



Agnese Ozoliņa

**ĢENĒTISKO FAKTORU  
UN EKSTRAKORPORĀLĀS  
CIRKULĀCIJAS IZRAISĪTO  
KOAGULĀCIJAS IZMAIŅU IETEKME  
UZ PĒCOPERĀCIJAS ASIŅOŠANU**

Promocijas darba kopsavilkums  
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai  
Specialitāte – ķirurģija

Rīga, 2013

PRA-4097

737239



RĪGAS STRADIŅA  
UNIVERSITĀTE

Agnese Ozoliņa

ĢENĒTISKO FAKTORU UN  
EKSTRAKORPORĀLĀS  
CIRKULĀCIJAS IZRAISĪTO  
KOAGULĀCIJAS IZMAIŅU IETEKME  
UZ PĒCOPERĀCIJAS ASIŅOŠANU

Promocijas darba kopsavilkums  
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – ķirurģija

Rīga, 2013

0221007927

Promocijas darbs izstrādāts:

Rīgas Stradiņa universitātē;  
VSIA Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcā

Darba zinātniskie vadītāji:

*Dr. med. asociētā profesore* **Eva Striķe**,  
Rīgas Stradiņa universitāte  
*Dr. habil. med. profesors* **Indulis Vanags**,  
Rīgas Stradiņa universitāte

Darba zinātniskā konsultante:

*Dr. med.* **Liene Nikitina-Zaķe**,  
Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

Oficiālie recenzenti:

*Dr. med. asociētais profesors* **Pēteris Stradiņš**,  
Rīgas Stradiņa universitāte  
*Dr. med.* **Iveta Golubovska**,  
Latvijas Universitāte  
*Dr. med.* profesore **Jūratē Šipylaitē**,  
Viļņas Universitāte

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2013. gada 26. novembrī plkst. 15.00,  
Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē Rīgā,  
Dzirnciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājas lapā:  
[www.rsu.lv](http://www.rsu.lv)

Promocijas darbs veikts ar Eiropas sociālā fonda projekta “Atbalsts  
doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas  
Stradiņa universitātē” finansiālu atbalstu



Promocijas padomes sekretāre:

*Dr. med.* profesore **Sandra Lejniece**

# SATURS

LIETOTIE SAĪSINĀJUMI	5
1. IEVADS	7
1.1. Darba mērķis	10
1.2. Darba uzdevumi	10
1.3. Darba hipotēzes	11
1.4. Zinātniskā un praktiskā novitāte	11
1.5. Personīgais ieguldījums	12
1.6. Ētiskie apsvērumi	12
2. MATERIĀLS UN METODES	13
2.1. Pētījuma uzbūve	13
2.2. Metodes	14
2.2.1. Anestēzija	14
2.2.2. Datu fiksēšana un analīze	15
2.2.3. Statistiskās analīzes metodes	17
3. REZULTĀTI	18
3.1. Demogrāfisko un klīnisko parametru rezultāti	18
3.2. Koagulācijas testu izmaiņas pēc MAR un pēcoperācijas asins zudums	20
3.2.1. Standarta koagulācijas testi: APTL, PI, fibrinogēns, trombocītu skaits	20
3.2.2. Fibrinolīzes marķieri: PAI-1, t-PA/PAI-1 komplekss	24

3.3. Ģenētiskā polimorfisma ietekme uz fibrinolītisko aktivitāti un pēcoperācijas asiņošanu	26
3.3.1. PAI-1 gēna -675 (4G/5G) polimorfisms	26
3.3.2. PAI-1 gēna -844 A/G polimorfisms	27
3.3.3. ACE gēna 16 introna I/D polimorfisms	29
3.4. Koagulācijas izmaiņas pēc MAR, analizējot TEG un standarta koagulācijas testus	31
4. DISKUSIJA	34
4.1. Koagulācijas testu izmaiņas pēc MAR un pēcoperācijas asins zudums	34
4.2. Ģenētiskā polimorfisma ietekme uz fibrinolītisko aktivitāti un pēcoperācijas asiņošanu	38
4.3. Koagulācijas izmaiņas pēc MAR, analizējot TEG parametrus un standarta koagulācijas testus	40
5. SECINĀJUMI	41
6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS	42
7. PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU	43
8. ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU	44
9. PATEICĪBAS	47
10. ATSAUCES	49

## LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

<b>ACE 16 intron I/D</b>	Angiotenzīna konvertējošā enzīma gēna insērcijas/delēcijas polimorfisms 16. intronā (rs4646994)
<b>ACT</b>	Aktīvais koagulācijas laiks (angļu val., <i>activated coagulation time</i> )
<b>AKŠ</b>	Aortokoronārā šuntēšana
<b>APTL</b>	Aktivētais parciālais tromboplastīna laiks
<b>BMI</b>	Ķermeņa masas indekss (angļu val., <i>body mass index</i> )
<b>BSA</b>	Ķermeņa virsmas laukums (angļu val., <i>body surface area</i> )
<b>EF</b>	Sirds izsviedes frakcija (angļu val., <i>ejection fraction</i> )
<b>EuroSCORE I</b>	Eiropas sistēma sirds operācijas riska izvērtēšanai
<b>h</b>	Stundas
<b>Hb</b>	Hemoglobīns
<b>hep.kTEG</b>	Kaolīna aktivētā tromboelastogramma ar heparināzi
<b>ITN</b>	Intensīvās terapijas nodaļa
<b>IU</b>	Vienības (angļu val., <i>international unit</i> )
<b>K</b>	Asins recekļa formēšanās laiks
<b>kg</b>	Kilograms
<b>kTEG</b>	Kaolīna aktivētā tromboelastogramma bez heparināzes
<b>Leņķis A</b>	Leņķis alfa
<b>MA</b>	Maksimālā amplitūda
<b>MAR</b>	Mākslīgā asinsrite
<b>mL</b>	Mililitri
<b>MMH</b>	Mazmolekulārie heparīni

<b>NPIL</b>	Nesteroīdie pretiekaisuma līdzekļi
<b>PAI-1</b>	Plazminogēna aktivatora inhibitora -1
<b>PAI- 1 -675(4G5G)</b>	Plazminogēna aktivatora inhibitora-1 gēna 4guanīna/5guanīna polimorfisms 675 pozīcijā (rs1799768)
<b>PAI- 1 -844 A/G</b>	Plazminogēna aktivatora inhibitora-1 gēna adenoziņa/guanīna polimorfisms 844 pozīcijā (rs2227631)
<b>PCR</b>	Polimerāzes ķēdes reakcija (angļu val. <i>polymerize chain reaction</i> )
<b>PI</b>	Protrombīna indekss
<b>PLT</b>	Trombocīti (angļu val., <i>platelets</i> )
<b>R</b>	Reakcijas laiks
<b>RAAS</b>	Renīna angiotenzīna aldosterona sistēma
<b>SD</b>	Standarta novirze (angļu val., <i>standard deviation</i> )
<b>s</b>	Sekundes
<b>t-PA</b>	Audu plazminogēna aktivators
<b>t-PA/PAI-1</b>	Audu plazminogēna aktivatora un plazminogēna aktivatora inhibitora-1 komplekss
<b>T0</b>	Laika periods pirms operācijas
<b>T1</b>	Laika periods uzreiz pēc operācijas
<b>T4</b>	Četras stundas pēc operācijas
<b>T6</b>	Sešas stundas pēc operācijas
<b>T24</b>	Divdesmit-četras stundas pēc operācijas
<b>TEG</b>	Tromboelastogramma

# 1. IEVADS

Sirds operācijas mākslīgajā asinsritē (MAR) izraisa nozīmīgas izmaiņas hemostātiskajā sistēmā, ievērojami palielinot asiņošanas risku pēcoperācijas periodā [1]. Pastiprinātu asiņošanu pēc sirds operācijām novēro līdz pat 10% [2] un tā joprojām ir viena no biežākajām komplikācijām, kas ievērojami pasliktina turpmāko ārstēšanās iznākumu [3]. Atkārtotu operāciju veic 2-6% gadījumu asiņošanas dēļ un tajās mazāk kā 50% izdodas identificēt asiņošanas iemeslu [4, 5].

Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Sirds Ķirurģijas Centrā veic vairāk kā 1000 operāciju gadā ar MAR. Galvenokārt, tās ir aortokoronārās šuntēšanas (AKŠ), vārstuļu protezēšanas un kombinētas (AKŠ+ vārstuļu protezēšana) operācijas. Atkārtotu operāciju biežums asiņošanas dēļ ir līdzīgs ar literatūrā minētajiem datiem, t.i. ap 5,9 %, kas nosaka šīs tēmas aktualitāti arī Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Sirds Ķirurģijas Centrā.

Hemostāzes izmaiņas sirds operācijās ar MAR rodas dažādu iemeslu dēļ. Ķirurģiska iejaukšanās stimulē koagulāciju caur ārējo koagulācijas ceļu, kā arī, asinīm nonākot kontaktā ar MAR sistēmas virsmu, aktivizējas virkne organisma reakciju: iekšējais koagulācijas ceļš, kas stimulē kinīna-kalikeīna sistēmu ar sekojošu fibrinolītiskās un iekaisuma komplimenta sistēmas aktivāciju [1, 6]. Asinīm nonākot saskarsmē ar MAR sistēmas virsmu tiek aktivēti trombocīti [7] un MAR sistēmas uzpildījums sekmē hemodilūcijas veidošanos, izraisot trombocītu skaita un koagulācijas faktoru samazinājumu plazmā par 30-50% [8, 9].

Patofizioloģiski asiņošanas un trombotisko komplikāciju balanss ir atkarīgs no trombīna veidošanās, trombocītu agregācijas un fibrinolītiskās sistēmas aktivitātes. Pašlaik jaunākajā literatūrā arvien lielāka uzmanība tiek pievērsta fibrinolītiskās sistēmas aktivitātes izmaiņām un tās ietekmei



uz asiņošanu, īpaši kardioķirurģiskiem pacientiem ar MAR [10, 11]. Fibrinolītiskās sistēmas aktivitāte galvenokārt ir atkarīga no mijiedarbības starp tās aktivatoriem (audu plazminogēna aktivatora (t-PA) un urokināzes plazminogēna aktivatora) un inhibitoriem (plazminogēna aktivatora inhibitora - 1 (PAI-1) un alfa 2 antiplazmīna) [12].

Jaunākie dati liecina arī par ģenētikas lomu hemostāzes balansa uzturēšanā, jo gēni modulē katru no pieminētajām organisma sistēmām, nosakot individuālu to aktivitāti un organisma atbildes reakciju. Kombinējot klīniskos datus ar ģenētiskajiem izmeklējumiem, ievērojami palielinās iespēja agrīni prognozēt un izvērtēt asiņošanas risku un savlaicīgi pielietot mērķtiecīgu hemostātisko terapiju [13, 14].

Literatūrā ir pieejama virkne publikāciju par biežākajiem asiņošanas cēloņiem, iespējamiem gēnu polimorfismiem, standarta koagulācijas testiem - aktivētais parciālais tromboplastīna laiks (APTL), protrombīna indekss (PI), fibrinogēns, trombocītu skaits (PLT) - un *point-of-care* izmeklējumiem, kā tromboelastogramma (TEG), trombocītu agrometrija u.c. Minētajiem parametriem tiek meklēta korelācija ar asiņošanas apjomu, cenšoties atklāt arvien jaunus, precīzākus marķierus, kas varētu savlaicīgi prognozēt asiņošanas risku un intensitāti [6, 13, 15].

Šajā darbā pētījām sekojošu faktoru kopumu saistībā ar pēcoperācijas asiņošanu: standarta koagulācijas testus (APTL, PI, fibrinogēns, PLT), fibrinolīzes marķierus (PAI-1 un t-PA/PAI-1 komplekss), ģenētiskos polimorfismus, kuri varētu ietekmēt fibrinolītisko aktivitāti, un TEG parametru analīzi.

**Standarta koagulācijas testi** - APTL, PI, fibrinogēns, PLT. Literatūras dati ir pretrunīgi par to nozīmi hemostāzes izvērtēšanā un asiņošanas riska prognozēšanā, īpaši pēc sirds operācijām ar MAR [15-17].

**PAI-1 un t-PA/PAI-1 komplekss** - PAI - 1 ir galvenais fibrinolīzes inhibitors, sintezēts trombocītos, endotēlijā un tauku šūnās, kas aizsargā asins recekli no priekšlaicīgas sašķelšanas. PAI-1 plazmā ir nestabils, ar

pussabrukšanas periodu 30 min [18]. Tas inhibē t-PA, veidojot stabilu t-PA/PAI-1 kompleksu attiecībā 1:1. Kompleksa veidošanos ietekmē PAI-1 līmenis plazmā, līdz ar to tas tiek uzskatīts kā indikators, kas varētu liecināt par PAI-1 koncentrāciju un aktivitāti asinīs [19, 20].

**Ģenētiskie polimorfismi.** PAI-1 un angiotenzīna konvertējošā enzīma (ACE) gēnu polimorfismi būtiski ietekmē fibrinolītisko aktivitāti [21]. PAI-1 gēns ir lokalizēts 7. hromosomā, kas satur 9 eksonus un 8 intronus [22]. PAI-1 gēnam ir identificēti 2 polimorfismi.

Plašāk pētīts ir PAI-1 -675 4guanīna/5guanīna (4G/5G) polimorfisms, kas būtiski ietekmē PAI-1 līmeni plazmā. Viena guanīna pāra delēcija (4G/4G) ir saistīta ar augstāku PAI-1 līmeni plazmā par 25%, bet guanīna pāra insērcija (5G/5G) ar samazinātu PAI-1 koncentrāciju un vājāku fibrinolīzes inhibīciju [23]. Literatūrā ir ziņojumi par PAI-1 -675 (5G/5G) polimorfisma saistību ar palielinātu asiņošanu, īpaši pēc sirds operācijām ar MAR [6, 24].

Mazāk aprakstīts PAI-1 gēna polimorfisms attiecībā uz asiņošanu, bet plašāk izpētīts tromboembolisku saslimšanu, kā miokarda infarkta gadījumos, ir PAI-1 adenoīna/guanīna (A/G) polimorfisms -844 gēna pozīcijā. Ziņojumi liecina, ka PAI-1 -844 A/A genotips ir saistīts ar palielinātu tromboemboliju risku, paaugstinātas PAI-1 koncentrācijas dēļ [25]. Iespējams, ka G/G homozigotiem varētu būt augstāks asiņošanas risks palielinātas fibrinolītiskās aktivitātes dēļ, īpaši pēc sirds operācijām ar MAR.

