

Univerzita Karlova

2. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Mariia Havova

**Faktory ovlivňující dlouhodobé přežití kryoprezervovaných
allograftů v RVOT**

**Factors influencing the long-term survival of the allografts in
RVOT**

Disertační práce

Školitel: doc. MUDr. Vilém Rohn, CSc.

Praha, 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 14.4.2024

MUDr. Mariia Havova

.....

Podpis autora

Poděkování

Chtěla bych v první řadě poděkovat svému školiteli doc. MUDr. Vilému Rohnovi, CSc., za jeho odborné vedení, podporu a pomoc při zpracování disertační práce, trpělivost, praktické rady, asistenci a usměrnění při všech vědeckých aktivitách a projektech, kterým jsem se v průběhu svého postgraduálního studia věnovala.

Speciální díky patří celému kolektivu a primářovi Oddělení transplantací a tkáňové banky MUDr. Janovi Burkertovi, Ph.D., zástupci primáře MUDr. Jaroslavovi Špatenkovi, CSc., celému kolektivu Dětského kardiocentra 2. LF UK a FN Motol, prof. MUDr. Janovi Janouškovi, Ph.D., zástupci přednosta pro kardiochirurgii MUDr. Romanovi Gebauerovi, prof. MUDr. Václavovi Chaloupeckému, CSc., kteří do velké míry stáli za realizací tohoto projektu a byli kdykoliv ochotní pomoci, za inspiraci, odbornou spolupráci, rady a poskytnutí statistických dat.

Děkuji současnému primářovi Kliniky kardiiovaskulární chirurgie FN Motol MUDr. Radovanovi Fialovi a celému kolektivu za vytvoření ideálních podmínek k uskutečnění této práce, za cenné rady, inspiraci a motivaci. Děkuji také MUDr. Petře Frank-Antonové, MUDr. Lukášovi Vlkovi, MUDr. Ondřeji Fabiánovi a kolektivu Ústavu patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol kteří pomáhali s realizací projektu.

V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině za nekonečnou podporu v průběhu celého doktorského studia, svým rodičům, kteří mi vždy pomáhali, za vytvoření podmínek pro můj osobní i odborný růst a pozitivního vztahu k vzdělání a vědě.

Práce vznikla za podpory Interního grantu Dětského kardiocentra 2. LF UK a FN Motol.

OBSAH

Abstrakt	5
Klíčová slova	5
Abstract	6
Keywords.....	6
1.ÚVOD.....	9
1.1. Anatomie výtokového traktu pravé komory	10
1.2. Patologie výtokového traktu pravé komory	12
1.2.1. Definice, klasifikace.....	12
1.3. Patofyziologie pravé komory u VSV s obstrukcí RVOT/ pulmonální regurgitací	21
1.4. Patogeneze selhání chlopenních náhrad.....	22
1.5. Diagnostika, indikace k chirurgické/katetrizační léčbě RVOT	24
1.6. Chirurgická rekonstrukce RVOT	28
1.6.1. Historie chlopenních náhrad	28
1.6.2. Typy chlopenních protéz.....	29
2.CÍL DISERTAČNÍ PRÁCE	43
3.METODIKA	44
3.1. Retrospektivní analýza dat pacientů, kteří podstoupili rekonstrukci RVOT pomocí alograftů nebo xenograftů	45
3.2. Strukturální integrita a buněčná viabilita kryoprezervovaných alograftů před implantací v RVOT: korelace histopatologických změn s charakteristikami dárce a dobou prezervace.....	52
3.3. Mikroskopické hodnocení explantovaných alograftů.....	56
4.VÝSLEDKY	59
4.1. Retrospektivní analýza dat pacientů ve skupině A	59
4.2. Retrospektivní analýza dat pacientů ve skupině B	65
4.3. Výsledky histopatologického vyšetření kryoprezervovaných alograftů před implantací. Korelace histopatologických změn s charakteristikami dárce a dobou prezervace	73
4.4. Výsledky mikroskopického vyšetření explantovaných konduktů	79
DISKUZE	81
ZÁVĚR	89
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	90

FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ DLOUHODOBÉ PŘEŽITÍ KRYOPREZEROVANÝCH ALLOGRAFTŮ V RVOT

Abstrakt

Cílem práce bylo na základě retrospektivní analýzy dat pacientů, kteří podstoupili rekonstrukce RVOT, morfologického a histologického vyšetření explantovaných allograftů a allograftů před implantací, stanovit rizikové faktory selhání konduktů, navrhnout potenciální způsoby zlepšení dlouhodobých výsledků a zjistit, který typ náhrady by měl být preferován v případě primoooperace a/nebo reintervence na RVOT. Retrospektivní část studie zahrnovala statistickou analýzu dat u celkem 766 implantací konduktu do RVOT u 590 pacientů a u 249 sekundárních a následných implantací u 197 pacientů. Endpointem studie bylo selhání konduktu, definované jako explantace konduktu; perkutánní balonková pulmonální valvuloplastika (včetně katetrizační náhrady pulmonální chlopně, plastiky kmene plicnice s výjimkou angioplastiky levé a/nebo pravé větvi plicnice) a úmrtí pacienta. Dále jsme posoudili histopatologické známky strukturální degenerace, stupeň buněčné prezervace a přítomnost antigen-prezentujících buněk (APC) u 57 kryoprezervovaných allograftů následně použitých pro rekonstrukci RVOT a korelace těchto změn s klinickými charakteristikami dárce, dobou kryoprezervace a typy a průměry allograftů. Poté jsme hodnotili mikroskopickou strukturu explantovaných konduktů u 24 pacientů v souvislosti s dobou implantace, stupeň degenerativních změn a známky buněčné rejekce explantátů. Závěrem práce lze konstatovat, že rekonstrukce výtokového traktu pravé komory prokazuje dobré střednědobé a přijatelné dlouhodobé výsledky bez ohledu na typ implantovaného konduktu u primoooperací a reintervencí. Dlouhodobé přežití konduktů ve výtokovém traktu pravé komory bylo nepříznivě ovlivněno menší velikostí použitých konduktů, mladším věkem příjemce, mladším věkem dárce, použitím aortálních allograftů, vstupní diagnózou a typem operace. U sekundárních a následujících intervencí negativním prediktorem přežití konduktu bylo také mužské pohlaví dárce. Mikroskopické strukturální změny lze detekovat téměř ve všech kryoprezervovaných allograftech. Změny ovlivňují jak cévní stěnu, tak cípy chlopně. Allografty před implantací prokázaly výrazně sníženou buněčnou prezervaci negativně korelující s počty APC. Mikroskopický vzhled dlouhodobých explantátů je často nespecifický a nálezy známek rejekce allograftů jsou vzácné.

Klíčová slova: RVOT, Allograft, Xenograft, Reoperace, Selhání konduktu, Antigen-prezentující buňky, Kryoprezervace, Degenerace, Histopatologie.

FACTORS INFLUENCING THE LONG-TERM SURVIVAL OF THE ALLOGRAFTS IN RVOT

Abstract

Based on retrospective analysis combined with assessment of histopathological changes the study aimed to determine risk factors of conduit failure, evaluate long-term conduit survival, propose potential ways to improve long-term outcomes, and find out which type of conduit should be preferred in case of primary operation and /or reintervention. We performed a retrospective analysis of a total of 766 records of valved conduit implantation in the right ventricular outflow tract in 590 patients and 249 records of valved conduit secondary and subsequent replacement in 197 patients. The study endpoints were defined as conduit explants; balloon dilatation of the graft (excluding balloon dilatation of left/right pulmonary artery), transcatheter pulmonary valve implantation; heart transplantation, or death of the patient. We also assessed histopathological signs of structural degeneration, degree of cellular preservation, and presence of antigen-presenting cells (APC) in 57 cryopreserved allografts subsequently used for the RVOT reconstruction, and correlated the changes with donor clinical characteristics, cryopreservation times, and allograft types and diameters. Then we studied the microscopical structure of explanted conduits in 24 patients in correlation to the duration of implantation, assessed the degree of degenerative changes, and searched for signs of cellular rejection. As a result, right ventricular outflow tract reconstruction demonstrates good mid-term and acceptable long-term outcomes regardless of the type of conduit implanted. Long-term survival of conduits was adversely affected by the younger age of the recipient, the younger age of the donor, the small size of the conduit at implantation, the use of aortic allografts, underlying congenital heart disease, and the type of surgery. In reoperative RVOT, worse long-term graft survival was associated with the younger age of the recipient at implantation, the small size of the conduit, younger age of the donor and male donor in case of allograft implantation. Allografts before implantation show markedly reduced cellular preservation negatively correlating with the numbers of APC. More preserved allografts may be therefore prone to stronger immune rejection. The microscopic appearance of long-term explanted conduits is often non-specific and signs of cellular rejection are sparse.

Keywords: Right ventricular outflow tract, Allograft, Xenograft, Reoperation, Conduit failure, Antigen Presenting Cells, Cryopreservation, Degeneration, Heart Valve, Histopathology.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK (SEŘAZENO ABECEDNĚ)

AI	aortální insuficience
ANOVA	analýza rozptylu
AO	aorta
APC	antigen-prezentující buňky
ASD	defekt síňového septa
BSA	body surface area, tělesný povrch
CAHV	kryoprezervované allografty
CCTGA	korigovaná transpozice velkých tepen
CMR	magnetická rezonance srdce
CT	výpočetní tomografie
CTGA	korigovaná transpozice velkých tepen
DORV	dvojitá pravá komora
ECC	mimotělní oběh
ECM	extracelulární matrix
EF	ejekční frakce
ELA	elastické vlákno
HE	hematoxylin a eosin
IQR	interquartile range, mezikvartilové rozpětí
IVS	intaktní komorové septum
LCAS	levý koronární aortální sinus
LDL	nízkodenzitní lipoproteiny
LV	levá komora
LVOT	výtokový trakt levé komory
MEMA	mukoidní extracelulární matrixové substance
MR	magnetická rezonance
PA	pulmonální atresie
PAS	Periodic Acid Schiff, PAS reakce
PPVI	perkutánní implantace plicní chlopně
PS	pulmonální stenóza
PTA	perzistující truncus arteriosus
PTFE	polytetrafluoethylen

PVR	náhrada pulmonální chlopně
RCA	pravá věnčitá tepna
RCAS	pravý koronární aortální sinus
RV	pravá komora
RVDP	enddiastolický tlak pravé komory
RVOT	výtokový trakt pravé komory
RVOTO	obstrukce výtokového traktu pravé komory
RVSP	systolický tlak v pravé komoře
SVD	strukturální deteriorace chlopně
TA	truncus arteriosus
TGA	transpozice velkých arterií
TI	trikusidální insuficience
TOF	Falotova tetralogie
TPVI	Transkatetrová implantace pulmonální chlopně
VIC	chlopenní intersticiální buňky
VSD	defekt komorového septa
VSV	vrozená srdeční vada

ÚVOD

Rekonstrukce RVOT u pacientů s vrozenou srdeční vadou v různých věkových kategoriích stále zůstává diskutabilní problematikou v chirurgii chlopenních vad. Včasná identifikace dysfunkce RVOT, správné načasování a výběr vhodného způsobu rekonstrukce má zásadní vliv na pooperační výsledky a dlouhodobé přežití použité chlopenní náhrady. Existuje řada možností rekonstrukce RVOT. Jejím cílem je pomocí náhradního materiálu replikovat anatomickou, histologickou a biomechanickou charakteristiku chlopní, případně celého RVOT. V současné době používané chlopenní náhrady se dělí na mechanické a biologické. Mezi biologické chlopenní náhrady patří xenografty, allografty a autografty. Alternativou a další možností rekonstrukce RVOT jsou chirurgické rekonstrukce chlopní pomocí perikardu nebo PTFE membrán.¹ Uvedené typy náhrad prošly a stále procházejí nepřetržitým vývojem, který je charakterizován neustálým zlepšováním jejich technických, hemodynamických a biokompatibilních parametrů a prokázaly svou účinnost a bezpečnost v klinické praxi. Nicméně, navzdory pokroku, který na poli designu a vývoje chlopenních náhrad od poloviny 20. století nesporně nastal, optimální typ chlopenní náhrady nebyl dosud nalezen. Použití každé protézy, popřípadě chirurgického způsobu rekonstrukce, je spojeno se vznikem souvisejících komplikací, což má za následek dysfunkce, ev. selhání konduktů.

Ideální chlopenní náhrada by měla splňovat následující podmínky:

1. Měla by mít minimální gradient a nulovou regurgitaci
2. Být kompatibilní s tělem příjemce
3. Být neimunogenní
4. Neměla by poškozovat krevní elementy
5. Být viabilní s velmi dlouhou trvanlivostí (u dětí by měla navíc mít růstový potenciál)
6. Být neomezeně dostupná v jakémkoliv množství
7. Být netrombogenní a odolná vůči infekci, měla by umožnit pevné vhojení do anulu operovaného, a přitom by neměla vyžadovat antikoagulační léčbu²

Za „zlatý standard“ rekonstrukce RVOT je v současné době považováno použití allograftu.³ Zásadní výhodou allograftů jsou jejich hemodynamické a reologické vlastnosti dané zachováním nativní anatomie a vztahů mezi cípy.⁴ Nicméně tendence k degeneraci allograftů v průběhu let je stále patrná⁵ a je všeobecně známým faktem, že s největší pravděpodobností pacienta čeká reoperace v důsledku selhání použité chlopenní náhrady.

1.1. Anatomie výtokového traktu pravé komory

RVOT je tubulární struktura umístěná vpředu a doleva ve vztahu k LVOT. Vtoková část pravé komory má na stěnách trabeculae carneaе – vystouplé svalové trámce podobné musculi pectinati v síni, naopak výtoková část pravé komory nemá trabekuly, označuje se proto jako pars glabra. Hranici vtokové a výtokové částí představuje v pravé komoře hrana, která vznikla zalomením srdeční trubice; navazuje na komorové septum a obloukem pokračuje doprava před ostium atrioventriculare dextrum, mezi ně a ostium trunci pulmonalis; nazývá se crista supraventricularis. Označení výtokové části komory je conus arteriosus, neboť se kraniálním směrem kuželovitě zužuje do ostium trunci pulmonalis, které je ohraničeno pulmonální chlopní (orientovanou horizontálně a o 1–2 cm nad aortální chlopní).⁶

Pulmonální chlopeň je jednocestný ventil oddělující pravou srdeční komoru od plicnice. Podle tvaru svých tří cípů spolu s aortální chlopní se označuje jako poloměsíčitá (semilunární). Podle Muresiana se ale složení kořene plicnice od složení kořene aorty liší – nemá vazivový anulus, a její cípy vystupují přímo ze svalové části výtokového traktu (infundibula) pravé komory. Kořen aorty je v porovnání s plicnicí silnější, tužší a obsahuje více fibroelastické tkáně.⁷ Pulmonální chlopeň tvoří tři cípy – valvula semilunaris anterior, dextra et sinistra.⁶ Jejich skutečnému umístění v pracujícím srdci však spíše odpovídá označení zadní, levý přední a pravý přední.⁷ Nejsou zde odstupující tepny ani vazivová kontinuita s trikuspidální chlopní.⁸ Každý cíp je funkčním komplexem tvořeným třemi vrstvami – *fibróza* (směřující do tepny), *spongióza* (střed) a *ventricularis* (směřující do komory). Histologicky jde o endotel, pojivovou tkáň (fibroblasty a fibrocyty) a extracelulární matrix. Hlavními komponenty jsou kolagenní a elastická vlákna a proteoglykany.⁹ Fibróza pokrývá celou kraniální plochu cípů. Je tvořena z 50 % kolagenními vlákny (převážně typu I) a z 10 % elastinem. Ventricularis tvoří většinu plochy cípů směřující do komory kromě místa styku cípů při zavřené chlopní (kooptační linie). Obsahuje větší zastoupení elastinu než fibróza (20 %). Fibróza je považována za nosnou vrstvu cípů. Kolagenní vlákna jsou v ní uspořádána do svazků orientovaných podél obvodu cípu od komisury ke komisurě.¹⁰

Z výtokové části pravé komory začíná truncus pulmonalis, zpredu zčásti kryje výstup aorty ze srdce a míří dorsokraniálně a mírně šikmo doleva pod oblouk aorty. Tam se dělí v a. pulmonalis dextra et sinistra, které se doprava a doleva rozestupují v úhlu téměř 180°.⁶

Plicnice je tepna elastického typu tvořená třemi vrstvami:

- *tunica intima* – endotel a subendotelová vrstva formovaná řídkým kolagenním vazivem a hladkými svalovými buňkami
- *tunica media* – nejsilnější vrstva tepny obsahující fenestrované elastické membrány a buňky hladké svaloviny uspořádané do koncentrických vrstev
- *tunica adventitia* – vnější vrstva tvořená elastickými a kolagenními vlákny, buňkami pojivové tkáně, krevními kapilárami, nervovými vlákny

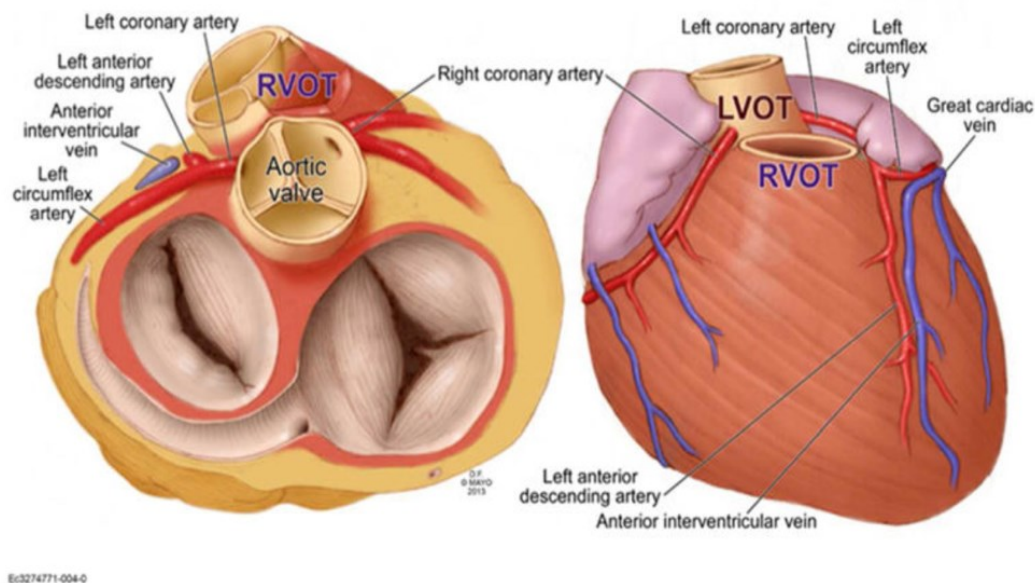
Kaudálně je RVOT ohraničen RV inflow / horní částí trikuspidální chlopně (orientovanou vertikálně).

RVOT se dělí na pravou (označovanou jako volná stěna), přední, levou a zadní (označovanou jako septální) část.¹¹ Jeho spodní a nejvíce pravá část souvisí s trikuspidálním anulem a mezikomorovou přepážkou, kde se nachází Hisův svazek a pravé Tawarovo raménko. Přestože je RVOT ve všech částech muskulární, ve volné stěně a v subpulmonální části je relativně tenký a tlustší v proximální zadní části.¹² Zadní část RVOT je přímo před LVOT a přední části mezikomorové přepážky, oddělené ventrikulo-infundibulárním záhybem, který se rozprostírá mezi septomarginální trabekulací a pulmonální chlopní.

Je důležité zdůraznit, že distálnější zadní část RVOT hraničí s Valsalvovými sinu a aortálními cípy (pravý koronární aortální sinus a část levého koronárního aortálního sinu).

¹¹ Vzhledem k tomu, že přední část levého koronárního sinu je hned za RVOT a taky že pulmonální chlopeň je lokalizována vyš než aortální chlopeň, nejbližší strukturou ke kmeni levé koronární tepny je subpulmonální infundibulum výtokového traktu pravé komory. (Obr. 1) Ramus interventricularis anterior (RIA) probíhá podél levého okraje RVOT, zatímco ramus circumflexus probíhá dorzálně podél ouška levé síně. Vzhledem k tomu, že proximální RVOT je lokalizován vpravo a RCAS je umístěn v kaudálnější poloze než LCAS, je pravá koronární tepna také v těsné blízkosti proximální části výtokového traktu pravé srdeční komory.¹³ První (infundibulární) větev RCA (pravé věnčité tepny) zajišťuje zásobování krví svaloviny výtokového traktu pravé komory.¹⁴

Obr.1: Vztah koronárních tepen a žil k RVOT a LVOT



Zdroj:

https://www.researchgate.net/publication/259826876_The_Anatomic_Basis_for_Ventricular_Arrhythmia_in_the_Normal_Heart_What_the_Student_of_Anatomy_Needs_to_Know

1.2. Patologie výtokového traktu pravé komory

1.2.1. Definice, klasifikace

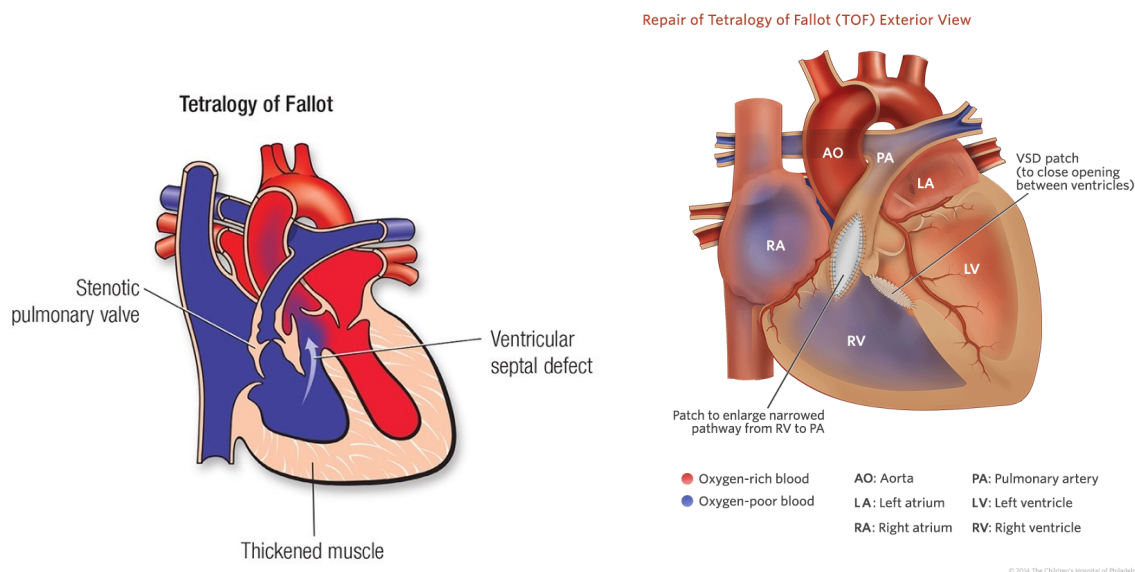
V dětském věku je nejčastější typ patologie obstrukce výtokového traktu pravé komory. V rámci této patologie s rekonstrukcí výtokového traktu pravé komory se setkáváme u následujících vrozených srdečních vad:

- Fallotova tetralogie (TOF) – tetralogie znamená čtyři hlavní znaky této komplexní cyanotické VSV (vrozené srdeční vady): subvalvární infundibulární pulmonální stenóza (IS); velký defekt komorového septa (VSD), většinou perimembranózní s extenzi do výtokového traktu; nasedání aorty (AO) nad defekt komorového septa; hypertrofie pravé komory.

Chirurgická léčba TOF se v současnosti elektivně provádí mezi 5. a 12. měsícem věku – pokud pacient vyžaduje pro významnou cyanózu nebo pro hypoxické záchvaty operaci dříve, typ výkonu (radikální korekce, ev. předchozí konstrukce arteriopulmonální spojky/katetrizační implantace stentu do pulmonální chlopně a RVOT) záleží na anatomii vady a věku pacienta.¹⁵ Při radikální korekci TOF je komorový defekt uzavřen záplatou a je uvolněna infundibulární stenóza. Stenotická chlopeň plicnice je incidována nebo excidována. Hypoplastický pulmonální anulus je incidován a rekonstruován perikardiální

záplatou. (Obr. 2) Výtokový trakt pravé komory může být rekonstruován konduitem s chlopní již v rámci primoooperace.^{16,15}

Obr.2: Fallotova teralogie, radikální korekce

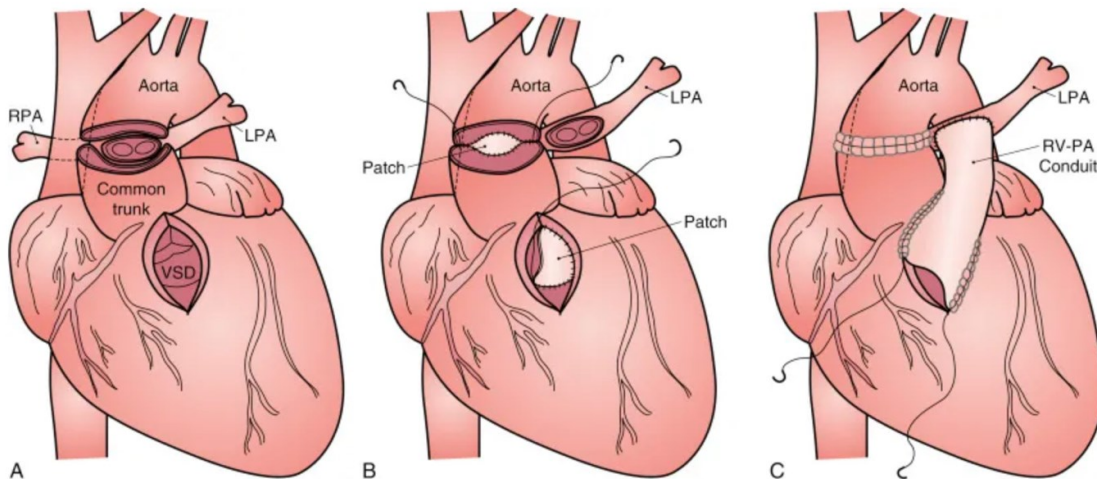


Zdroj: <https://www.heart.org/en/health-topics/congenital-heart-defects/about-congenital-heart-defects/tetralogy-of-fallot>, <https://www.chop.edu/conditions-diseases/tetralogy-fallot>

- Truncus arteriosus (PTA, TA) – je charakterizován společnou širokou cévou, která nasedá na defekt komorového septa. Odstupují z ní jak koronární tepny, tak aorta s velkými tepnami z oblouku aorty, a kmen a/nebo větve plicnice. Chybí zde subpulmonální infundibulum, chlopeň plicnice i aortopulmonální septum.

