülethez kapcsolódni. Teljes vérbe, meghatározott távolságban belemerülő elektródák az esetlegesen rájuk, mint idegen felszínre rakódó thrombocyták miatt megváltoztatják elektromos ellenállásukat, melyet Ohm-ban mérve kvantifikálni lehet [44-46]. A klinikai gyakorlatban jelenleg a MULTIPATE Platelet Function Analyser (Hoffmann-La-Roche Ltd. Basel, Switzerland) érhető el, mely POC monitorként képviseli ezt a módszert. A monitor félautomata működésű, a mérés csak pipettázást igényel. Az ellenállás időbeli növekedését a görbe alatti terület fejezi ki. A vérminta kis mennyiségű, hirudinnal antikoagulált teljes vér, egyéb preparációt nem igényel, a vizsgálat ezért gyors, egyszerű.

A monitor öt csatornán lépes párhuzamosan vizsgálatokat mérni, ötféle reagens érhető el, mellyel a thrombocyták adhéziós, aktivációs, aggregációs tulajdonságát, és különböző gyógyszerhatásokat képes vizsgálni.

Leggyakrabban tradicionális laboratóriumi hemosztatikus tesztek a perioperatív szakban

A tradicionális laboratóriumi hemosztatikus tesztek egy része alvadási folyamatokat indítva modellezi a dekalcinált *ex vivo* plazma alvadékképző potenciálját rekalcinálás után. Ide tartozik a prothrombin idő (PI), parciális thromboplastin idő (PTI), és az aktivált parciális thromboplastin idő (aPTI) (2. táblázat). Ezek a tesztek nem szolgálnak információval a thrombocytá felületén lejátszódó interakciókról, és a PT, PTT, és aPTT vizsgálati folyamata megáll a fibrinszál képződés iniciális szakaszánál, amikor még csak minimális (4%) thrombin keletkezik, ezáltal nem ad információt a fibrin polimerizációról, az alvadék erősségéről, és a fibrinolízisről. A tradicionális véralvadási tesztek a faktor aktivitás becslésével mégis fontos részét képezik a perioperatív hemosztatikus diagnosztikának. A fibrinogén koncentráció és a thrombocytá szám statikus meghatározása szintén a multimodális perioperatív hemosztatikus monitorozás részét képezi.

Intraoperatív vérmentés

A műtét közben a steril műtési területre került, kiömlő vér megmentésére használt eszköz a cell saver, használatával az allogén transzfúziós igény csökkenthető. A készülék az 1970-es évek óta jelen van a klinikai gyakorlatban [8].

A cell saver kettős lumenű szívócsőven rendelkezik, az egyik a készülékből a beteg felé áramlik folyamatosan heparin tartalmú mosófolyadék, a másik, vastagabb csövön a vér szívható el a steril műtési területről a készülékbe. Az alvadásában gátolt vér gyűjtőtartályba kerül, innen a cell saver 250 ml-s bólusokban a készülék részét képező centrifugába szívja át, mely 5000/perces fordulattal a vörösvérsejteket különválasztja a többi véralkotó és a mosófolyadék elegyétől, több egymást követő lépésben. A vörösvérsejt massa a retranszfúziós zsákba kerül, majd beadhatóvá válik a beteg számára, szobahőmérsékleten 4 óra hosszáig, hűtést követően 24 óráig. A mosófolyadék kidobásra kerül. A cell saver indikációját képezi az 1000 ml-nél nagyobb várható vérvesztés,

anémia, ritka vércsoport, ha a betegnek vörösvérsejtek elleni ellenanyag van a vérben, és ha lelkiismereti okokból nem fogad el idegen vért. Kontraindikációt jelent a sickle cell disease, a műtéti területre került kémiai szerek, pl. betadin, cement, vagy magzatvíz, s ha a műtéti terület nem tekinthető sterilnek pl. traumatológiai esetekben, vagy bélműtétek során [8]. Az eszközös vérmentés hatékonyságát vizsgáló metaanalízis szerint használatával 38%-kal csökkent a potenciálisan perioperatív időszakban idegen vér transzfúzióban részesülő betegek száma, illetve betegenként átlagosan 0,38 egység allogen vörösvérsejt takarítható meg [47]. A cell saver alkalmazásával kapcsolatos potenciális problémák a reziduális heparin hatás, a bakteriális kontamináció és a dilucionális koagulopáthia [13, 14].