ACE gēna polimorfisms ietekmē fibrinolītisko aktivitāti, jo pastāv saistība starp fibrinolītisko un renīna-angiotenzīna-aldosterona sistēmu (RAAS) [26]. ACE katalizē angiotenzīna I pārveidošanu par angiotenzīnu II, kas veicina aldosterona sekrēciju un PAI-1 atbrīvošanos no endotēlija šūnām. Līdz ar to ACE netieši ietekmē PAI-1 līmeni plazmā un fibrinolītisko aktivitāti. Kā minēts iepriekš, MAR laikā aktivizējas kinīna-kalikeīna sistēma un pieaug bradikinīna produkcija, kas ir galvenais t-PA sekrēcijas veicinātājs. ACE gēna 16 introna insērcijas/delēcijas (I/D) polimorfisms ietekmē ACE koncentrāciju plazmā. Gēns ir lokalizēts 17. hromosomā. Insērcijas alēle ir saistīta ar aptuveni

par 50% zemākām ACE un PAI-1 plazmas koncentrācijām, pretēji - delēcijas alēle ar paaugstinātu abu līmeni, līdz ar to ACE 16 introna I/I genotips iespējams ar izteiktāku fibrinolītisko aktivitāti [27].

**TEG** - tromboelastogrammas parametri ir precīzāki rādītāji asiņošanas riska prognozēšanai un hemostātiskās terapijas izvēlei salīdzinot ar standarta koagulācijas testiem [15]. N.Porīte ar kolēģiem ziņo, ka pacientiem pēc atvērtām sirds operācijām transfūziju daudzums ievērojami samazinās vadoties pēc TEG rādītājiem [28]. Dažādi ir viedokļi par koagulācijas izmaiņām agrīni pēc MAR izmainītu attiecību dēļ starp prokoagulantiem un antikoagulantiem, ko varētu ietekmēt hemodilūcijas apjoms. Pēc MAR hemodilūcijas ietekmē, iespējams, attīstās hiperkoagulācija, samazinātas antitrombīna III, polimerizētā fibrīna, proteīnu C un S koncentrāciju dēļ [29], savukārt citi autori apraksta hipokoagulāciju [30], jo plazmā galvenokārt samazinās prokoagulantu līmenis.

### **1.1. Darba mērķis**

Novērtēt asiņošanas risku pacientiem pēc sirds operācijām mākslīgajā asinsritē, analizējot potenciālos asiņošanas marķierus.

### **1.2. Darba uzdevumi**

1. Analizēt standarta koagulācijas testu (APTL, PI, fibrinogēns, PLT) izmaiņas pēc MAR un korelāciju ar 24 stundu asins zuduma apjomu.
2. Fibrinolītiskās sistēmas marķieru kvantitatīvs izvērtējums, analizējot PAI-1 un t-PA/PAI-1 kompleksa koncentrācijas plazmā.
3. Noteikt un izvērtēt PAI-1 un ACE gēnu polimorfismus, to ietekmi uz fibrinolītisko aktivitāti un pēcoperācijas asiņošanu.
4. Novērtēt koagulācijas izmaiņas pēc MAR, salīdzinot standarta koagulācijas testus un TEG parametrus.

### **1.3. Darba hipotēzes**

1. Fibrinogēna koncentrācija plazmā varētu būt viens no precīzākajiem rādītājiem no standarta koagulācijas testiem palielināta asiņošanas riska prognozēšanai un izvērtēšanai.
2. Samazināta PAI-1 koncentrācija plazmā pirms operācijas un t-PA/PAI-1 zemāks līmenis pēc operācijas varētu liecināt par vājāku fibrinolīzes inhibīciju, līdz ar to par palielinātu asiņošanas risku un apjomu pēc MAR.
3. Ģenētiskais polimorfisms nosaka individuālu fibrinolītisko aktivitāti un var ietekmēt pēcoperācijas asiņošanas apjomu.
4. TEG parametri precīzāk atspoguļo koagulācijas izmaiņas pēc MAR, salīdzinot ar standarta koagulācijas testiem.

### **1.4. Zinātniskā un praktiskā novitāte**

Zinātniskā novitāte ir fibrinolītisko marķieru (PAI-1 un t-PA/PAI-1) novērtējums dinamikā pirms un pēc sirds operācijām ar MAR un to prognostiskā nozīme fibrinolītiskās aktivitātes un asiņošanas riska un apjoma izvērtēšanā. Identificējot pacientus ar paaugstinātu fibrinolītisko aktivitāti, varētu nodrošināt mērķtiecīgāku antifibrinolītisko terapiju gan operāciju laikā, gan pēc tās intensīvās terapijas nodaļā (ITN).

Zinātniskā novitāte ir arī ģenētiskās predispozīcijas izvērtējums palielinātam asiņošanas riskam mūsu populācijā samazinātas fibrinolīzes inhibīcijas dēļ.

Koagulācijas novērtējums agrīni pēc MAR, analizējot TEG parametrus un/vai standarta koagulācijas testus, ļautu izvērtēt hemodilūcijas ietekmi un koagulācijas izmaiņas pēc MAR un pielietot precīzāku hemostātisko terapiju.

## **1.5. Personīgais ieguldījums**

Autore personīgi piedalījās visos pētījuma etapos, ieskaitot pētījuma plānojumu, protokola izveidi un marķieru, kā arī analizēto ģenētisko polimorfismu izvēli. Autore veica pacientu informēšanu par pētījumu un par datu iekļaušanu Latvijas genoma datu bāzē un to analīzi. Piedalījās piekrišanas dokumentu noformēšanā. Organizēja paraugu paņemšanu un analīzi, kā arī piedalījās pacientu pēcooperācijas aprūpē. Autore veica literatūras izpēti un aprakstu, apkopoja, apstrādāja un interpretēja darba rezultātus.

## **1.6. Ētiskie apsvērumi**

Pētījuma projekts apstiprināts ar VSIA Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Attīstības biedrības Klīniskās izpētes ētikas komitejas atzinumu Nr. 151209-3L. Katrs patients tika informēts, iepazīstoties un parakstot piekrišanu pētījumam. Kā arī katrs patients parakstīja atsevišķu piekrišanas veidlapu, izsniegtu no Latvija Biomedicīnas pētījumu un studiju centra, par iekļaušanu Latvija Genoma datu bāzē, neiebilstot piedalīties pētījumā un nodot savus ģenētiskos datus tālākai izpētei.

## **1.7. Promocijas darba struktūra un apjoms**

Promocijas darbs uzrakstīts angļu valodā. Tam ir klasiska uzbūve. Darbs ietver ievadu, literatūras apskatu, materiālu un metožu apskatu, rezultātus, diskusiju, secinājumus, praktiskās rekomendācijas un literatūras avotu sarakstu. Promocijas darbs noformēts uz 144 lappusēm. Literatūras apskatā iekļautas 5 tabulas un 11 attēli. Materiālu, metožu un rezultātu sadaļā 18 tabulas un 21 attēls. Darbā izmantoti 221 literatūras avoti.

## 2. MATERIĀLS UN METODES

### 2.1. Pētījuma uzbūve

Prospektīvs, observācijas pētījums veikts laika posmā no 2010.g. 1.marta līdz 2011.g. 30.jūlijam Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Sirds ķirurģijas centrā, 39. Sirds ķirurģijas anestezioloģijas un intensīvās terapijas nodaļā, kā arī 21. un 16. kardiķirurģiskajās nodaļās, kur veikta pacientu informēšana un aptauja pirms operācijas. Pētījuma gaitā bija sadarbība ar Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Imunoloģijas centru un Biomedicīnas Pētījumu un Studiju centru. Iekļauti 90 pacienti, kuriem veica pirmreizēju AKŠ, vārstuļu protezēšanas vai kombinētu sirds operāciju ar MAR.

#### ***Iekļaušanas kritēriji:***

- Vecums > 18 gadi;
- Pirmreizēja plānveida sirds operācija ar MAR (AKŠ, vārstules protezēšana vai kombinēta operācija);
- Paredzamais mirstības risks pēc EuroSCORE I (Eiropas sistēma sirds operācijas riska izvērtēšanai) < 10%;
- Antikoagulanti, antiagreganti un nesteroīdie pretiekaisuma līdzekļi (NPIL) atcelti vismaz 5 dienas pirms operācijas. Mazmolekulāro heparīnu (MMH) pēdējā profilaktiskā deva ievadīta zemādā 12 stundas (h) pirms operācijas.

#### ***Izslēgšanas kritēriji:***

- Neatliekama, akūta sirds operācija;
- Sirds operācija anamnēzē;
- Anamnēzē dati par hemostāzes traucējumiem;
- Pašlaik esoša koagulopātija (PI < 50%, INR > 1,5, fibrinogēns < 1,5 g/L, PLT < 100 x 10<sup>9</sup>/L);
- Hroniska nieru mazspēja;
- Aknu mazspēja un/vai disfunkcija;
- Autoimūnas saslimšanas.

## 2.2. Metodes

### 2.2.1. Anestēzija

Visiem pētījumā iekļautajiem pacientiem nodrošināja standarta anestēziju. Indukciju ar midazolāmu (*Hoffman-La Roche AG*, Šveice) 2,5-5 mg, fentanilu (*A/S Kalceks*, Latvija) 0,2-0,3 mg, etomidātu (*Sagent Agila*, Indija) 0,1-0,3 mg/kg, miorelaksāciju ar cisatrakūriju (*S.p.A.*, Itālija) 0,2 mg/kg. Anestēzijas uzturēšanas laikā lietoja sevoflurānu (*Piramal*, Lielbritānija), uzturot minimālo alveolāro koncentrāciju 0,8-1,2. Visi pacienti operācijas laikā saņēma antifibrinolītisko terapiju ar traneksānskābi (*Rottapharm*, SL, Spānija) 2-4 g.

Anestēzijas uzturēšanu nodrošināja ar fentanilu 0,03-0,06 µg/kg/min, propofolu (*B.Braun*, Vācija) 3-5 mg/kg un cisatrakūriju 0,1 mg/kg/h. Pirms MAR kaniņu ievietošanas pacients saņēma pilnu antikoagulāciju ar heparīnu (*Panpharma S.A./Rotexmedica GmbH*, Vācija) 300-400 vienības uz kilogramu (IU/kg) intravenozi, lai sasniegtu aktīvo koagulācijas laiku (ACT) > 480 sekundes (s).

MAR laikā izmantoja ārpus ķermeņa asinsrites sistēmu ar polipropilēna membrānas oksigenatoru (*Admiral*<sup>®</sup>, *Eurosets TM*, Itālija) ar mērenu hipotermiju (temperatūra mērīta urīnpūslī 34-35°C). MAR sistēma visiem pacientiem tika uzpildīta ar vienādu deltajonīna (*Pharma GmbH*, Vācija) tilpumu 1400 ml. Miokarda protekcijai izmantoja St. Thomas 4:1 kardioplēģisko šķidrumu (*Pharma GmbH*, Vācija).

Atslēdzoties no MAR, heparīnu neitralizēja ar protamīnu (*Meda Pharma*, Austrija) attiecībā 1 mg : 100 IU heparīna, lai ACT < 130 s. Visi pacienti tika sasildīti vismaz līdz 36°C.

## 2.2.2. Datu fiksēšana un analīze

Pētījuma laikā fiksēja un analizēja sekojošus datus:

- Demogrāfiskos rādītājus: vecums, dzimums, ķermeņa masas indekss (BMI), ķermeņa virsmas laukums (BSA), sirds izviedes frakcija (EF), novērtējums pēc EuroSCORE I, pamatsaslimšana, blakusslimības un saņemtie antikoagulanti/antiagreganti;
- Operācijas parametri: operācijas veids, MAR, aortas oklūzijas un reperfūzijas ilgums, temperatūra MAR laikā, ievadītās heparīna un protamīna devas, ACT, MAR sistēmas pildījums ar deltajonīnu, saņemtā kardioplēģija;
- Asins ainas un standarta koagulācijas testu, ģenētiskā polimorfisma un fibrinolīzes marķieru analīzes tika ņemtas dažādos laika posmos: T0 - pirms operācijas, T1 - uzreiz pēc operācijas, T6 - 6 h pēc operācijas, T24 - 24 h pēc operācijas;
- Kaolīna aktivētās TEG (kTEG) pieraksts ar un bez heparināzes veikts ITN uzreiz pēc operācijas (T1);
- Pēcoperācijas asiņošanas apjoms no krūškurvja drenām fiksēts trīs laika periodos: T0, T4 - 4 h pēc operācijas un T24.

**Standarta koagulācijas testi.** Analizēti T0, T1, T6 and T24 laika periodos.

APTL - noteikts citrāta plazmā (*Pathrombin\*SL* reaģents, *Siemens Healthcare Diagnostics*, ASV). Tests atspoguļo iekšējo un kopējo koagulācijas ceļu (II, V, VIII, IX, X, XI, XII un fibrinogēns) un ļauj kontrolēt standarta heparīna terapiju. Norma 26-36 s.

PI - noteikts citrāta plazmā (*Lyophilized Dade*<sup>®</sup>, *Innovin*<sup>®</sup> reaģenti, *Siemens Healthcare Diagnostics*, ASV). Tests ļauj izvērtēt ārējo un kopējo koagulācijas ceļu (II, V, VII, X un fibrinogēns). Norma 70-120%



Fibrinogēns - analizēts plazmā pēc *Clauss* metodes (*Multifibren U* reaģents, *Siemens Healthcare Diagnostics*, ASV), kur koagulācijas laiks ir atkarīgs no fibrinogēna koncentrācijas paraugā. Norma 1,8-3,6 g/L.

Hb and PLT - lietoja *Sysmex*<sup>®</sup> *CA-1600* analizatoru (*Siemens Healthcare Diagnostics*, Marburga, Vācija) ar rezistences tehniku nosakot PLT skaitu (norma 150-450 x 10<sup>9</sup>/L) un ar cianīda metodi Hb (norma 120-160 g/L).

**Fibrinolīzes marķieri.** PAI-1 analizēts T0 un t-PA/PAI-1 komplekss T24 laika periodos perifēro venozo asiņu paraugos. Fibrinolītiskās aktivitātes izvērtēšanai noteikts arī D-dimēru līmenis plazmā pēc operācijas T1, T6 un T24 laika posmos.