Operace se provádí mezi 1. a 2. měsícem života, v případě přidružené interrupce aortálního oblouku nebo při nekonfluentních větvích plicnice a zásobení otevřenou tepennou dučejí je operace nutná již v 1. týdnu. Plicní tepny se excidují ze společného trunku a aorta se rekonstruuje přímou suturou stěny nebo všitím záplaty. V případě významné insuficience trunkální chlopně je nutné provést plastiku chlopně. Z přístupu pravostrannou ventrikulotomií se uzavírá komorový defekt záplatou a pravá komora se spojí s plicnicemi konduitem s chlopní. V případě širokých větví je možná po jejich mobilizaci přímá anastomóza do ventrikulotomie a plastika RVOT záplatou (Obr.3).¹⁵

Obr.3: Chirurgická korekce truncus arteriosus



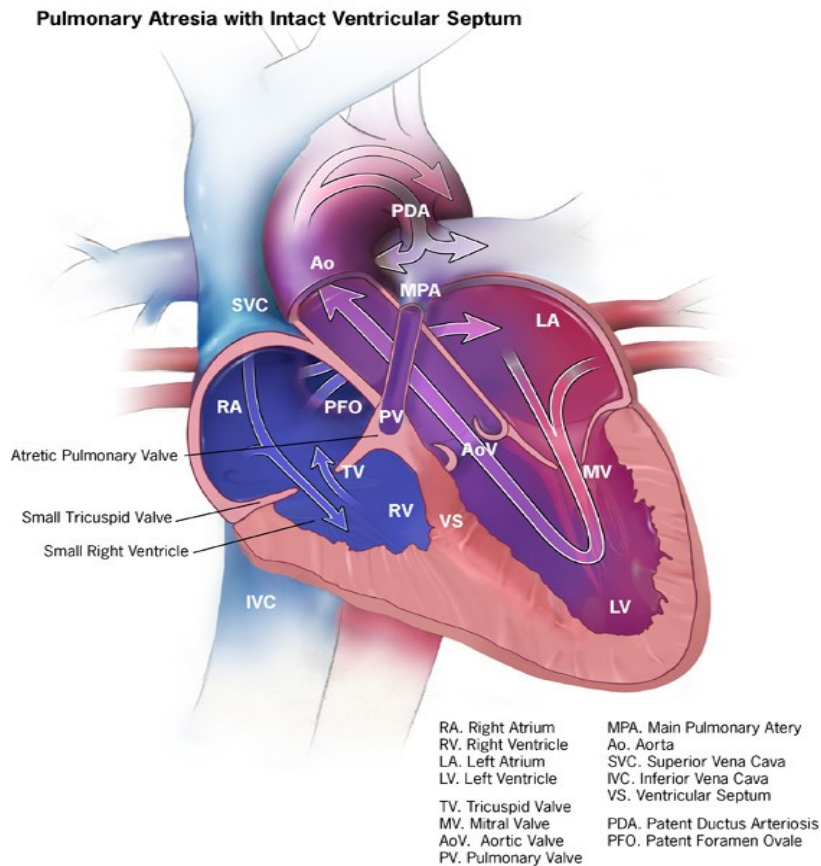
Zdroj: <https://thoracickey.com/truncus-arteriosus-8/>

- Pulmonální atrézie (PA-IVSD – pulmonální atrézie s intaktním komorovým septem, PA-VSD – pulmonální atrézie s defektem komorového septa)

U PA-IVSD (Obr.4) způsob chirurgického řešení závisí na morfologii a velikosti pravé komory a spočívá buď v jednokomorové cirkulaci (ev. korekce na cirkulaci s „jednou a půl komorou“) nebo ve dvoukomorovém řešení s funkční pravou komorou.¹⁶ V tomto případě je potřeba se v dospělém věku zaměřit na funkci PV – po balonkové valvuloplastice může být chlopeč nedomykavá, dále se řeší implantaci konduitu z pravé komory do plicnice.¹⁵

U PA-VSD při dobře vyvinutých větvích plicnice je možné provést radikální rekonstrukční operace s rekonstrukcí plicnice allograftem a uzávěrem VSD. Při hypoplastických větvích plicnice, jsou-li větve plicnice konfluentní, provádí se unifokalizace plicního cévního zásobení s napojením kolateral vpravo i vlevo na perikardiální vaky, které vytvářejí hlavní větve plicnice a jsou spojeny s pravou komorou konduitem s chlopní nebo allograftem.¹⁷

Obr.4: PA-IVSD – pulmonální atrézie s intaktním komorovým septem



Zdroj: <https://www.cdc.gov/ncbddd/heartdefects/pulmonaryatresia.html>

- Stenóza plicnice (PS) – izolované zúžení na pulmonálním ústí je nejčastěji umístěno na chlopni plicnice (valvární stenóza), pod chlopni (subvalvární nebo infundibulární stenóza), nebo nad chlopni (supravvalvární stenóza). Může být omezené na krátký úsek kmene plicnice nebo má tubulární tvar (hypoplazie kmene plicnice) a může pokračovat jako hypoplazie větví plicnice až do plicních hilů.¹⁶

Pulmonální stenóza může být izolovanou vadou, nebo spojená s jinými VSV (defekt síňového nebo komorového septa), nebo může být součástí komplexnějších srdečních vad (TOF, DORV apod.). Stenóza plicnice může být součástí syndromu Noonanové – typická je dysplastická rigidní pulmonální chlopeň, zatímco u jiných vrozených pulmonálních stenóz chlopeň je jemná se srostlými komisurami.¹⁷

Pulmonální stenóza se řeší balonkovou perkutánní valvuloplastikou anebo valvulotomií na otevřeném, popříp. na zavřeném srdci u novorozence. Po valvulotomií chlopně vzniká vždy pulmonální insuficience, která je různě veliká a závažná. V nízkotlaké pulmonální cirkulaci děti klinicky dobře tolerují i velkou regurgitaci. Zůstává-li v plicnici zbytkový odpor

z periferní stenózy, která nebyla odstraněna, bývá regurgitace hemodynamicky závažná, tlakově i objemově zatěžuje pravou komoru a působí rozvoj její dysfunkce. Tento klinický stav vyžaduje reoperaci zbytkové stenózy, je-li chirurgicky dostupná, a rekonstrukci pulmonální ústí allograftem.¹⁶

- Aplazie chlopně plicnice – u této poruchy nemá pulmonální chlopně vytvořené cípy, anulus je stenotický, po jeho obvodu uvnitř chlopně je prstenec nediferencované myxomatozní tkáně a pulmonální ústí zeje. Kmen plicnice a zejména pravá větev plicnice jsou mohutně dilatované a utlačují tracheu a oba bronchy.

Chirurgická korekce se provádí s excizi dysplastické tkáně pulmonálního anulu, do kterého se všije allograft, zajišťující domykavost nového pulmonálního ústí.¹⁶

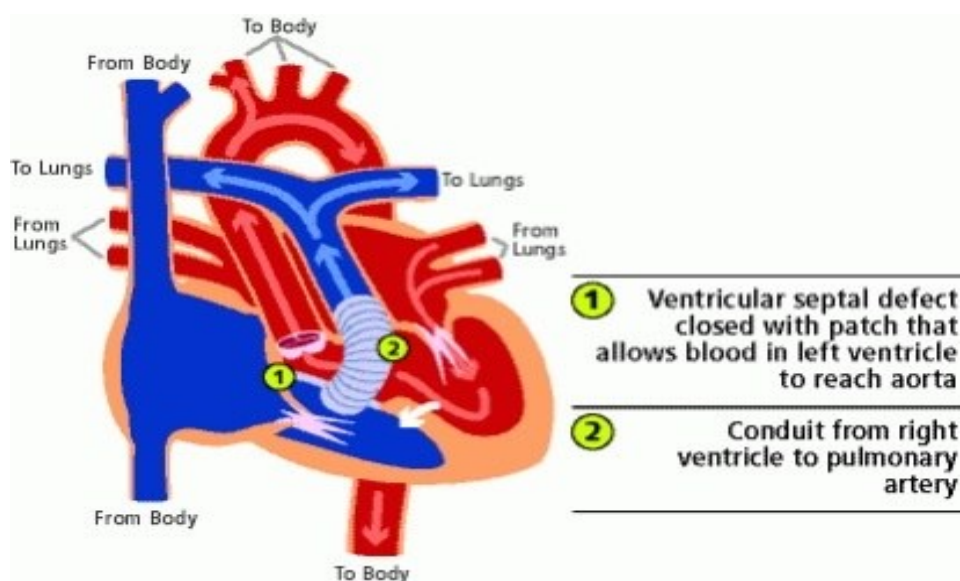
- Transpozici komplexy (d-TGA – nekorigovaná d-transpozice velkých arterií, l-TGA – korigovaná transpozice velkých arterií)

U nekorigované transpozice velkých tepen jsou srdeční oddíly uspořádány v atrioventrikulární konkordanci a ventrikuloarteriální diskordanci, čímž vznikají dvě oddělené paralelní cirkulace. Výraz d-TGA znamená, že aorta je vpravo od plicnice (d = dextropozice aorty). Levá komora je u d-TGA v nízkotlakém řečišti, naopak pravá komora je vystavená systémovému tlaku a systémovému arteriálnímu odporu, proto její svalovina, na rozdíl od LV, hypertrofuje a dutina dilatuje. Může být prostá, anebo komplexní transpozice (spojená s přidruženými vadami – VSD a PS).¹⁵

Jednou z možností chirurgické korekce nekorigované transpozice velkých arterií je anatomická korekce transpozice na úrovni komor podle Rastelliho. (obr.5)

Operace je indikována u komplexních forem transpozice s defektem komorového septa a obstrukcí výtokového traktu levé komory. Princip operace spočívá v tom, že výtok levé komory je derivován komorovým defektem pomocí dacronové záplaty do aorty. Vlastní plicnice je slepě uzavřena a krev z pravé komory se dostává do plicnice pomocí extrakardiálního implantovaného konduitu s chlopní (xenograftu nebo allograftu).¹⁶

Obr. 5: Anatomická korekce transpozice na úrovni komor podle Rastelliho



Zdroj: <https://www.mottchildren.org/conditions-treatments/ped-heart/conditions/transposition-great-arteries>

Vrozeně korigovaná transpozice velkých tepen se označuje jako l-TGA (protože aorta probíhá nalevo od plicnice (l – levopozice) a nekříží se s ní) anebo CCTGA (congenitally corrected transposition of the great arteries). U této vady uspořádání srdečních dutin je v atrioventrikulární diskordanci a současné ventrikuloarteriální diskordanci. U izolované CCTGA bez přidružených vad je cirkulace fyziologická, bez cyanózy (je velmi vzácná, může být objevená až v dospělosti). U CCTGA s přidruženými vadami se nejčastěji setkáme s defektem komorového septa, stenózou plicnice, Ebsteinoidní malformací systémové trikuspidální chlopně. Asi 25% pacientů s CCTGA mají dextrokardii nebo mezokardii, 18% mají pravostranný aortální oblouk, u 36% pacientů s CCTGA a přidruženými vadami a u 25% pacientů s izolovanou CCTGA byla nalezena aortální regurgitace.¹⁵

l-TGA se závažnou pulmonální obstrukcí lze korigovat implantací extrakardiálního konduitu. V tomto případě pulmonální obstrukci lze jen málokdy vyřešit zákrokem na chlopni, nebo excizí fibrózního vaziva pod plicnici – muskulární subpulmonální obstrukci nelze resekovat pro nebezpečí trvalého atrioventrikulárního bloku, a LVOT nelze rozšířit, poněvadž je uložen za aortou a přecházejí přes něj koronární arterie. Proto závažné pulmonální obstrukce u CCTGA se řeší implantací extrakardiálního konduitu nebo allogratu, vedeného od hrotu levé komory do plicnice a překlenujícího místo obstrukce.¹⁶

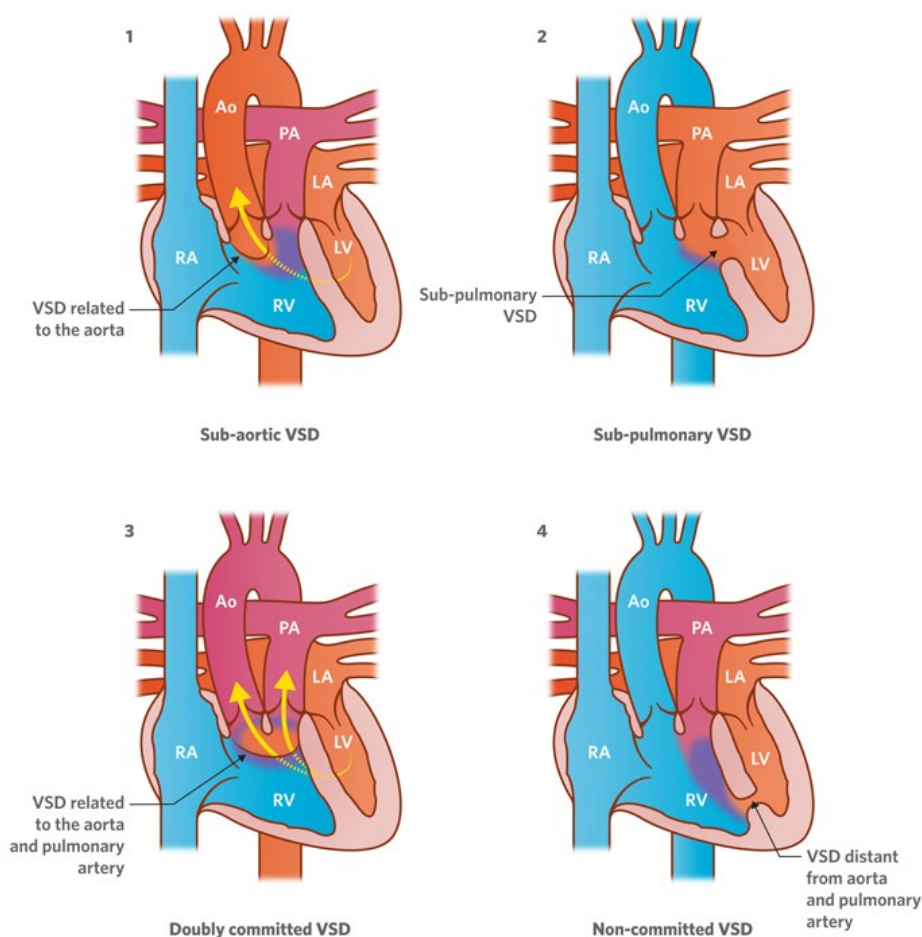
- Dvojvýtoková pravá komora (DORV) – není jedinou vadou, název sdružuje řadu komplexních srdečních vad, které jsou charakterizovány tím, že aorta i plicnice odstupují z morfologicky pravé komory (jedna tepna odstupuje

z pravé komory úplně, druhá z více než 50 %). Levá komora se vyprazdňuje defektem komorového septa do komory pravé a dále do velkých tepen.

Existuje řada variant této vady. Podle vztahu defektu komorového septa k velkým tepnám se dělí na:

- Fallotovský typ (DORV/TOF) se subaortálním defektem
- Transpoziční typ (DORV/TGA) se subpulmonálním defektem (Taussing-Bing)
- DORV s oddalným defektem od velkých tepen
- DORV se subarteriálním defektem (doubly committed)¹⁵ (Obr. 6)

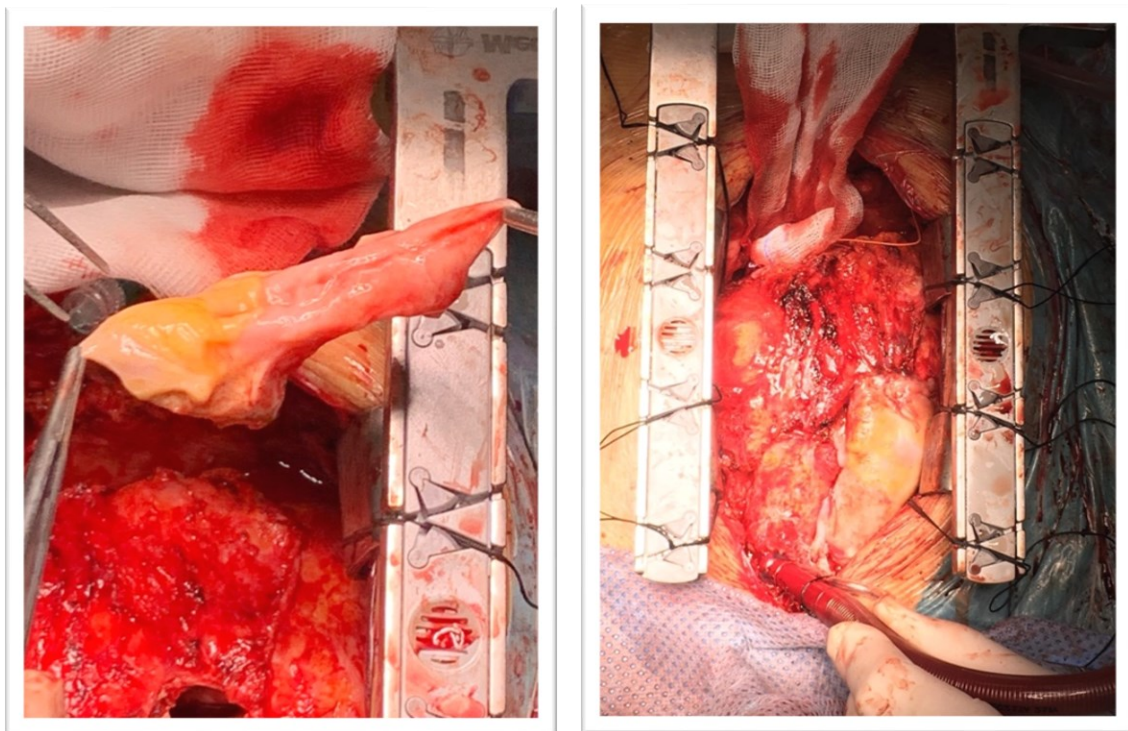
Obr.6: Typy DORV podle vztahu defektu komorového septa k velkým tepnám



Zdroj: https://www.rch.org.au/cardiology/heart_defects/Double_Outlet_Right_Ventricle/
 Implantace extrakardiálního konduitu do stenotického RVOT se používá při chirurgické korekci DORV u pacientů s pulmonální stenózou nebo hemodynamikou Fallotové tetralogie se subaortálním defektem k překlenutí pulmonální stenózy.¹⁶

V dospělosti je nejčastějším typem reoperace náhrada insuficientní, případně stenotické pulmonální chlopně biologickou protézou nebo allograftem u pacientů s Fallotovou tetralogií;¹⁵ nebo výměna degenerovaných konduktů u pacientů s výše uvedenými diagnózami po jejich primární korekci s nutností rekonstrukce RVOT pomocí konduktů. (Obr. 7)

Obr. 7: *Peroperační snímek reimplantace pulmonálního allograftu u 28letého pacienta s nekorigovanou transpozicí velkých arterií po 12letech. První intervence - Rastelliho korekce*

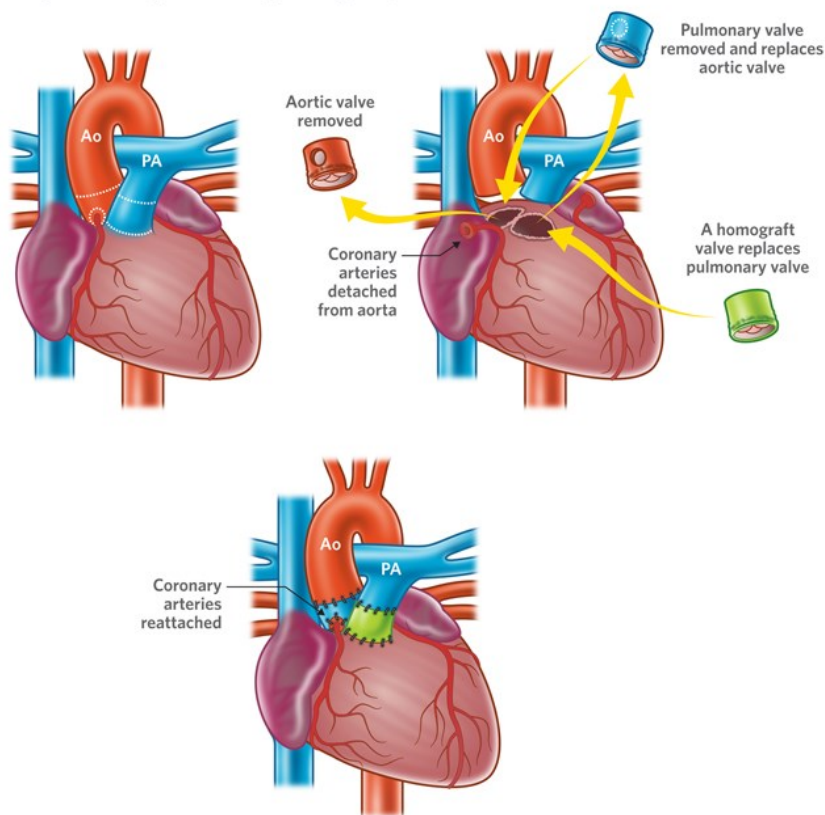


Zdroj: vlastní fotografie

Zvláštní skupinu tvoří pacienti po Rossově operaci. Rossova operace byla poprvé popsána Donaldem Rossem v roce 1968.¹⁸ Principem operace je náhrada postižené aortální chlopně pulmonálním autograftem, tedy pacientovou plicnicovou chlopní. Pulmonální chlopeň, respektive pulmonální kořen, je následně nahrazen zdaleka nejčastěji transplantací pulmonálního allograftu, tedy chlopní odebranou zemřelému dárci. (Obr. 8)

Obr. 8: Rossova operace

Ross operation (pulmonary autograft)



© The Royal Children's Hospital, Melbourne, Australia

Zdroj:

https://www.rch.org.au/uploadedImages/Main/Content/cardiology/2d_Aortic_stenosis_AS.jpg

Pulmonální autograft se někdy označuje jako „living valve“, tedy živá chlopeč se zachovaným endotelem/endokardem a ostatními vrstvami stěny i cípů chlopeč. Z toho důvodu se u této chlopeč prakticky nevyskytují tromboembolické komplikace, pacienti nemusí užívat antikoagulaci, a nejsou tedy vystaveni riziku krvácivých komplikací. Viabilita chlopeč rovněž garantuje poměrně vysokou odolnost vůči infekci s velmi nízkým výskytem infekční endokarditidy.¹⁹ Ortotopická poloha allograftů, implantovaného do pulmonální pozice, a možnosti oversize jsou faktory, které zvyšují dlouhodobé přežití konduitu v RVOT v této skupině.²⁰

Dlouhodobé výsledky u pacientů po Rossově operaci a u non-Ross pacientů podle většiny studií se významně liší v pediatrické populaci – během 5letého sledování 93 % (medián sledování, 52.9 měsíců) pacientů ze skupiny Ross nevyžadovala reoperaci na rozdíl od 66% (medián sledování, 61.3 měsíců) u skupiny non-Ross.²¹

1.3. Patofyziologie pravé komory u VSV s obstrukcí RVOT/ pulmonální regurgitací

Obstrukce ve výtokovém traktu pravé komory vede k tlakovému přetížení pravé komory se zbytněním její svaloviny. Při dlouhodobé neřešené významné vadě může docházet i k difuzní fibróze myokardu se zvýšením obsahu kolagenu v intersticiu. Poddajnost pravé komory je snižena, dutina pravé komory zůstává většinou malá, systolická funkce pravé komory je u kompenzované pulmonální stenózy zachována. U významných stenóz plicnice je zvýšen nejen systolický tlak v pravé komoře, ale vzhledem k diastolické dysfunkci i enddiastolický tlak v pravé komoře a tlak v pravé síni. U těžké pulmonální stenózy bývají sekčně nacházeny v pravé komoře a v papilárních svalech mnohočetné subendokardiální infarkty. Při selhání pravé komory dochází k její dilataci, systolické dysfunkci a sekundární trikuspidální regurgitaci při dilataci trikuspidálního anulu.

U pacientů s Fallotovou tetralogií je pravá komora vystavena velké tlakové zátěži – vyprazdňuje se současně do vysokotlaké nasedající aorty a do stenotického RVOT, hypertrofie svaloviny pravé komory včetně infundibulárního septa a trabekuly septomarginálie v důsledku tlakového přetížení vede ke zhoršení obstrukce RVOT, pravolevý zkrat vede k cyanóze. Plicní průtok je nízký – pacienti s TOF nemají plicní hypertenzi (chrání je obstrukce RVOT).

Hemodynamika u fallotovského typu DORV je podobná jako u TOF. Velikost pravolevého zkratu a plicní průtok jsou závislé na významnosti pulmonální stenózy – krev z levé komory je směřovaná subaortálním defektem pod aortu, tlaky v komorách jsou vyrovnané. Při významné stenóze plicnice nedochází k plicní hypertenzi.

Chronické tlakové přetížení pravé komory může být provázeno i diastolickou a systolickou dysfunkcí levé komory při geometrických změnách, hypertrofii a dislokaci mezikomorového septa. Dysfunkce levé komory mizí po odstranění tlakového přetížení pravé komory.¹⁵

Kromě pulmonální stenózy, jako reziduální nález (nejčastěji po valvuloplastice pulmonální stenózy nebo po operaci Fallotovy tetralogie) vzniká pulmonální regurgitace, která je různě velká a závažná. Tlak v pravé komoře během diastoly, enddiastolický tlak pravé komory (RVDP), je zpočátku nižší než tlak v plicních tepnách v diastole. Fyziologicky je zabráněno regurgitaci objemu krve vypuzené během systoly do plicního oběhu zpět do pravé komory i přes pokles jejích tlaků díky suficientní pulmonální chlopni. Při pulmonální regurgitaci je pravá komora objemově přetížená, což klinicky pacienti primárně dobře tolerují a v této fázi nemají žádné potíže. Postupně však pravá komora podléhá excentrické hypertrofii, což má za následek její dilataci. Cílem této remodelace je přizpůsobit se zvýšenému tepovému

objemu a zachovat srdeční výdej v dalším cyklu systoly. Pokud je pulmonální regurgitace v této fázi ponechána bez intervence, chronické objemové přetížení pravé komory může vést ke zhoršení její funkce a pravostrannému srdečnímu selhání. Progresivní dilatace pravé komory může mít při komorové interdependenci nepříznivý vliv i na plnění levé komory a její diastolickou a systolickou funkci. Jedním z mechanismů, které vedou k systolické dysfunkci levé komory a snížení ejekční frakce, je deviace mezikomorového septa během diastoly v důsledku dilatace pravé komory.²²

1.4. Patogeneze selhání chlopenních náhrad

Xenografty tvoří prasečí aortální chlopeň nebo chlopeň zkonstruovaná z hovězího perikardu předem ošetřené fixačními prostředky a detergenty (viz. samost. kapitola – typy chlopenních náhrad).²³ Taková příprava stabilizuje xenografty a zlepšuje jejich trvanlivost a také snižuje imunogenicitu, která by jinak vedla k reakci hostitele proti štěpu. Většina komerčně dostupných biologických protéz je předem ošetřena glutaraldehydem. Na rozdíl od xenograftů, allografty nepodléhají předběžnému ošetření fixačními prostředky; místo toho podléhají dezinfekci antibiotiky a v určitých případech decellularizaci, po které následuje zmrazení nebo krátkodobé skladování při 4 ° C až do implantace. Nativní srdeční chlopně jsou složitým multikomponentním systémem umožňujícím samoregulaci díky intersticiálním buňkám (VIC – valve interstitial cells), které produkují a remodelují extracelulární matrix (ECM). Poskytují kompenzační adaptační reakci na měnící se hydrodynamické a biochemické parametry těla. Při absenci VIC závisí životnost chlopenní náhrady přímo na trvanlivosti chemicky zesíťovaného (cross-linked) ECM.

Je důležité jasně rozlišovat pojmy SVD (structural valve deterioration – strukturální poškození chlopenní náhrady) - jako hlavní etiologie selhání chlopenní náhrady a samotné selhání chlopenní náhrady jako její klinickou korelaci. Strukturální poškození chlopně způsobuje ireversibilní dysfunkci, zatímco jiné patologické příčiny dysfunkce implantované chlopně (tj. trombóza, endokarditida) jsou potenciálně reverzibilní a měly by být identifikovány a kategorizovány samostatně. Trombotický nebo endokarditický proces se však kvalifikuje jako příčina selhání chlopenní náhrady, pokud vede k trvalé nebo stálé dysfunkci chlopně. Brzy po operaci může v důsledku technických komplikací vyskytnout nestrukturální dysfunkce chlopní (tj. intraprotetická nebo paravalvulární regurgitace, malpozice protézy, patient-prosthesis mismatch, embolizace).²⁴

SVD je ireversibilní proces, který se projevuje postupnými degenerativními změnami v protéze, jako je růst pannu, fibróza a kalcifikace cípu, delaminace pojivové tkáně, vznik prasklin a perforací.²⁵ Nakonec to má za následek selhání chlopenní náhrady, kritický pokles

hemodynamické účinnosti chlopně, odpovídající stenóze a regurgitaci. Mechanismy, které jsou základem SVD, stále nejsou úplně pochopeny a dřívější vize vývoje SVD jako pasivního fyzikálně-chemického jevu je nyní považována za zjednodušenou. Nedávné studie prokázaly že v patogenezi SVD je zahrnuto více aktivních procesů, včetně imunitní rejekce štěpu a remodelace tkáně podobné ateroskleróze.

SVD je komplexní multifaktoriální proces implementovaný prostřednictvím několika souvisejících mechanismů, pasivních i aktivních. Pasivní poškození xenograftů a allograftů je nevyhnutelné kvůli nedostatku viabilních buněk schopných udržovat homeostázu chlopně a opravit poškozené ECM ve štěpu. Tento mechanismus (tzv. graft fatigue) je důsledkem trvalého poškození ECM graftů cyklickou zátěží a v některých případech je urychlen v důsledku patient-prothesis mismatch. Dalším pasivním mechanismem je kalcifikace.

Ovlivnění mechanismu pasivního poškození graftů není snadný úkol. Ve srovnání s protézami první generace mají moderní komerčně dostupné xenografty podstatně delší životnost díky optimalizaci jejich designu a antikalcifikačním režimům, které deaktivují volné aldehydové skupiny vznikající v důsledku fixace glutaraldehydem. Možnosti ovlivnění těchto proměnných jsou nicméně již v dnešní době omezené a doposud byly téměř vyčerpány. Nové alternativní přístupy k fixaci xenograftů jsou buď málo zkoumané, nebo příliš komplikované a / nebo drahé pro použití v klinické praxi. Další výzkum by se proto měl zaměřit na ovlivnění mechanismů vývoje SVD ze strany příjemce.

Aktivní mechanismy poškození chlopenní náhrady jsou zprostředkovány buňkami příjemce. Četné studie prokázaly že jak xenografty, tak allografty jsou u většiny pacientů schopné vyvolat humorální a buněčné imunitní odpovědi. Grafty jsou aktivně infiltrovány imunitními buňkami produkujícími proteolytické enzymy, calcium-binding proteiny a reaktivní formy kyslíku. Ještě důležitější je, že chemické zesílení (cross-linking) graftů neposkytuje úplnou odolnost vůči proteolytickému štěpení a oxidační degradaci. Za určitých podmínek může zánětlivá reakce v graftu získat atherosclerosis-like fenotyp, přičemž depozice a následná oxidace LDL (nízkodenzitní lipoproteiny) mohou následně vést k dysfunkci štěpu. Kromě toho mohou tkáně chlopenních náhrad indukovat produkci lidských protilátek proti α - Gal a NeuGc, což může dále zvyšovat produkci imunitních buněk a související s tím kalcifikaci. Zdá se, že aktivní i pasivní mechanismy SVD se vyskytují současně a mohou se navzájem amplifikovat. Například mechanické napětí indukuje proteolytické štěpení a delaminaci ECM štěpu, čímž usnadňuje infiltraci imunitních buněk, což dále poškozuje ECM a vytváří oblasti snadno podléhající mechanické destrukci. Není však jasné, do jaké míry přispívá imunitní odpověď progresi SVD. Možná se může u jednotlivých pacientů velmi lišit. Některé

kazuistiky dokumentovaly časnou dysfunkci graftů způsobenou agresivní infiltrací imunitních buněk do štěpu a doprovodnou degradací ECM, což potvrzuje hypotézu, že v určitých případech mohou být tyto procesy dominantní příčinou SVD. To platí zejména pro děti a mladší pacienty, jejichž imunitní systém je hyperaktivní. U některých pacientů byl extrémně rychlý vývoj SVD spojen s alergickou reakcí na komponenty protéz. Je však jasné, že u takových jedinců může ovlivnění imunitní odpovědi významně zmírnit SVD.