Ultrafiltráció

Az ultrafiltráció (UF) effektív és a szívsebészeti klinikai gyakorlatban elterjedt konvektív fizikai lépésekre épülő technika [15, 17]. Az UF során az egyirányú transzport hajtóereje az ultrafilter kapillárisaiban lévő pozitív nyomás, mely lehet az artériás nyomás, vagy a roller pumpa által felépített nyomás. Az ultrafilter negatív töltésű membránján szabálytalan alakú pórusok vannak, melyek ~50 000 D molekulásúlyú szerves és szervetlen molekulákat képesek átengedni. Az UF segítségével tehát a plazmából folyadék és alacsony molekulásúlyú anyagok, pl. elektrolitok, gyulladáscsökkentő molekulák távolíthatók el. Mivel az ultrafiltrátum vizet, krisztalloidot és 50 000 D-nál alacsonyabb molekulásúlyú szerves molekulákat tartalmaz, de sejtes elemeket és kolloidot nem, izoozmotikusnak tekinthető [15, 16].

6. A kedvezőtlen események és a súlyos nemkívánatos események lehetősége, a bekövetkezésük esetén a követendő eljárások

A szívsebészeti gyakorlatban az elvégezni kívánt viszkoelasztikus hemosztázis vizsgálatok rutin jellegű monitorozási tevékenységnek számítanak, nemkívánatos események így nem várhatóak. Esetleges bekövetkezésük esetén a rutin aneszteziológiai eljárások az irányadóak. Az *ex vivo* (heparin hatás elemzése) és *in vitro* (saját plazma visszanyerhetőségének tanulmányozása) vizsgálatok természetükből fakadóan nem járnak a betegekkel való érintkezéssel, így kedvezőtlen nemkívánatos eseménnyel.

7. A résztvevők személyes és egészségügyi adatainak kezelésével kapcsolatos intézkedések (az 1992. évi LXIII. törvény alapján)

A vonatkozó szabályokat maradéktalanul betartjuk.

8. A kutatás során nyert adatok statisztikai feldolgozásának módszere

Az alkalmazott statisztikai módszerek minden esetben igazodnak a kiértékelés során felvetődő kérdésekhez. A betegcsoportonkénti átlagok meghatározásán túl az egyes ROTEM, MULTIPATE paraméterek csoporton belüli, és csoportok közötti változásait kétszemponos ANOVA tesztekkel értékeljük.

Nyilatkozom, hogy a fenti adatok nem sértik a kutatásnak a szellemi alkotások védelmére vonatkozó érdekeit és nem tartalmaznak szakmai- vagy szolgálati titkot, illetve a kutatás érdekeit veszélyeztető adatot. A fenti adatokat bárki, korlátozás nélkül megismerheti. Tudomásul veszem, hogy jóváhagyás után az RKEB a közérdekű adatokat a honlapján közzé teheti.

Szeged, 2018. szeptember hó 26. nap

Babik Barna

Prof. Dr. Babik barna
egyetemi tanár

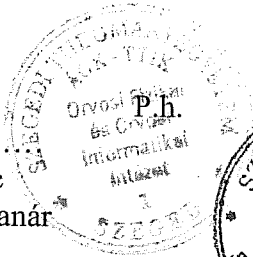


Molnár Zsolt

Prof. Dr. Molnár Zsolt
intézetvezető egyetemi
tanár

Bari Ferenc

Prof. Dr. Bari Ferenc
Intézetvezető egyetemi tanár



Bogáts Gábor

Dr. Bogáts Gábor
Intézetvezető egyetemi
docens



Forster Tamás

Prof. Dr. Forster Tamás
Intézetvezető egyetemi tanár