PAI-1 un t-PA/PAI-1 komplekss - kvantitatīvi noteikti enzīmu saistītā imunosorbenta paraugā (*ZYMUTEST*<sup>®</sup>, *HYPHEN BioMed*, Francija) pēc *ELISA* metodes. Paraugi satur specifiskas antivielas pret PAI-1 un pret t-PA. Fibrinolīzes marķieru esamību apliecina zilās krāsas parādīšanās, kas ir tieši proporcionāla PAI-1 un t-PA/PAI-1 kompleksa koncentrācijai analizējamā paraugā. PAI-1 norma 1-25 ng/mL, t-PA/PAI-1 norma < 5 ng/mL.

D-dimēri - kvantitatīvi analizēti pēc imunoturbidimetriskās metodes (*D-dimer PIUS*<sup>®</sup>, *Dade Behring*, Vācija). Norma < 300 ng/mL.

**Gēnu polimorfismi** pētīti asins paraugos pirms operācijas (T0). Asins paraugi iegūti no centrālās vēnas EDTA stobriņos, kas kā antikoagulantus satur nātrija citrātu un heparīnu. Turpmākā gēnu analīze ietver 5 etapus: genomiskās dezoksiribonukleīnskābes (DNS) izdalīšanu no asinīm, polimerāzes ķēdes reakciju (PCR), agrozes gēla elektroforēzi, PCR produktu attīrīšanu un sekvenēšanu.

ACE 16 introna I/D polimorfisma analīzi veica, izmantojot PCR reakciju ar diviem sintētisko oligonukleotīdu pāriem. PAI-1 gēna abus pētītos polimorfismus analizēja ar *Sanger* sekvenēšanas metodi – polimorfismu saturošais reģions tika amplificēts, izmantojot specifiskus oligonukleotīdus.

**Tromboelastogramma** (TEG<sup>®</sup> HaemoSCOpe Corporation, Niles, ASV) ir viskoelasticitātes tests, kas atspoguļo hemostāzi kopumā, sākot ar primāro fibrīna šķiedru veidošanos un asins recekļa formēšanos, līdz pat tā sašķelšanai. Kaolīna aktivētā TEG bez heparināzes (kTEG) un ar heparināzi (hep.kTEG) tika pierakstīta uzreiz pēc operācijas (T1), pacientu ievietojot ITN. Izmantoja arteriālās asiņu paraugus pirms tam 20 ml aspirējot, atbilstoši TEG ražotāju rekomendācijām [31]. Paraugam nepieciešams 1 ml arteriālās asinis.

Hep.kTEG asins paraugu trauciņi satur 2 UI lipofilizētu heparināzi -1 - enzīmu no *Flacobacterium heparinum*, kas ir pietiekami, lai neitralizētu 6 IU/ml heparīna.

Analizētie TEG parametri: R - reakcijas laiks, norma 4-8 min., K - recekļa formēšanās laiks, norma 1-4 min, A - leņķis alfa, norma 47-74<sup>0</sup>, MA - maksimālā amplitūda - 55-73 mm.

**Pēcoperācijas asins zuduma apjoms** fiksēts trīs laika periodos: T1, T4 un T24, mililitros (mL) no krūškurvja drenām.

### 2.2.3. Statistiskās analīzes metodes

Datus statistiski apstrādāja, izmantojot *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS<sup>®</sup> v. 20.0) un Microsoft Excel 2011. Pētījumā lietoja aprakstošo statistiku, kas attēlota kā vidējā vērtība ± standarta novirze (SD) vai kā procenti (%). Statistiskā ticamība norādīta kā  $p < 0,05$ . Parametriem ar vienmērīgu izkliedi, lietoti parametriskie testi: *Student t*-tets, *ANOVA* tests. Parametriem ar nevienmērīgu izkliedi - ne-parametriskie testi: *Mann-Witney U*, *Kruskal-Wallis H* un *Wilcoxon* pāra testi. Korelācijas aprakstīšanai lietoja *Pearson* korelācijas koeficientu.



### 3. REZULTĀTI

#### 3.1. Demogrāfisko un klīnisko parametru rezultāti

Pētījumā atbilstoši iekļaušanas kritērijiem iesaistīti 90 pacienti. Septiņiem (7,8%) bija nepieciešama atkārtota operācija ķirurģiskas asiņošanas dēļ, kas tika pierādīta operācijas laikā. Šie pacienti tika izslēgti no turpmākās datu analīzes.

83 analizētajiem pacientiem (42 vīrieši, 41 sieviete) vidējais vecums  $65 \pm 11$  gadi, EF  $56 \pm 8$  %, BMI  $28 \pm 5$  kg/m<sup>2</sup>, EuroSCORE I  $4,8 \pm 1,8$  %. Iekļauto 83 pacientu pirmsoperācijas parametri atspoguļoti tabulā 3.1.

3.1.tabula

**Pirmsoperācijas parametri 83 pētījuma pacientiem**

Pirmsoperācijas parametri	vidējā ± SD	min.-max.vērtības
Hemoglobīns, g/dL	$136 \pm 15$	90 - 166
APTL, s	$34,4 \pm 7$	26 - 75
PLT, x 10 <sup>9</sup> /L	$216 \pm 58$	120 - 450
Protrombīna laiks, %	$89 \pm 14$	52 - 129
Fibrinogēns, g/L	$4,6 \pm 1,3$	1,8 - 10

Tabulā izmantotie saīsinājumi: APTL, aktivētais parciālais tromboplastīna laiks; PLT, trombocītu skaits. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze) un minimālās - maksimālās vērtības.

**Antikoagulanti/antiagreganti.** Pirms operācijas 59 pacienti (71%) lietoja antiagregantus un/vai antikoagulantus.

Aspirīnu saņēma 56 pacienti, kas bija atcelts  $7 \pm 2$  dienas pirms operācijas. Klopidoģrelu - 16 pacienti, atcelts  $8 \pm 2$  dienas un Varfarīnu - 4 pacienti, atcelts 5 dienas pirms ķirurģijas. MMH - 59 pacienti, saņemot pēdējo

devu 12 h pirms operācijas.

Pētījumā netika konstatēta pēcoperācijas asins zuduma apjoma statistiski ticama atšķirība starp pacientiem ar dažādiem pirms operācijas lietotiem antikoagulantiem/antiagregantiem.

**Operācijas veids.** Visiem pacientiem veica plānveida sirds operāciju ar MAR. Operāciju sadalījums: 34 (41%) AKŠ, 31 (37%) vārstules protezēšana un 18 pacientiem (22%) kombinēta operācija (AKŠ + vārstules protezēšana). Analizēto pacientu ķirurģiskie parametri ir atspoguļoti tabulā 3.2.

3.2.tabula

### Ķirurģiskie parametri 83 pētījuma pacientiem

Ķirurģiskie parametri	vidējā ± SD	min.-max.vērtības
MAR laiks (min)	105 ± 40	52 - 252
Aortas oklūzijas laiks (min)	66 ± 27	17 - 175
Reperfūzijas laiks (min)	34 ± 15	12 - 83
Heparīna deva, ml	7,6 ± 1,4	5 - 13
Protamīna deva, mg	302 ± 66	200 - 500
Izejoši ACT, s	141 ± 23	95- 202
Temp. MAR laikā, °C	35,3 ± 0,4	34 - 36,2
Deltajonīns, mL	1503 ± 516	600 - 3200
Asins zudums, mL T1	60 ± 32	15 - 150
Asins zudums, mL T4	208 ± 120	55 - 510
Asins zudums, mL T24	569 ± 270	80 - 1250

Tabulā izmantotie saīsinājumi: MAR, mākslīgā asinsrite; ACT, aktivētais koagulācijas laiks; s, sekundes; min, minūtes. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze) un minimālās - maksimālās vērtības.

### ***Pamatdiagnozes un blakusslimības***

No pētījumā iekļautajiem pacientiem (32,5%) anamnēzē bija miokarda infarkts, (16%) hroniska slodzes stenokardija un (20,5%) paaugstināts holesterīns. Kā blakusslimības visbiežāk konstatētas bija primāra arteriāla hipertenzija (52%), cukura diabēts II tips (25%) un hroniska obstruktīva plaušu slimība (13,5%).

### **3.2. Koagulācijas testu izmaiņas pēc MAR un pēcoperācijas asins zudums**

No koagulācijas testiem darbā tika analizēti: APTL, PI, fibrinogēns un PLT, salīdzinot rādītājus pirms operācijas (T0) un trīs laika periodos pēc operācijas (T1, T6 un T24), kā arī analizējot to korelāciju ar pēcoperācijas asins zuduma apjomu.

Papildus bija izvēlēti divi fibrinolīzes marķieri: PAI-1 pirms operācijas (T0) un t-PA/PAI-1 komplekss - 24 h pēc operācijas (T24), lai izvērtētu fibrinolītiskās aktivitātes izmaiņas un saistību ar pēcoperācijas asins zuduma apjomu.

#### **3.2.1 Standarta koagulācijas testi: APTL, PI, fibrinogēns, trombocītu skaits**

##### ***Aktīvetais parciālais tromboplastīna laiks (APTL)***

Visiem pacientiem pirms operācijas APTL bija > 26 s. Augstākas APTL vērtības kā 36 s pirms operācijas novēroja 27 pacientiem un 21 no viņiem saņēma MMH - pēdējo devu 12 h pirms ķirurģijas. Šiem pacientiem netika konstatēts lielāks asins zudums pēc operācijas.

Vislielāko APTL vērtību pieaugumu novēroja 6 h pēc operācijas. APTL vērtības dažādos laika posmos atspoguļotas tabulā 3.3.

### Vidējās APTL vērtības dažādos laika periodos

Laika periods	vidējā ± SD	min.-max. vērtības
APTL, s T0	34,4 ± 7* <sup>‡</sup>	26 - 75
APTL, s T1	34 ± 4,8	25 - 48
APTL, s T6	42 ± 13*	29 - 104
APTL, s T24	38 ± 7 <sup>‡</sup>	28 - 74

Tabulā izmantotie saīsinājumi: APTL, aktivētais parciālais tromboplastīna laiks; s, sekundes; T0, pirms operācijas; T1, uzreiz pēc operācijas; T6, 6 h pēc operācijas; T24, 24 h pēc operācijas. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze) un minimālās - maksimālās vērtības.

\* p < 0,05 salīdzinot APTL T0 un T6; <sup>‡</sup>p < 0,05 salīdzinot APTL T0 un T24

Korelāciju ar pēcoperācijas asins zudumu T4 laika periodā uzrādīja APTL vērtības pirms operācijas (T0) ( r = 0,3; p = 0,01).

### Protrombīna indekss (PI)

PI uzrādīja vismazākās izmaiņas bez statistiskas atšķirības salīdzinot izejas un pēcoperācijas rādītājus, kas ir attēloti tabulā 3.4.

### Protrombīna indeksa vidējās vērtības dažādos laika periodos

Laika periods	vidējā ± SD	min.-max. vērtības
PI, % T0	89 ± 14	52 - 129
PI, % T1	90 ± 12	62 - 125
PI, % T6	87 ± 12	57 - 116
PI, % T24	88 ± 12	61 - 125

Tabulā izmantotie saīsinājumi: PI, protrombīna indekss; %, procenti; T0, pirms operācijas; T1, uzreiz pēc operācijas; T6, 6 h pēc operācijas; T24, 24 h pēc operācijas. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze) un minimālās - maksimālās vērtības.

### **Trombocītu skaits (PLT)**

PLT uzrādīja visizteiktākās izmaiņas pēc MAR. PLT bija tendence ievērojami kristies pirmo 24 h laikā pēc ķirurģijas, kas uzrādīja statistiski ticamu samazinājumu visos laika periodos, salīdzinot ar izejas rādītājiem. Viszemākās PLT vērtības bija T24 periodā, PLT samazinoties par 35,2% no izejas rādītājiem. Vidējās vērtības dažādos laika periodos attēlotas tabulā 3.5.

3.5.tabula

**Vidējās trombocītu vērtības dažādos laika periodos**

Laika periods	vidējā ± SD	min.-max. vērtības
PLT, $\times 10^9/L$ T0	216 ± 58*	120 - 450
PLT, $\times 10^9/L$ T1	144 ± 47*	75 - 346
PLT, $\times 10^9/L$ T6	146 ± 49*	56 - 345
PLT, $\times 10^9/L$ T24	140 ± 47*	48 - 324

Tabulā izmantotie saīsinājumi: PLT, trombocītu skaits; T0, pirms operācijas; T1, uzreiz pēc operācijas; T6, 6 h pēc operācijas; T24, 24 h pēc operācijas. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze) un minimālās - maksimālās vērtības.

\* $p < 0,05$  salīdzinot PLT T0 un T1; T0 un T6; T0 un T24

Analizējot pēcoperācijas asins zuduma apjomu, tika konstatēts, ka pacientiem, kuriem PLT T6 un T24 periodos bija  $< 150 \times 10^9/L$ , bija statistiski lielāks asins zudums nekā tiem, kuriem PLT bija  $\geq 150 \times 10^9/L$ , attiecīgi T6 laika posmā 623 ml vs. 429 ml ( $p = 0,03$ ) un T24 periodā 637 ml vs. 460 ml ( $p = 0,01$ ).

PLT uzrādīja arī asociāciju ar pēcoperācijas asins zudumu. Vidēji stipra korelācija tika konstatēta starp PLT T24 laika periodā un asins zuduma apjomu 24 h pēc ķirurģijas ( $r = -0,3$ ;  $p = 0,01$ ).

### **Fibrinogēns**

Vislielākās fibrinogēna izmaiņas novēroja T1 un T6 laika posmos, kas statistiski atšķīrās no izejas vērtībām. T1 etapā fibrinogēna vidējās vērtības

samazinājās par 22 %, pēc tam lēnām palielinoties un T24 periodā tuvinoties izejas rādītājiem. Fibrinogēna vidējās vērtības ir atspoguļotas tabulā 3.6.