Dalším důležitým problémem je snížení imunogenicity allograftů; v daném případě prokázala decelularizace allograftů před implantací vynikající dlouhodobé výsledky ve srovnání s kryoprezervací.

V současné době neexistuje žádná farmakoterapie, která by ovlivnila SVD. Sporné evidence o účinnosti statinů při farmakoterapii SVD lze vysvětlit jeho multifaktoriální etiologií. Terapie statiny může být potenciálně účinná pouze u pacientů, jejichž SVD je způsobeno hlavně zánětlivými mechanismy. Jiná farmaka, jako je systémová imunosuprese nebo antikoagulační léčba, se v klinické praxi nepoužívají kvůli nepříznivým účinkům a anulují hlavní výhody xenograftů a allograftů oproti mechanickým chlopenním protézám.²⁶

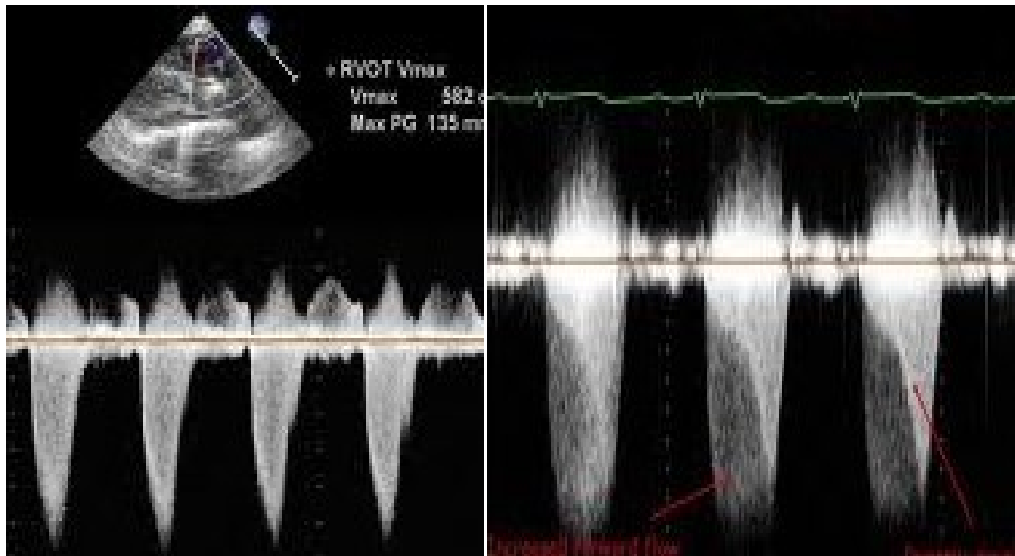
1.5. Diagnostika, indikace k chirurgické/katetrizační léčbě RVOT

Hlavní diagnostickou metodou je echokardiografie (obr. 9). Hodnotíme morfologicky výtokový trakt, chlopeň, kmen plicnice, odstupy větví a pravou a levou větev plicnice (suprasternálně). Dopplerovsky hodnotíme systolický gradient na plicnici. Míru závažnosti stenózy hodnotíme podle tlakového gradientu mezi pravou komorou a plicnicí (při normální funkci RV):

- Lehká – vrcholový gradient <36mmHg (vrcholová rychlost <3 m/s)
- Střední – vrcholový gradient 36-64 mmHg (vrcholová rychlost 3-4 m/s)
- Těžká – vrcholový gradient > 64 mmHg (vrcholová rychlost >4 m/s) střední gradient >35 mm Hg

Pokud je stenóza elongována nebo pokud je přítomna více než jedna stenóza (např. subvalvární a valvární), aplikace Bernoulliho rovnice vede k nadhodnocení tlakového gradientu. Dopplerovská rychlost toku TR pak poskytuje spolehlivější odhad tlaků RV a tím i závažnosti RVOTO než rychlost toku přes RVOTO. Tlakové gradienty poskytují informace o závažnosti obstrukce pouze v případě, že je dobrá systolická funkce RV. V případě nízkého průtoku a nízkého gradientu je velmi obtížné posoudit závažnost RVOTO.

Obr. 9: Superimpozice dopplerovského signálu valvární a subvalvární stenózy RVOT



Zdroj: vlastní fotografie

Při echokardiografickém podezření na pulmonální stenózu je vhodné morfologické zobrazení plicnice a jejích větví pomocí CT angiografie nebo magnetické rezonance (CMR).¹⁷ Pro kvantifikaci velikostí, objemů a EF RV je CMR spolehlivější metoda.²⁷ MR se stala zlatým standardem pro měření srdečních objemů a doplňuje echokardiografii všude tam, kde její výsledky nejsou jasné nebo jsou nepřesvědčivé. Možnost hodnotit tkáňové charakteristiky (např. přítomnost fibrózy) z ní činí naprosto unikátní metodu, která se stále více uplatňuje v oblasti péče o pacienty s VSV. Dá se použít spolu s jinými intervenčními metodami a pro vytvoření předoperační 3D rekonstrukce.²⁸

Katetrizace je indikována u významnějších vad před intervencí a k upřesnění gradientu na různých úrovních (výtokový trakt, chlopeň, větve plicnice). Také je indikována při možné kombinaci PS (pulmonální stenózy) s plicní hypertenzí. Koronarografie je indikována před operací PS u mužů starších 40 let a žen starších 45 let.¹⁷

Doporučené postupy pro chirurgickou PVR

U pacientů s pulmonální stenózou:

- K chirurgické léčbě jsou indikováni symptomatictí pacienti s významnou, kalcifikovanou stenózou plicnice nebo dysplastickou pulmonální chlopní, která není morfologicky vhodná k balonkové valvuloplastice nebo ti, u kterých katetrizační léčba byla neúspěšná. Pacienti mají obvykle vrcholový gradient na pulmonální chlopní nad 50 mmHg. Chirurgicky je nutno řešit i některé supra- a subvalvární a subvalvární stenózy plicnice.

U pacientů s pulmonální regurgitací

- Operace je indikována u masivních pulmonálních regurgitací (obvykle u vrozených srdečních vad, méně často u pokročilých získaných srdečních vad levého srdce), které vedou k těžké dilataci a dysfunkci pravé komory, poklesu fyzické výkonnosti nebo symptomům, není-li přítomna ireverzibilní plicní hypertenze. Při současné plicní hypertenzi ji léčíme primárně podle příčiny. U těžké pulmonální regurgitace není vhodné s chirurgickým řešením čekat až na rozvoj dysfunkce dilatované pravé komory, i když je pacient (zvláště v mladém věku) dlouho asymptomatický. Plicní hypertenze nebo periferní stenózy plicnice zvětšují velikost pulmonální regurgitace.²⁹

U pacientů s nedysplastickou valvární PS a s periferní PS je doporučována katetrizační balónková valvulotomie (často doplněna implantací stentu). U pacientů se subinfundibulární a infundibulární PS a s hypoplastickým pulmonálním anulem, s dysplastickou pulmonální chlopní, a také u pacientů s přidruženými lézemi, které vyžadují chirurgický přístup (těžká pulmonální regurgitace (PR) nebo těžká trikuspidální regurgitace TR) je doporučeno chirurgické řešení. Periferní pulmonální stenózu lze zřídka řešit chirurgicky.

Chirurgické i katetrizační intervence by měly být prováděny pouze v centrech specializovaných na řešení VSV.

U pacientů se subvalvulární, valvární a supravalvární PS může být výrazně dilatován kmen plicnice. Riziko ruptury u těchto nízkotlakých, vysoce elastických cév je velmi nízké, aneurysmata plicnice nevyžadují žádnou intervenci.

Doporučené postupy pro intervenci RVOTO:

- U valvární PS je balónková valvuloplastika metodou volby, pokud je anatomicky vhodná.
- Za předpokladu, že není nutná náhrada pulmonální chlopně, intervenční léčba RVOTO na jakékoliv její úrovni je doporučena bez ohledu na klinické příznaky, je-li stenóza závažná (dopplerovský vrcholový gradient $je > 64$ mmHg).
- Pokud je chirurgická náhrada chlopně jedinou možností, je indikována u pacientů s těžkou symptomatickou stenózou.
- Pokud je chirurgická náhrada chlopně jedinou možností u asymptomatických pacientů s těžkou stenózou, je indikována v případě přítomnosti jednoho, resp. více z následujících parametrů:

- Objektivně doložené snížení zátěžové kapacity
 - Snížení funkce RV a/nebo progresse TI do středně těžké
 - RVSP (right ventricular systolic pressure) >80 mmHg.
 - pravo-levý zkrat via ASD nebo VSD.
- Intervence u pacientů s dopplerovským vrcholovým gradientem <64 mmHg by měla být zvážena u pacientů s jedním nebo více z následujících parametrů:
 - Symptomy související s PS.
 - Snížení funkce RV a/nebo progresse TI do středně těžké
 - pravo-levý zkrat via ASD nebo VSD.
 - U periferní PS, bez ohledu na příznaky, by měla být zvažována indikace ke katetrizační léčbě, pokud je zúžena o >50 % průměru a RVSP >50 mmHg, a/nebo je přítomna související s tím snížená perfuze plic.

Doporučení pro intervenci u pacientů po implantaci konduktů RV – PA

Symptomatictí pacienti s RVSP >60 mmHg (může být nižší při sníženém průtoku) a/nebo s těžkou PR by měli podstoupit intervenci (preferujeme katetrizační intervence (TPVI), pokud anatomicky vhodná).

U asymptomatických pacientů s těžkou RVOTO a/nebo těžkou PR by měla být zvážena intervence (preferujeme katetrizační intervence (TPVI), pokud anatomicky vhodná a splňuje jeden nebo více následujících kritérii:

- Objektivně doložené snížení zátěžové kapacity
- Progredující dilatace pravé komory do RVESVi (right ventricular end systolic volume indexed) >80 ml/m², a/nebo RVEDVi (right ventricular end diastolic volume indexed) >160 ml/m² a/nebo progresse TI do středně těžké.
- Progredující systolická dysfunkce pravé komory.
- RVSP >80 mmHg.

Další sledování

U pacientů s RVOTO je doporučeno celoživotní sledování s pravidelným echokardiografickým zobrazováním. Frekvence kontrol zaleží na závažnosti léze, ale většina pacientů je sledována jednou za rok, včetně vyšetření ve specializovaných centrech pro pacienty s VSV v dospělosti s výjimkou pacientů s mírnou stenózou. Po chirurgickém řešení a/nebo katetrizační intervenci může v některých zůstat reziduální PR. Reintervence je indikována u symptomatických pacientů a/nebo v případě progredující dilatace pravé

komory nebo její dysfunkce. U pacientů s mírnou valvární nebo mírnou reziduální PR je doporučena kontrola jednou za 5 let.

U pacientů po implantaci konduktů do RVOT je doporučeno pravidelné sledování ve specializovaných centrech pro pacienty s VSV minimálně jednou za rok. Zvláštní pozornost by měla být věnována provedení zátěžových testů, sledování RVSP, funkci RV, TI a arytmií.²⁷

1.6. Chirurgická rekonstrukce RVOT

1.6.1. Historie chlopenních náhrad

Historie chirurgie srdečních chlopní se datuje již v roce 1902, kdy Sir Lauder Brunton publikoval v Lancetu článek, ve kterém navrhoval rozšířit stenotické mitrální ústí chirurgicky. První operace mitrální stenózy byla provedena v roce 1923 Elliotem Carr Cutlerem v Bostonu. Transventrikulárně zavedeným tenotomem rozřízl stenotické mitrální ústí. Po první úspěšné operaci však dalších pět operovaných zemřelo v důsledku peroperačně vytvořené mitrální regurgitace, a proto Cutler v dalších operacích již nepokračoval.⁸ Prvním zdokumentovaným pokusem o chirurgickou léčbu chlopenní vady s použitím chlopenní náhrady byla práce amerického chirurga Charlese Hufnagela. Při léčbě aortální regurgitace v roce 1952 v Georgetownu (USA) Hufnagel implantoval do descendentní hrudní aorty pomocný ventil v podobě plastové (metakrylátové) kuličky v plastovém pouzdře. Princip kuličky, která je uzavřena v pouzdře nebo kleci a obtékána krví při systole a brání zpětnému toku v diastole byl východiskem pro konstrukce dalších protéz.⁴

Rok 1960 je spjat s prvními implantacemi umělých srdečních chlopní. Provedení zákroku bylo umožněno díky mimotělnímu oběhu – přístroji, představeným v roce 1953 Američanem Johnem Gibbonem. Mimotoělní oběh umožnil provedení operace na otevřeném srdci a odstartoval tak éru chirurgie srdečních chlopní. Nina Braunwald(ová) a Andrew Morrow v Bethesdě implantovali polyuretanovou chlopeň vlastní konstrukce do mitrálního ústí 10. března a druhou 11. března 1960. Vzhledem ke krátkodobému přežití operovaných je v literatuře prvenství přiznáváno Albertu Starrovi, který 21. září poprvé implantoval do mitrální pozice kuličkovou chlopeň s následným dlouhodobým přežitím pacienta.³⁰ Na dlouhá léta se stala zlatým standardem umělých chlopenních náhrad. Použití mechanické protézy sebou však stále přinášelo vysoké riziko tromboembolických komplikací.⁴ Proto brzy po prvních implantacích mechanických chlopní byla zahájena i éra využití biologických chlopní. Donald Nixon Ross provedl první implantaci aortálního allograftu v kardiochirurgické praxi do subkoronární pozice 24. června 1962.

O vývoj a přípravu prvních xenografitů z prasečích aortálních chlopní se zasloužil především Alain Frederick Carpentier, který spolu s Jean Paul Binetem implantoval v Paříži první xenografit do aortální pozice v roce 1965 a s Charlesem Dubostem v roce 1967 poprvé stentovaný xenografit do mitrálního ústí. Donald Ross v roce 1967 poprvé použil chlopeň plicnice operovaného jako autografit k náhradě aortální chlopně a výtokový trakt pravé komory nahradil allograftem.⁸

1.6.2. Typy chlopenních protéz

V současné době používané chlopenní náhrady se dělí na mechanické a biologické. Biologické chlopenní náhrady se dělí na xenografty, allografty a autografty.³¹ Při výběru vhodného typu náhrady pro rekonstrukce RVOT je třeba vzít v úvahu, že biologické a mechanické chlopenní náhrady lze použít do zcela normálního RVOT, zatímco allografty a biologické chlopně s konduitem (Hancock valved conduits a Contegra) lze použít u komplexnějších vrozených srdečních vad u náhrady pulmonální chlopně, RVOT a někdy pro rozšíření větve plicní tepny.

Mechanické protézy fungují na principu vyklápějícího se jednoho disku (diskové) nebo dvou poloměsíčitých disků (dvoulisté) a navzájem se liší systémem uchycení disku, úhlem vyklápění, tvarem, materiálem našívacího prstence atd.³² U umělých chlopní je vlastní chlopeň zkonstruována z umělých hmot, kostra buď také z umělých hmot, nebo z kovových slitin a našívací prstencem z nejrůznějších tkanin.⁸ V současné době se v chirurgii chlopenních vad termín bioprotéza používá pro chlopeň tvořenou buď prasečí aortální chlopní nebo bovinním perikardem. Pokud je biologická tkáň vsita do opletené kostry s našívacím prstencem, jedná se o stentovanou bioprotézu, pokud kostra chybí, jde o bezstentovou (stentless) bioprotézu. Aortální nebo pulmonální chlopeň odebranou od kadaverózního dárce, ošetřenou antibiotiky a poté zmraženou, nazýváme allograftem (homograftem). Autografit je vlastní chlopeň plicnice, kterou je nahrazena aortální chlopeň, do pulmonální pozice je poté vsita allograft (Rossova operace).³² Nicméně, nedá se říct, která náhrada je lepší – všechny uvedené druhy mají své výhody i nevýhody, proto volba typu chlopenní náhrady je u každého pacienta individuální. Implantovaná chlopenní náhrada může spustit nové patofyziologické procesy, včetně tromboembolismu, protetické endokarditidy a strukturálního poškození chlopně (SVD) nebo non-strukturálního poškození chlopně s následnou potřebou reintervence.²⁴

Mechanická chlopenní protéza

Mechanické srdeční chlopně se implantují od začátku 60. let minulého století.⁸ Nejčastěji používané mechanické chlopenní protézy jsou vyrobeny z pyrolytického uhlíku, který se v

konstrukci srdečních chlopní používá již více než 30 let.³³ Mechanické chlopně lze dělit na chlopně kuličkové, diskové (monodisky) a dvoulisté.⁸ Většina mechanických srdečních chlopní je v současné době dvoulistová.³³

Kuličkové chlopně

Kuličková chlopeň Starr-Edwards byla v 60. a 70. letech nejčastěji implantovanou chlopní na světě. (obr. 10) Uzavíracím tělískem u těchto modelů je koule ze silastiku, která v otevřené poloze naléhá na uzavřenou stelitovou klec tvořenou třemi spojenými pruty. V zavřené poloze kulička dosedá do kovového prstence, který je opleten teflonem a slouží k našití chlopně do anulu příjemce. Druhou nejznámější kuličkovou chlopní je chlopeň Smeloff-Cuttler – u ní silastiková kulička při uzavření nedosedá do titanového prstence, ale do druhé menší klece. Přestaly se používat kvůli častému výskytu tromboembolických komplikací po implantaci.

Obr. 10: Kuličková chlopeň Starr-Edwards

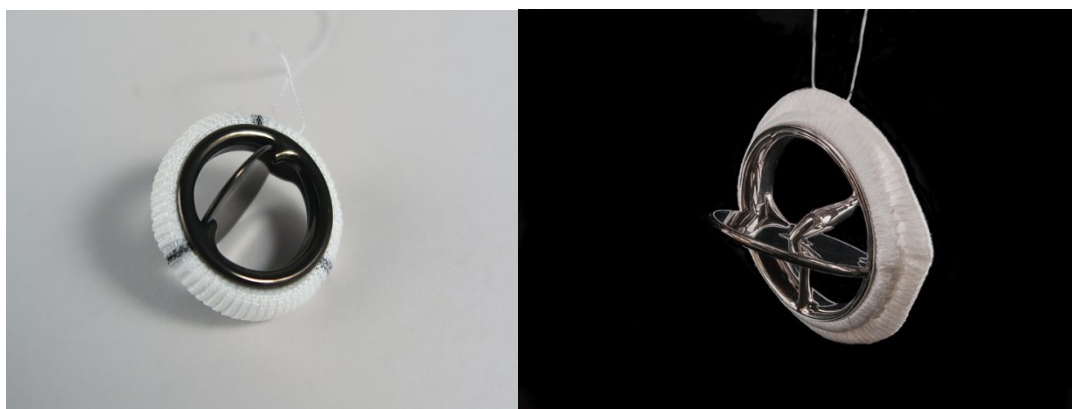


Zdroj: https://americanhistory.si.edu/collections/search/object/nmah_1726277

Diskové chlopně (monodisky)

Kolem 60. let byly do kardiologické praxe uvedeny diskové nevyklápějící se chlopně. U nich byl uzavíracím tělískem plochý disk, který se v otevřené pozici opíral o různě vytvořenou klec a při zavření dosedl a uzavíral kruhový prsteneček. Nevýhodou těchto chlopní byly však vyšší průtokové gradienty, značná turbulence, časté tromboembolické komplikace, také větší hemolýza. Proto tyto chlopně byly nahrazeny modernějšími diskovými chlopněmi, které pracují na principu vyklápějícího se disku (Björk-Shiley, Lillehei-Kaster, Omniscience (po úpravě Omnicarbon), Sorin-Monocast, Allcarbon-Sorin, Medtronic-Hall). (obr. 11)

Obr. 11: Diskové chlopně Omnicarbon a Medtronic-Hall



Zdroj: https://americanhistory.si.edu/collections/search/object/nmah_1726280

https://americanhistory.si.edu/collections/search/object/nmah_735417

Chlopně dvoulisté (dvoukřídlé, bileaflet)

Dvoulisté mechanické chlopně pracují na podobném principu, liší se mezi sebou úhlem vyklápění dvou poloměsíčitých disků, systémem jejich uchycení, materiálem a tvarem našívacího prstence a také hloubkou prominence listů v otevřené pozici. Nejznámější a nejčastěji implantovanou dvoulistou chlopní je chlopeň St. Jude Medical (SJM Regent™ do aortální pozice). (obr. 12).

Z dvoulistých chlopní je nutné ještě jmenovat Bicarbon Sorin, Edwards MIRA, CarboMedics, ATS Medical. Dále chlopeň OnX, u které kruh pyrolitkarbonového prstence chlopně výrazně přesahuje našívací prstenec, a tím zamezuje případnému přerůstání tkání do ústí chlopně.⁸

Největší výhodou mechanických chlopní je jejich dlouhodobá životnost. Nicméně, použití mechanické protézy do pulmonální pozice se nedoporučuje pro vysoké riziko trombózy. Přestože je v této poloze upřednostňována biologická chlopeň, mechanické pulmonální chlopně byly implantovány pacientům, kteří již užívají antikoagulační léčbu nebo bioprotézám nedávají přednost. Dehaki a kolegové provedli retrospektivní analýzu klinických výsledků u pacientů s vrozenými srdečními vadami, kteří dostávali mechanické pulmonální chlopně (primárně u pacientů s Fallotovou teralogií), a zjistili že nutnost reoperace je 4 % za 10 let, ale zvýšené riziko mají pacienti mladší věkové skupiny.³⁴ Stulak a kol. publikovali studii, podle které by měla být zvážena implantace mechanické chlopní náhrady do pulmonální pozice vybrané skupině pacientů, kteří již podstoupili více operací v minulosti, nebo pokud je nutná antikoagulační léčba Warfarinem z jiných důvodů. Jejich analýza 59 pacientů, kteří dostali na klinice Mayo mechanickou pulmonální chlopeň, neprokázala trombózu chlopní a „žádné reoperace... při tvorbě pannu, paravalvulárním leaku, endokarditidě, trombóze chlopní nebo dysfunkci protézy“.³⁵ Použití výše uvedené

On-X mechanické chlopně (vyžadující nižší dávky antikoagulační léčby) v pulmonální pozici prokázala vynikající střednědobé výsledky, bez tromboembolických komplikací nebo krvácivých příhod.³⁶ Nicméně, údaje o dlouhodobém přežití chlopně jsou v literatuře omezené.

Obr. 12: Dvoulistá chlopeň St. Jude Medical Regent



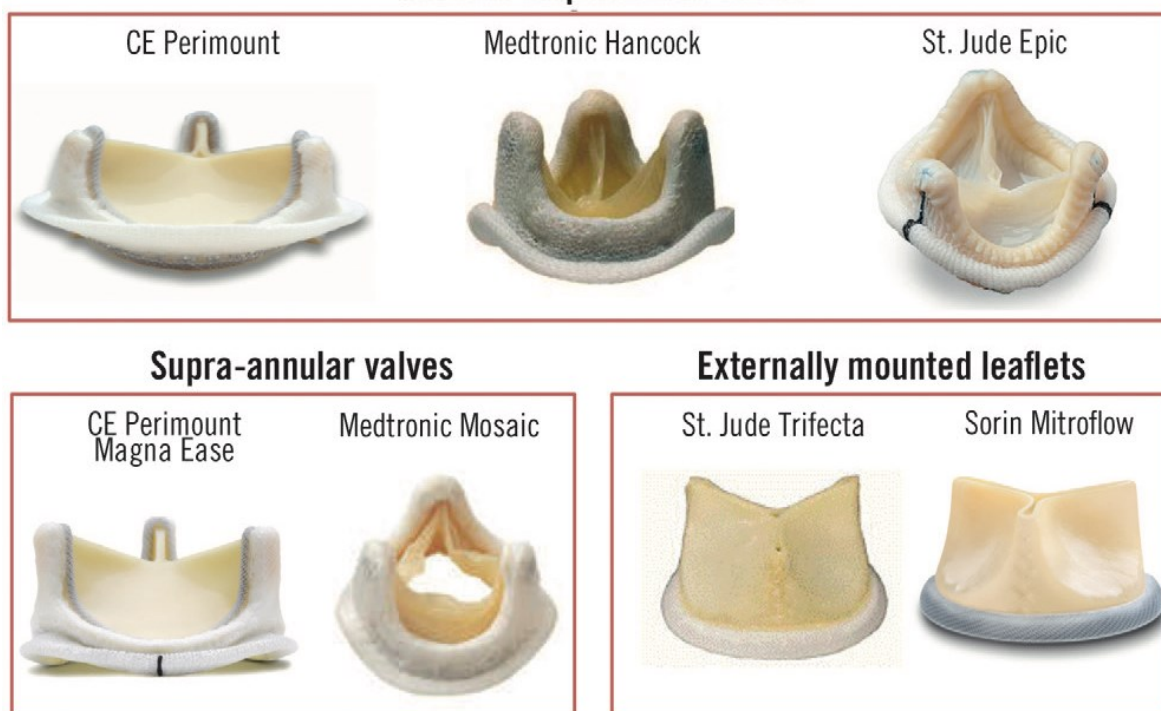
Zdroj: <https://www.businesswire.com/news/home/20150210005764/en/St.-Jude-Medical-Launches-U.S.-Study-of-the-Country's-Smallest-Pediatric-Mechanical-Heart-Valve>

Xenografty

Dalším typem náhrady jsou xenografty. Samotné biologické protézy jsou implantáty, u kterých vlastní chlopeň tvoří xenograft, který je vsít do opletené kostry. Kostra bioprotéz je ze stelitu, titanu nebo umělých hmot a její mírná flexibilita je žádoucí – tlumí namáhání listů chlopně, což přispívá k delší trvanlivosti xenograftu. Kostru mají opletenou teflonem nebo polypropylenem a upravenou tak, aby do ní mohla být vsita chlopeň z biologického materiálu. Vlastní biologickou chlopeň v bioprotézách tvoří buď prasečí aortální chlopeň nebo chlopeň zkonstruovaná z hovězího perikardu. K nejznámějším bioprotézám, u kterých je xenograftem prasečí aortální chlopeň, patří například bioprotézy: SJM Epic, Carpentier-Edwards PERIMOUNT Magna Ease, Hancock, Shellhigh, Medtronic-Mosaic. Představiteli bioprotéz s chlopní vytvořenou z hovězího perikardu jsou například chlopně: Sorin-Soprano, Sorin-Pericarbon More, Edwards-Perimount Magna, Mitroflow Synergy, Aspire aj. (obr.13)

Do aortální pozice lze implantovat i xenografty bez kostry a našívacího prstence, tzv. stentless bioprotézy, z nichž je nejznámější Toronto SPV, dále Sorin Freedom, Medtronic Freestyle a Edwards Prima.⁸

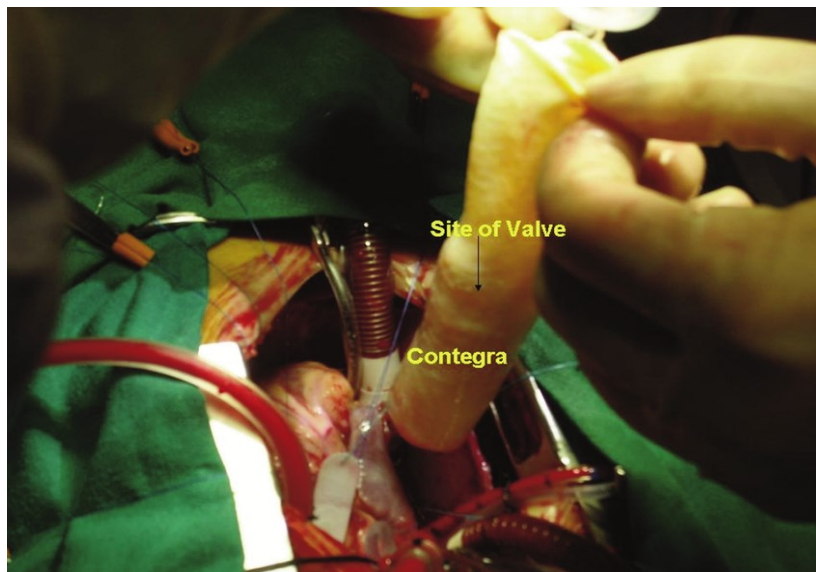
Obr. 13: Druhy stentovaných biologických chlopní
Stented bioprosthesis valves



Zdroj: Mylotte D, Osnabrugge RL, Martucci G, Lange R, Kappetein AP, Piazza N. Failing surgical bioprosthesis in aortic and mitral position. EuroIntervention. 2013 Sep 10;9 Suppl:S77-83. doi: 10.4244/EIJV9SSA15. PMID: 24025964.

Příznivé střednědobé až dlouhodobé výsledky udávají autoři se speciální xenoprotezou Contegra (obr.14), což je glutaraldehydem ošetřená hovězí jugulární žíla. Dle publikovaných dat byly zaznamenány tři úmrtí (dvě časná, jedna pozdní), přičemž přežití stanovilo 93,9 %. Reintervence související s konduitem byla 19,6 % a byla nejčastěji způsobena distální stenózou konduitu. Významným faktorem pro reintervence byl věk při implantaci <3 měsíce, implantace konduitu o průměru 12-16 mm a diagnóza truncus arteriosus.³⁷ Alternativou v případě nutnosti rekonstrukce celého RVOT je implantace konduitu Hancock (obr. 15), což je prasečí aortální chlopeč vsítá do dacronové protézy. Použití konduitu Hancock prokázalo příznivé výsledky střednědobého přežití s nízkým výskytem časného selhání graftu.³⁸

Obr. 14: Konduit Contegra



Zdroj: https://www.researchgate.net/figure/Figure-The-Contegra-valved-conduit-about-to-be-used-as-a-right-ventricle-to-pulmonary_fig1_250918245

U nemocných s biochlopní odpadá nutnost doživotní léčby Warfarinem. Nevýhodou biochlopně však je, že postupně podléhá degenerativním změnám a ukládání solí vápníku, které mohou zejména u mladších nemocných vést k nutnosti další operace zhruba po deseti až patnácti letech, při implantaci do pravostranného systému je tato doba významně delší.^{39,40} Vývoj způsobu fixace tkáně a její antikalcifikační úprava se během posledních 40 let vedli ke zlepšení trvanlivosti biologických protéz.