3.6.tabula

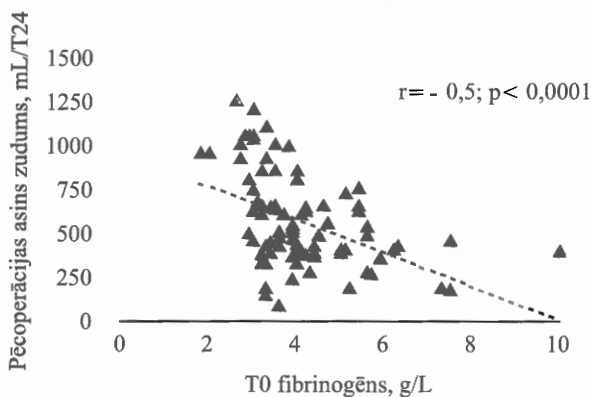
**Fibrinogēna vidējās vērtības dažādos laika periodos**

Laika periods	vidējā ± SD	min.-max. vērtības
Fibrinogēns, g/L T0	4,1 ± 1,3* <sup>‡</sup>	1,8 - 10
Fibrinogēns, g/L T1	3,2 ± 1,05*	1,5 - 7,3
Fibrinogēns, g/L T6	3,5 ± 0,9 <sup>‡</sup>	1,8 - 6,6
Fibrinogēns, g/L T24	4 ± 0,9	2,2 - 6,4

Tabulā izmantotie saīsinājumi: T0, pirms operācijas; T1, uzreiz pēc operācijas; T6, 6 h pēc operācijas; T24, 24 h pēc operācijas. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze) un minimālās - maksimālās vērtības.

\* p < 0,05 salīdzinot fibrinogēnu T0 un T1; <sup>‡</sup>p < 0,05 salīdzinot fibrinogēnu T0 un T6

Fibrinogēns uzrādīja visaugstāko korelāciju ar pēcoperācijas asins zudumu. Fibrinogēns pirms operācijas (T0) korelē ar pēcoperācijas asins zudumu visos trīs laika periodos, kad asins apjoms tika reģistrēts: T1 (r = - 0,3; p = 0,01), T4 (r = - 0,4; p < 0,0001) un T24 (r = - 0,5; p < 0,0001).



**Attēls 3.1.** Pirmsoperācijas (T0) fibrinogēna korelācija ar pēcoperācijas asins zudumu 24 stundas pēc operācijas (T24)

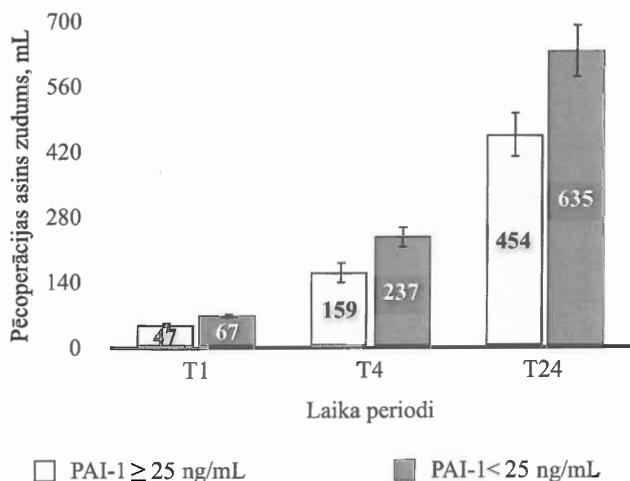


### 3.2.2. Fibrinolīzes marķieri: PAI-1, t-PA/PAI-1 komplekss

#### *Plazminogēna aktivatora inhibitors-1 (PAI-1)*

Vidējās PAI-1 vērtības pirms operācijas bija  $24 \pm 12$  ng/mL (no 3 līdz 50 ng/mL). PAI-1 vērtības augstākas vai vienādas ar normas augšējo robežu ( $\geq 25$  ng/mL) bija 30 pacientiem ar vidējo plazmas koncentrāciju  $38 \pm 7,5$  ng/mL. Savukārt 53 pacientiem PAI-1 bija  $< 25$  ng/mL, ar vidējo līmeni plazmā  $16 \pm 6$  ng/mL.

Salīdzinot pēcoperācijas asins zuduma apjomu starp pacientiem ar PAI-1 plazmas koncentrāciju virs vai zem 25 ng/mL, tas statistiski ticami atšķīrās visos trīs laika periodos, kad reģistrēja asins zudumu (attēls 3.2.). Pacienti ar PAI-1 koncentrāciju  $< 25$  ng/ml uzrādīja statistiski ticami lielāku asins zudumu pēc operācijas.



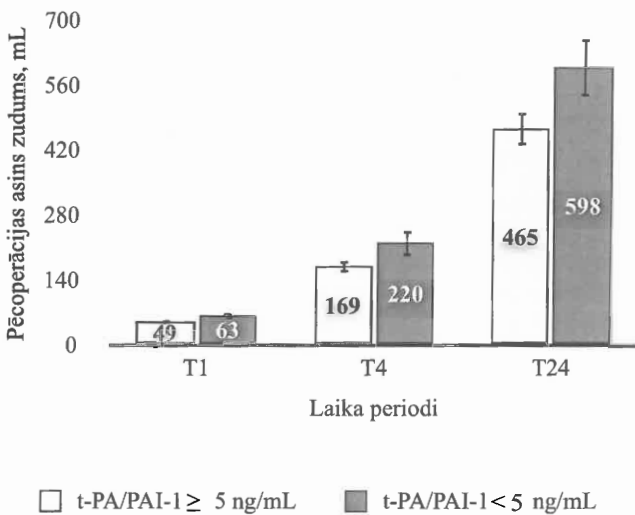
**Attēls 3.2.** Pēcoperācijas asins zuduma apjoms trīs laika periodos (T1, T4 un T24) pacientiem ar plazminogēna aktivatora inhibitora-1 (PAI-1) plazmas koncentrāciju  $\geq$  vai  $< 25$  ng/mL

PAI-1 uzrādīja arī vidēji stipru korelāciju ar 24 h pēcoperācijas asins zudumu ( $r = -0,3$ ;  $p = 0,01$ ).

### ***Audu plazminogēna aktivatora/plazminogēna aktivatora inhibitora-1 kompleks (t-PA/PAI-1)***

Vidējās t-PA/PAI-1 vērtības 24 h pēc operācijas bija  $3,6 \pm 2,1$  ng/mL (no 1 līdz 9,5 ng/mL). t-PA/AI-1 vērtības augstākas vai vienādas ar normas augšējo robežu ( $\geq 5$  ng/mL) bija 18 pacientiem ar vidējo plazmas koncentrāciju  $7,2 \pm 1,3$  ng/mL. Savukārt 65 pacientiem t-PA/PAI-1 bija  $< 5$  ng/mL, ar vidējo vērtību  $2,6 \pm 0,9$  ng/mL.

Pacienti ar t-PA/PAI-1 kompleksa koncentrāciju  $< 5$  ng/mL uzrādīja statistiski ticamu lielāku asins zudumu pēc operācijas visos trijos laika periodos, attēls 3.3.



**Attēls 3.3.** Pēcoperācijas asins zuduma apjoms trīs laika periodos (T1, T4 un T24) pacientiem ar audu plazminogēna aktivatora/plazminogēna aktivatora inhibitora-1 kompleksa (t-PA/PAI-1) plazmas koncentrāciju  $\geq$  vai  $< 5$  ng/mL

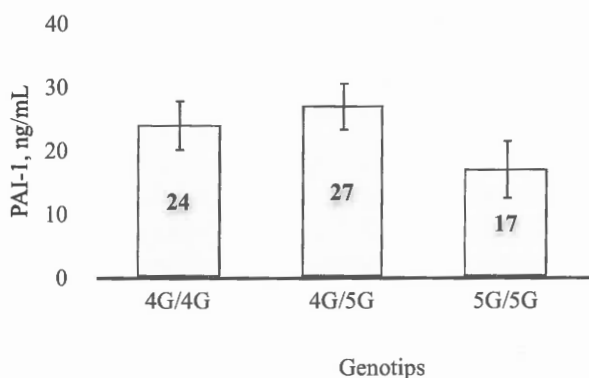
t-PA/PAI-1 kompleksa korelācija ar pēcoperācijas asiņošanu netika konstatēta nevienā laika periodā, kad tika fiksēts asins zudums.

### 3.3. Ģenētiskā polimorfisma ietekme uz fibrinolītisko aktivitāti un pēcoperācijas asiņošanu

Šajā darbā tika analizēti divu gēnu polimorfismi: PAI-1 gēna -675 (4G/5G) un -844 A/G un ACE gēna 16 introna I/D polimorfismi, kuri varētu ietekmēt fibrinolītisko aktivitāti un asiņošanas apjomu. Fibrinolīzi izvērtēja pēc PAI-1 un t-PA/PAI-1 koncentrācijām plazmā, papildus analizējot D-dimēru līmeni pēc operācijas (T1, T6 un T24).

#### 3.3.1. PAI-1 gēna -675 (4G/5G) polimorfisms

Pacientu sadalījums atbilstoši analizētajam PAI-1 gēna -675 (4G/5G) polimorfismam: 4G/4G genotips 21 pacientam (25%), 4G/5G genotips 42 pacientiem (51%) un 5G/5G genotips 20 pacientiem (24%). Genotipēšanas dati ir atbilstoši *Hārdija-Veniberga* vienādojumam. PAI-1 plazmas koncentrācija statistiski ticami atšķīrās starp pacientiem ar dažādiem genotipiem: starp 5G/5G un 4G/5G ( $17 \pm 10,8$  vs.  $27 \pm 13$ ;  $p = 0,004$ ), kā arī starp 5G/5G un 4G/4G genotipiem ( $17 \pm 10,8$  vs.  $24 \pm 9,6$ ;  $p = 0,04$ ), attēls 3.4.



**Attēls 3.4.** Plazminogēna aktivatora inhibitora-1 (PAI-1) plazmas koncentrācijas pirms operācijas pacientiem ar dažādiem PAI-1 -675 (4G/5G) genotipiem

Izvērtējot t-PA/PAI-1 plazmas koncentrācijas 24 h pēc operācijas, netika konstatēta statistiski ticama atšķirība starp genotipiem: 5G/5G homozigotiem  $3,6 \pm 2,4$  ng/mL, 4G/5G  $3,9 \pm 2,1$  ng/mL un 4G/4G genotipam  $3,1 \pm 1,8$  ng/mL.

5G/5G homozigotiem pēc operācijas bija visaugstākās D-dimēru vērtības, kā arī šie pacienti uzrādīja vislielāko pēcoperācijas asins zudumu, tabula 3.7.

Tabula 3.7.

**D-dimēru un pēcoperācijas asins zuduma salīdzinājums pacientiem ar dažādiem PAI-1 -675 (4G/5G) genotipiem**

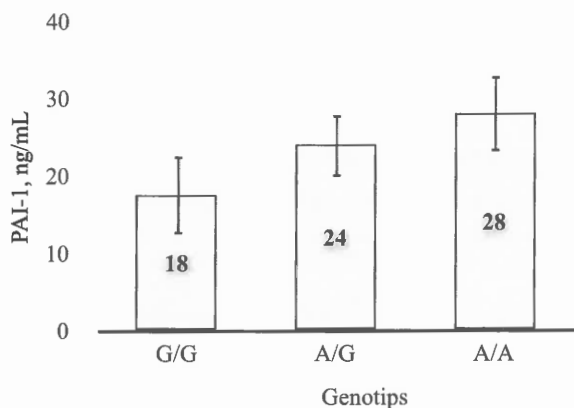
	4G/4G n = 21	4G/5G n = 42	5G/5G n = 20	p vērtība
D-dimēri, ng/mL T1	239 ± 225	253 ± 181	334 ± 224	0,2
D-dimēri, ng/mL T6	232 ± 185*	256 ± 178	371 ± 226*	0,03
D-dimēri, ng/mL T24	209 ± 160*	226 ± 147	326 ± 206*	0,04
Asins zudums, mL T24	432±168*	568±192	609±321*	0,02

Tabulā izmantotie saīsinājumi: n, pacientu skaits; T1, uzreiz pēc operācijas; T6, 6 h pēc operācijas; T24, 24 h pēc operācijas. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze). \*p < 0,05

### 3.3.2. PAI-1 gēna -844 A/G polimorfisms

Pacientu sadalījums atbilstoši analizētajam PAI-1 gēna -844 A/G polimorfismam: G/G genotips 22 pacientiem (26,5%), A/G genotips 38 pacientiem (46%) un A/A genotips 23 pacientiem (27,5%). Genotipēšanas dati ir atbilstoši *Hārdija-Veniberga* vienādojumam.

Pacientiem ar G/G genotipu bija viszemākās PAI-1 vērtības  $18 \pm 12$  ng/mL, kas statistiski atšķirās no pacientiem ar A/A genotipu  $28 \pm 12$  ng/mL,  $p = 0,004$ . A/G heterozigotiem PAI-1 vidējā koncentrācija bija  $24 \pm 13$  ng/mL, kas neuzrādīja statistisku atšķirību no G/G un A/A genotipiem. Attēls 3.5.



**Attēls 3.5.** Plazminogēna aktivatora inhibitora-1 (PAI-1) plazmas koncentrācijas pirms operācijas pacientiem ar dažādu PAI-1 -844 A/G genotipu

G/G homozigotiem bija arī viszemākās t-PA/PAI-1 kompleksa vērtības 24 h pēc operācijas, kaut gan bez statistiski ticamas atšķirības salīdzinot ar A/G un A/A genotipiem, attiecīgi  $3,4 \pm 2,4$  ng/mL,  $3,6 \pm 2,1$  ng/mL un  $3,8 \pm 1,8$  ng/mL.

Izvērtējot D-dimēru līmeni un pēcoperācijas asins zuduma apjomu atklājām, ka T1 un T6 periodos visaugstākais D-dimēru līmenis bija pacientiem ar A/G genotipu, bet T24 periodā G/G homozigotiem. Asins zudums pēc operācijas statistiski ticami bija lielāks G/G nekā A/A homozigotiem, tabula 3.8.

**D-dimēru un pēcoperācijas asins zuduma salīdzinājums pacientiem ar dažādiem PAI-1 -844 A/G genotipiem**

	G/G n = 22	A/G n = 38	A/A n = 23	p vērtība
D-dimēri, ng/mL T1	287 ± 255	312 ± 213	251 ± 170	0,5
D-dimēri, ng/mL T6	255 ± 203	312 ± 200	289 ± 210	0,5
D-dimēri, ng/mL T24	267 ± 168*	184 ± 129*	234 ± 187	0,04
Asins zudums, mL T24	601 ± 221*	604 ± 308	436 ± 267*	0,03

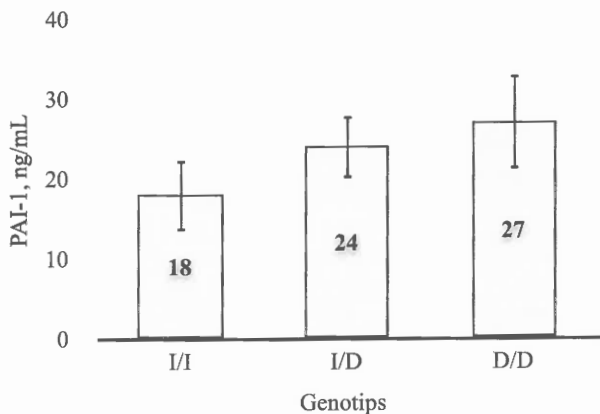
Tabulā izmantotie saīsinājumi: n, pacientu skaits; T1, uzreiz pēc operācijas; T6, 6 h pēc operācijas; T24, 24 h pēc operācijas. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze). \*p < 0,05

### 3.3.3. ACE gēna 16 introna I/D polimorfisms

Pacientu sadalījums atbilstoši analizētajam ACE gēna 16 introna I/D polimorfismam: I/I genotips 22 pacientiem (26,5%), I/D genotips 42 pacientiem (51%) un D/D genotips 19 pacientiem (23,5%).

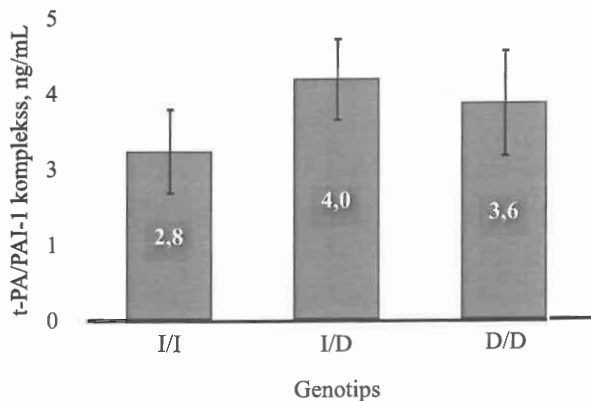
Genotipēšanas dati ir atbilstoši *Hārdija-Veniberga* vienādojumam.

Analizējot PAI-1 plazmas koncentrācijas, viszemākās bija vērojamas I/I homozigotiem  $18,4 \pm 10,7$  ng/mL, kas statistiski atšķīrās no D/D homozigotiem  $27 \pm 13$  ng/mL ( $p = 0,02$ ). Pacientiem ar I/D genotipu PAI-1 vidējās vērtības bija  $24 \pm 13$  ng/mL. Attēls 3.6.



**Attēls 3.6.** Plazminogēna aktivatora inhibitora-1 (PAI-1) plazmas koncentrācijas pirms operācijas pacientiem ar dažādu ACE 16 introna I/D genotipu

ACE gēna 16 introna I/I homozigotiem tika konstatētas arī statistiski viszemākās t-PA/PAI-1 kompleksa vērtības, salīdzinot ar D/D genotipu ( $p = 0,02$ ) un I/D heterozigotiem, attēls 3.7.



**Attēls 3.7.** Adu plazminogēna aktivatora un plazminogēna aktivatora inhibitora-1 kompleksa (t-PA/PAI-1) plazmas koncentrācijas 24 h pēc operācijas pacientiem ar dažādiem ACE 16 introna I/D genotipiem

Izvērtējot D-dimēru līmeni un pēcoperācijas asins zuduma apjomu atklājām, ka statistiski visaugstākās D-dimēru koncentrācijas bija pacientiem ar I/I genotipu, salīdzinot ar D/D homozigotiem T1 laika posmā. Turpmākajā pēcoperācijas periodā novēroja D-dimēru līmeņa izlīdzināšanos starp trīs genotipu grupām. Asins zuduma apjoms visiem trīs genotipiem tika konstatēts līdzīgs. Rezultāti atspoguļoti tabulā 3.9.

3.9.tabula

**D-dimēru un pēcoperācijas asins zuduma salīdzinājums pacientiem ar dažādiem ACE 16 introna I/D genotipiem**

	I/I n = 22	I/D n = 42	D/D n = 19	p vērtība
D-dimēri, ng/mL T1	367 ± 203*	294 ± 238	234 ± 161*	0,03
D-dimēri, ng/mL T6	331 ± 218	291 ± 204	244 ± 182	0,4
D-dimēri, ng/mL T24	274 ± 167	247 ± 165	208 ± 173	0,2
Asins zudums, mL T24	589 ± 262	546 ± 276	544 ± 331	0,65

Tabulā izmantotie saīsinājumi: n, pacientu skaits; T1, uzreiz pēc operācijas; T6, 6 h pēc operācijas; T24, 24 h pēc operācijas. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze). \*p < 0,05

**3.4. Koagulācijas izmaiņas pēc MAR, analizējot TEG un standarta koagulācijas testus**

Pētījumā iekļautajiem 83 pacientiem tika novērtētas koagulācijas izmaiņas pēc MAR, veicot TEG pierakstu ar un bez heparināzes, kā arī analizējot standarta koagulācijas testus (APTL, PI, fibrinogēns, PLT). Tā kā hemodilūcija ir viens no faktoriem, kas var ietekmēt koagulāciju pēcoperācijas periodā, šajā darba etapā tika izveidotas 2 pacientu grupas, izvērtējot hemodilūcijas apjoma ietekmi uz koagulāciju un pēcoperācijas asins zudumu.



Visiem pacientiem sākotnējais MAR sistēmas uzpildījums bija konstants 1400 ml, bet papildus deltajonīna tilpums tika pielietots, lai nodrošinātu adekvātu MAR sistēmas uzpildījumu operācijas laikā, kas noteica sistēmas uzpildījuma tilpuma atšķirību starp pacientiem. Pielietotais deltajonīna tilpums tika aprēķināts uz vienu pacienta BSA laukuma kvadrātmetru. Vidējais pielietotais deltajonīna tilpums bija  $809 \pm 256 \text{ mL/m}^2$  (no 375 līdz  $1500 \text{ mL/m}^2$ ), līdz ar to pacienti tika iedalīti:

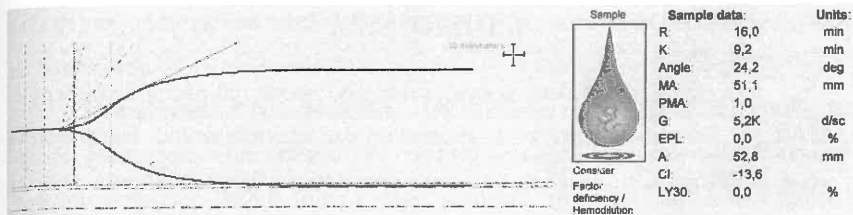
**I grupa** - pacienti ( $n = 40$ ), kuriem MAR sistēmas pildījuma apjomus bija virs vidējā izrēķinātā. Deltajonīna tilpums  $1015 \pm 200 \text{ mL/m}^2$  (no 800 līdz  $1500 \text{ mL/m}^2$ ). BSA  $1,9 \pm 0,2 \text{ m}^2$ .

**II grupa** - pacienti ( $n = 43$ ), kuriem MAR sistēmas pildījuma apjomus bija zem vidējā izrēķinātā. Deltajonīna tilpums  $620 \pm 116 \text{ mL/m}^2$  (no 375 līdz  $778 \text{ mL/m}^2$ ). BSA  $1,8 \pm 0,2 \text{ m}^2$ .

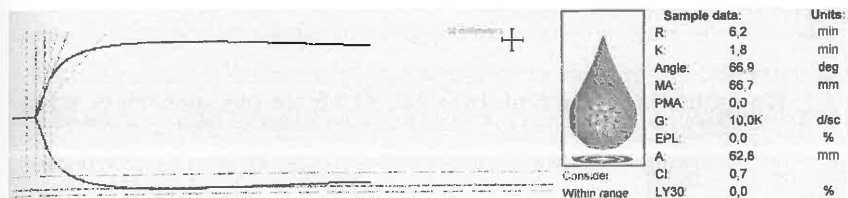
Salīdzinot TEG rādītājus starp grupām visi kTEG parametri I grupā bija ārpus normas un statistiski ticami atšķīrās starp I un II grupu, attiecīgi, R  $12,3 \pm 6,4 \text{ min}$  vs.  $9,7 \pm 4,9 \text{ min}$  ( $p = 0,04$ ), K  $5,1 \pm 2,8 \text{ min}$  vs.  $3,8 \pm 2,5 \text{ min}$  ( $p = 0,02$ ), leņķis A  $40 \pm 120^\circ$  vs.  $50 \pm 13^\circ$  ( $p = 0,001$ ) un MA  $56 \pm 10 \text{ mm}$  vs.  $60 \pm 10 \text{ mm}$  ( $p = 0,04$ ). Salīdzinot hep.kTEG parametrus, tie arī statistiski atšķīrās starp I un II grupu, izņemot R parametru. K I grupā  $3,5 \pm 1,5 \text{ min}$  vs. II grupā  $2,9 \pm 1,1 \text{ min}$  ( $p = 0,02$ ), leņķis A  $47 \pm 11^\circ$  vs.  $53 \pm 11^\circ$  ( $p = 0,03$ ), MA  $59 \pm 8 \text{ mm}$  vs.  $62 \pm 6 \text{ mm}$  ( $p = 0,04$ ).

Pretēji TEG parametriem no standarta koagulācijas testiem statistiski ticamu atšķirību starp grupām uzrādīja tikai fibrinogēns - I grupā  $2,9 \pm 0,8 \text{ g/L}$  vs. II grupā  $3,5 \pm 1,2 \text{ g/L}$  ( $p = 0,01$ ), bet pārējie koagulācijas testi statistiski neatšķīrās starp I un II grupu, attiecīgi, APTL  $34 \pm 5 \text{ sek.}$  vs.  $34 \pm 4 \text{ sek.}$ , PI  $85 \pm 13 \%$  vs.  $88 \pm 10 \%$ , PLT  $148 \pm 58 \times 10^9/\text{L}$  vs.  $141 \pm 32 \times 10^9/\text{L}$ .

TEG kvalitatīva un kvantitatīva analīze salīdzinājumam starp pacientiem no I un II grupas ir atspoguļotas attēlos 3.8. un 3.9.



**Attēls 3.8.** TEG kvantitatīva un kvalitatīva analīze. Pacients no I grupas, MAR sistēmas uzpildījums 1157ml/m<sup>2</sup>, 24 h pēcoperācijas asins zuduma apjoms 890 mL



**Attēls 3.9.** TEG kvantitatīva un kvalitatīva analīze. Pacients no II grupas, MAR sistēmas uzpildījums 500ml/m<sup>2</sup>, 24 h pēcoperācijas asins zuduma apjoms 320 mL

Salīdzinot asins zuduma apjomu pēc operācijas, pacientiem no I grupas tika konstatēts statistiski lielāks asins zudums T4 un T24 periodos, salīdzinot ar pacientiem no II grupas, tabula 3.10.

3.10.tabula

**Asins zuduma apjoms pēc operācijas salīdzinot I un II grupu**

	I grupa n = 40	II grupa n = 43	p vērtība
Asins zudums, mL T1	67 ± 32	55 ± 31	0,2
Asins zudums, mL T4	237 ± 119*	182 ± 116*	0,04
Asins zudums, mL T24	647 ± 254*	496 ± 267*	0,01

Tabulā izmantotie saīsinājumi: n, pacientu skaits; T1, uzreiz pēc operācijas; T4, 4 h pēc operācijas; T24, 24 h pēc operācijas. Dati atspoguļoti kā vidējā vērtība ± SD (standarta novirze). \*p < 0,05

## 4. DISKUSIJA

Asiņošana ir biežākais iemesls atkārtotai operācijai pēc sirds ķirurģijas ar MAR [4]. Kā minēts iepriekš, to nosaka un var ietekmēt dažādi faktori, tādēļ ir grūti izolēt un koncentrēties uz viena asiņošanas cēloņa, marķiera analīzi. Šajā darbā mēģinājām analizēt faktoru kopumu, akcentējoties uz fibrinolītiskās aktivitātes izmaiņām, kas varētu ietekmēt asiņošanas tendenci pēc operācijas, mēģinot izvērtēt potenciālos asiņošanas marķierus, kas palīdzētu asiņošanas riska izvērtēšanā un prognozēšanā.

### 4.1. Koagulācijas testu izmaiņas pēc MAR un pēcoperācijas asins zudums

*Standarta koagulācijas testi.* Saskaņā ar mūsu darba rezultātiem visizteiktākās izmaiņas pēc MAR uzrādīja APTL un PLT, bet visaugstāko prognostisko vērtību fibrinogēna plazmas līmenis pirms operācijas.

Kaut gan pirms operācijas 27 pacientiem APTL vērtības bija augstākas kā norma, visticamāk MMH ietekmē, šie pacienti neuzrādīja lielāku asins zudumu pēc operācijas. Šie rezultāti ir saskaņā ar pētījumu, ko veicis *Medalion B. et al.* [32], analizējot MMH ietekmi uz pēcoperācijas asiņošanu un nepieciešamību pēc asins produktu transfūzijām. Rezultāti liecināja, ka pēcoperācijas asins zudums neatšķirās starp pacientiem, kuri nesaņēma un kuriem ievadīja MMH 1 mg/kg zemādā 8-10 h pirms ķirurģijas. APTL uzrādīja izteiktas izmaiņas pēc MAR, īpaši T6 laika periodā, vērtībām palielinoties par 69% no izejas un T24 periodā - par 61%, ko visticamāk varētu izskaidrot ar "heparīna atsitienu fenomenu" [33]. Šīs APTL vērtības nekorelēja ar asins zuduma apjomu pēc operācijas. Mūsu rezultātus apstiprina dažādu autoru ziņojumi [34, 35], kas arī nekonstatēja pēcoperācijas APTL saistību ar 24 h asins zuduma apjomu. Mēs novērojām vidēji stipru korelāciju starp APTL, noteiktu pirms operācijas un asins zudumu 4 h pēc operācijas, šī mūsu atradne

atbilst ziņojumiem, kur tomēr ir konstatēta APTL saistība ar pēcoperācijas asins zudumu [36].