Obr. 15: Konduit Hancock (Medtronic's Hancock® Bioprosthetic Valved Conduits)



Zdroj: <https://www.medtronic.com/us-en/healthcare-professionals/products/cardiovascular/heart-valves-surgical/hancock-valved-conduit.html>

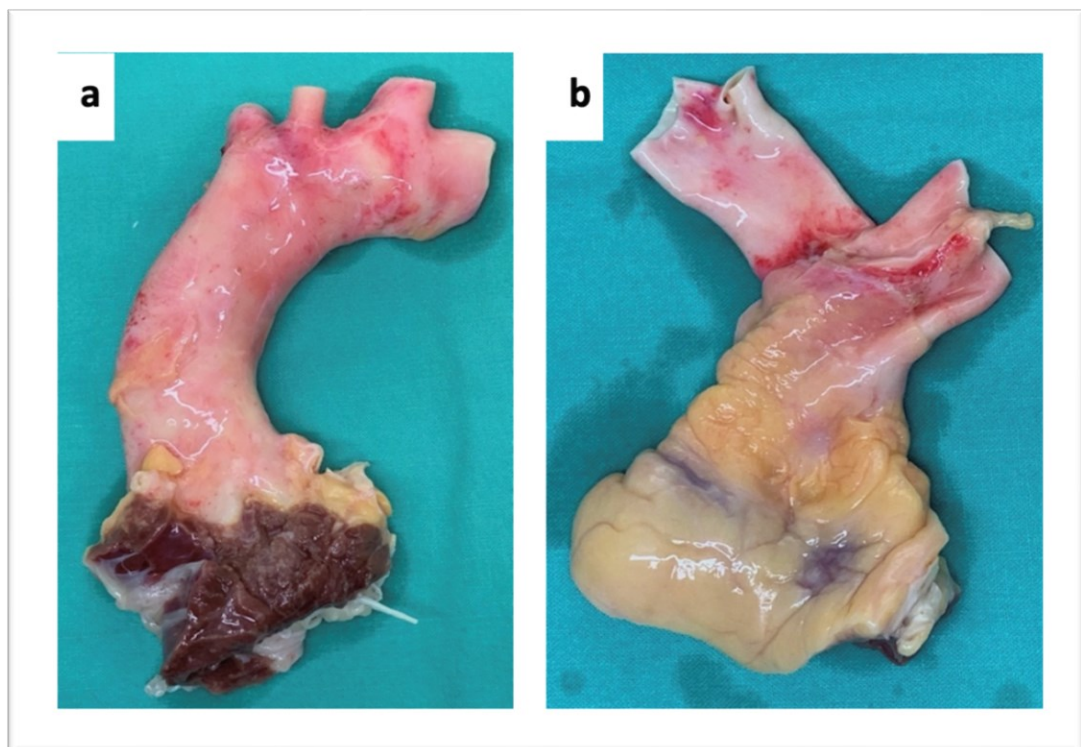
Allografty

Další užívanou možností náhrady srdeční chlopně je tzv. allograft (homograft). Allografty (obr.16) jsou chlopní náhrady, odebrané od kadaverózních dárců, které nebyly vhodné k srdeční transplantaci, ošetřené antibiotiky a pak zchlazené a uchovávané v tekutém dusíku při teplotě -190°C . Nevýhodou je často nedostatek vhodných dárců allograftů, které musí velikostí odpovídat příjemci, a omezená doba přežití. Operace je také poněkud technicky složitější.

Mezi výhody použití allograftů patří:

- Jsou vhodné k implantaci u komplexnějších vrozených srdečních vad
- Mají lepší hemodynamiku
- Jsou rezistentnější k infekci
- Mají snížené riziko tromboembolických příhod
- Nevyžadují antikoagulační léčbu
- Možnost použití jako záplaty (patch) pro rekonstrukce distální stenózy PA (arteria pulmonalis)

Obr. 16: Allografty (a – aortální, b – pulmonální) před kryoprezervací



➤

Zdroj: Fiala R. Mechanické a morfologické vlastnosti lidských chlopních štěpů v závislosti na délce kryoprezervace.

Střednědobé a dlouhodobé výsledky allograftů se u jednotlivých autorů poněkud liší, ale obecně jsou přibližně tyto: bez selhání pulmonálního allograftu je během 1,5,10 let cca 90%,

70% a 50% pacientů, bez známek dysfunkce allograftů pak 80%, 50% a 20% pacientů. Rizikovými faktory dysfunkce jsou věk, malá velikost použitého allograftu, aortální allograft, ale i např. délka teplé ischemie.⁴¹

Degenerace a selhání kryoprezervovaných allograftů především u mladých příjemců je diskutabilní otázka zejména pro dětskou kardiologii – ačkoli je nesporná, etiologie a řešení problematiky není zřejmé. Jako jeden z nejdůležitějších potenciálních mechanismů selhání allograftů se v dnešní době považuje imunitní reakce příjemce.⁴²

Zpracování chlopenních allograftů v současnosti

Chlopenní allografty jsou obvykle zpracovávány v následujících krocích:

1. Odběr srdce, nejlépe jako součást multiorgánového odběru, případně od žijícího dárce při transplantaci srdce
2. Interval teplé ischemie
3. Chlazení v transportním roztoku
4. Preparace kořene aorty a plicnice
5. Dezinfekce antibiotickým roztokem
6. Uložení do kryoprezervačního roztoku
7. Programované zmrazení³¹

Ihned po odběru srdce je zahájena studená perfuze a srdce je umístěno do boxu s ledem (chlazení v transportním roztoku). Časové období v boxu s ledem je doba studené ischemie. Akceptuje se doba až 48 hodin. Při "ideálním" odběru srdce od dárce s fungujícím srdcem se snažíme vyhnout teplé ischemii.

Dále následuje fáze preparace kořene aorty a plicnice. Stav chlopenního allograftu posuzuje kardiolog, který vylučuje jakékoliv makroskopicky viditelné morfologické změny. Součástí primárního zpracování je odběr vzorků k mikrobiologickému a histologickému vyšetření a následně je zahájena dekontaminace štěpů, která je posledním krokem primárního zpracování allograftů.

Dekontaminace allograftů

V laminárním boxu je nejdříve připraven antibiotický „koktejl“ - do 500 mL 1 x koncentrovaného Media E 199 (č. výrobku M 4530, výrobce Sigma Aldrich, SRN) přidáme následující antibiotika v uvedené koncentraci:

- Gentamicin 160 mg – (Gentamicin, DR: Pharmaceuticals d.d., Ljubljana, Slovinsko)
- Vankomycin 500 mg – (Vankomycin Actavis, DR: Actavis Group PTC ehf., Rekjavikurvegur 76-78, 220 Hafnarfjörður, Island)

- Piperacilin/Tazobactam 250 mg – (Piperacilin/Tazobactam, DR: Kabi s.r.o., Praha, ČR)
- Fungizone 50 mg – (Fungizone DR: E. R. Squibb & Sons Limited, Sanderson Road, Uxbridge, Middlesex, UB8 1DH, UK)

Dekontaminace probíhá 24 hod při pokojové teplotě, poté v lednici +4 st. C. a do 28 dnů musí proběhnout zamrazení.

Kryoprezervace – programové zamrazení

V laminárním boxu po sterilním zarouškování pracovní plochy se připraví kryoprotekční médium – Dimetylsulfidoxyd (DMSO – WAK – Chemie Medical GmbH, SRN), Médium E 199 (Sigma Aldrich, SRN), vak k dlouhodobé kryoprezervaci allograftů (Specifikace vaku je uvedena v SPP Specifikace kritických materiálů TZ, Evidenční č.: 2010320800).

Dále z média a DMSO je připraven 10 % kryoprotekční roztok. V laminárním boxu pod kontrolou „6 očí“ se allograft přísně asepticky přemístí do označené kádinky s chladným médiem, kde se šetrně vypláchne – cílem je vymytí zbytků antibiotického koktejlu. Do vaku k dlouhodobé kryoprezervaci se vloží allograft, který se následně zalije cca 40–50 ml kryoprotekčního média. Pečlivě se vypudí vzduchové bubliny a vak se zataví impulsní svářečkou (KF 200 H, dodavatel PENTA servis spol. s r. o.). Nakonec jsou allografty programově zmrazeny s řízeným poklesem teploty v rozmezí +10 až -60 st. C. (-1st.C./min) a uloženy do samostatného kontejneru do tekuté fáze dusíku s teplotou -196 st.C.

Tkáň takto zpracovaných a uchovávaných allograftů po rozmrazení obsahuje viabilní fibroblasty. Endotel však není zachován, což je výhodné, protože je tím snížena antigenicita allograftů, a tak po jejich implantaci není nutná imunosuprese.⁸

V současné literatuře jsou publikovaná data o implantaci decellularizovaných allograftů. Použití decellularizovaných allograftů k rekonstrukci RVOT bylo u dětí spojeno s nízkým výskytem strukturálního poškození chlopně a selhání konduity. I když tyto výsledky ještě musí být potvrzeny ve větších sériích a při delším sledování, nedávné údaje naznačují příznivé výsledky, přinejmenším v prvním desetiletí po operaci.⁴³

Rekonstrukce RVOT pomocí PTFE membrán

Vzhledem k omezené dostupnosti allograftů a neuspokojivým dlouhodobým výsledkům spojených s použitím xenograftů pro rekonstrukci výtokového traktu pravé komory (RVOT) se jako alternativa v literatuře uvádějí data o použití konduity z polytetrafluorethylenu (PTFE).

Rekonstrukce pulmonální chlopně pomocí monokuspu z polytetrafluorethylenu (PTFE)

Rekonstrukce výtokového traktu pravé komory pomocí monokuspu (neo-pulmonální chlopeň z polytetrafluorethylenového materiálu) dle dostupných dat umožňuje dosáhnout fyziologických podmínek na konci operace, což znamená, že hemodynamika RVOT po tomto druhu rekonstrukce se více podobá hemodynamice normálního výtokového traktu nebo takové, po jeho jednoduché rekonstrukci. Existuje dostatečné množství dat, že tato metoda může mít výhody stran remodelace pravé komory během střednědobého sledování ve srovnání s postupy, kde pulmonální chlopeň není zachována. Před více než 10 lety Turrentine et al. publikovali výhody takového postupu, který účinně předchází pulmonální insuficienci nejen v časném pooperačním období, ale i ve střednědobém horizontu, bez jakýchkoli dat, které svědčí o dysfunkci chlopní v dlouhodobém sledování.⁴⁴ Zatímco v dostupné literatuře nejsou jednoznačná data ohledně benefity rekonstrukce RVOT pomocí PTFE monokuspu v kratkodobém sledování; byly popsány příznivé výsledky rekonstrukce výtokového traktu pravé komory pomocí monokuspu a bikuspidální chlopně s použitím PTFE membrán v dlouhodobém sledování. Turrentine uvádí data, která zahrnuje 196 pacientů, kteří během 10letého sledování prokázali pouze mírnou až střední insuficienci u 58 % pacientů a žádnou stenózu v uvedené skupině.⁴⁴

Implantace bikuspidální pulmonální chlopně z polytetrafluorethylenového (PTFE) materiálu

Po příznivých zkušenostech rekonstrukcí RVOT pomocí monokuspu z PTFE, Quintessenza et al. referovali o implantaci bikuspidální chlopně, která se skládala ze dvou cípu, vytvořených z PTFE membrán.⁴⁵ První soubor zahrnoval 41 pacientů a prokázal zlepšení výsledků vztahující se k insuficienci pulmonální chlopně, end-diastolickému rozměru pravé komory a klinickému stavu pacientů pooperačně – doba sledování stanovila 18 měsíců. Později stejná skupina referovala o 110 pacientech, včetně tří explantací kvůli degeneraci cípu konstruovaných z PTFE membrán – doba sledování stanovila 8 let. U zbývajících pacientů výsledky po dobu sledování byly uspokojivé.⁴⁶

Rekonstrukce pulmonální chlopně pomocí trikuspidálního konduitu z polytetrafluorethylenových (PTFE) membrán

Před více než 10 lety japoňští chirurgové referovali o použití konduitu implantovaného do RVOT z expandovaného polytetrafluorethylenového materiálu s uspokojivými výsledky, vztahující se k dlouhodobé funkci chlopně.⁴⁷ Nicméně, konstrukce takových typu konduitu je považována za bezpečnou pouze zkušenými skupinami chirurgů. Tocharoenchok et al. referovali o zjednodušené standardizované technice, která by měla usnadnit konstrukce

konduitu, nicméně chirurgická technika implantace je stále považována za krucální – kinking nebo zřasení mohou vést k patologickým tlakovým gradientům a tím přispívat k předčasné degeneraci konduitu. Autoři nedávno popsali detailní techniku konstrukce výše uvedeného typu konduitu.⁴⁸ V období od ledna 2018 do prosince 2022 bylo provedeno celkem 100 implantací konduitu o velikostech 16–24 mm. Medián sledování stanovil 589 dnů (až do 897 dnů); echokardiografie byla provedena mezi 6 a 12 měsícem a ukázala maximální gradient 18 mmHg s mírnou nebo menší regurgitací u všech pacientů. V tomto období nebyla provedena žádná reoperace. Autoři považovali tuto zjednodušenou metodu konstrukce trojcípého konduitu za vynikající alternativu k allograftům a xenograftům (kvůli jejich omezené dostupnosti). Skupina chirurgů z Kyoto University of Medicine nedávno referovala o svých zkušenostech s 1 776 pacienty (medián věku 4 roky, rozmezí od 3 dnů do 67 let; a medián hmotnosti 13 kg, rozmezí od 1,8 do 90 kg), kterým byly do RVOT implantovány konduity s expandovaných polytetrafluorethylenových (ePTFE) membrán – ke konstrukci cípu pulmonální chlopně byla použita 0,1mm silná PTFE membrána.⁴⁹ Median sledování stanovil 3 roky. Autoři referovali o 16% nutnosti reintervence, včetně explantace konduitu v 11 % případů. Hlavním důvodem explantace byl somatický růst, zatímco endokarditida těchto ePTFE konduitu byla vzácná (pouze 4 %). Nejčastějším důvodem pro následnou perkutánní katetrizační intervenci byla periferní stenóza plicnice v 4 % případů. Více než u 88 % pacientů na poslední echokardiografii byla pozorována dobrá funkce pulmonální chlopně s mírnou nebo menší regurgitací. Neointimální proliferace s následnou kalcifikací – poměrně častý nález po implantaci xenograftů nebo allograftů nebyla v tomto souboru zaznamenána. Velmi dobrá funkce pulmonální chlopně byla pozorována po implantaci větších ePTFE konduitu. Při použití takových konduitu by zvláštní péče měla být věnována optimální délce konduitu – příliš dlouhý konduit může stlačit periferní část plicnice a vést k pulmonální stenóze. Někteří autoři preferují použití Dacronového konduitu k obnovení kontinuity RV-PA, s použitím PTFE membrán k vytvoření neo-pulmonální chlopně.⁴⁷

Rekonstrukce pulmonální chlopně pomoci perikardu

V posledních letech byla věnována velká pozornost Ozakiho technice, která spočívá v náhradě aortální chlopně, vymodelované z autologního perikardu. Postup byl poprvé popsán Shigeyukim Ozakim v roce 2011 a podle dostupných publikací má vynikající střednědobé výsledky z hlediska hemodynamiky a přežití neochlopně v aortální pozici u dospělých a pediatrických pacientů.⁵⁰ V současné literatuře byla publikována kazuistika, ve které byla modifikovaná Ozakiho technika využita k vytvoření trikuspidální pulmonální

chlopně u šestnáctiměsíčního chlapce s Alagilleovým syndromem s vrozenou aortální stenózou a těžkou pulmonální regurgitací. Obě chlopně byly rekonstruovány pomocí Ozakiho techniky popsané pro aortální chlopeň s použitím bovinního perikardu. Po osmnáctiměsíčním sledování byla zjištěna mírná regurgitace a stenóza neopulmonální chlopně.⁵¹ Použití této techniky pro rekonstrukce RVOT musí být potvrzeno ve větších sériích a při delším sledování.

PPVI (Perkutánní implantace pulmonální chlopně) /TPVI (Transkatetrová implantace pulmonální chlopně)

PPVI nebo TPVI je považována za nízkorizikovou alternativu chirurgického výkonu léčby dysfunkčního výtokového traktu pravé komory. Vývoj technologie umožnil zlepšit kvalitu protéz a přejít od ošetření stenotického konduitu ke skutečnému rozšíření nativního RVOT.⁵² Philipp Bonhoeffer provedl první úspěšnou perkutánní implantaci plicní chlopně (PPVI) Melody®. (obr. 17).

V současné době jsou komerčně dostupné dvě certifikované chlopně. Chlopně Melody™ (Medtronic Inc., Minneapolis, MN, USA) jsou vyrobeny z bovinní jugulární žíly, která je našita do platinového iridiového stentu. Chlopeň Melody se dodává ve dvou velikostech (16–20 a 18–22 mm) s odpovídajícím systémem pro jejich implantace. Edwards SAPIEN XT (Edwards Life Sciences, Irvine, CA, USA) je chlopeň vytvořená bovinní perikardiální tkání obsahující tři stejně velké cípy, které jsou ručně našité na stent z nerezové oceli expandovatelný balónkem. Chlopeň je v současné době k dispozici ve třech průměrech: 23, 26 a 29 mm.⁵³ K léčbě velkého RVOT však byly vyvinuty další druhy chlopenních protéz (tj. P-ventil Venus, Medtronic Harmony TPV, Alterra Adaptive Prestent a ventil Pulsta).

Indikace PPVI jsou stejné jako u chirurgických výkonů na pulmonální chlopni, s limity souvisejícími s maximálním průměrem dostupné perkutánní protézy. Přesné předoperační hodnocení má proto zásadní význam pro výběr pacientů, kterým by tento postup mohl prospět. U většiny nemocných je před výkonem provedeno neinvazivní zobrazení pomocí CT nebo MR, což umožňuje přesnější měření cílové struktury a zhodnocení anatomie.⁵⁴ PPVI mají také další omezení v nativním RVOT s proměnnou geometrií.

Obr. 17: Chlopeň Melody



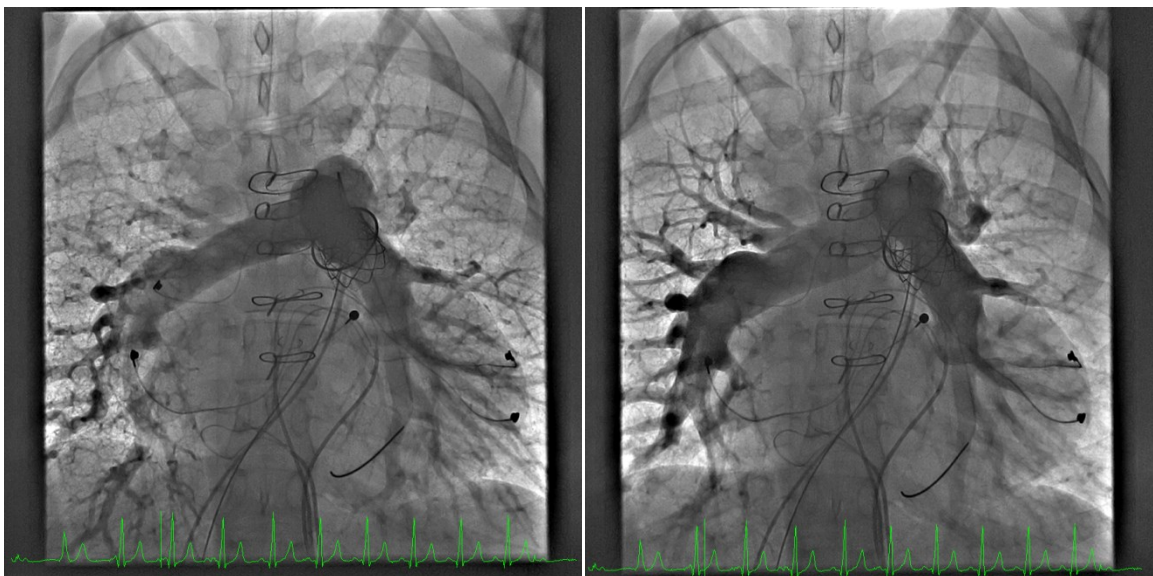
Zdroj: <https://cardiovascularnews.com/melody-pulmonary-heart-valve-receives-fda-approval-for-valve-in-valve-use/>

Popis výkonu

Vlastní intervence se provádí v celkové nebo lokální anestezii podle zvyklostí a zkušeností pracoviště. Přístupem je většinou femorální žíla, výkon je možné provést i přes žílu jugulární. V případné nejasnosti ohledně velikosti RVOT se provádí měření pomocí kalibračního balonku. Během predilatací se provádí angiografie koronárních tepen, buď selektivním nástřikem nebo nástřikem do bulbu aorty, k vyloučení možnosti externí komprese koronární tepny. Před implantací chlopně je v naprosté většině případů vytvořena tzv. „landing zone“ neboli místo implantace chlopně pomocí implantace CP stentu nebo jiných stentů (např. Intrastern, Andrastent). Následně je do stentu/ů implantována vlastní chlopeň, což je balonkem roztahovatelný stent, tentokrát již s našitou chlopní. (obr. 18)⁵⁴

Celkový výskyt periprocedurální úmrtnosti je kolem 1,4 %, zatímco reintervence na RVOT nevyžadují podle různých publikovaných studií od 100% pacientů po 4 měsících do 70% pacientů po 70 měsících.⁵² Střednědobé přežití perkutánně implantovaných chlopní a jejich hemodynamické výsledky jsou vynikající, výskyt komplikací je nízký. Dlouhodobé výsledky vyžadují další zkoumání u větší kohorty pacientů.⁵³

Obr. 18: Angiografie plicnice u pacientky s atrézií plicnice po implantaci Melody chlopně do stenotického Hancockova konduitu



Zdroj: vlastní fotografie

2. CÍL DISERTAČNÍ PRÁCE

Podstatou projektu bylo v rámci spolupráce klinik dětské a dospělé kardiologie zkoumání příčin a patofyziologických mechanismů ovlivňujících dlouhodobé přežití a degenerace allograftů v RVOT. Cílem práce bylo: na základě retrospektivní analýzy dat pacientů, kteří podstoupili rekonstrukce RVOT, a prospektivní analýzy (morfoloického, histoloického a imunoloického vyšetření explantovaných allograftů a allograftů před implantací, stanovit rizikové faktory selhání konduktů, navrhnout potenciální způsoby zlepšení dlouhodobých výsledků a zjistit, který typ náhrady by měl být preferován v případě primoooperace a/nebo reintervence na RVOT.

Hypotézu jsme formulovali následovně: „Na dlouhodobé přežití implantovaných allograftů má největší vliv jeho velikost. Jiné rizikové faktory, jako je věk a pohlaví dárce, doba a způsob prezervace allograftů, včetně času od odběru do prezervace, pohlaví pacienta, vstupní diagnóza včetně předchozích zákroků a počtu reoperací, typ operačního zákroku a operační techniky, ABO matching mají minimální nebo žádný vliv.“ Druhá pracovní hypotéza byla formulována následovně: „Dlouhodobé přežití allograftů má převahu nad xenografty.“

Předpokládané výsledky práce by měly být přínosné v klinické praxi v oboru kardiologie, zejména v chirurgické léčbě vrozených srdečních vad u dětí a dospělých, podstupujících rekonstrukce RVOT. Na základě vyhodnocení a systematizace výše uvedených rizikových faktorů by měly výsledky umožnit zlepšení dlouhodobého přežití implantovaných konduktů.

Studie byla schválena lokální etickou komisí. Vzhledem k charakteru studie nebyl informovaný souhlas pacientů vyžadován.

3. METODIKA

Soubor pacientů

V období od února 1981 do prosince 2016 byli do retrospektivní studie zařazeni děti a dospělí pacienti, kteří podstoupili rekonstrukci RVOT pomocí allograftů nebo xenograftů v Dětském kardiocentru 2. LF UK a FN Motol a na Klinice kardiovaskulární chirurgie 2. LF UK a FN Motol. Pro potřeby studie byl soubor rozdělen – v druhé době byla doplněna retrospektivní analýza dat pacientů, kteří podstoupili druhou a další operaci s rekonstrukcí RVOT pomocí allograftů nebo xenograftů.

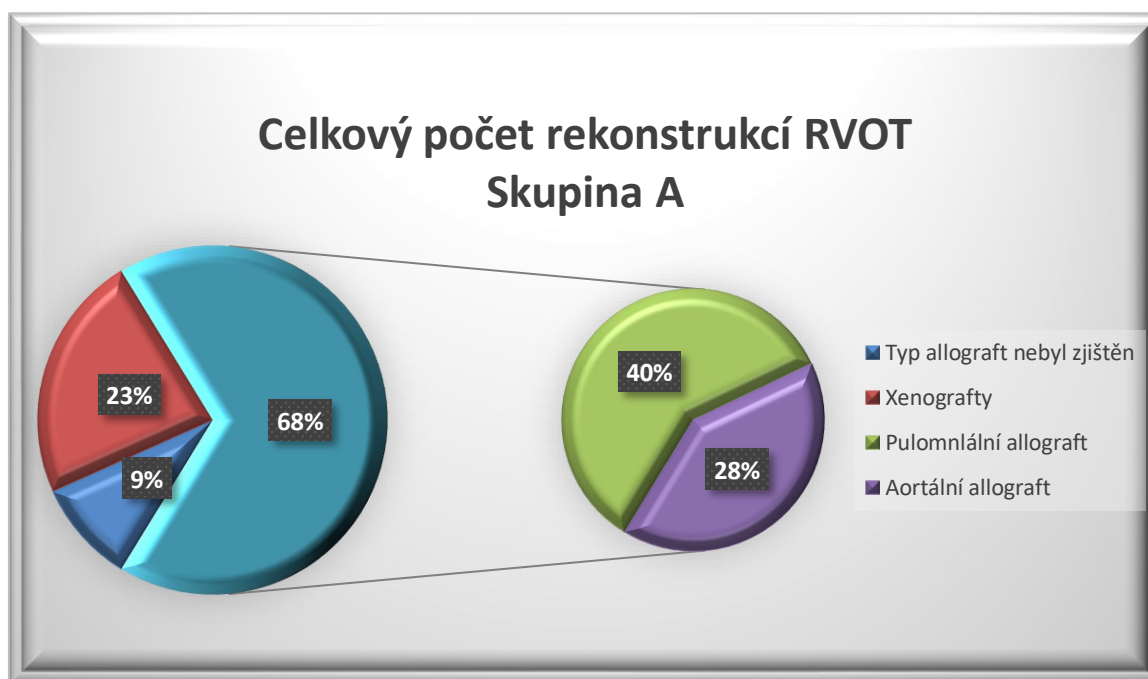
Prospektivní část studie byla založena na histopatologickém vyšetření kryoprezervovaných allograftů před implantací, následně použitých pro rekonstrukci výtokového traktu pravé komory v období od listopadu 2017 do května 2019. Další prospektivní část zahrnovala odběr, morfologické a histologické vyšetření explantovaných allograftů při jejich výměně u pacientů po rekonstrukci RVOT v období od listopadu 2017 do května 2020 v Dětském kardiocentru 2. LF UK a FN Motol a na Klinice kardiovaskulární chirurgie 2. LF UK a FN Motol. Cílem tohoto vyšetření bylo přesnější srovnání morfologických změn, které způsobily selhání allograftu s nutností následující reoperace. Při makroskopickém vyšetření explantovaných allograftů byly hodnoceny metrické charakteristiky (velikost chlopně, velikost cípů), počet cípů, jejich tvar, přítomnost fibrotizace, kalcifikace či jiných změn (trombóza, hemoragie). Mikroskopické vyšetření allograftů zahrnovalo posouzení stavu všech morfologických částí chlopně, viability buněk chlopně, stavu endotelu, fibrotizací, kalcifikací, hemoragií, stavu elastiky, kyselých mukosubstancí, změn na cévách a přítomnosti rejekčních infiltrátů.