Analizējot mūsu rezultātus, PI uzrādīja vismazākās izmaiņas. Pēc MAR nevienam pacientam PI nebija mazāks kā norma. Viens no izskaidrojumiem varētu būt svaigi saldētas plazmas un krioprecipitāta transfūzijas uzreiz pēc MAR, tā kā PI tika analizēts atvedot pacientu uz ITN. Mēs nekonstatējām arī PI korelāciju ar asins zuduma apjomu pēc operācijas nevienā laika periodā. Arī literatūras dati ir pretrunīgi. Daži autori [15, 34, 37] demonstrē gan PI korelāciju ar pēcoperācijas asins zuduma apjomu, gan PI statistiski ticamu atšķirību starp pacientiem ar un bez pastiprinātas asiņošanas pēc operācijas. Līdzīgi mūsu pētījuma datiem *Ti et.al.* [38] un *Blome et al.* [36] arī nenovēroja PI saistību ar pēcoperācijas asiņošanas apjomu.

Izvērtējot trombocīta skaita izmaiņas, mēs secinājām, ka PLT bija pārliecinoša tendence mazināties pēc operācijas. Vēl 24 h pēc operācijai vairāk kā pusei pacientu PLT bija samazināts par 32,5% no izejas vērtībām. Visticamāk iemesli varētu būt hemodilūcija, trombocītu traumatisms un patēriņš MAR laikā. Kā ziņots, PLT var samazināties par 30-50% pēc MAR [39]. Kaut gan literatūras dati ir pretrunīgi attiecībā uz PLT izmaiņām un saistību ar asins zuduma apjomu pēc operācijas, tomēr vairums ziņojumu atklāj, ka PLT var prognozēt un ietekmēt asiņošanas intensitāti [36, 40]. Šie rezultāti sakrīt ar mūsu pētījuma datiem, jo mēs novērojām PLT korelāciju ar pēcoperācijas asins zuduma apjomu un pacientiem, kuriem PLT bija zemāks par normu, asins zudums statistiski ticami bija lielāks salīdzinot ar tiem, kuriem PLT bija normas robežās. Pretēju atradni mūsējai ir publicējis *Gravlee et al.* [16] ziņojot, ka 894 kardiokirurģiskiem pacientiem netika konstatēta PLT saistība ar palielinātu asiņošanu pēc operācijas.

Fibrinogēna loma normālas hemostāzes procesā ir neaizvietojava, jo tas kā koagulācijas kaskādes atslēgas proteīns, veidojot fibrīna tīklu, stabilizē asins recekli. Fibrinogēns kā potenciāls asiņošanas marķieris ir bijis pētīts un aprakstīts daudzos ziņojumos ar pretrunīgiem rezultātiem [6, 17, 36, 41]. Daži

autori [6, 17] demonstrē nozīmīgu korelāciju starp fibrinogēna līmeni plazmā un pēcooperācijas asiņošanas apjomu, kas atbilst mūsu pētījuma rezultātiem, jo pirmsoperācijas fibrinogēna koncentrācijas uzrādīja visstiprāko korelācijas ar pēcooperācijas asiņošanu ( $r = -0,5$ ;  $p < 0,0001$ ). Nesen publicētā pētījumā, kur noteica XIII koagulācijas faktora, fibrinogēna un standarta koagulācijas testu saistību ar pēcooperācijas asiņošanu 98 kardiokirurģiskiem pacientiem, autori novēroja stipru korelāciju starp pirmsoperācijas un pēcooperācijas fibrinogēna koncentrācijām un asins zudumu pēc operācijas [36]. Arī *Karlsson et al.* [17] pārlicinoši apstiprina šo tendenci, analizējot pirmsoperācijas fibrinogēna līmeņa korelāciju ar asiņošanu pēc operācijas 170 pacientiem, kuriem veica sirds operāciju ar MAR. Autori arī norāda, ka fibrinogēna līmenis varētu būt neatkarīgs marķieris, kas ļautu prognozēt pastiprinātu asins zudumu pēc operācijas un nepieciešamību pēc asins produktu transfūzijām. Pašlaik tiek veikts multi-centru pētījums [42], kas analizē vai profilaktiska fibrinogēna ievadīšana pacientiem, kuriem plānota sirds operācija ar MAR un izejoši fibrinogēna plazmas koncentrācija ir zemākā normas robeža, varētu mazināt pēcooperācijas asins zuduma apjomu un asins transfūzijas.

***PAI-1 un t-PA/PAI-1 komplekss.*** Saskaņā ar mūsu darba rezultātiem zemākas PAI-1 plazmas koncentrācijas pirms operācijas un zemāks t-PA/PAI-1 kompleksa līmenis 24 h pēc operācijas ir saistīti ar lielāku asins zuduma apjomu pēc operācijas.

PAI-1 tiek uzskatīts par stabilāku indikatoru fibrinolītiskās aktivitātes izvērtēšanā, salīdzinot ar t-PA. Savukārt t-PA/PAI-1 komplekss precīzāk atspoguļo PAI-1 koncentrāciju un aktivitāti plazmā [20]. Mūsu pētījuma rezultāti norāda, ka pacientiem ar zemākām PAI-1 koncentrācijām pirms operācijas bija lielāks pēcooperācijas asins zuduma apjoms, kā arī mēs konstatējām PAI-1 korelāciju ar asiņošanu. PAI-1 ir plaši pētīts attiecībā uz fibrinolītiskās aktivitātes izmaiņām, īpaši pēc MAR, apstiprinot mūsu atradni. *Rivera et al.* [6] nosakot PAI-1 koncentrācijas pirms un pēc sirds operācijas, secināja, ka asiņotājiem ( $>1L/24h$ ) PAI-1 līmenis plazmā bija ievērojami

zemāks pirms un pēc ķirurģijas (25,5 ng/mL un 35,5 ng/mL) nekā tiem, kuriem asins zudums bija <1L/24h (43,5 ng/mL un 76,6 ng/mL). PAI-1 ir bijis noteikts arī ne-kardiokirurģiskiem pacientiem. *Agren et al.* [43] ziņo gan par PAI-1 koncentrāciju, gan aktivitāti plazmā 62 pacientiem, kuriem veica transuretrālu prostatas rezekciju. Pacienti, kuriem bija zemāks PAI-1 līmenis un aktivitāte pirms operācijas, novēroja ar asiņošanu saistītas komplikācijas pēc operācijas līdz pat 75%, salīdzinot ar tiem, kuriem PAI-1 koncentrācija un aktivitāte bija augstāka - 28%. Pretēji mūsu pētījuma rezultātiem *Agren et al.* nenovēroja PAI-1 korelāciju ar asiņošanas apjomu operācija laikā vai pēc tās.

Literatūrā ir neliels skaits publikāciju par t-PA/PAI-1 kompleksu un tā saistību ar asiņošanu. Vienu no retajiem publicētajiem pētījumiem ir veicis *Rivera et al.* [6], analizējot t-PA/PAI-1 uzreiz pēc operācijas 26 kardiokirurģiskie pacienti un demonstrējot, ka zemākas kompleksa koncentrācijas ir saistītas ar ievērojami lielāku 24 h asins zudumu pēc operācijas. Mūsu atradne ir līdzīga, liecinot, ka pacientiem ar zemākām kompleksa koncentrācijām pēc operācijas ir lielāks pēcoperācijas asins zudums, kaut gan mēs nekonstatējām t-PA/PAI-1 korelāciju ar asiņošanu. Līdz šim literatūrā nav pieejami dati par t-PA/PAI-1 kompleksa korelāciju ar asiņošanu.

Viena no jaunākām aktualitātēm ir modificēta PAI-1 proteīna ar pagarinātu elaminācijas pusperiodu > 700 h pielietojums nekontrolētas asiņošanas gadījumos izteiktas fibrinolītiskās aktivitāte dēļ. Tiek apsvērta arī tā lokāla pielietošana hemostāzes kontrolēšanai. Līdz šim ir pieejami dati par modificētā PAI-1 ievadīšanu pelēm, kas efektīvi mazināja asins zuduma apjomu [44], kā arī tiek ziņots par patenta iegūšanu modificētā PAI-1 pielietojumam klīniskajā praksē [45].

## 4.2. Ģenētiskā polimorfisma ietekme uz fibrinolītisko aktivitāti un pēcoperācijas asiņošanu

PAI-1 un t-PA/PAI-1 komplekss raksturojas ar plašām koncentrāciju atšķirībām starp indivīdiem, nosakot individuālu fibrinolītisko aktivitāti [46]. Šo fibrinolītiskās aktivitātes dažādību varētu izskaidrot ģenētiskā predispozīcija zemākām fibrinolīzes inhibitoru koncentrācijām plazmā.

*PAI-1 gēna -675 (4G/5G) polimorfisms* ir literatūrā visplašāk aprakstītais polimorfisms, kas ietekmē fibrinolīzes aktivatoru un inhibitoru proporcijas plazmā [24, 47, 48]. Saskaņā ar mūsu darba rezultātiem PAI-1 -675 (5G/5G) genotips ir saistīts ar zemāku PAI-1 līmeni plazmā, augstākām D-dimēru koncentrācijām un izteiktāku asiņošanas tendenci. Mēs novērojam, ka 5G/5G homozigotiem ir par 29% zemākas PAI-1 koncentrācijas nekā 4G/4G homozigotiem. Mūsu rezultātiem līdzīgu atradni ir publicējuši vairāki autori [6, 24, 49], secinot, ka 5G/5G homozigotiem ir zemākas plazmas PAI-1 koncentrācijas un augstāks asiņošanas risks. Diemžēl mums neizdevās atrast t-PA/PAI-1 kompleksa atšķirības starp trīs genotipiem, vēl jo vairāk 4G/4G homozigotiem novēroja viszemākās kompleksa koncentrācijas 24 h pēc operācijas, bet 4G/5G heterozigotiem - visaugstākās. Viens no izskaidrojumiem varētu būt, ka t-PA/PAI-1 līmeni plazmā ietekmēja izmaiņas fibrinolītiskajā aktivitātē pēc MAR. Zināms, ka pēc operācijas PAI-1 un kompleksa līmenis plazmā pieaug kā atbildes reakcija uz fibrinolītisko aktivāciju MAR laikā [20]. Pacientiem ar 5G/5G genotipu konstatēja vislielāko asins zuduma apjomu pēc operācijas un tikai šinī genotipa grupā papildus novēroja arī augstākas D-dimēru koncentrācijas paralēli ar zemāku PAI-1 līmeni pirms operācijas, apliecinot augstāku fibrinolītisko aktivitāti.

*PAI-1 gēna -844 A/G polimorfisms.* Līdz šim nav publicēti pētījumi par kardioķirurģiskiem pacientiem pēc MAR un PAI-1 -844 A/G polimorfisma ietekmi uz fibrinolīzi. *Abboud N et al.* [50] ir aprakstījis PAI-1 un t-PA izmaiņas

305 pacientiem ar miokarda infarktu salīdzinot ar kontroles grupu 328 pacientiem un PAI-1 -844 A/G polimorfisma ietekmi uz fibrinolīzes marķieru koncentrācijām plazmā. Autori secināja, ka miokarda infarktā ir predisponēti A/A homozigoti. Līdzīgu atradni mūsu rezultātiem analizējot 600 veselus voluntierus ir publicējis *Verschuur et al.* [51] demonstrējot, ka pacientiem ar G/G genotipu ir zemākas PAI-1 un kompleksa koncentrācijas plazmā un līdz ar to augstāka fibrinolītiskā aktivitāte. Mūsu darbā mēs vēlējamies parādīt, ka pacientiem ar PAI-1 -844 G/G genotipu iespējams ir lielāks asiņošanas risks pēc sirds operācijām ar MAR pastiprinātas fibrinolīzes dēļ. Mūsu atradne apstiprināja izvirzīto hipotēzi, jo G/G homozigotiem bija par 36% zemākas PAI-1 koncentrācijas un arī t-PA/PAI-1 komplekss uzrādīja zemāku līmeni pēc operācijas, kā arī statistiski lielāks asins zudums salīdzinot ar A/A homozigotiem.

***ACE gēna 16 introna I/D polimorfisms.*** Vairāki autori ir centušies pētīt šī polimorfisma saistību ar fibrinolītiskās sistēmas aktivitātes izmaiņām un pieejamās publikācijas ir pretrunīgas [13, 49, 52]. Mūsu pētījumā bija statistiski ticamas atšķirības starp PAI-1 un t-PA/PAI-1 kompleksa koncentrācijām starp trīs ACE 16 introna I/D genotipiem. I/I homozigotiem bija par 33 % PAI-1 un par 22% t-PA/PAI-1 zemāks līmenis salīdzinot ar D/D homozigotiem, kā arī augstākas D-dimēru koncentrācijas pēc operācijas. Diemžēl mēs nekonstatējām atšķirīgu asins zuduma apjomu pēc ķirurģijas starp trīs genotipiem. Pretēji mūsu atradnei *Irribarren et al.* [49] un *Welsby et al.*[13] ziņo, ka I/I homozigotiem novēroja lielāku asins zudumu pēc sirds operācijām ar MAR paralēli ar zemākām PAI-1 koncentrācijām plazmā. Atšķirīgus rezultātus apraksta *Pola et al.* [52] pacientiem pēc ceļa locītavas protezēšanas, ka lielāks asins zudums bija D/D homozigotiem, kaut gan augstākas D-dimēru koncentrācijas pēc operācijas bija pacientiem ar I/I genotipu.



### 4.3. Koagulācijas izmaiņas pēc MAR, analizējot TEG parametrus un standarta koagulācijas testus

Mūsu pētījumā, salīdzinot TEG parametrus un standarta koagulācijas testu izmaiņas pēc MAR, novērojām, ka TEG ir precīzāks tests koagulācijas izvērtēšanai. Mērķis bija atspoguļot iespējamo hemodilūcijas ietekmi uz koagulāciju pēc MAR un asins zuduma apjomu 24 h pēc operācijas. Literatūras dati ir pretrunīgi vai hemodilūcija izraisa hipokoagulāciju [53] vai hiperkoagulāciju [29].

Mūsu darba rezultāti pacientiem ar lielāku hemodilūciju uzrādīja hipokoagulāciju pēc MAR, ko atspoguļoja gan kTEG, gan hep.kTEG parametri, bet standarta koagulācijas testi starp pacientiem praktiski neatšķīrās, izņemot fibrinogēnu. Kā arī pacientiem ar lielāku hemodilūciju, konstatējām statistiski lielāku asins zuduma apjomu pēc operācijas. Līdzīgi mūsu pētījuma datiem arī *Dial. et al.* [54] demonstrē, ka standarta koagulācijas testi neatspoguļo hemodilūciju un koagulācijas izmaiņas pēc MAR 613 pacientiem. Savukārt *Ternstrom et al.* [9], nosakot individuālu koagulācijas faktoru koncentrācijas plazmā un trombīna veidošanos, secināja, ka ir ievērojams koagulācijas faktoru kritums un trombīna veidošanās hemodilūcijas ietekmē ir samazināta. Šī atradne atbalsta mūsu rezultātus, jo TEG liecina par hemostāzi kopumā, ietverot arī trombīna veidošanos.

Pētījumā [55], kur hemodilūcijas efektu analizēja *in vitro* pēc TEG rādītājiem, novēroja R un K parametru pagarināšanos un leņķa alfa palielināšanos, kas liecina par hiperkoagulāciju - asins recekļa formēšanās ir pagarināta, bet recekļa izturība ievērojami picaug. Mūsu atradne pēc TEG uzrādīja, ka R un K pagarinās, leņķis alfa un MA parametri samazinās, norādot gan par pagarinātu asins recekļa formēšanos, gan samazinātu tā izturību. Jāpiemin, ka pacientiem pēc MAR visticamāk R intervāls pagarinājās heparīna ietekmē, par ko liecināja tā mazināšanās ar hep.kTEG.

Precīza asiņošanas marķiera meklējumi pacientiem pēc sirds operācijām ar MAR joprojām ir aktuāla problēma, ņemot vērā pieejamo literatūras datu dažādību, pieaugošo hemostāzes diagnostisko iespēju daudzveidību un iespēju ielūkoties ģenētisko faktoru izpētē. Domājams, ka šī tēma nākotnē vēl ilgi nezaudēs nozīmīgumu un aktualitāti, meklējot arvien jaunas iespējas savlaicīgai asiņošanas riska prognozēšanai un mērķtiecīgākai hemostātiskās terapijas izvēlei.

## 5. SECINĀJUMI

1. Statistiski ticamas izmaiņas pēc sirds operācijas standarta koagulācijas testos bija paaugstināts APTL un samazināts trombocītu skaits.
2. Pirmsoperācijas fibrinogēna līmenis uzrādīja ciešāko korelāciju ( $p < 0,05$ ) ar pēcoperācijas asins zudumu, apliecinot tā potenciālā marķiera lomu asiņošanas riska izvērtēšanā.
3. Samazināta PAI-1 koncentrācija plazmā pirms operācijas un zemāks t-PA/PAI-1 kompleksa līmenis 24 h pēc operācijas liecina par pastiprinātu fibrinolīzi, kas var ietekmēt pēcoperācijas asins zuduma apjomu.
4. Pacienti ar PAI-1 -675 (5G/5G), PAI-1 -844 G/G un ACE 16 introna I/I gēnu polimorfismiem ir ģenētiski predisponēti augstākam asiņošanas riskam palielinātas fibrinolītiskās aktivitātes dēļ.
5. Pēc atvērtām sirds operācijām novēro hipokoagulāciju, ko labāk atspoguļo kaolīna aktivētā tromboelastogramma ar un bez heparināzes salīdzinot ar standarta koagulācijas testiem.
6. Hemodilūcijas apjoms būtiski var ietekmēt pēcoperācijas asins zudumu.

## 6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1. Rekomendējam lietot standarta koagulācijas testus pacientiem pirms un pēc sirds operācijām ar MAR, pievēršot lielāku uzmanību trombocīta skaita izmaiņām dinamiskā un pirmsoperācijas fibrinogēna līmenim izvērtējot un prognozējot asiņošanas risku.

- fibrinogēna līmenis plazmā pirms operācijas  $< 3,6$  g/L būtu jāapsver kā iespējama marķieris palielinātam asiņošanas riskam pēc ķirurģijas;

- gadījumos ar pastiprinātu asiņošanu pēc operācijas ITN vajadzētu būt pieejamām trombocītu masas ransfūzijām, ja  $PLT < 150 \times 10^9/L$

2. Ņemot vērā fibrinolītiskās sistēmas marķieru korelāciju ar asins zuduma apjomu pēc operācijas, būtu lietderīgi noteikt PAI-1 un t-PA/PAI-1 pirms un pēc ķirurģijas, lai identificētu pacientus ar vājāku fibrinolīzes inhibīciju, kuriem mērķtiecīgi varētu pielietot antifibrinolītisko terapiju.

- ja PAI-1 līmenis pirms operācijas  $< 25$  ng/ml, iesakām operācijas laikā ievadīt traneksāmskābi 20-25 mg/kg ar sekojošu 1 mg/kg/h infūziju esošās 10 mg/kg un 1 mg/kg/h infūzijas vietā;

- gadījumos ar pastiprinātu asiņošanu pēc operācijas ITN vēlām būtu noteikt t-PA/PAI-1 līmeni plazmā, ja tas ir  $< 5$  ng/ml, iesakām apsvērt papildus 10-20 mg/kg transeksāmskābes ievadi.

3. Pašreizējās zināšanas par ģenētisko faktoru ietekmi uz fibrinolīzi joprojām ir nepietiekamas. Gēnu polimorfisma analīze varētu būt kā viens no iespējamiem papildus kritērijiem asiņošanas riska izvērtēšanā īpaši komplikētos gadījumos.

4. Rekomendējam pacientiem ar pastiprinātu asiņošanu veikt TEG pierakstu.

-izvērtēt hemodilūcijas ietekmi uz koagulāciju;

-nodrošināt mērķtiecīgāku hemostātisko terapiju vadoties pēc TEG parametriem:  $R > 11$  min, jāievada 2-4 vienības vai 10-15 ml/kg svaigi saldētu plazmu, leņķis  $A < 45^\circ$  indicētas 1-2 vienības/10 kg krioprecipitātu transfūzijas,  $MA < 54$  mm, apsvērt Desmopresīna 3  $\mu$ g/kg un trombocītu masas transfūziju.

## 7. PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

1. Ozolina A., Strike E., Jaunalksne I., Krumina A., Bjertnaes L.J., Vanags I. PAI-1 AND t-PA/PAI-1 COMPLEX POTENTIAL MARKERS OF FIBRINOLYTIC POSTOPERATIVE BLEEDING AFTER CARDIAC SURGERY EMPLOYING CARDIOPULMONARY BYPASS.

*BMC Anesthesiology*, 2012; 12:27. Pub Med (PMID: 23110524)

2. Ozolina A., Strike E., Jaunalksne I., Serova J., Romanova T., Nikitina-Zake L., Sabelnikovs O., Vanags I. INFLUENCE OF PAI-1 GENE PROMOTER-675 (4G/5G) POLYMORPHISM TO FIBRINOLYTIC ACTIVITY AFTER CARDIAC SURGERY EMPLOYING CARDIOPULMONARY BYPASS.

*Medicina (Kaunas)* 2012 48; (10): 515-520. Pub Med (PMID: 23324247)

3. Ozolina A., Strike E., Sondore A., Vanags I. COAGULATION TESTS AND THEIR ASSOCIATION WITH BLOOD LOSS AFTER CARDIAC SURGERY WITH CARDIOPULMONARY BYPASS.

*Acta medica Lituanica*, 2012; (19/3):166-171. (EBSCO 84526136)

4. Ozolina A., Strike E., Bekkers M., Arklina B., Lacis R., Sondore A., Vanags I. Тромбэластография и стандартная коагулограмма при гемодилюции и послеоперационном кровотечении у пациентов после операций на сердце с применением искусственного кровообращения.

*Anesteziologija i Reanimatologija*, 2012; (5): 42-47

5. Ozoliņa A., Striķe E., Vanags I. PLASMA FIBRINOGEN LEVEL AND POSTOPERATIVE BLEEDING AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY.

*Acta Chirurgica Latviensis*, 2011; (11): 79- 83

6. Ozoliņa A., Striķe E., Vanags I. FIBRINOLYTIC ACTIVITY AND GENETIC POLYMORPHISMS IN RELATION TO THE RISK FOR POSTOPERATIVE BLEEDING AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY.

*Rīga Stradiņš University, Research articles in medicine&pharmacy, Collection of Scientific Papers*, 2010; 78 - 84

7. Ozoliņa A., Strīķe E., Harlamovs V., Porīte N. EXCESSIVE BLEEDING AFTER CARDIAC SURGERY: REASONS AND MANAGEMENT. *Acta Chirurgica Latviensis*, 2009; (9): 86-91

## 8. ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU

### *Mutiskās uzstāšanās*

1. Ozolina A., Strike E., Jaunalksne I., Nikitina Zake L., Harlamovs V., Vanags I. GENETIC FACTORS CONTRIBUTE TO ENHANCED FIBRINOLYTIC ACTIVITY IN PATIENTS UNDERGOING CARDIAC SURGERY. The European Anaesthesiology Congress, Barcelona, Spain, 1-4 June, 2013. Dalība Labāko asbtraktu konkursā. Iegūta godalgota vieta un Eiropas Anesteziologu Asociācijas atbalvojums.

2. Ozolina A., Strike E., Daukste M., Lace A., Vanags I. INFLUENCE OF HEMODILUTION TO COAGULATION STATE IN PATIENTS AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY. Rīgas Stradiņa Universitātes 2013. gada zinātniskā konference. Rīga, 21.-22.marts, 2013; 121

3. Ozolina A., Strike E., Sondore A., Vanags I. DOES TEG REFLECT HYPOCOAGULATION AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY? 6th International Baltic Congress of Anaesthesiology and Intensive care, Vilnius, Lithuania, 18-20 October, 2012, *Acta medica Lituanica*, 2012; (19/3): 299

4. Ozoliņa A., Strīķe E., Jaunalksne I., Vanags I. PAI-1 AND t-PA/PAI-1 COMPLEX ASSOCIATION WITH POSTOPERATIVE BLEEDING IN CARDIOPULMONARY BYPASS PATIENTS. 26th Annual Meeting of the European Association of Cardiothoracic Anaesthesiologists, Austria, Vienna, 1.-4.June, 2011; S16-S17

5. Ozoliņa A., Strīķe E., Vanags I. FIBRINOLYTIC ACTIVITY AND GENETIC POLYMORPHISMS IN RELATION TO THE RISK FOR POSTOPERATIVE BLEEDING AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY.

Rīgas Stradiņa Universitātes 2010. gada zinātniskā konference. Rīga, 18.-19.marts, 2010; 94

6. Ozoliņa A., Striķe E., Vanags I. FIBRINOLYTIC ACTIVITY AND GENETIC POLYMORPHISMS IN RELATION TO THE RISK FOR POSTOPERATIVE BLEEDING AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY. 5th International Baltic Congress of Anaesthesiology and Intensive care, Estonia, Tartu, 21.-23.October, 2010; 92-93

### *Stenda referāti*

1. Ozolina A., Strike E., Freiberga I., Daukste M., Sondore A., Vanags I. INFLUENCE OF HEMODILUTION TO COAGULATION STATE DETECTED BY TEG IN PATIENTS AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY. The European Anaesthesiology Congress, Barcelona, Spain, 1-4 June, 2013.

2.Ozoliņa A., Striķe E., Jaunalksne I., Vanags I. PAI-1 AND t-PA/PAI-1 COMPLEX POTENTIAL FIBRINOLYTIC MARKERS FOR POSTOPERATIVE BLEEDING IN CARDIOPULMONARY BYPASS PATIENTS. 15th WFSA World Congress of Anaesthesiologists, Buenos Aires, Argentina, March 25-30, 2012; ii217-ii218

3. Ozolina A.,Strike E., Nikitina-Zake L., Jaunalksne I., Serova J., Romanova T., Vanags I. INFLUENCE OF PAI-1 PROMOTER POLYMORPHISM TO FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF PATIENTS AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY. 15th WFSA World Congress of Anaesthesiologists, Buenos Aires, Argentina, March 25-30, 2012; ii218

4. Ozolina A.,Strike E., Nikitina-Zake L., Jaunalksne I., Serova J., Romanova T., Vanags I. INFLUENCE OF PAI-1 PROMOTER POLYMORPHISM TO FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF PATIENTS AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY. Rīgas Stradiņa Universitātes 2012. gada zinātniskā konference. Rīga, 29.-30. marts, 2012; 153

5. Ozolina A., Strike E., Nikitina-Zake L., Jaunalksne I., Serova J., Romanova T., Vanags I. PAI-1 POLYMORPHISM INFLUENCES FIBRINOLYSIS AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY. 6th International Baltic Congress of Anaesthesiology and Intensive care, Vilnius, Lithuania, 18-20 October, 2012, Acta medica Lituanica, 2012; (19/3): 343
6. Ozoliņa A. Striķe E., Vanags I. PLASMA FIBRINOGEN LEVEL AND POSTOPERATIVE BLEEDING AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY. Rīgas Stradiņa Unīversitātes 2011. gada zinātniskā konference. Rīga, 14.-15.aprīlis, 2011; 123
7. Ozoliņa A., Striķe E., Vanags I. PLASMA FIBRINOGEN LEVEL AND POSTOPERATIVE BLEEDING AFTER ON-PUMP CARDIAC SURGERY. 26th Annual Meeting of the European Association of Cardiothoracic Anaesthesiologists, Austria, Vienna, 1.-4.June, 2011; S45-S46

## 9. PATEICĪBAS

Autore patiecas promocijas darba vadītājiem - asociētai profesorei Evai Strīķei un profesoram Indulim Vanagam.

Laikā, kad tika uzsākts pētījums, es sāku strādāt kā ārsts stažieris anesteziologs-reanimatologs Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas 39. Sirds ķirurģijas anestezioloģijas un intensīvās terapijas nodaļā, asociētās profesores Evas Strīķes vadībā. Sirsnīgs paldies viņai par ievirzīšanu klīniskajā medicīnā un par atbalstu doktorantūras darba uzsākšanai.

Lielu paldies vēlos teikt profesoram Indulim Vanagam, kurš iedvesmoja mani izvēlēties anestezioloģijas-reanimatoloģijas specialitāti un uzsākt doktorantūras studijas, kurš ir lielisks paraugs akadēmiskajā mācību darbā.

Paldies Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Sirds Ķirurģijas centra vadītājam profesoram Romanam Lācim par doto iespēju izstrādāt pētījumu augsti kvalificētā kolektīvā, kā arī paldies operējošām brigādēm.