3.1. Retrospektivní analýza dat pacientů, kteří podstoupili rekonstrukci RVOT pomocí allograftů nebo xenograftů

Charakteristiky souborů

V období od února 1981 do prosince 2016 bylo provedeno celkem 766 implantací obou typů konduktů – allograftů a xenograftů (vč. biologických chlopenních protéz) – skupina A. V této skupině bylo k rekonstrukci RVOT použito 590 allograftů (306 pulmonálních, 211 aortálních, v 73 případech údaje o typu allograftů nebyly k dispozici – data staršího původu). Xenografty byly implantovány v 176 případech (do této skupiny byly zařazeny jak konduity (bovinní jugulární venózní konduity (Contegra), Hancock Porcine-valved Dacron conduits), tak samotné biologické chlopenní protézy (bioprotéza St. Jude Medical Epic, Carpentier-Edwards PERIMOUNT Magna Valve) jako náhrada pulmonální chlopně u jinak zcela normálního RVOT. (Obr. 19)

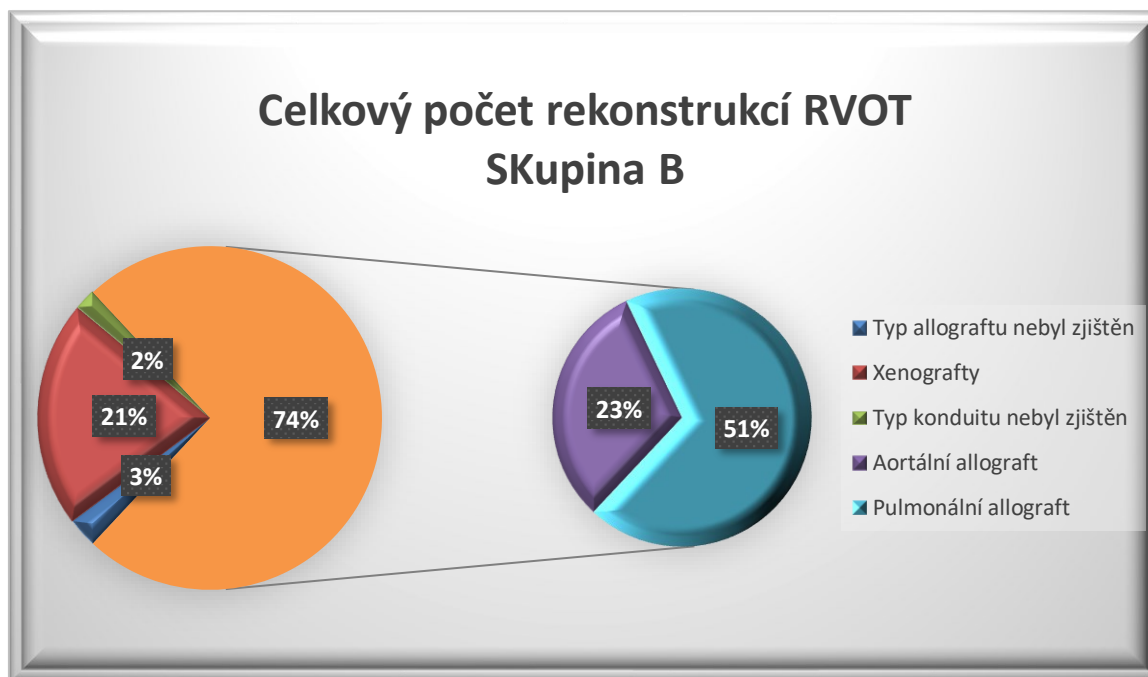
Obr. 19: Celkový počet rekonstrukcí RVOT v období od února 1981 do prosince 2016 v Dětském kardiocentru 2. LF UK a FN Motol a na Klinice kardiiovaskulární chirurgie 2. LF UK a FN Motol



Druhá skupina (skupina B) retrospektivní studie zahrnovala všechny děti a dospělé pacienty, kteří podstoupili druhou a další operaci s rekonstrukcí RVOT konduitem (allograftem nebo xenograftem) v období od října 1988 do října 2016 v našem centru. Během tohoto období bylo provedeno celkem 249 reimplantací obou typů konduktů u 197 pacientů (ve věku od 13 dnů do 42 let). Medián sledování byl 5,7 let s nejčasnější explantací konduitu 133 dní po implantaci. Celkově bylo v této skupině pro rekonstrukce RVOT použito 191 allograftů (127 plicních, 57 aortálních, v 7 případech údaje o typu allograftů nebyly k dispozici kvůli

staršímu původu dat). V 53 případech byly použity xenografty (v případě sekundární a následné implantace byly použity pouze xenografty Hancock (Hancock Porcine-valved Dacron conduits, DuPont, Wilmington, DE) a 5 intervencí s neznámým typem konduitu (data staršího původu). (Obr. 20)

Obr. 20: Typy konduitů, použité pro sekundární a následující rekonstrukce RVOT

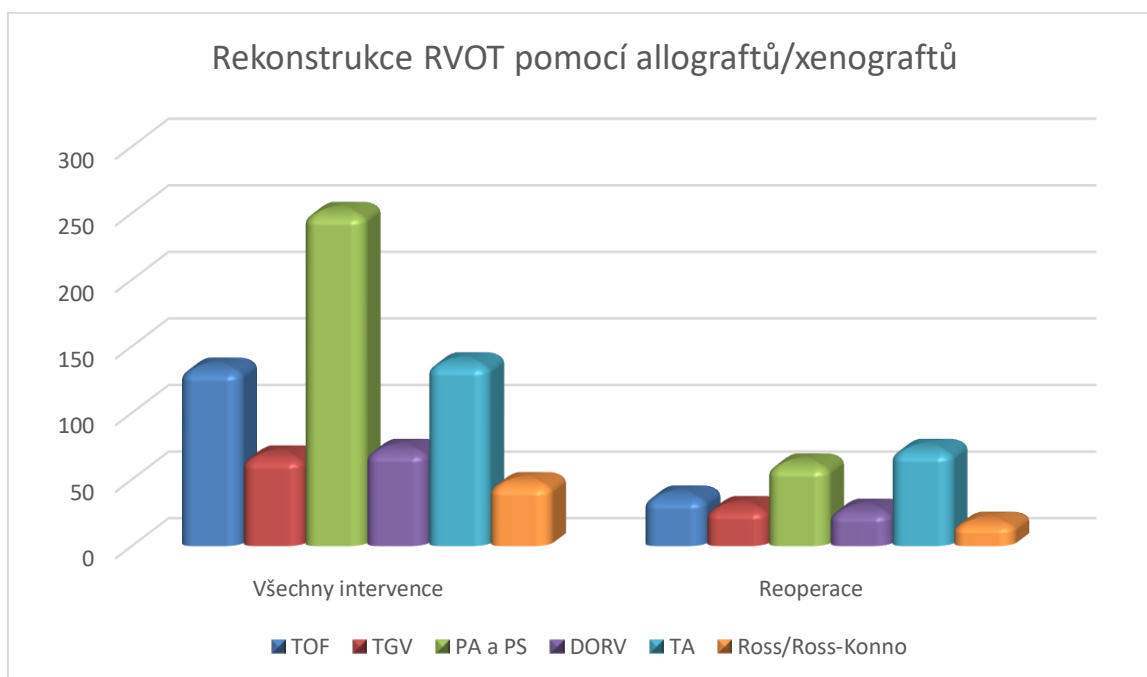


Nejčastější diagnózy pacientů ve skupině A byli: Fallotova tetralogie (TOF) - 134 případů, transpoziční komplexy (TGA, cTGA) – 68 případů, pulmonální atrézie a stenóza (PA a PS) – 251 případů, dvojjýtková pravá komora (DORV) – 73 případů, truncus arteriosus (TA) – 138 případů. Zvláštní skupinou byli pacienti, kteří podstoupili Ross/Ross-Konno operace pro aortální stenózu (AS) nebo aortální insuficienci (AI) – 48 případů. (Obr. 21)

Ve skupině B vstupní diagnózy pacientů zahrnovaly: Fallotova tetralogie (TOF) - 38 případů, transpoziční komplexy (TGA, cTGA) - 30 případů, pulmonální atrézie a stenóza (PA a PS) - 62 případů, dvojjýtková pravá komora (DORV) - 28 případů, truncus arteriosus (TA) - 73 případů a skupina pacientů, kteří podstoupili Ross/Ross–Konno operaci pro aortální stenózu (AS) nebo aortální insuficienci (AI) - 18 případů. (Obr. 21)

Tabulka 1 poskytuje údaje o hlavních charakteristikách všech konduitů stratifikovaných dle vstupních diagnóz pacientů, kteří podstoupili sekundární a následující rekonstrukce RVOT. Tabulka 2 představuje shrnutí hlavních charakteristik allograftů stratifikovaných podle vstupní diagnózy výše uvedené skupiny pacientů.

Obr.21: Vstupní diagnózy pacientů, kteří podstoupili rekonstrukci RVOT v období od února 1981 do prosince 2016 v Dětském kardiocentru 2. LF UK a FN Motol a na Klinice kardiovaskulární chirurgie 2. LF UK a FN Motol



Operační technika

Chirurgické zákroky byly prováděny prostřednictvím střední sternotomie na bijícím srdci na mimotělním oběhu v mírné hypotermii nebo normotermii. V případě provedení přidružených výkonů na srdci byla naložena svorka na aortu, ochrana myokardu byla zajištěna podáním kardioplegického roztoku. Allograft byl implantován do RVOT pomocí interpoziční techniky.

Charakteristika allograftů

Všechny allografty byly odebrány, zpracovány, kryoprezervovány a alokovány Oddělením transplantací a tkáňové banky (Ministerstvo zdravotnictví České republiky, Kód: STB85), Fakultní nemocnice Motol, Praha) dle standardního protokolu - viz. 3.5.1. *Zpracování chlopenních allograftů v současnosti*. Srdce pro přípravu chlopenních allograftů byla získána v souladu s českou legislativou: „Zákonem o transplantaci“ (zákon č. 285/2002 Sb.) a „Zákonem o lidských buňkách a tkáních“ (zákon č. 296/2008 Sb.) Věkový limit dárce byl stanoven od novorozenců do 65 let. Doba expirace kryoprezervovaných allograftů byla arbitrárně stanovena na 5 let ode dne odběru konduity (od roku 2021 doba expirace stanoví 6 let pro aortální allograft a 8 let pro pulmonální allograft⁵⁵).

Pro volbu velikosti allograftů u malých dětí kromě standardního CT měření jsme používali nomogramy (např. povrch těla pacienta). V některých případech byl allograft perioperačně bikuspidalizován.

Tab.1: Charakteristiky všech konduktů stratifikované dle vstupních diagnóz pacientů, kteří podstoupili sekundární a následující rekonstrukce RVOT

	CTGA	DORV	PA	PTA	ROSS	TGA	TOF
Počet intervencí	4	28	62	73	18	26	38
Pohlaví příjemce	3 (75%)	18 (64%)	25 (40%)	32(44%)	15(83%)	20(77%)	20(53%)
Věk v době intervence (mean, IQR)	18 (14-21)	13 (8-16)	14 (6-20)	9 (4-13)	12 (6-16)	16 (12-19)	15 (8-21)
Věk v době intervence (range)	12 let-28 let	2 roky-27 let	242 dny - 42 let	13 dnů-24 let	119 dnů - 29 let	2 roky - 36 let	1rok- 33 let
Velikost konduktu (mm, mean, IQR)	24 (22-26)	24 (22-26)	22 (18-26)	21 (18-25)	23 (21-26)	24 (22-26)	23 (21-26)
Svorka na aortě	0(0%)	10 (40%)	13 (29%)	33 (46%)	4 (27%)	4 (19%)	7 (21%)
Čas svorky na aortě (mean, IQR)	N/A	85 (74-98)	83 (51-117)	101 (62-128)	98 (61-116)	65 (51-89)	57 (32-85)
Teplota (mean, IQR)	33 (33-34)	31 (28-34)	31 (30-34)	30 (28-33)	31 (28-34)	27 (20-33)	27 (28-34)
Čas mimotělního oběhu [minuty] (mean, IQR)	167 (126-192)	195 (120-255)	188 (134-230)	184 (116-224)	155 (93-202)	171 (118-201)	170 (116-207)

Tab. 2 Charakteristiky allograftů stratifikované podle vstupní diagnózy pacientů, kteří podstoupili sekundární a následující rekonstrukce RVOT

	CTGA	DORV	PA	PTA	ROSS	TGA	TOF
Počet allograftů	2	20	44	58	15	22	30
Pulmonální allograft	0 (0%)	14 (70%)	32 (73%)	38 (66%)	11 (73%)	10 (45%)	22 (73%)
Aortální allograft	2 (100%)	6 (30%)	11 (25%)	19 (33%)	4 (27%)	10 (5%)	5 (17%)
Kryoprezerované allografty	2 (100%)	19 (95%)	41 (93%)	53 (91%)	15 (100%)	17 (77%)	26 (87%)
Neznámý způsob prezervace	0 (0%)	0 (0%)	1 (2%)	2 (3%)	0(0%)	2 (9%)	3 (10%)
Čas od odběru po prezervace (dny, mean, IQR)	20 (18-22)	22 (16-26)	21 (17-27)	21 (14-27)	26 (13-26)	23 (19-27)	22 (18-28)
Chybějící čas od odběru do prezervace	0(0%)	6 (32%)	13 (32%)	13 (25%)	1 (7%)	8 (47%)	7 (27%)
Pohlaví dárců (mužské)	2 (100%)	12 (60%)	21 (48%)	32 (55%)	7 (47%)	11 (50%)	13 (43%)
Pohlaví dárců (neznámé)	0 (0%)	0 (0%)	1 (2%)	2 (3%)	0 (0%)	2 (9%)	4(13%)
Věk dárců (roky, mean, IQR)	34 (31-37)	32 (20-44)	33 (20-46)	26 (16-35)	31 (20-40)	32 (22-44)	31 (19-42)
Neznámý věk dárců	0 (0%)	0 (0%)	1 (2%)	2 (3%)	0 (0%)	2 (9%)	4(13%)
ABO match	1 (50%)	8 (42%)	21 (50%)	34 (62%)	7 (47%)	9 (47%)	16 (67%)
ABO neznámý	0 (0%)	1 (5%)	2 (5%)	3 (5%)	0 (0%)	3(14%)	6(20%)

Zpracování dat

Data o sledování pacientů, kteří podstoupili rekonstrukci RVOT s použitím allograftů a/nebo xenograftů, byly převzaty z odborné databáze a nemocniční dokumentace. Den implantace konduity byl považován za první den sledování přežívání konduity. Pacienti byli dále sledováni dětským kardiologem v Dětském kardiocentru 2. LF UK a FN Motol (pacienti mladší 19 let) a dospělým kardiologem v Centru pro vrozené srdeční vady v dospělosti (pacienti starší 19 let) na Klinice kardiovaskulární chirurgie 2. LF UK a FN Motol. Klinické proměnné definované jako možné negativní prediktory dlouhodobého přežití konduity v RVOT byly rozděleny do několika skupin a zahrnovaly:

- Faktory transplantátu (biologické, biomechanické a fyzikálně-chemické charakteristiky konduity, určené technologií jejich výroby, skladování a přípravou k implantaci)
 - typ konduity (allograft versus xenograft, u skupiny allograftů – aortální versus pulmonální allograft)
 - velikost allograftů
 - způsob prezervace allograftů (čerstvý versus kryoprezervovaný)
 - doba od odběru allograftů do jeho prezervace
- individuální charakteristiky donora
 - věk dárce
 - pohlaví dárce
- Faktory recipienta, určené jeho klinickým stavem před operací, specifikou perioperačního a taky časného a pozdního pooperačního období
 - věk pacienta
 - pohlaví pacienta
 - AB0 matching
 - vstupní diagnóza včetně předchozích intervencí a počtu re-intervencí na RVOT
 - typ chirurgického zákroku (skupiny Ross/non-Ross).

Endpointem studie bylo selhání konduity, definované jako explantace konduity; perkutánní balonková pulmonální valvuloplastika (včetně katetrizační náhrady pulmonální chlopně (TPVI – z angl. Transcatheter pulmonic valve implantation, rovněž se používá zkratka PPVI – z angl. Percutaneous pulmonary valve implantation, plastika kmene plicnice s výjimkou angioplastiky levé a/nebo pravé větví plicnice) a úmrtí pacienta. Vylučovací kritéria pro obě

skupiny pacientů zahrnovala perioperační mortalitu (včetně krátkodobé mortality do 30 dnů od operace) a infekční endokarditidu na pulmonální chlopni před současnou operací.

Statistická analýza získaných dat

Získaná data o přežívání konduktů v prvním souboru pacientů, kteří podstoupili rekonstrukci RVOT pomocí alograftů nebo xenograftů v období od února 1981 do prosince 2016 (primoimplantace a reoperace, skupina A) s ohledem na zvolené možné negativní faktory byla analyzována pomocí Kaplan-Meierových křivek. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami konduktů byly testovány pomocí Log-Rank testu. Vlivy jednotlivých faktorů byly zpracovány pomocí Coxova modelu poměrného hazardu. Analýzy byly prováděny pomocí statistického balíčku R, verze 3.6.1. Hladina významnosti byla zvolena 5 % ($p=0,05$; p -hodnoty nižší než 5 % byly považovány za statisticky významné).

V druhém souboru pacientů (kteří podstoupili sekundární a následující operaci s rekonstrukcí výtokového traktu pravé komory, skupina B) k hodnocení vztahu mezi jednotlivými proměnnými a výsledky jsme také použili Coxův model poměrného hazardu (statistický balíček R)⁵⁶. Pro každé srovnání jsme provedli dvě analýzy: neupravený model, kde srovnáváme model s jednou kovariátou s modelem bez jakéhokoli dalšího prediktora, a upravený model, kde jsme přidali čtyři asociace nalezené v předchozí práci (věk pacienta při intervenci, velikost a typ konduktu, vstupní diagnóza pacienta) a srovnáváme model s těmito čtyřmi prediktory a kovariátem zájmu s modelem pouze se čtyřmi prediktory. Pro srovnání jsme použili test pomocí poměru věrohodností. Všechny p -hodnoty uváděné v hlavním textu byly upraveny pro více srovnání pomocí metody Benjamini–Hochberg.⁵⁷ Křivky přežití a jejich 95% intervaly spolehlivosti byly vizualizovány pomocí R balíčku *survminer*.⁵⁸

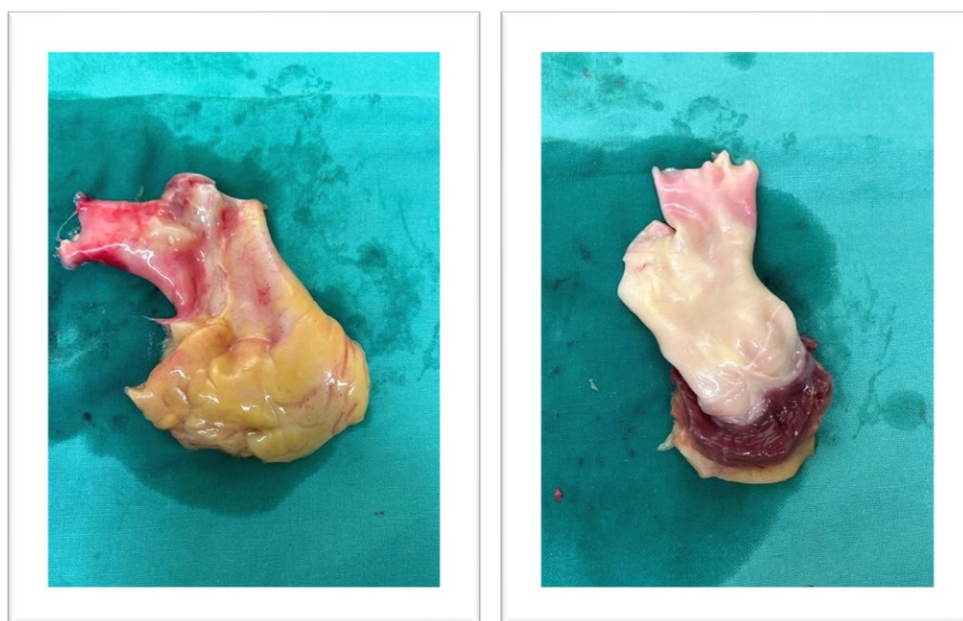
3.2. Strukturální integrita a buněčná viabilita kryoprezervovaných allograftů před implantací v RVOT: korelace histopatologických změn s charakteristikami dárce a dobou prezervace

Cílem této části prospektivní studie bylo posoudit histopatologické změny kryoprezervovaných allograftů, následně implantovaných do RVOT: zhodnotit známky strukturální degenerace a přítomnost antigen-prezentujících buněk (APC); dále zhodnotit souvislost stanovených mikroskopických změn s klinickými charakteristikami dárce, dobou kryoprezervace, typem a velikostí allograftů.

Charakteristika souboru

V období od listopadu 2017 do května 2019 bylo do studie zařazeno padesát sedm kryoprezervovaných allograftů (48 pulmonálních, 9 aortálních), distribuovaných Oddělením transplantací a tkáňové banky Fakultní nemocnice Motol a následně použitých k rekonstrukci výtokového traktu pravé komory. (Obr. 22) Klinické proměnné sledované u odebraných allograftů zahrnovaly: typ allograftů, jeho velikost, doba studené ischemie, doba od konce dekontaminace do zahájení kryoprezervace a samotná doba kryoprezervace. Pro potřeby další analýzy byly z odborné databáze a nemocniční dokumentace převzaty klinické charakteristiky dárců: věk, pohlaví, krevní skupina, výška, váha a tělesný povrch (BSA – body surface area) spočítaná v metrech čtverečních pomocí Mostellerova vzorce.⁵⁹ Sledované údaje dárců, charakteristiky allograftů a údaje o kryoprezervaci jsou uvedeny v tabulce 3.

Obr. 22: Pulmonální allograft před kryoprezervací



Zdroj: vlastní fotografie

Tab. 3: Klinické proměnné, sledované u skupiny alograftů/dárců před implantací alograftů do RVOT

Pohlaví dárců, mužské (%)		26 (46)
Věk dárce, roky, median (mean, IQR)		36 (33, 13-53)
Výška, cm, median (mean, IQR)		165 (156, 150-175)
Váha, kg, median (mean, IQR)		65 (64, 50-80)
BSA, m², median (mean, IQR)		1.75 (1.62, 1.45-1.97)
AB0/Rh systém (n)		A+ (18), A- (3), B+ (6), B- (1), AB+ (5), AB- (1), 0+ (19), 0- (4)
Typ alograftu		pulmonální (48), aortální (9)
Velikost alograftu, mm, median (mean, IQR)	Pulmonální	25 (24, 23-26)
	Aortální	14 (14, 12-16)
Délka alograftu, mm, median (mean, IQR)	Pulmonální	40 (41, 33-50)
	Aortální	60 (57, 50-65)
Délka studené ischemie, minuty, median (mean, IQR)		995 (1000, 733-1281)
Délka dekontaminace, dny, median (mean, IQR)		17 (17, 13-22)
Čas kryoprezervace, dny, median (mean, IQR)		150 (302, 84-352)

BSA = body surface area; IQR = interquartile range

Během operačního výkonu s rekonstrukcí výtokového traktu pravé komory byl získán vzorek cévní stěny alograftů. V případě, kdy implantaci alograftů předcházela redukce jeho velikosti (bikuspidalizace), byl také získán vzorek cípu alograftů. Vzorky cévní stěny byly odebrány mimo bifurkace, protože v této oblasti mohou být fyziologicky pozorovány jemné mikroskopické změny, které by mohly falešně nadhodnotit známky strukturální degenerace. Celkem bylo provedeno histopatologické vyšetření 57 vzorků cévní stěny (48 pulmonálních, 9 aortálních) a 20 vzorků cípu implantovaného alograftu (17 pulmonálních, 3 aortální) světelným mikroskopem. Všechny mikroskopické preparáty byly vyhodnoceny zkušeným patologem, zaměřeným na kardiovaskulární problematiku.

Charakteristika allograftů

V rámci Českého národního dárcovského programu jsou všechna dárcovská srdce, která nejsou vhodná k transplantaci, následně připravována k odběru allograftů. Srdce pro přípravu chlopenních allograftů byla získána v souladu s českou legislativou: „Zákonem o transplantaci“ (zákon č. 285/2002 Sb.) a „Zákonem o lidských buňkách a tkáních“ (zákon č. 296/2008 Sb.) Všechny zpracované vzorky byly z allograftů, které byly odebrány, zpracovány, kryoprezervovány a alokovány Oddělením transplantací a tkáňové banky (Ministerstvo zdravotnictví České republiky, Kód: STB85), Fakultní nemocnice Motol, Praha) dle standardního protokolu - viz. 3.5.1. *Zpracování chlopenních allograftů v současnosti*. Věkový limit dárce byl stanoven od novorozenců do 65 let. Rozmrazování allograftu před jeho implantací probíhalo v několika fázích. Po vyjmutí z boxu byl allograft ponechán při pokojové teplotě po dobu 15 minut. Poté byl umístěn do vodní lázně o teplotě 37-40 °C po dobu nejméně 15 minut.

Histopatologické zpracování vzorků

Každý vzorek byl fixován v 10 % formolu a vložen do parafinového bloku. Dále jsme udělali řezy o tloušťce 2 µm. Všechny mikroskopické preparáty byly barveny hematoxylinem a eosinem (HE). Pro přesné posouzení mikroskopických známek strukturální degenerace byly použity další barvení, specifické pro jednotlivé složky cévní stěny a cípů chlopně. Všechny vzorky byly barveny Massonovým trichromem, který zdůrazňuje hladké svalové buňky a fibrózní tkáň, Weigertovým resorcin-fuchsinem, který zdůrazňuje elastická vlákna, také bylo použito Alcianová modř/periodic acid-Shiff barvení, které ukazuje přítomnost mukoidních extracelulárních matrixových substancí (MEMA). Konkrétní morfologické proměnné posuzované v cévní stěně zahrnovaly: fragmentaci/ztrátu elastických vláken, ztenčování elastických vláken, dezorganizaci elastických vláken, přítomnost laminární mediální nekrózy, intralamelární a translamelární MEMA, fibrózu, neovaskularizaci, kalcifikaci, nekrózu a přítomnost aterosklerotického intimálního plátu. Standardní definice uvedených proměnných odpovídaly mezinárodní nomenklatuře pro degenerativní onemocnění aorty od Společnosti kardiovaskulární patologie a Asociace pro evropskou kardiovaskulární patologii.⁶⁰

U vzorků chlopenních cípů byly posuzovány následující proměnné: redukce elastických vláken, myxoidní změny, fibróza, kalcifikace, hemorhagie, nekróza a celková rozlišitelnost jednotlivých vrstev chlopně (zona fibrosa, spongiosa a ventricularis). Posouzení zachování buněčné složky bylo založeno na standardním HE barvení a imunohistochemii. Při barvení HE se hodnotil stupeň jaderné pyknózy, úbytek buněk a ztráta buněk. Pro

imunohistochemické vyšetření, 1 μm řezy byly deparafinizovány a následně byly použity specifické primární protilátky: anti-vimentin (DAKO, ředění 1:100) zdůrazňující celkovou celularitu vzorku, anti-h-kaldezmon (BioSB, ředění 1:100) demonstrující hladké svalové buňky a anti-CD34 (BioGenex, ředění 1:40) pro barvení endoteliálních buněk. Většina výše uvedených proměnných byla hodnocena 0 až 3 (neexistující, mírná, střední, významná), s výjimkou fibrózy, kalcifikace, nekrózy, hemoragií, neovaskularizace a aterosklerózy, které byly ohodnoceny 0 nebo 1 (neexistující nebo přítomné). Pro zdůraznění přítomnosti imunitních buněk bylo provedeno imunohistochemické barvení S100 β (CellMarque, zředění 1:300), CD20 (DAKO, ředění 1:300), CD3 (BioGenex, ředění 1:100) a CD8 (DAKO, zředění 1:200) antigenů a byl spočítán počet pozitivních buněk pro 10 high-power fields ($\times 400$). Pro zdůraznění APC byla použita anti-S100 β , CD20 pro B-lymfocyty a CD4 a CD8 pro odpovídající podtypy T-lymfocytů. Byla také vyhodnocena přítomnost neutrofilů a eosinofilů v HE. HRP/DAB PolyDetector (Bio SB) byl použit jako detekční systém pro všechny výše uvedené protilátky.

Statistická analýza získaných dat

Pro statistickou analýzu získaných dat byl použit programovací jazyk Python (verze 3.7.7). Všechny proměnné zahrnuté do studie byly párově korelovány. Histopatologické proměnné byly také hodnoceny jako skupiny pomocí kanonické korelační analýzy. Skupiny proměnných reprezentovaly cévní a strukturální degeneraci chlopně a buněčnou viabilitu. K hodnocení párových asociací byl použit Pearsonův korelační koeficient. Pro posouzení nezávislosti mezi dvojicemi proměnných byly použity následující statistické testy: test na korelační koeficient pro numerická klinická a numerická histopatologická data, chi-kvadrát test nezávislosti pro kategoriální klinická a nominální histopatologická data, Welchův t-test pro binární klinická a numerická histopatologická data a Welchova analýza rozptylu (nebo ANOVA) pro kategoriální klinická a numerická histopatologická data. Hodnoty $p < 0,05$ byly považovány za významné. Byl použit interval spolehlivosti 95 %.

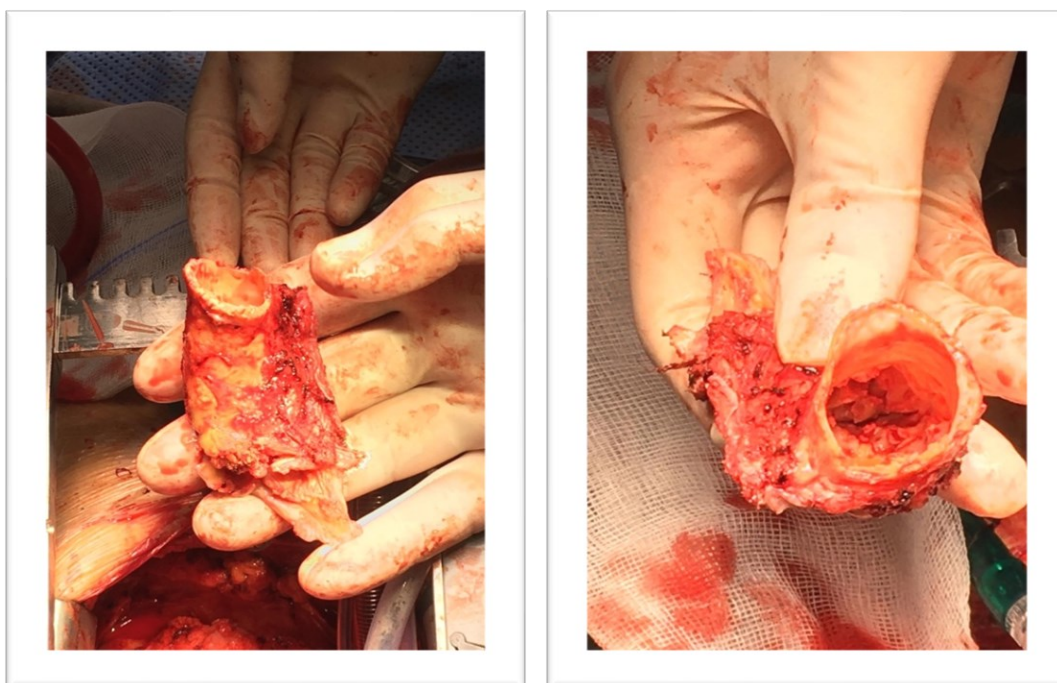
3.3. Mikroskopické hodnocení explantovaných allograftů

V této části studie jsme se zaměřili na mikroskopickou strukturu explantovaných allograftů. V explantovaných vzorcích konduitů jsme hodnotili stupeň degenerativních změn s ohledem na dobu implantace a přítomnost rejekčních infiltrátů. Při vyšetření allograftů jsme hlavně pátrali po dalších histopatologických proměnných, které by mohly vysvětlit příčinu selhání konduitů.