Laikā, kad izstrādāju promocijas darbu, vienmēr mani atbalstīja, neatteica un stimulēja 39. Sirds ķirurģijas anestezioloģijas un intensīvās terapijas nodaļas kolēģi. Liels paldies viņiem, īpaši, virsārstam medicīnas doktoram Vladimiram Harlamovam un virsmāsām Mārītei Daukstei un Alvīnei Lācei.

Paldies zinātniskajai konsultantei medicīnas doktorei Lienei Ņikitinai - Zaķei, kas neatteica iesaistīties ģenētisko polimorfismu analīzē.

Paldies Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Imunoloģijas centra vadītājai dr. Intai Jaunalksnei ar kolēģēm Jeļenu Serovu un Tatjanu Romanovu par darba ieguldījumu fibrinolīzes marķieru noteikšanā.

Paldies asociētajai profesorei Angelikai Krūmiņai par sniegto atbalstu.



Paldies profesoram Lars Bjertnaes no Norvēģijas par izcilo un profesionālo palīdzību zinātniskās literatūras apgūvē, analīzē un starptautisko rakstu izstrādē.

Paldies ģimenei un vecākiem par atbalstu, sapratni, kā arī neizsmejamo pacietību un mīlestību.

## 10. ATSAUCES

1. Sniecinski RM, Chandler WL: Activation of the hemostatic system during cardiopulmonary bypass. *Anesthesia and analgesia* 2011, 113(6):1319-1333.
2. Despotis GJ, Avidan MS, Hogue CW, Jr.: Mechanisms and attenuation of hemostatic activation during extracorporeal circulation. *The Annals of thoracic surgery* 2001, 72(5):S1821-1831.
3. Ranucci M, Bozzetti G, Ditta A, Cotza M, Carboni G, Ballotta A: Surgical reexploration after cardiac operations: why a worse outcome? *The Annals of thoracic surgery* 2008, 86(5):1557-1562.
4. Choong CK, Gerrard C, Goldsmith KA, Dunningham H, Vuylsteke A: Delayed re-exploration for bleeding after coronary artery bypass surgery results in adverse outcomes. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007, 31(5):834-838.
5. Karthik S, Grayson AD, McCarron EE, Pullan DM, Desmond MJ: Reexploration for bleeding after coronary artery bypass surgery: risk factors, outcomes, and the effect of time delay. *The Annals of thoracic surgery* 2004, 78(2):527-534; discussion 534.
6. Jimenez Rivera JJ, Iribarren JL, Raya JM, Nassar I, Lorente L, Perez R, Brouard M, Lorenzo JM, Garrido P, Barrios Y et al: Factors associated with excessive bleeding in cardiopulmonary bypass patients: a nested case-control study. *J Cardiothorac Surg* 2007, 2:17.
7. Gorbet MB, Sefton MV: Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. *Biomaterials* 2004, 25(26):5681-5703.
8. Chandler WL: Effects of hemodilution, blood loss, and consumption on hemostatic factor levels during cardiopulmonary bypass. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 2005, 19(4):459-467.
9. Ternstrom L, Radulovic V, Karlsson M, Baghaei F, Hyllner M, Bylock A, Hansson KM, Jeppsson A: Plasma activity of individual coagulation factors, hemodilution and blood loss after cardiac surgery: a prospective observational study. *Thrombosis research* 2010, 126(2):e128-133.
10. Yavari M, Becker RC: Coagulation and fibrinolytic protein kinetics in cardiopulmonary bypass. *J Thromb Thrombolysis* 2009, 27(1):95-104.
11. Edmunds LH, Jr.: Managing fibrinolysis without aprotinin. *The Annals of thoracic surgery* 2010, 89(1):324-331.

12. Lethagen S: Hemostasis and bleeding disorders. Sweden: Urban Carlström, DMF; 2002.
13. Welsby IJ, Podgoreanu MV, Phillips-Bute B, Mathew JP, Smith PK, Newman MF, Schwinn DA, Stafford-Smith M, Perioperative G, Safety Outcomes Study Investigative T: Genetic factors contribute to bleeding after cardiac surgery. *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH 2005, 3(6):1206-1212.
14. Welsby IJ, Podgoreanu MV, Phillips-Bute B, Morris R, Mathew JP, Smith PK, Newman MF, Schwinn DA, Stafford-Smith M, Perioperative G et al: Association of the 98T ELAM-1 polymorphism with increased bleeding after cardiac surgery. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 2010, 24(3): 427-433.
15. Welsby IJ, Jiao K, Ortel TL, Brudney CS, Roche AM, Bennett-Guerrero E, Gan TJ: The kaolin-activated Thrombelastograph predicts bleeding after cardiac surgery. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 2006, 20(4): 531-535.
16. Gravlee GP, Arora S, Lavender SW, Mills SA, Hudspeth AS, Cordell AR, James RL, Brockschmidt JK, Stuart JJ: Predictive value of blood clotting tests in cardiac surgical patients. *The Annals of thoracic surgery* 1994, 58(1): 216-221.
17. Karlsson M, Ternstrom L, Hyllner M, Baghaei F, Nilsson S, Jeppsson A: Plasma fibrinogen level, bleeding, and transfusion after on-pump coronary artery bypass grafting surgery: a prospective observational study. *Transfusion* 2008, 48(10):2152-2158.
18. Mehta R, Shapiro AD: Plasminogen activator inhibitor type 1 deficiency. *Haemophilia* : the official journal of the World Federation of Hemophilia 2008, 14(6):1255-1260.
19. Chandler WL, Levy WC, Stratton JR: The circulatory regulation of TPA and UPA secretion, clearance, and inhibition during exercise and during the infusion of isoproterenol and phenylephrine. *Circulation* 1995, 92(10): 2984-2994.
20. Chandler W: The effects of cardiopulmonary bypass on fibrin formation and lysis: is a normal fibrinolytic response essential? *J Cardiovasc Pharmacol* 1996, 27 Suppl 1:S63-68.
21. Kim DK, Kim JW, Kim S, Gwon HC, Ryu JC, Huh JE, Choo JA, Choi Y, Rhee CH, Lee WR: Polymorphism of angiotensin converting enzyme gene is associated with circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997, 17(11):3242-3247.

22. Strandberg L, Lawrence D, Ny T: The organization of the human-plasminogen-activator-inhibitor-1 gene. Implications on the evolution of the serine-protease inhibitor family. *Eur J Biochem* 1988, 176(3):609-616.
23. Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A: Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995, 92(6):1851-1855.
24. Burzotta F, Iacoviello L, Di Castelnuovo A, Zamparelli R, D'Orazio A, Amore C, Schiavello R, Donati MB, Maseri A, Possati G et al: 4G/5G PAI-1 promoter polymorphism and acute-phase levels of PAI-1 following coronary bypass surgery: a prospective study. *J Thromb Thrombolysis* 2003, 16(3):149-154.
25. Morange PE, Henry M, Tregouet D, Granel B, Aillaud MF, Alessi MC, Juhan-Vague I: The A -844G polymorphism in the PAI-1 gene is associated with a higher risk of venous thrombosis in factor V Leiden carriers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000, 20(5):1387-1391.
26. Felmeden DC, Lip GY: The renin-angiotensin-aldosterone system and fibrinolysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2000, 1(3):240-244.
27. Moore JH, Smolkin ME, Lamb JM, Brown NJ, Vaughan DE: The relationship between plasma t-PA and PAI-1 levels is dependent on epistatic effects of the ACE I/D and PAI-1 4G/5G polymorphisms. *Clin Genet* 2002, 62(1):53-59.
28. Porite N, Strike E, Lacis R, Vanags I, Avots A, Harlamovs V: Thromboelastography-guided transfusion algorithm reduces haemotransfusions in cardiac surgery. In: *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences: 2005; 2005: 195.*
29. Szlam F, Sreeram G, Solomon C, Levy JH, Molinaro RJ, Tanaka KA: Elevated factor VIII enhances thrombin generation in the presence of factor VIII-deficiency, factor XI-deficiency or fondaparinux. *Thrombosis research* 2011, 127(2):135-140.
30. Bolliger D, Grolinger K, Tanaka KA: Pathophysiology and treatment of coagulopathy in massive hemorrhage and hemodilution. *Anesthesiology* 2010, 113(5):1205-1219.
31. Corporation H: TEG® 5000 Hemostasis Analyser. User Manual. In. USA: Haemoscope Corporation; 2007.
32. Medalion B, Frenkel G, Patachenko P, Hauptman E, Sasson L, Schachner A: Preoperative use of enoxaparin is not a risk factor for postoperative bleeding after coronary artery bypass surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 2003, 126(6):1875-1879.

33. Gravlee GP, Rogers AT, Dudas LM, Taylor R, Roy RC, Case LD, Triscott M, Brown CW, Mark LJ, Cordell AR: Heparin management protocol for cardiopulmonary bypass influences postoperative heparin rebound but not bleeding. *Anesthesiology* 1992, 76(3):393-401.
34. Nuttall GA, Oliver WC, Ereth MH, Santrach PJ: Coagulation tests predict bleeding after cardiopulmonary bypass. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 1997, 11(7):815-823.
35. Carroll RC, Chavez JJ, Snider CC, Meyer DS, Muenchen RA: Correlation of perioperative platelet function and coagulation tests with bleeding after cardiopulmonary bypass surgery. *J Lab Clin Med* 2006, 147(4):197-204.
36. Blome M, Isgro F, Kiessling AH, Skuras J, Haubelt H, Hellstern P, Saggau W: Relationship between factor XIII activity, fibrinogen, haemostasis screening tests and postoperative bleeding in cardiopulmonary bypass surgery. *Thrombosis and haemostasis* 2005, 93(6):1101-1107.
37. Essell JH, Martin TJ, Salinas J, Thompson JM, Smith VC: Comparison of thromboelastography to bleeding time and standard coagulation tests in patients after cardiopulmonary bypass. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 1993, 7(4):410-415.
38. Ti LK, Cheong KF, Chen FG: Prediction of excessive bleeding after coronary artery bypass graft surgery: the influence of timing and heparinase on thromboelastography. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 2002, 16(5):545-550.
39. Bojar RM: *Manual of perioperative care in adult cardiac surgery*. Chelsea, MI, USA: Blackwell Publishing; 2008.
40. Tettey M, Aniteye E, Sereboe L, Edwin F, Kotei D, Tamatey M, Entsua Mensah K, Amuzu V, Frimpong-Boateng K: Predictors of post operative bleeding and blood transfusion in cardiac surgery. *Ghana medical journal* 2009, 43(2): 71-76.
41. Gelb AB, Roth RI, Levin J, London MJ, Noall RA, Hauck WW, Cloutier M, Verrier E, Mangano DT: Changes in blood coagulation during and following cardiopulmonary bypass: lack of correlation with clinical bleeding. *Am J Clin Pathol* 1996, 106(1):87-99.
42. Jeppssons A: Fibrinogen and Bleeding After Cardiac Surgery. In: *Clinical Trials NCT00968045*. vol. 2009. U.S.National Institutes of Health: ClinicalTrials.gov; 2012.
43. Agren A, Kolmert T, Wiman B, Schulman S: Low PAI-1 activity in relation to the risk for perioperative bleeding complications in transurethral resection of the prostate. *Thrombosis research* 2007, 119(6):715-721.

44. Jankun J, Keck R, Selman SH, Skrzypczak-Jankun E: Systemic or topical application of plasminogen activator inhibitor with extended half-life (VLHL PAI-1) reduces bleeding time and total blood loss. *Int J Mol Med* 2010, 26(4): 501-504.
45. Sangal A. JJ, Selman S., Skrzypczak-Jankun E.: Haemostatic agent targets angiogenesis in cancer and tames bleeding as a clot protecting agent. 2012.
46. Chandler WL, Fitch JC, Wall MH, Verrier ED, Cochran RP, Soltow LO, Spiess D: Individual variations in the fibrinolytic response during and after cardiopulmonary bypass. *Thrombosis and haemostasis* 1995, 74(5): 1293-1297.
47. Duggan E, O'Dwyer MJ, Caraher E, Diviney D, McGovern E, Kelleher D, McManus R, Ryan T: Coagulopathy after cardiac surgery may be influenced by a functional plasminogen activator inhibitor polymorphism. *Anesthesia and analgesia* 2007, 104(6):1343-1347, table of contents.
48. Sirgo G, Morales P, Rello J: PAI-1 gene: pharmacogenetic association of 4G/4G genotype with bleeding after cardiac surgery--pilot study. *Eur J Anaesthesiol* 2009, 26(5):404-411.
49. I Iribarren Sarrias JJR, I Nassar, E Salido, P Garrido, L Lorente et al.: Predictive genetic factors for bleeding in cardiac surgery patients with cardiopulmonary bypass. *Critical Care* 2006, 10 (Suppl 1):225.
50. Abboud N, Ghazouani L, Saidi S, Ben-Hadj-Khalifa S, Addad F, Almawi WY, Mahjoub T: Association of PAI-1 4G/5G and -844G/A gene polymorphisms and changes in PAI-1/tissue plasminogen activator levels in myocardial infarction: a case-control study. *Genet Test Mol Biomarkers* 2010, 14(1): 23-27.
51. Verschuur M, Jellema A, Bladbjerg EM, EJ MF, Mensink RP, Moller L, Vos HL, de Maat MP: The plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) promoter haplotype is related to PAI-1 plasma concentrations in lean individuals. *Atherosclerosis* 2005, 181(2):275-284.
52. Pola E, Gaetani E, Pola R, Papaleo P, Flex A, Aloï F, De Santis V, Santoliquido A, Pola P: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism may influence blood loss in a geriatric population undergoing total hip arthroplasty. *J Am Geriatr Soc* 2002, 50(12):2025-2028.
53. Bolliger D, Szlam F, Levy JH, Molinaro RJ, Tanaka KA: Haemodilution-induced profibrinolytic state is mitigated by fresh-frozen plasma: implications for early haemostatic intervention in massive haemorrhage. *British journal of anaesthesia* 2010, 104(3):318-325.

54. Dial S, Delabays E, Albert M, Gonzalez A, Camarda J, Law A, Menzies D: Hemodilution and surgical hemostasis contribute significantly to transfusion requirements in patients undergoing coronary artery bypass. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 2005, 130(3):654-661.
55. Ruttman T: Hemodilution-induced hypercoagulability. *Anesthesia and analgesia* 2003, 96(5):1539; author reply 1539-1540.