Charakteristika souborů

Do studie bylo prospektivně zařazeno 24 pacientů, kteří podstoupili explantaci konduitu (10 pulmonálních allograftů, 7 aortálních allograftů, 8 allograftů neznámého původu, 1 xenograft) v důsledku jeho selhání ve výtokovém traktu pravé komory v období od listopadu 2017 do května 2020 v našem centru. (Obr. 23) Věk pacientů se v době implantace pohyboval od 1 měsíce do 24 let (průměr 59, medián 31, interkvartilový rozsah 13–62 měsíců). Doba implantace se pohybovala od 6 měsíců do 23 let (průměr 131, medián 133, interkvartilový rozsah 68–197 měsíců). Další analýza byla provedena s ohledem na vstupní diagnózu pacienta a počet předchozích intervencí na RVOT. Všechny klinické proměnné jsou shrnuty v tab. 4.

Obr. 23: *Explantace těžce kalcifikovaného pulmonálního allograftu u 28letého pacienta s nekorigovanou transpozicí velkých artérií po 12letech. První intervence-Rastelliho korekce*



Zdroj: vlastní fotografie

Explantované konduity byly fixovány v 10 % formolu a dekalifikovány. Mikroskopická struktura konduitů byla hodnocena pomocí světelné mikroskopie s užitím základních barvicích metod a imunohistochemie.

Vzorky byly vloženy do parafinových bloků, dále odebrány řezy o tloušťce 2 μm . Všechny mikroskopické preparáty byly barveny hematoxylinem a eosinem. Pro správné posouzení stupně strukturální degradace byly provedeny další barvení a imunohistochemie, která zvýrazňovala jednotlivé složky cévní stěny a cípů chlopní. Všechny vzorky byly barveny Massonovým trichromem zvýrazňujícím hladké svalové buňky a pojivovou tkáň, Weigertovým resorcin-fuchsinem zvýrazňujícím elastická vlákna a alcianovou modří/ PAS reakce (Periodic Acid Schiff), která prokazuje přítomnost glykosaminoglykánů. K provedení imunohistochemického vyšetření byly vzorky 1 μm řezů deparafinizovány, následně byly použity specifické protilátky: anti-vimentin (DAKO, při ředění 1: 100) zvýrazňující celkové zachování buněčných komponent vzorků, anti-h-kaldesmon (BioSB, při ředění 1: 100) prokazující hladké svalové buňky a anti-CD34 (BioGenex, při ředění 1: 40) barvicí endotelové buňky. Pro posouzení známek buněčné rejekce bylo provedeno imunohistochemické barvení antigenů CD20 (DAKO, při zředění 1: 300), CD3 (BioGenex, při zředění 1: 100) a CD8 (DAKO, při ředění 1: 200), a byl spočítán počet pozitivních buněk na 1 vysoce zvětšené pole ($\times 400$).

Tab. 4: Klinické proměnné pacientů/allograftů

	Pohlaví	Věk implantace (měsíce)	Doba implantace (měsíce)	Místo implantace	Typ konduktu	Typ graftu	Vstupní diagnóza	Počet předchozích implantací	Infekční endokarditida
1	M	25	20	RVOT	P	CAHV	TGA, VSD	2	Ne
2	M	7	6	RVOT	P	CAHV	PA, VSD	0	Ne
3	Ž	51	64	RVOT	P	CAHV	PA, VSD	2	Ne
4	M	2	54	RVOT	N/A	xenograft	TA	1	Ne
5	Ž	25	142	RVOT	A	CAHV	PA, VSD	1	Ne
6	M	14	172	RVOT	P	CAHV	PA, VSD	1	Ne
7	Ž	15	88	RVOT	A	CAHV	PA, VSD	1	Ne
8	Ž	21	197	RVOT	A	CAHV	PA, VSD	1	Ne
9	Ž	1	54	RVOT	P	CAHV	TA	1	Ne
10	M	36	186	RVOT	P	CAHV	AS, ROSS	1	Ne
11	M	211	97	RVOT	P	CAHV	TOF	2	Ano
12	M	50	83	RVOT	P	CAHV	DORV	1	Ne
13	Ž	59	69	RVOT	P	CAHV	TA	4	Ne
14	M	96	208	RVOT	A	CAHV	TOF	0	Ano
15	M	7	11	RVOT	P	CAHV	DORV	1	Ne
16	M	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
17	M	24	222	RVOT	A	CAHV	TA	2	Ne
18	M	11	123	RVOT	P	CAHV	PA, VSD	1	Ne
19	Ž	122	202	RVOT	P	CAHV	TOF	1	Ne
20	M	48	282	RVOT	A	CAHV	DORV	1	Ne
21	M	38	197	RVOT	A	CAHV	TGA, VSD	1	Ne
22	Ž	1	146	RVOT	P	CAHV	PA, VSD	1	Ne
23	M	289	254	RVOT	P	CAHV	TOF	1	Ano
24	Ž	71	111	RVOT	P	CAHV	TOF	2	Ne
25	Ž	193	157	RVOT	P	CAHV	TGA, VSD	1	Ne

A = aortální; AS = aortální stenóza; CAHV = allografty (Cryopreserved Allograft Heart Valve); DORV = dvojvýtoková pravá komora (Double Outlet Right Ventricle); Ž = ženské; M = mužské; P = pulmonální; PA = atrezie plicnice; ROSS = Ross/Ross-Konno operace; RVOT = výtokový trakt pravé komory; TA = truncus arteriosus; TGA = transpozice velkých arterií (Transposition of the Great Arteries); TOF = Fallotova tetralogie (Tetralogy of Fallot); VSD = defekt komorového septa (Ventricular Septal Defect)

4. VÝSLEDKY

4.1. Retrospektivní analýza dat pacientů ve skupině A

Skupina A zahrnovala celkem 766 implantací obou typů konduktů – allograftů a xenograftů (vč. biologických chlopenních protéz) do výtokového traktu pravé komory během 35letého sledování.

Medián času kardiopulmonálního bypassu byl 176 minut, medián času aortální svorky (pokud byla) byl 61 minut.

Populace pacientů se skládala z 324 mužů (55 %) a 266 žen (45 %). Během sledování zemřelo celkem 53 pacientů (mortalita 9 %) ze 590 pacientů.

U 56 implantovaných konduktů byla následně provedena pulmonální angioplastika a/nebo transkatérová implantace pulmonální chlopně (TPVI) v důsledku selhání konduktu. 4 pacienti následně podstoupili transplantaci srdce. Allograft musel být explantován v 161 případech.

Ke konci doby sledování v RVOT je celkem 156 konduktů s dobrou funkcí 20 let po implantaci. Nejčasnější reimplantace allograftu byla provedena 6 dní po jeho implantaci. Infekční endokarditida byla zaznamenána v 16 případech.

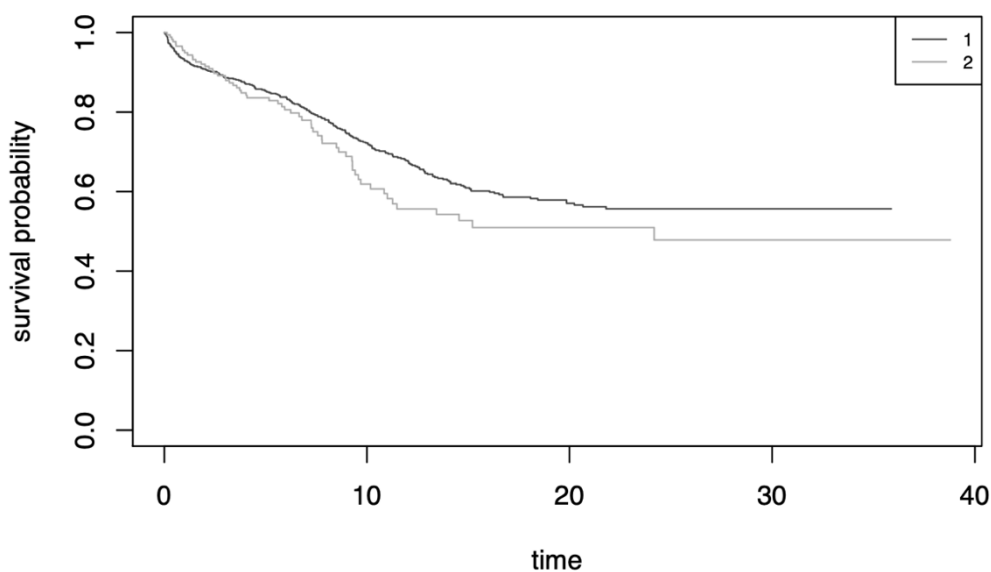
Pětiletá průchodnost (freedom from graft failure) všech konduktů stanovila 90,2 %, 10letá průchodnost všech konduktů stanovila 79,5 %, 15letá průchodnost všech konduktů stanovila 73,5 %.

Faktory ovlivňující dlouhodobé přežití konduktů v RVOT

1. Typ konduktu

Při porovnání typu konduktů (allograft vs. xenograft) ve skupině pacientů, kteří podstoupili intervence na výtokového traktu pravé komory (primooperace a reoperace) nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl mezi přežitím allograftů a xenograftů v dlouhodobém sledování – $p=0,13$. (Obrázek 24).

Obr.24: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT allograft (1) vs. xenograft (2)



	records	events	median	0.95LCL	0.95UCL
1	590	211			
2	176	59	24.18	11.01	

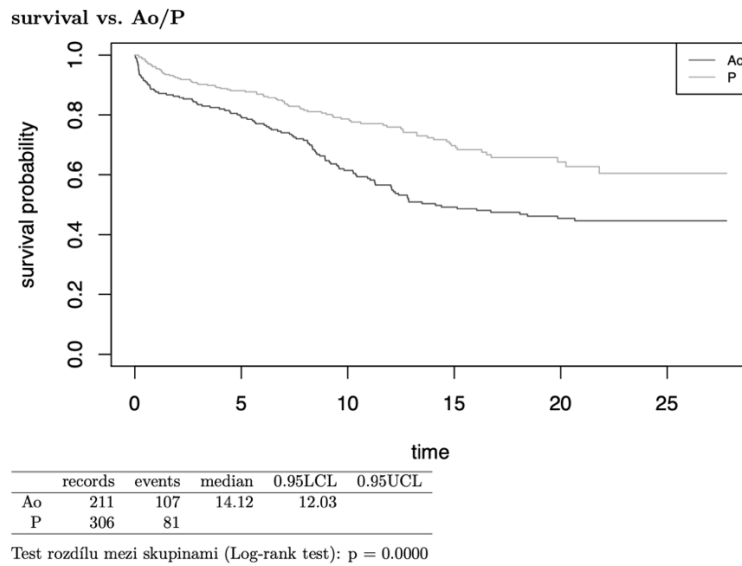
Test rozdílu mezi skupinami (Log-rank test): $p = 0.1293$

V tomto souboru pacientů porovnání podskupiny pulmonálních a aortálních allograftů prokázalo, že uvedené subtypy allograftů mají vliv na dlouhodobé přežití konduktů, kde pulmonální allografty prokázaly statisticky lepší výsledky v dlouhodobém sledování – $p < 0,0010$, Log-rank test (Obr. 25)

2. Způsob prezervace allograftů, doba od odběru allograftů do jeho prezervace

V uvedeném souboru byly častěji používané kryoprezervované allografty (449 kryoprezervovaných, 65 čerstvých, u 76 allograftů nelze zjistit). Provedena statistická analýza neprokázala žádný statisticky významný rozdíl přežití mezi uvedenými skupiny konduktů ($p = 0.9923$, Log-rank test). Kratší a delší doba od odběru allograftů do jeho prezervace se neprokázala signifikantním negativním prediktorem dlouhodobého přežití konduktů v RVOT.

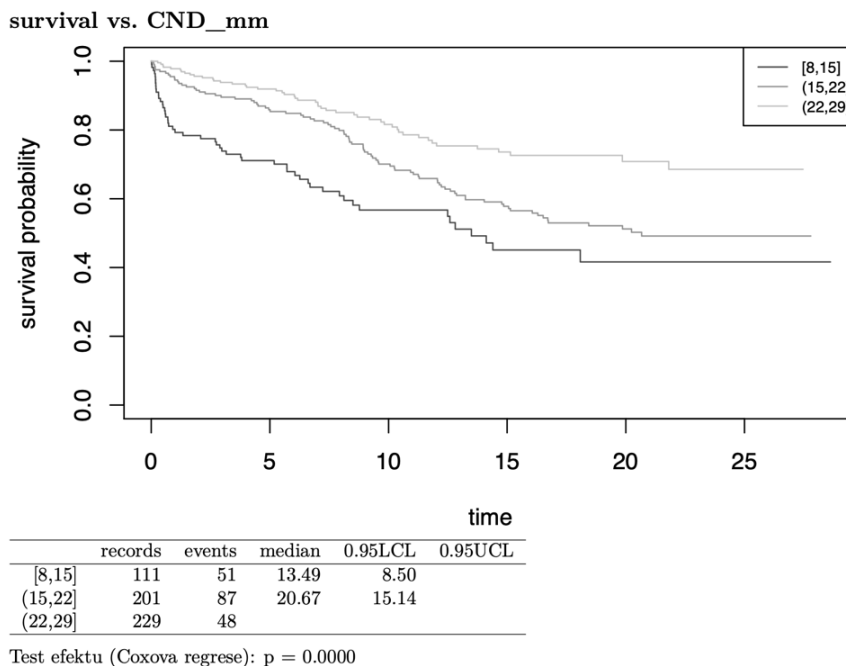
Obr.25: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT (pulmonální allograft vs. aortální allograft)



3. Velikost konduktů

Implantované allografty byly rozděleny do tří skupin podle jejich velikosti: allografty malé velikosti byly převážně bikuspidalizovány (průměr od 8 do 15 mm, median 13,49mm), allografty střední velikosti (o průměru od 15 do 22 mm, median 20,67mm), allografty o průměru 22 až 29 mm byly považovány za velké allografty. Větší velikost konduktu podle provedené statistické analýzy je spojena s jeho delším přežitím ($p < 0,0010$, Log-rank test) – Obr. 26

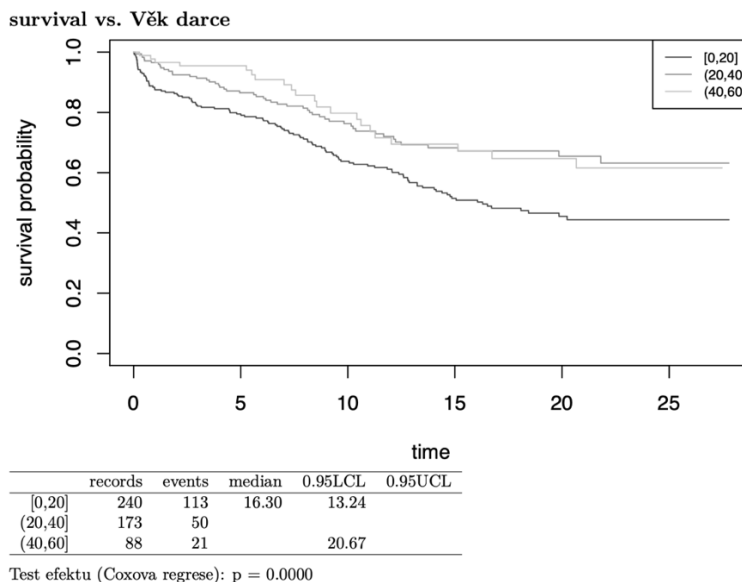
Obr.26: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k velikosti použitého konduktu



4. Věk dárce

Věk dárce byl pro potřeby statistické analýzy rozdělen do tercílů (0-20 let, 20-40let, 40-60let). Provedená analýza souboru prokázala, že vyšší věk dárce je spojen s delším přežitím konduitu ($p < 0,0010$ Log-rank test) – Obr. 27.

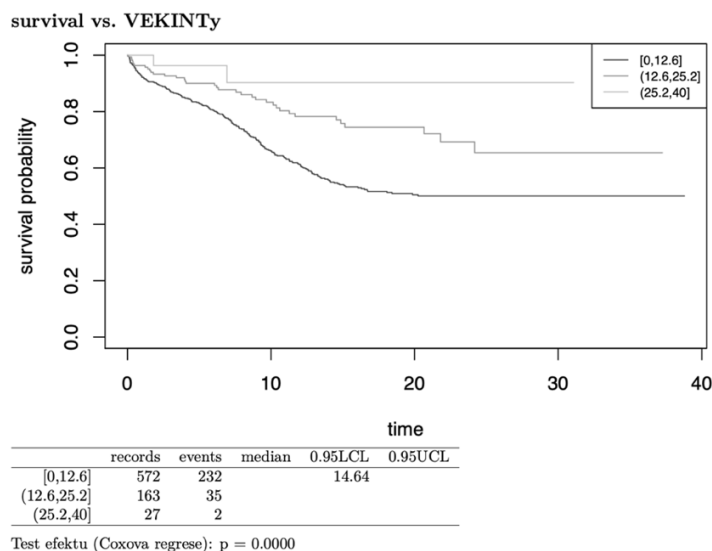
Obr.27: Kaplan Meierova křivka přežití konduitu v RVOT vztahující se k věku dárce



5. Věk pacienta

Průměrný věk příjemce při implantaci konduitu byl 7,6 let, s mediánem 5,2 let a rozsahem od 1 dne po narození do 49 let. Pro potřeby statistické analýzy byl věk pacienta při intervenci také rozdělen do tercílů (0 – 12,6let, 12,6 – 25,2let, 25,2 – 40let). Statistická analýza souboru prokázala robustní negativní asociace mezi starším věkem při intervenci a přežitím konduitu v dlouhodobém sledování ($p < 0,0010$, Log-rank test) – Obr. 28.

Obr.28: Kaplan Meierova křivka přežití konduitu v RVOT vztahující se k věku pacienta při intervenci



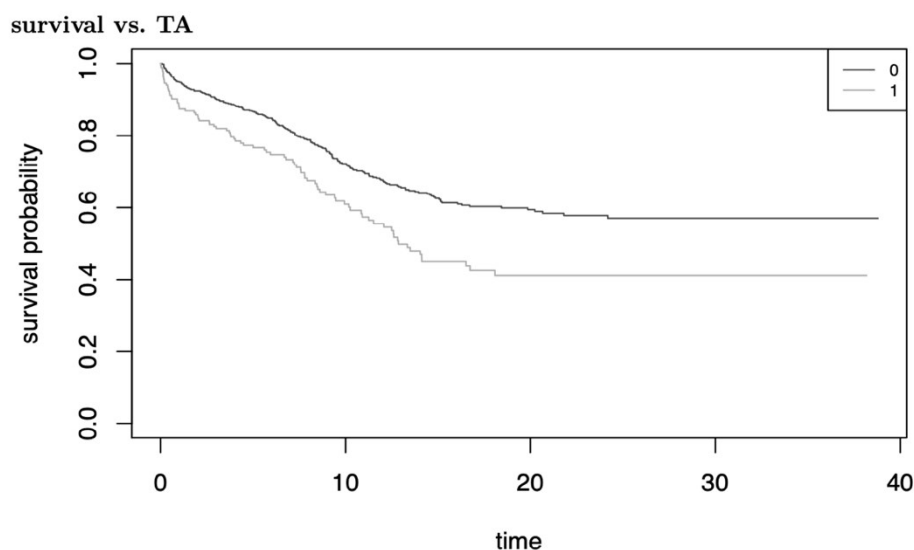
6. Vstupní diagnóza a typ chirurgického zákroku (skupiny Ross/non-Ross)

Typ vrožené srdeční vady, nebo základní diagnóza pacienta v uvedeném souboru po provedené statistické analýze se prokázala jako nezávislý rizikový faktor pro selhání konduity, kde pacienti s diagnózou truncus arteriosus a double-outlet right ventricle prokázali vyšší riziko selhání použitého konduity, zatímco pacienti s diagnózou Fallotovy tetralogie měli v dlouhodobém sledování lepší přežití konduity RVOT. (Obr. 29, 30).

Dlouhodobé výsledky přežití konduity v pravém výtokovém traktu ukázaly lepší výsledky dlouhodobého přežití u pacientů, kteří podstoupili Ross/Ross-Konno operaci ve srovnání se skupinou pacientů s jinými vroženými srdečními vadami. (Obr. 31).

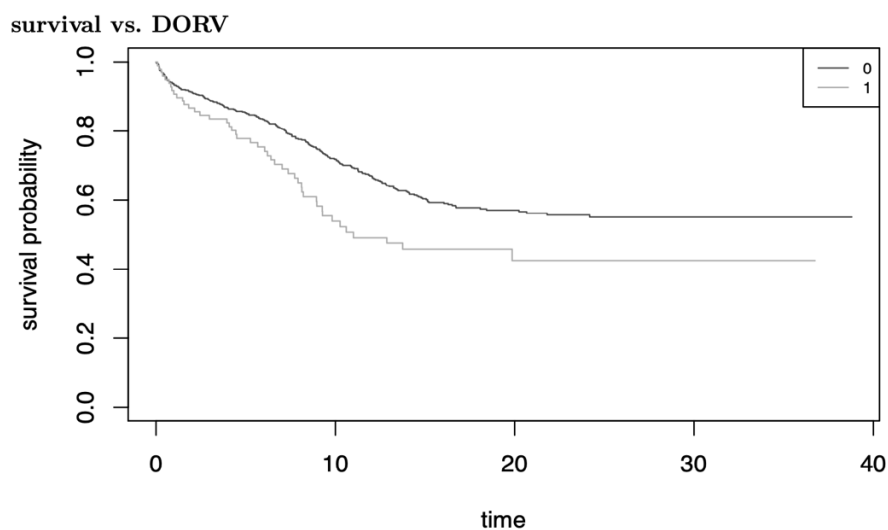
Další klinické proměnné, považované za možné negativní prediktory dlouhodobého přežití konduity v RVOT – pohlaví dárce, ABO matching, pohlaví příjemce, počet intervencí na RVOT dle provedené statistické analýzy nebyly signifikantní ($p > 0,05$).

Obr.29: Kaplan Meierova křivka přežití konduity v RVOT vztahující se k vstupní diagnóze pacienta – truncus arteriosus(1) vs. ostatní(0)



Test rozdílu mezi skupinami (Log-rank test): $p = 2e-04$

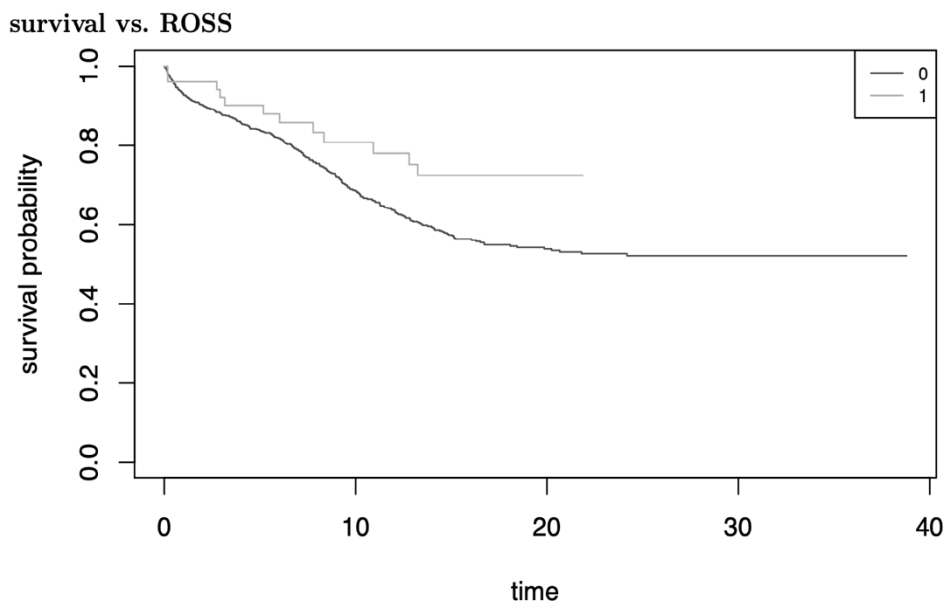
Obr.30: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k vstupní diagnóze pacienta – DORV (1) vs. ostatní (0)



	records	events	median	0.95LCL	0.95UCL
0	625	223			
1	97	45	11.01	8.94	

Test rozdílu mezi skupinami (Log-rank test): $p = 0.0058$

Obr.31: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k vstupní diagnóze pacienta – ROSS (1)/non-ROSS (0)



	records	events	median	0.95LCL	0.95UCL
0	671	256		18.44	
1	51	12			

Test rozdílu mezi skupinami (Log-rank test): $p = 0.0464$

4.2. *Retrospektivní analýza dat pacientů ve skupině B*

Skupina B zahrnovala celkem 249 reimplantací obou typů konduktů – allograftů a xenograftů do výtokového traktu pravé komory u 197 pacientů během 28letého sledování.

Populace pacientů se skládala ze 106 mužů (54 %) a 91 žen (46 %). Ze 249 provedených reimplantací konduktů bylo 197 sekundárních operací, 43 byly terciární operace a 9 reimplantací bylo provedeno jako kvartérní.

Během sledování zemřelo celkem 21 (mortalita 11 %) ze 197 pacientů. Časná mortalita (mortalita po 30 dnech po operaci a perioperační mortalita) byla 3 % (6 pacientů, bez souvislosti s implantovaným konduitem).

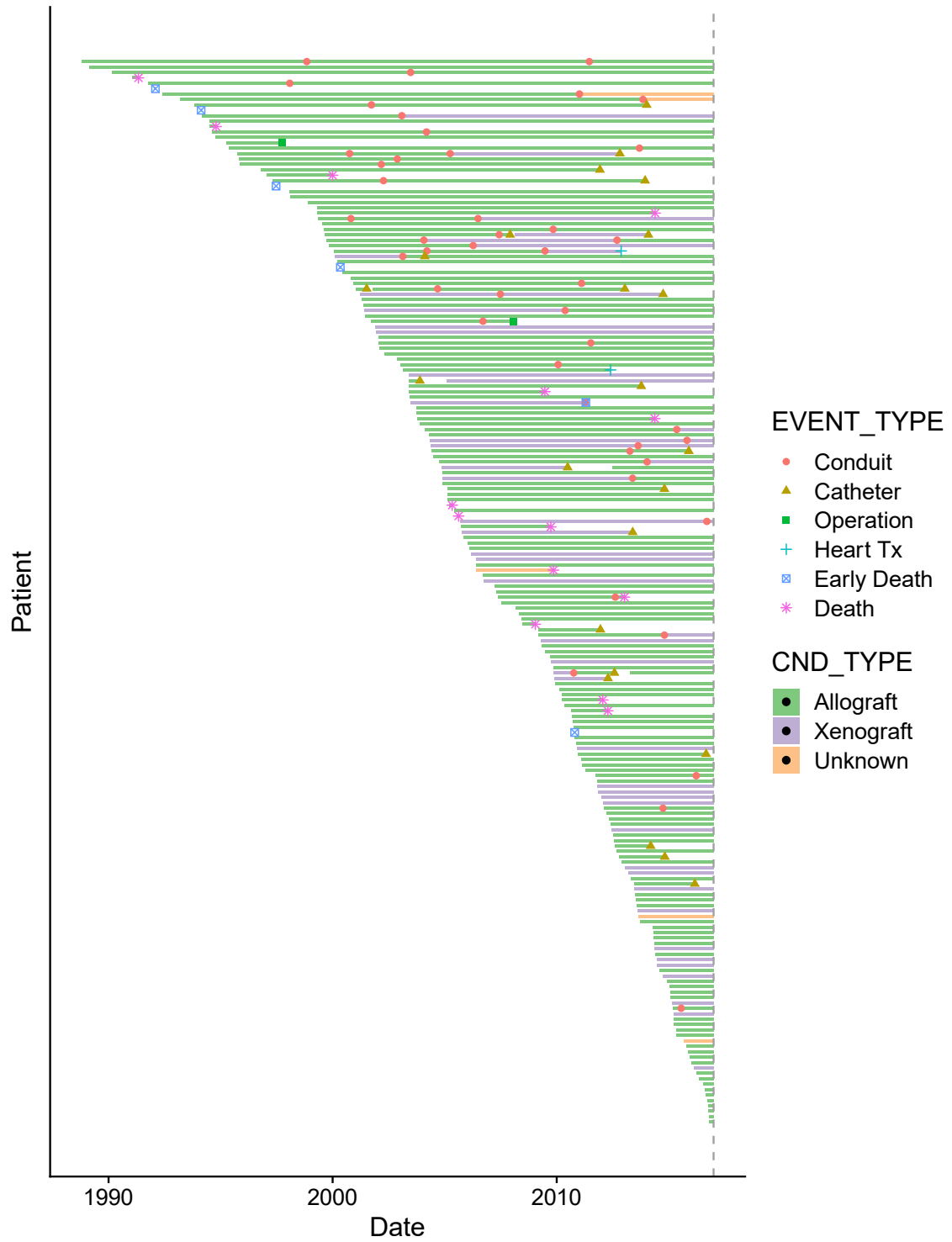
Dva pacienti následně podstoupili transplantaci srdce. U 23 implantovaných konduktů byla následně provedena pulmonální angioplastika a/nebo transkatheterová implantace pulmonální chlopně (TPVI) v důsledku selhání konduitu. Allograft musel být explantován v 46 případech.

Ke konci doby sledování v RVOT jsou celkem 4 konduity s dobrou funkcí 20 let po implantaci.

Nejčasnější explantace allograftu byla provedena 13 dní po jeho implantaci. Infekční endokarditida byla zaznamenána v 8 případech. Na obr. 32 jsou představeny konduity/příhody.

Pětiletá průchodnost (freedom from graft failure) všech konduktů stanovila 77 % (75 % u allograftů a 88 % u xenograftů), 10letá průchodnost všech konduktů stanovila 48 % (50 % u allograftů a 44 % u xenograftů), 15letá průchodnost všech konduktů stanovila 21 %, (23 % u allograftů a 11 % u xenograftů).

Obr. 32: Graf všech conduitů a událostí, včetně časné mortality. Každý řádek představuje jednoho pacienta. Svislá čára představuje konec sběru dat.

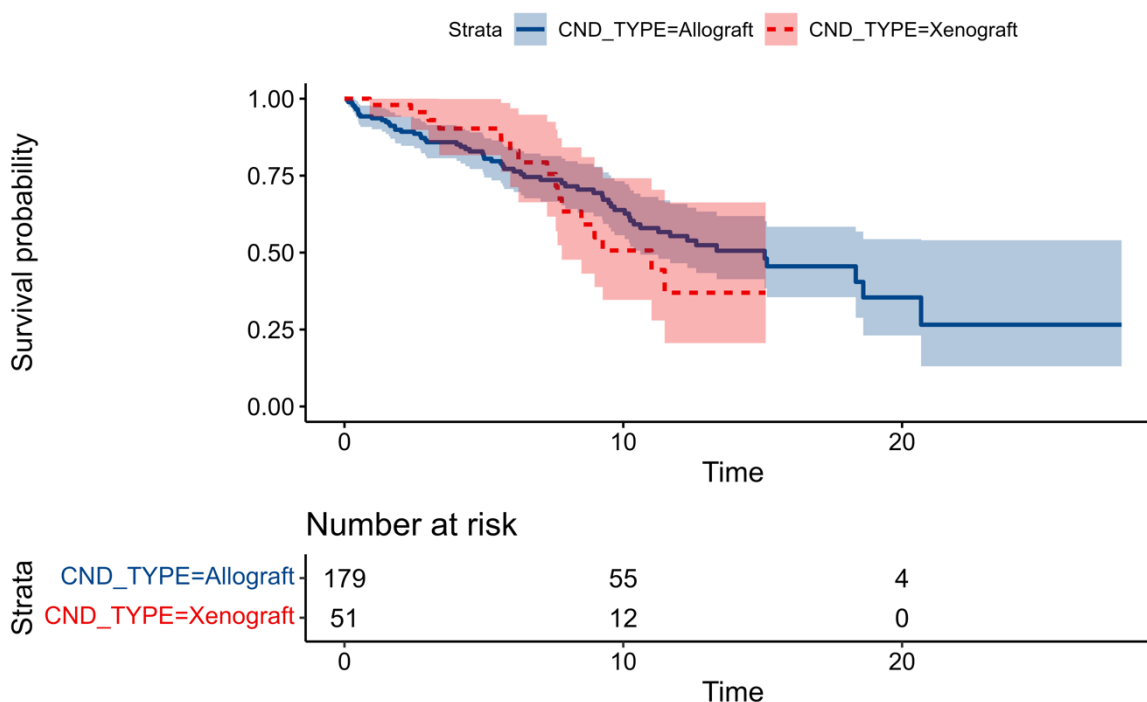


Faktory ovlivňující dlouhodobé přežití konduktů v RVOT

1. Typ konduktu

Při porovnání typu konduktů (allograft vs. xenograft) ve skupině pacientů, kteří podstoupili druhou a následující intervenci na RVOT, neukazuje neupravený model žádný statisticky významný rozdíl přežití ($p = 0,84$, věrohodnostní poměr, 95 % interval spolehlivosti pro poměr rizik je $(0,64-1,95)$). V upraveném modelu jsme také nepozorovali signifikantní rozdíl pro typ konduktů – allograft vs. xenograft ($p = 0,09$, věrohodnostní poměr), související % interval spolehlivosti pro poměr rizik je $(0,26-0,99)$. (Obr.33)

Obr.33: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT (allograft vs. xenograft)



Samostatné porovnání skupiny pulmonálních a aortálních allograftů v neupraveném modelu poskytuje slabé důkazy, že uvedené podtypy konduktů mají vliv na jejich dlouhodobé přežití v RVOT ($p = 0,06$, věrohodnostní poměr), poměr rizik pro pulmonální allografty vs. aortální allografty je $(0,29-0,83)$ a pro xenografty vs. aortální allografty je $(0,41-1,41)$. Porovnání podle upraveného modelu prokázalo podobnou úroveň významnosti ($p = 0,09$, věrohodnostní poměr) a podobné poměry rizik pro pulmonální allografty vs. aortální allografty $(0,37-1,2)$ a pro xenografty vs. aortální allografty $(0,22-0,86)$.

2. Způsob prezervace allograftů, doba od odběru allograftů do jeho prezervace

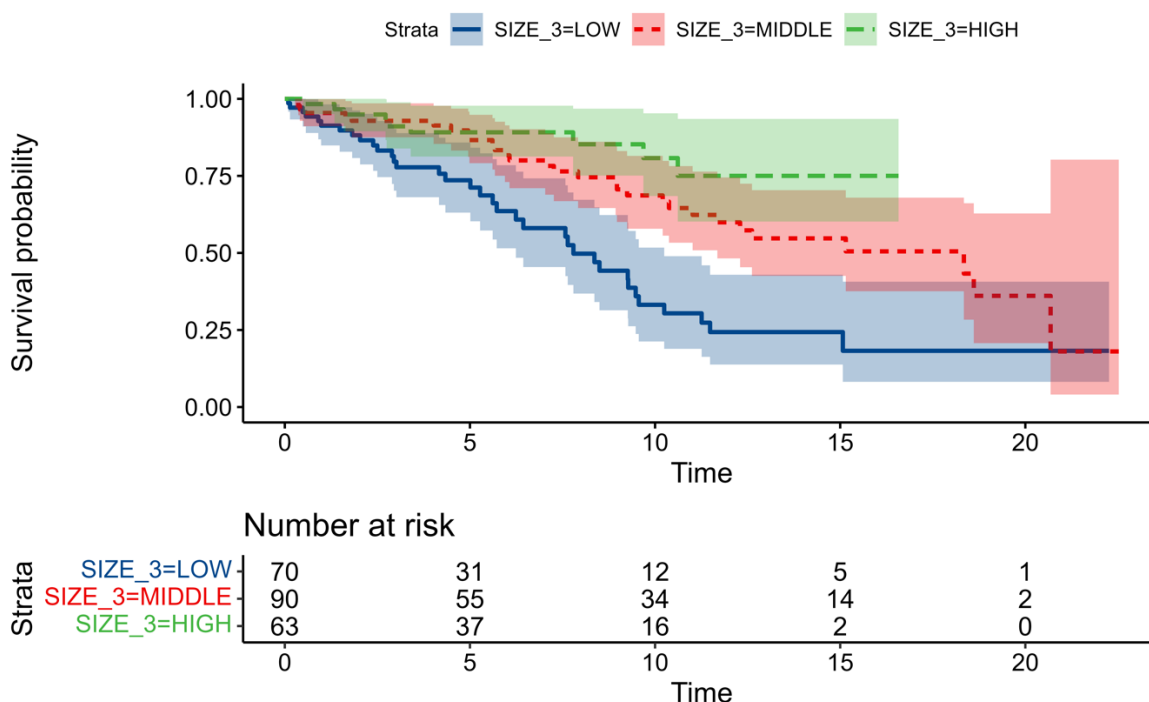
V tomto souboru byly častěji používány kryoprezervované allografty (173 kryoprezervovaných, 10 čerstvých, u 8 allograftů nelze zjistit). Provedena statistická analýza neprokázala žádný statisticky významný rozdíl přežití mezi uvedenými skupinami konduktů ($p = 0,34$ v neupraveném modelu poměr rizik stanovil $0,87-10,01$). Kratší a delší

doba od odběru allograftů do jeho prezervace se neprokázala signifikantním negativním prediktorem dlouhodobého přežití konduktů v RVOT.

3. Velikost konduktů

Při testování v neupraveném modelu velikost konduktů byla rozdělena do tercílů (9–21 mm, 22–25 mm, 26–31 mm) - Obr. 34. V neupravených modelech je větší velikost konduktu spojena s jeho delším přežitím. ($p < 0,001$, věrohodnostní poměr).

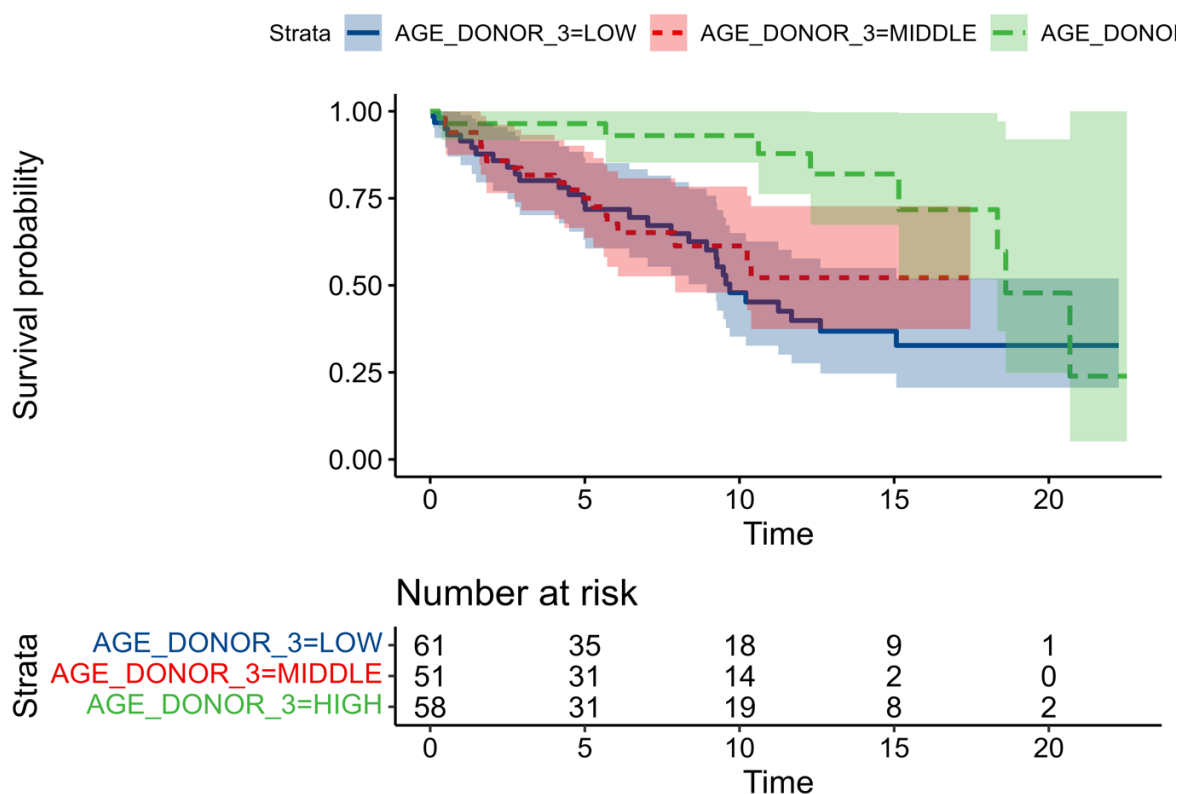
Obr.34: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k velikosti použitého konduktu



4. Věk dárce

Věk dárce byl pro potřeby statistické analýzy rozdělen do tercílů (na 22 let a 36 let). (Obr. 35) V neupravených modelech je vyšší věk dárce spojen s delším přežitím konduktu ($p < 0,001$, věrohodnostní poměr), avšak tuhle asociaci lze potenciálně připsat korelaci mezi věkem dárce a věkem při intervenci nebo velikostí konduktu. V upraveném modelu výsledný 95% interval spolehlivosti pro poměr rizik dárců od sebe vzdálených věkově o jeden rok (0,96–1,01) vylučuje silné asociace.

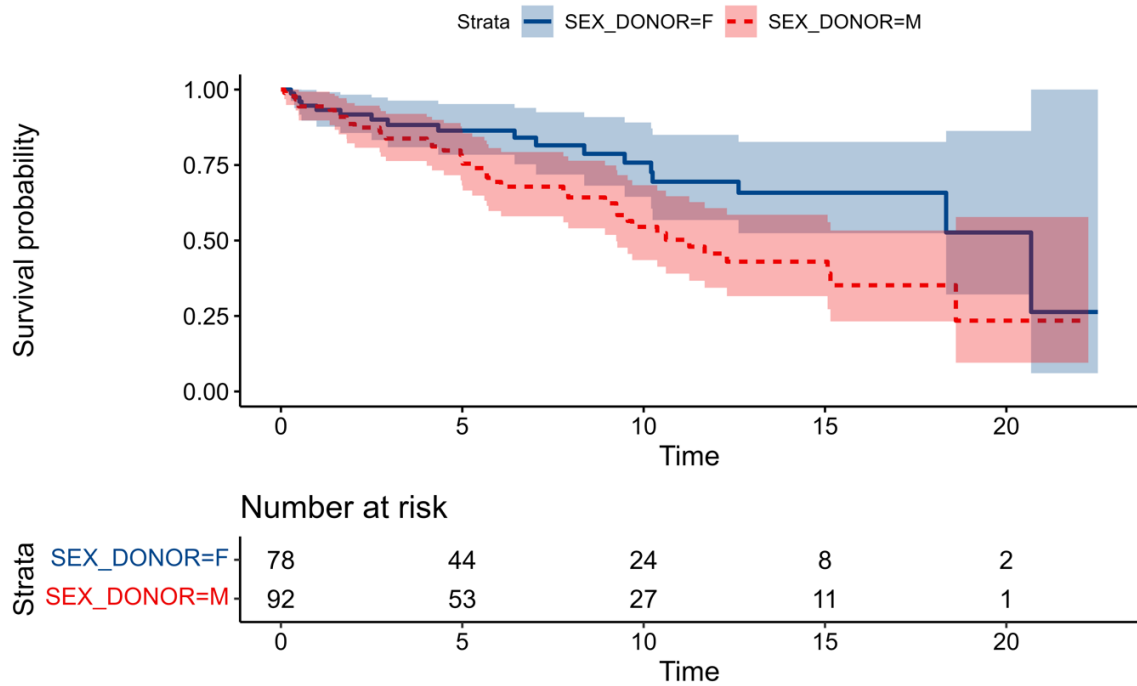
Obr.35: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k věku dárce



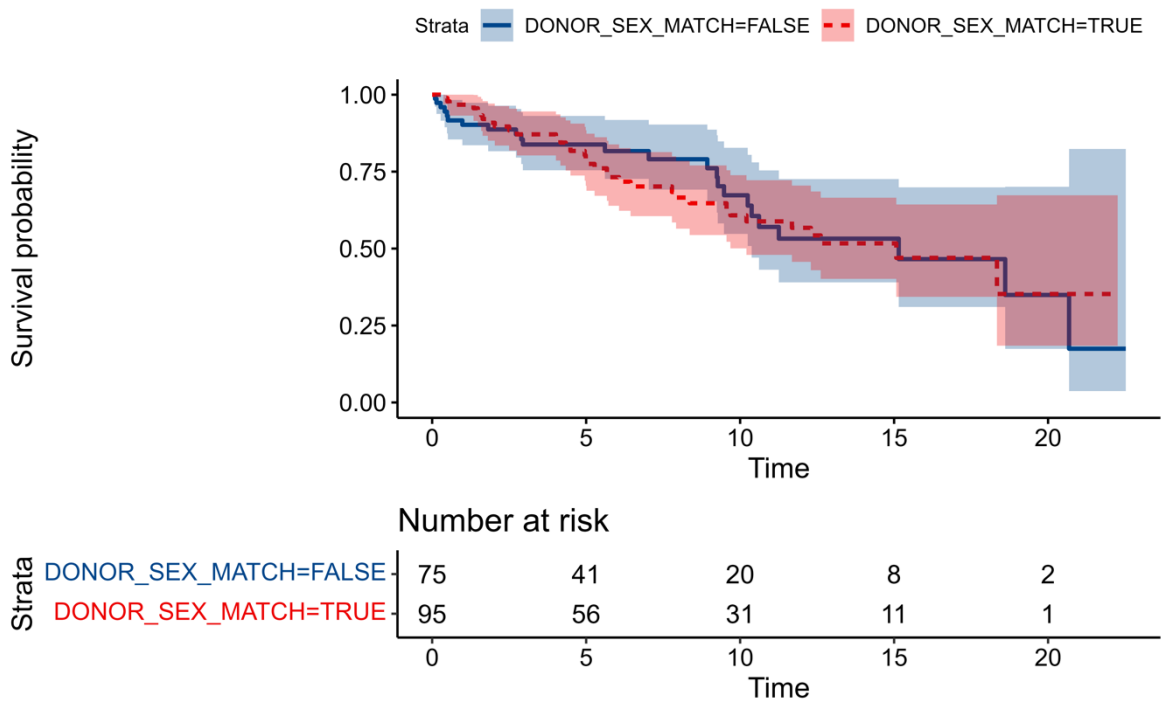
5. Pohlaví dárce

Za další možný negativní prediktor dlouhodobého přežití allograftů v RVOT bylo považováno pohlaví dárce. Podle provedené statistické analýzy, v daném souboru pacientů, konduity od mužských dárců byly spojeny s kratším přežitím allograftů jak v neupravených, tak v upravených modelech ($p = 0,03$, věrohodnostní poměr, 95% konfidenční interval pro poměr rizik 1,2–3,93) (Obr. 36). Dále jsme testovali pohlaví match/mismatch mezi dárce a příjemcem, kde rozdíl mezi testovanými skupiny nebyl signifikantní ($p = 0,84$, poměr rizik 0,62–1,78). (Obr. 37) Kromě toho jsme testovali všechny čtyři kombinace pohlaví dárce a příjemce, kde možný statistický rozdíl nelze prokázat ani vyvrátit. (Obr. 38)

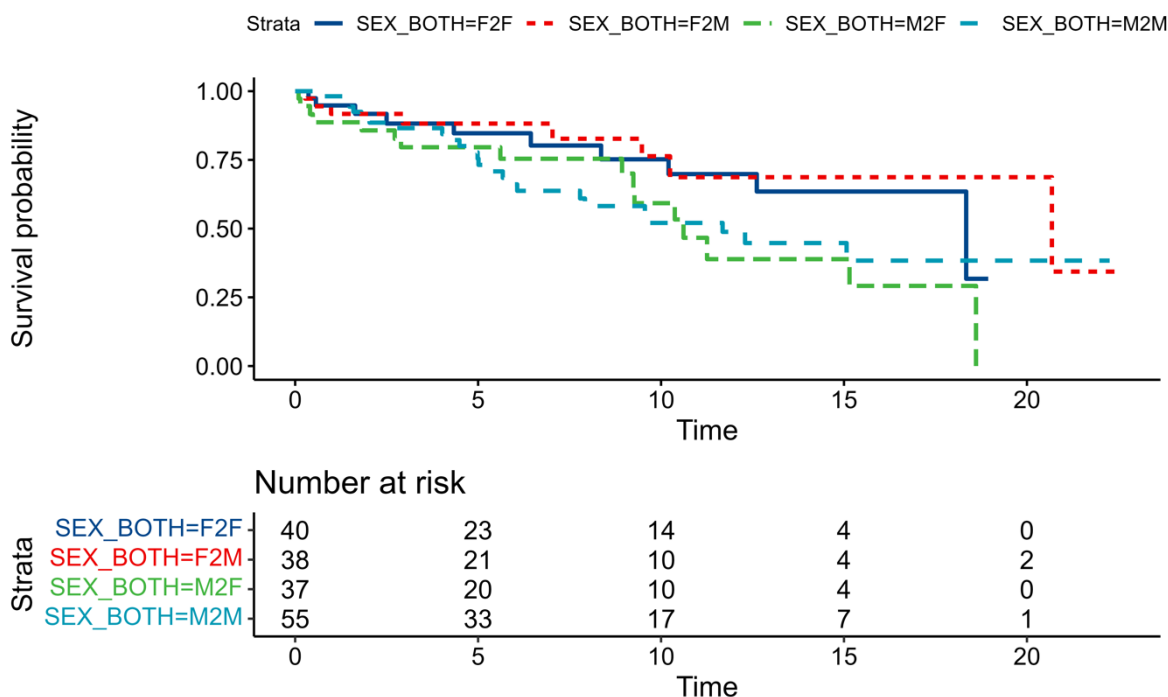
Obr.36: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k pohlaví dárce



Obr.37: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k pohlaví dárce - match/mismatch mezi dárce a příjemcem



Obr.38: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k pohlaví dárce - match/mismatch mezi dárce a příjemcem: (F – female, M – male)



6. Věk pacienta

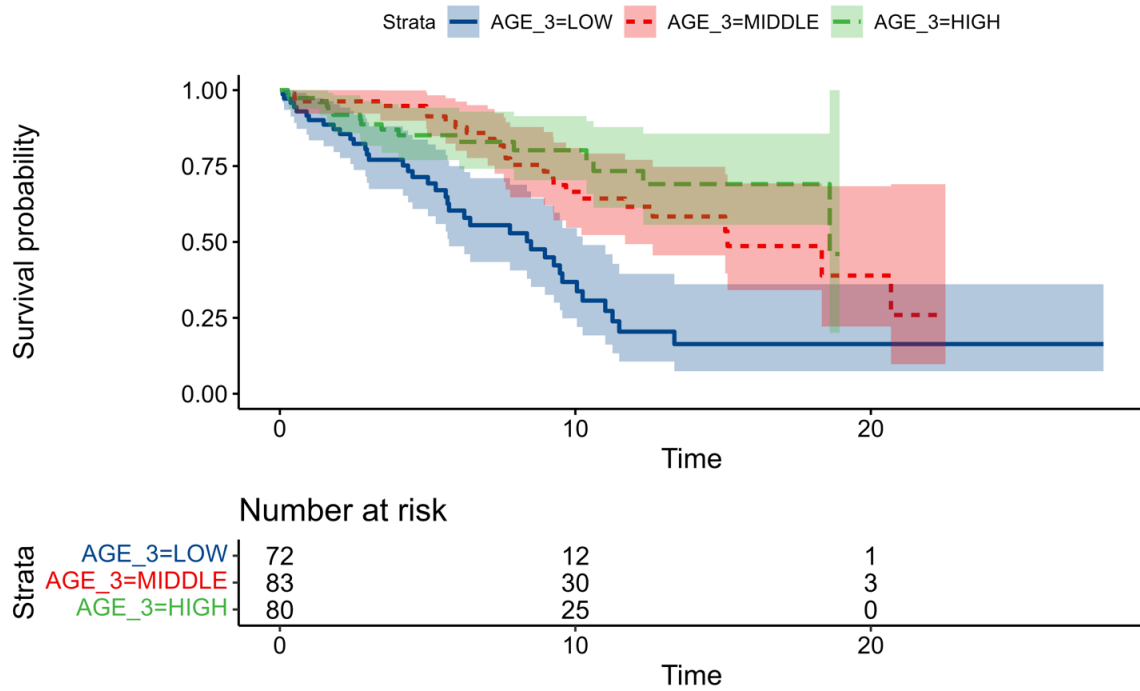
Průměrný věk pacientů při implantaci konduktů byl 13 let, s rozsahem od 13 dnů po narození do 42 let. Statistická analýza souboru prokázala robustní negativní asociace mezi starším věkem při intervenci a delším přežitím konduktů. Tato souvislost byla významná ve všech testovaných variantách modelů (všechny $p < 0,02$, věrohodnostní poměr). 95% konfidenční interval pro poměr rizik mezi nejnižším a nejvyšším tercilem věku při intervenci je 0,16–0,52. (Obr. 39)

7. Počet reintervencí na RVOT

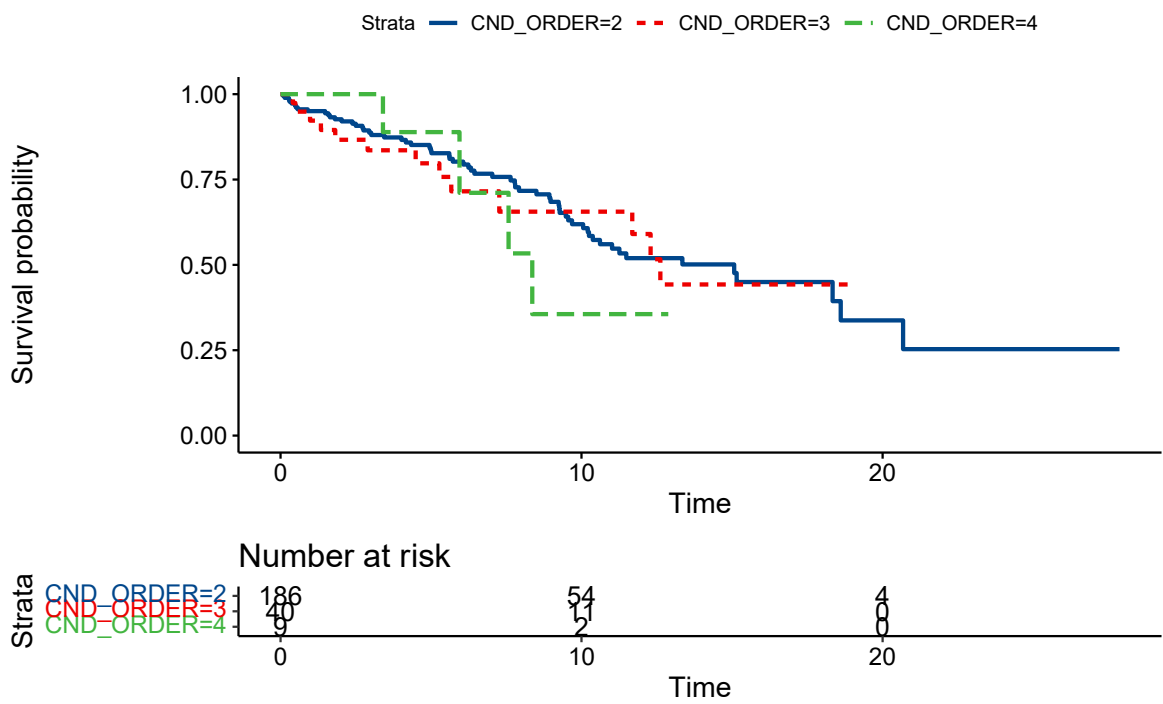
Při porovnání podskupin sekundárních, terciárních a kvartérních implantací konduktů do RVOT v upraveném modelu statistická analýza prokázala, že terciární rekonstrukce pravděpodobně není spojena s podstatně nižším rizikem než sekundární rekonstrukce, i když nemůžeme spolehlivě vyloučit jakékoli potenciálně zvýšené riziko a data jsou v souladu se žádným rozdílem - 95% konfidenční interval pro poměr rizik je (1,0–3,65). V neupraveném modelu jsou konfidenční intervaly příliš široké pro definitivní závěry. (Obr. 40)

Další klinické proměnné, považované za možné negativní prediktory dlouhodobého přežití konduktů v RVOT – pohlaví pacienta, ABO matching, vstupní diagnóza, typ chirurgického zákroku (vč. skupiny Ross/non-Ross) dle provedené statistické analýzy nebyly signifikantní ($p > 0,05$).

Obr.39: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k věku příjemce



Obr.40: Kaplan Meierova křivka přežití konduktů v RVOT vztahující se k počtu reintervencí na RVOT



4.3. Výsledky histopatologického vyšetření kryoprezervovaných allograftů před implantací. Korelace histopatologických změn s charakteristikami dárce a dobou prezervace

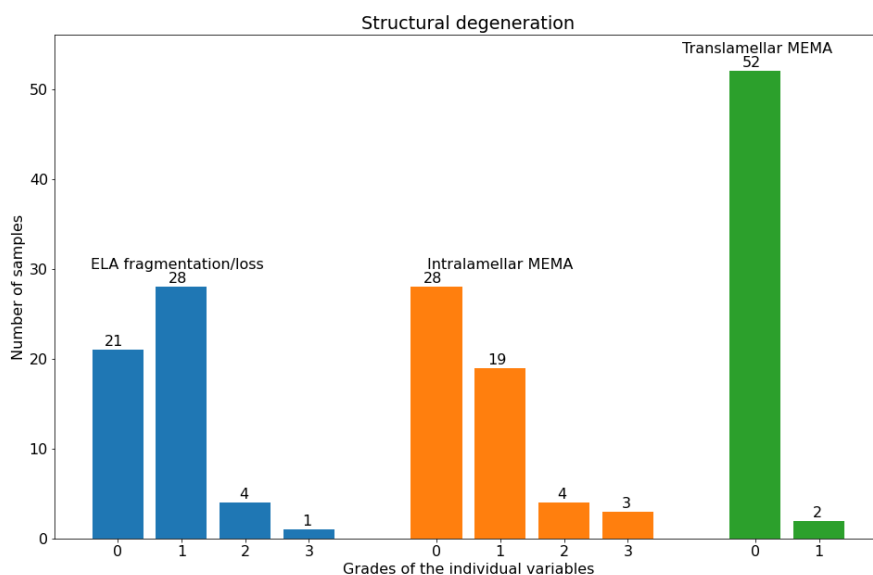
Strukturální degenerace

Ve 34 hodnocených vzorcích cévní stěny byly vidět známky fragmentace/ztráty elastických vláken, hodnocené jako mírné (stupeň 1) ve 29 případech, střední (stupeň 2) ve čtyřech případech a významné (stupeň 3) v jednom případě. Intralamelární MEMA byly přítomny ve 27 případech, z nichž bylo 19 hodnoceno jako mírné, pět jako střední a tři jako významné. Translamelární MEMA byly nalezeny pouze ve dvou případech, oba byly hodnoceny jako mírné. Mezi vzorky chlopní bylo 18 případů mírně snížené a jeden případ středně snížené celkové rozlišitelnosti jednotlivých vrstev vzorků. V 6 vzorcích se prokázaly známky mírné redukce elastických vláken, jeden se střední redukcí. Myxoidní změny byly přítomny v šesti případech, z nichž bylo pět hodnoceno jako mírné a jeden případ jako střední (Obrázek 41). Ani jeden cévní nebo vzorek cípu chlopně neprokázal ztenčení elastických vláken, dezorganizaci elastických vláken, kolaps laminárního média, fibrózu, kalcifikaci, neovaskularizaci, nekrózu nebo krvácení.

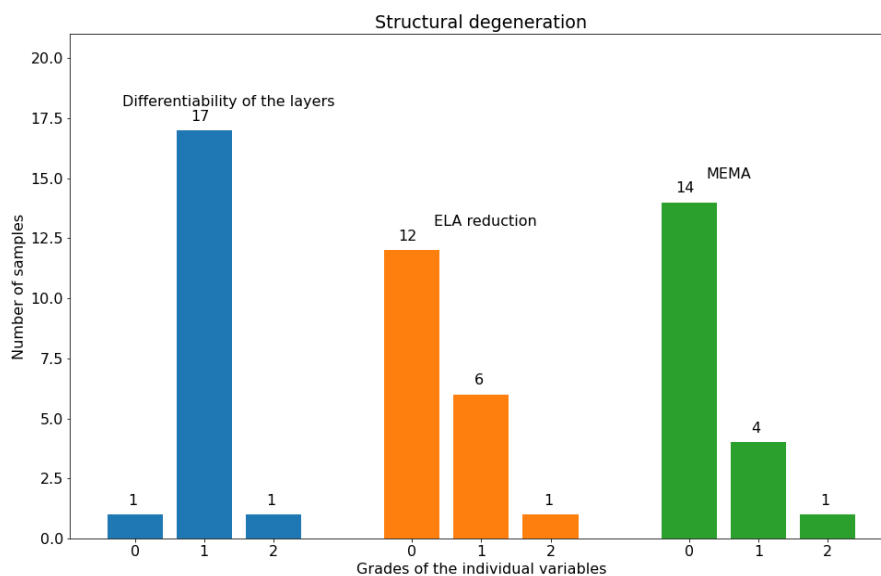
Buněčná viabilita

Všechny vzorky cévní stěny projevíly určitou míru snížené buněčné viability na základě barvení HE - 19 vzorků bylo hodnoceno jako mírné, 34 vzorky jako střední a 3 vzorky jako významné. Barvení vimentinem ukázalo mírně snížené buněčné viability u 13 případů, střední u 24 případů a významné u 17 případů. Nález ve všech vzorcích kromě jednoho prokázal snížené zachování hladkých svalových buněk ve stěně při barvení h-kaldezmonem, které bylo hodnoceno jako mírné u 20 případů, střední u 23 případů a významné u 12 případů. Všechny vzorky prokázaly úplnou (stupeň 3) ztrátu endotelu při použití barvení CD34. V případě vzorků cípu chlopní, všechny vzorky kromě jednoho prokázaly sníženou buněčnou viabilitu v HE barvení. Sedmnáct případů bylo hodnoceno jako mírné a dva případy jako střední. U barvení vimentinem prokázalo 16 případů mírnou ztrátu buněčné viability a dva případy střední. Šestnáct případů prokázalo úplnou ztrátu a jeden případ střední ztrátu endotelu. Ve třech případech byl endotel zachován (Obrázek 42).

Obr. 41: Strukturální degenerace – Grafy zobrazující jednotlivé složky strukturální degenerace ve vzorcích cévní stěny (A) a vzorcích cípu chlopní (B) (zobrazeny pouze proměnné nenulové hodnoty). Na ose x jsou zobrazeny stupně závažnosti pro každou jednotlivou proměnnou, na ose y je uveden počet vzorků v každé kategorii ELA = elastické vlákno; MEMA = mukoidní extracelulární matrixové substance.



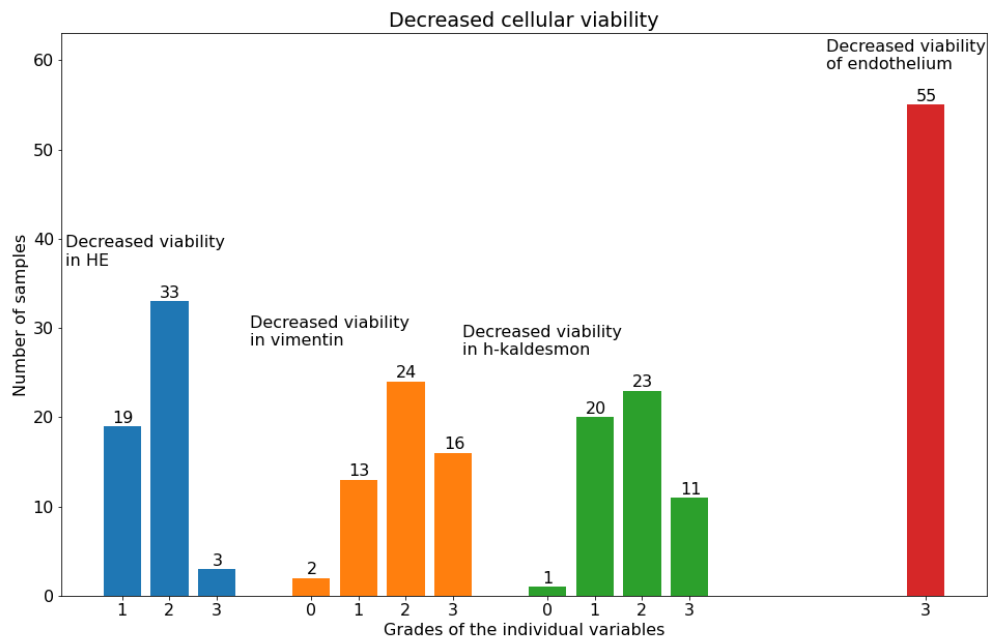
A



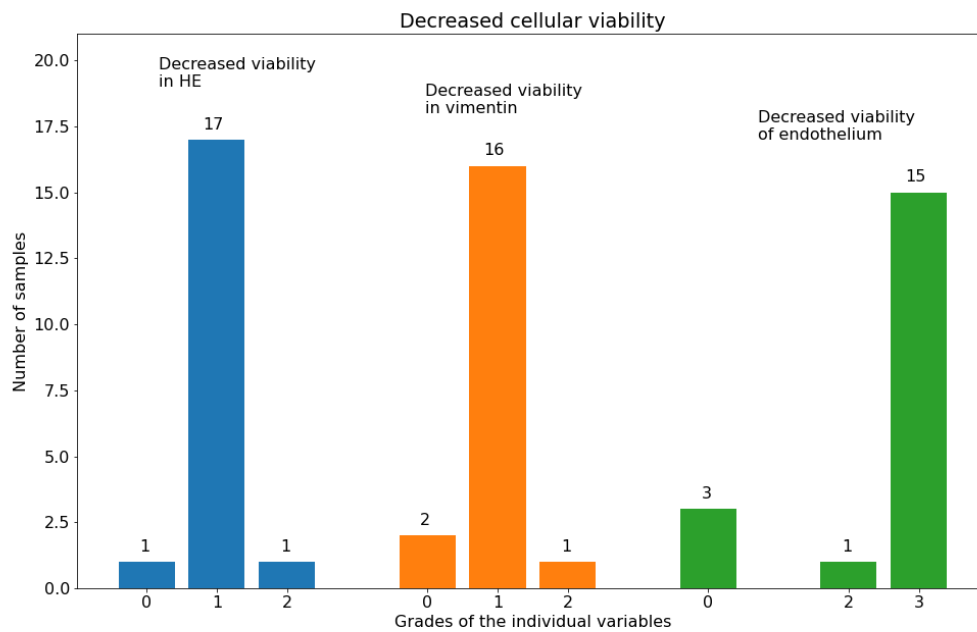
B

Zdroj: vlastní

Obr.42: Grafy zobrazující jednotlivé složky snížené buněčné viability ve vzorcích cévní stěny (A) a vzorcích cípů chlopní(B) (jsou zobrazeny pouze proměnné nenulové hodnoty). Na ose x jsou zobrazeny stupně závažnosti pro každou jednotlivou proměnnou, na ose y je uveden počet vzorků v každé kategorii. HE = hematoxylin a eosin.



A



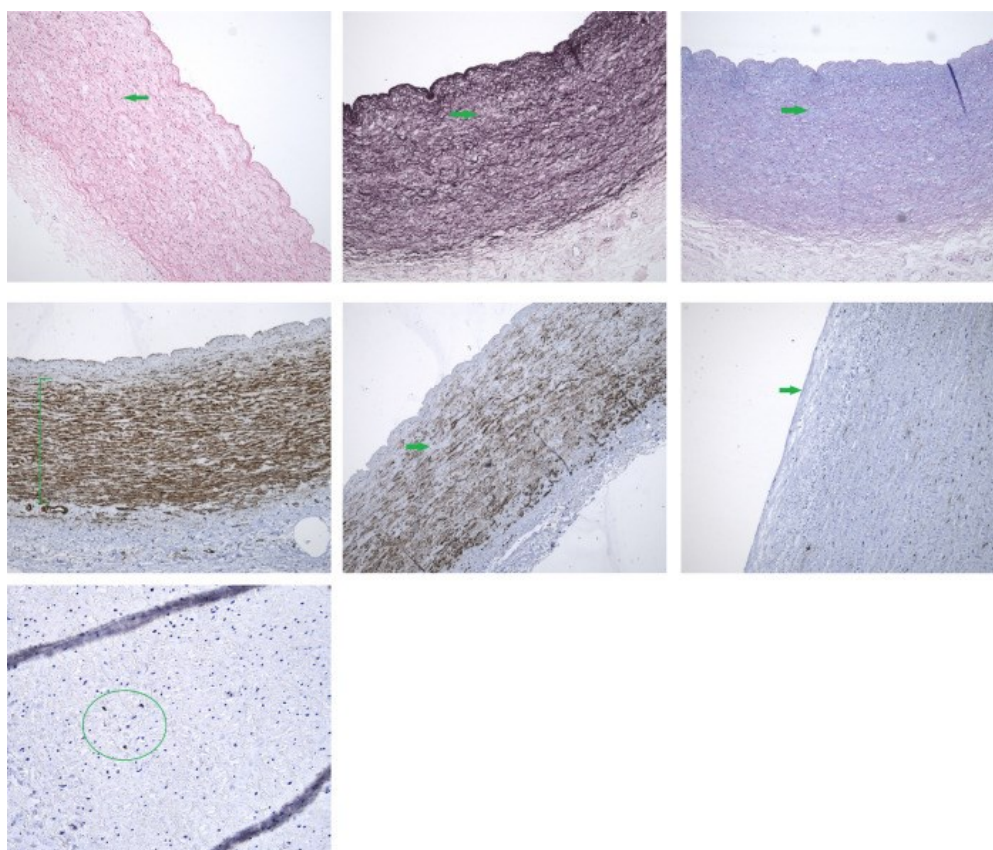
B

Zdroj: vlastní

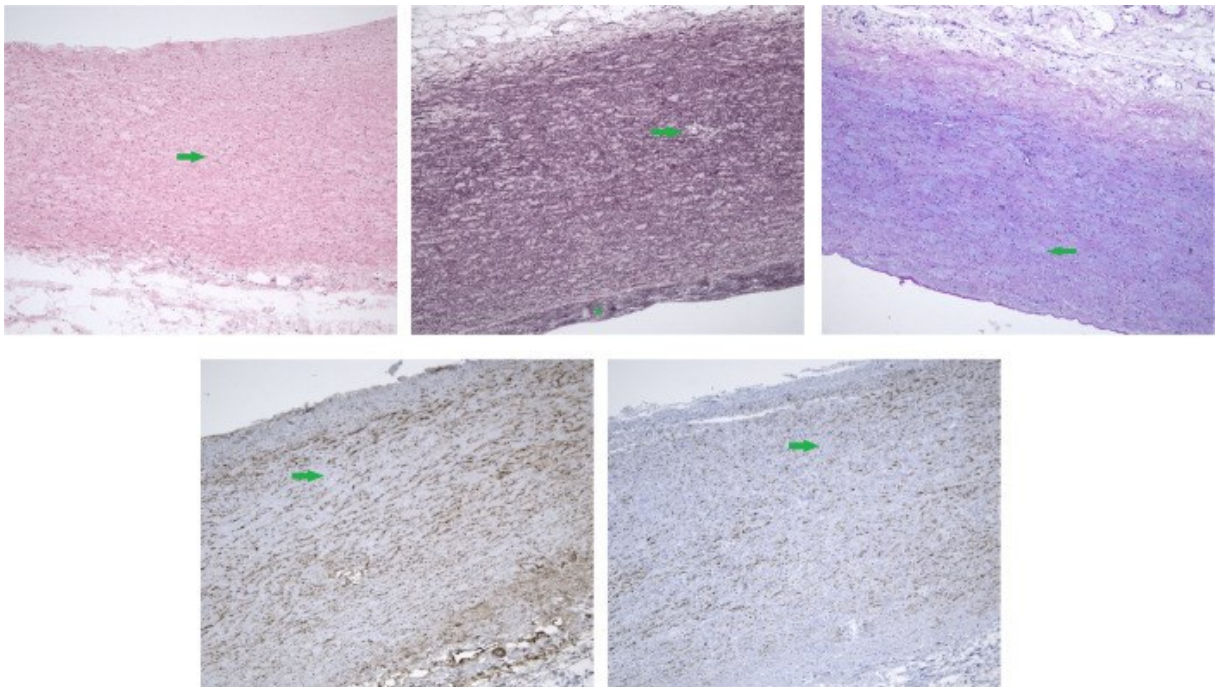
Imunogenní buňky

Při histopatologickém vyšetření byl u vzorků cévní stěny zaznamenán průměrný počet pěti S100 β + buněk (medián jedna buňka, interkvartilový rozsah 0-5 buněk), u vzorků cípů chlopní - průměrný počet 41 buněk (medián 37 buněk, interkvartilový rozsah 27-54 buněk). CD20, CD3 ani CD8+ lymfocyty, ani eosinofily nebo neutrofilové nebyly v daném souboru nalezeny. Uvedené histopatologické změny jsou zobrazeny na obr. 43, 44

Obr.43: Fotomikrografie stěny kmene plicnice. A) Mírné snížení buněčné viability ukazující svrašťená a pyknotická jádra (šipka), barvení HE, zvětšení 100 \times ; B) mírná fragmentace a ztráta elastických vláken (šipka), barvení Weigertova resorcin-fuchsinem, zvětšení 100 \times ; C) mírná fokální intralamelární akumulace mukoidního extracelulárního matrix (šipka), barvení Alcian blue/periodic acid-Schiff, zvětšení 100 \times ; D) imunohistochemické barvení anti-vimentinem ukazující dobře zachované mezenchymální buňky (čára), zvětšení 100 \times ; E) imunohistochemické barvení anti-h-kaldezmonem ukazující mírnou fokální ztrátu hladkých svalových buněk (šipka), zvětšení 100 \times ; F) imunohistochemické barvení anti-CD34 ukazující úplnou ztrátu endotelových buněk (šipka), zvětšení 200 \times ; G) imunohistochemické barvení anti-S100 β ukazující několik pozitivních antigen-prezentujících dendritických buněk (kruh), zvětšení 400 \times .



Obr.44: Fotomikrografie stěny aorty. A) Značné snížení buněčné viability ukazující sraštěné a pyknotická jádra (šipka), barvení HE, zvětšení 100×; B) mírná fragmentace elastických vláken (šipka) a mírná intimální fibróza (hvězdička), barvení Weigertovým resorcin-fuchsinem, zvětšení 100×; C) mírné intralamelární akumulace mukoidní extracelulární matrix (šipka), barvení Alcian blue/periodic acid-Schiff, zvětšení 100×; D) imunohistochemické barvení anti-vimentinem ukazující značné snížení mezenchymálních buněk (šipka), zvětšení 200×; E) imunohistochemické barvení anti- α -kaldezmonem ukazující značné snížení hladkých svalových buněk (šipka), zvětšení 200×.



Zdroj: vlastní

Statistická analýza mikroskopických nálezů

U vzorků cévní stěny byla nalezena statisticky významná korelace mezi stupněm fragmentace/ztráty elastických vláken a sníženou buněčnou viabilitou v HE ($r=0.3367$; $P=0.0053$). U vzorků cípu chlopní byla nalezena korelace mezi sníženou rozlišitelností jednotlivých vrstev a sníženou viabilitou jak v HE ($r=0.4117$; $P=0.0005$), tak i ve vimentinovém barvení ($r=0.3536$; $P=0.0467$). Ostatní korelace mezi jednotlivými páry proměnných nebyly signifikantní, stejně jako korelace mezi seskupenými proměnnými reprezentujícími celkovou strukturální degeneraci a buněčnou viabilitou.

Co se týče počtu nálezů imunitních buněk, byla zaznamenána výrazná negativní korelace mezi počtem buněk S100 β + ve vzorcích cévní stěny a stupněm fragmentace/ztráty elastických vláken ($r=-0.4016$; $P=0.0038$), sníženou buněčnou viabilitou v HE ($r=-0.5212$; $P=0.0001$) a stupni celkové strukturální degenerace ($r=-0.4063$; $P=0.0455$) a celkovou

buněčnou viabilitou jako seskupenými proměnnými ($r=-0.5811$; $P=0.0004$). Pro vzorky cípu chlopní nebyla nalezena žádná významná korelace.

Korelace histopatologických změn s klinickými proměnnými

Jelikož velké množství individuálních proměnných zahrnutých do studie představovalo riziko náhodné korelace, která by nemusela nutně implikovat přímou příčinnou souvislost, byly následně v této podanalýze použity pouze seskupené histopatologické proměnné. Byla nalezena signifikantní korelace mezi stupněm strukturální degenerace vzorků cévní stěny a věkem ($r=0.6033$; $P < 0.0000$), výškou ($r=0.4288$; $P=0.0137$), hmotností ($r=0.5139$; $P=0.0011$) a tělesnou plochou ($r=0.4965$; $P=0.0019$) dárců. Pro vzorky cípu chlopní nebyla nalezena žádná korelace.

V žádném ze vzorků nebyla prokázána významná korelace mezi stupněm strukturální degenerace a dobou studené ischemie, dobou dekontaminace a dobou kryoprezervace. Nebyla zjištěna žádná korelace mezi klinickými proměnnými a stupněm buněčné viability nebo počtem buněk S100 β +

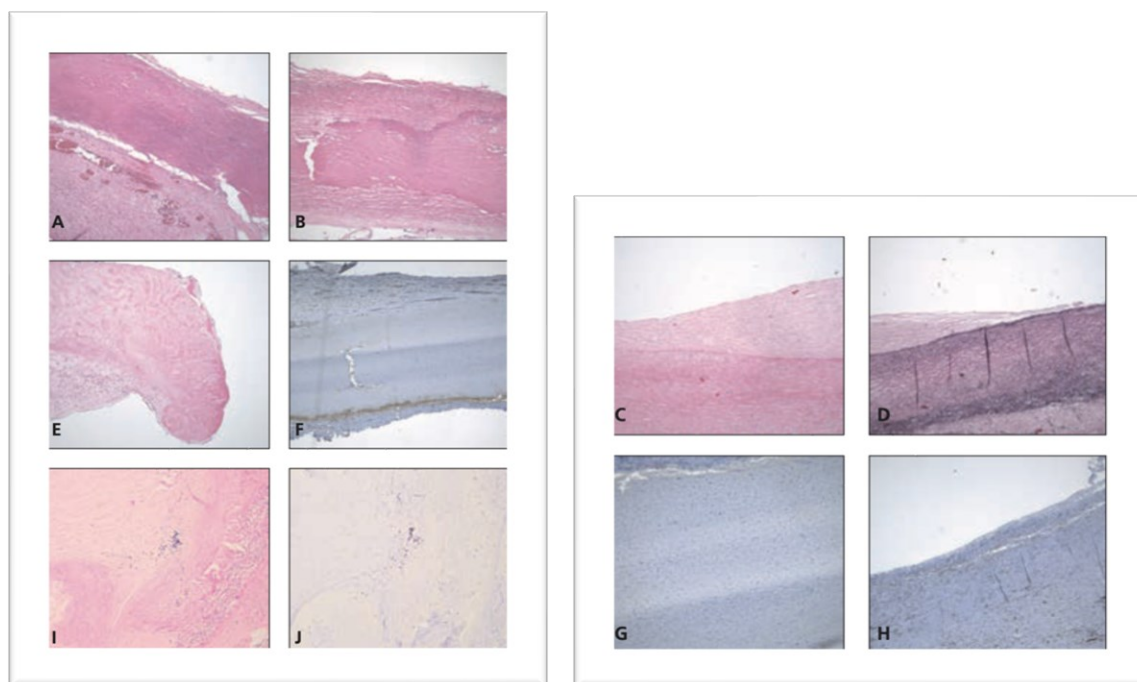
Ve vzorcích cévní stěny z aortálních allograftů byla zachycená rozsáhlejší ztráta buněčného viability ve vimentinovém ($P=0.0066$) a h-kaldezmonovém ($P < 0.0000$) barvení ve srovnání s pulmonálními allografty. Nebyla nalezena žádná souvislost mezi zkoumanými klinickými proměnnými a typem allograftu.

4.4. Výsledky mikroskopického vyšetření explantovaných konduitů

Při makroskopickém vyšetření se zdálo, že všechny explantované konduity jsou rozsáhle kalcifikovány a mají známky fibrózy. U tří případů perioperační makroskopický vzhled nasvědčoval infekční endokarditidě. Při mikroskopickém vyšetření byly všechny konduity s úplnou ztrátou původní trilaminární struktury. Proto nebylo možné přesně kvantifikovat jednotlivé histopatologické změny a provést následný grading. Ve vyšetřovaných vzorcích konduitů došlo k rozsáhlým degenerativním změnám s velkými oblastmi nekrózy, následovanými fibrózou a hyalinizací. Hyalinizované oblasti byly hypocelulární a převládal v nich kolagenový extracelulární matrix. Kromě toho byly místy přítomny rozsáhlé nodulární kalcifikace, dokonce i okrsky metaplasticky změněné kosti. V nekrotických oblastech byla četná elastická vlákna, ale podstatně fragmentovaná a rozdrobená. Ve fibrotických oblastech byla elastická složka výrazně snížena, fokálně byly nalezeny depozity glykosaminoglykanů. Chlopně byly pouze ve formě malých fibrózních a nekrotických zbytků. U všech pacientů byl pozorován fibrózní růst pannu z lumen konduitu. Imunohistochemické hodnocení antigenu vimentinu bylo negativní v cévní stěně, pozitivní buňky byly nalezeny pouze ve fibrózní tkáni pannu a fibrózních adhezích kolem konduitu. Barvení H-kaldesmonem bylo také negativní. Antigen CD34 ukázal téměř kompletní ztrátu endotelové vrstvy, zachovanou pouze v několika zbytcích. V jednom případě byl mikroskopický obraz odlišný. Byla zde převažující nekróza ovlivňující jak stěnu konduitu, tak cípy chlopně. Fibróza byla méně výrazná a kalcifikace byly malé a jemné.

Pouze u tří případů byly pozorovány fokální ložiska rejekčních infiltrátů. Zánětlivé buňky se skládaly převážně z CD8⁺ T-lymfocytů s menším počtem CD8 negativních CD3⁺ T-buněk a CD20⁺ B-buněk. Histopatologická struktura explantovaných konduitů je znázorněna na obrázku 45. Doba implantace se podstatně nelišila od ostatních pacientů. Konduity s perioperačním podezřením na infekční endokarditidu při vyšetření prokázaly rozsáhlé oblasti nekrózy s bohatou histiocytickou reakcí kolem nekrotických ložisek. Povrchy konduitů byly pokryty fibrinózním a purulentním exsudátem se shluky gram-pozitivních koků. Mikroskopický obraz byl tedy v souladu s klinickou diagnózou.

Obr.45: Mikrofotografie histopatologických změn explantovaných konduktů. (A) Stěna konduitu s rozsáhlou nekrózou s dystrofickými depozity vápníku a fragmentovanými elastickými vlákny (HE 100×). (B) Ložisko kalcifikace ve stěně konduitu (HE, 200×). (C) Nekrotická stěna konduitu s fibrózním růstem pannu ze strany lumen cévy (HE, 200×). (D) Nekrotická stěna konduitu s fragmentovanými elastickými vlákny a fibrózním růstem pannu (Weigertova rezorcinová fuchsin, 200×). (E) Acelulární zbytek chlopně s fibrózním růstem (HE, 200×). (F) Imunohistochemické hodnocení antigenu vimentinu je negativní ve nekrotické stěně konduitu a místy pozitivní u fibroblastů pannu (nahore) a fibrózních adhezí (dole) (100×). (G) Imunohistochemické hodnocení antigenu h-kaldesmonu ukazuje absenci hladkých svalových buněk ve stěně konduitu (200×). (H) Imunohistochemické hodnocení antigenu CD34 ukazuje úplnou absenci endotelových buněk (200×). (I) Ložisko rejekčního infiltrátu ve stěně konduitu (HE, 200×). (J) Zánětlivá infiltrace se skládá převážně z CD8+ lymfocytů (200×).



Zdroj: vlastní

DISKUZE

Poprvé byla technika implantace allograftů do RVOT popsána Rossem a Somervillem v roce 1966. To vedlo k neustále přibývajícimu použití allograftů v klinické praxi – allografty se staly nejužívanější konduity u skupiny pacientů s komplexními vrozenými srdečními vadami, vyžadující rekonstrukce výtokového traktu pravé komory.⁶¹ Kryoprezervace řešila problémy se skladováním a dostupností konduítů, které na začátku komplikovaly implementace allograftů do chirurgické praxe.⁶² Prodloužení doby expirace allograftu na více než 5 let by mohlo nadále zlepšit dostupnost allograftů.^{4,55} V dnešní době se allografty postupně staly metodou první volby jak u primoooperací, tak u sekundárních a následujících rekonstrukcí RVOT. Obecně výhody jejich použití zahrnují technicky snadnou implantaci, lepší hemodynamiku (zlepšení funkce pravé komory po operaci), odolnost vůči infekci a snížený počet tromboembolických příhod pooperačně. Další výhodou je to, že nevyžadují antikoagulaci a možnost jejich použití jako záplaty pro rekonstrukce stenózy distální části plicnice.

Rekonstrukce RVOT allograftem může být provedena s vynikajícím dlouhodobým přežitím pacientů, přijatelným dlouhodobým přežitím allograftů a dobrou kvalitou života pacientů. Brown et al. Ve své studii publikovali 60 % průchodnost allograftu (doba do selhání konduity s nutností jeho explantace/ katéetrové intervence) po dobu 5 let a 43 % po dobu 15 let²⁰, Niwaya et al. publikovali 82 % průchodnost allograftu po 8 letech⁶³, Stark et al. popisovali 58 % a 31 % průchodnost allograftu po 10 a 15 letech.⁶⁴ Bielefeld et al. hlásili průchodnost allograftů (definovanou jako dobu do selhání konduítů v případě časného úmrtí pacientů, úmrtí, související s konduitem, chirurgické a/nebo katéetrové intervenci na allograftu bez nutnosti jeho explantace, a explantace konduity) u skupiny 35 pacientů, kteří podstoupili explantace allograftu po 5, 10 a 12,4 letech po operaci, 89 % (95 % CL 79–100%), 76 % (95% CL 49–100%) a 76 % (95% CL 49–100%).⁶⁵

Nicméně nedávné studie ukázaly neuspokojivé střednědobé a dlouhodobé výsledky při použití allograftů u novorozenců, kojenců a mladších dětí.⁶⁶ Naše data ukazují následující výsledky: ve skupině A, která zahrnovala všechny pacienty, kteří podstoupili rekonstrukce RVOT včetně primoooperací a reintervencí - pětileté přežití (freedom from graft failure - definována jako doba do selhání konduítů s nutností následné explantace konduity, nebo perkutánní balonkové pulmonální valvuloplastiky, včetně katetrizační náhrady pulmonální chlopně, plastiky kmene plicnice s výjimkou angioplastiky levé a/nebo pravé větvi plicnice nebo úmrtí pacienta) všech konduítů bylo 90,2 %, 10leté přežití všech konduítů vylo 79,5%,

15leté přežití všech konduktů bylo 73,5%. V této skupině jsou naše data v souladu s předchozími studii. Ve skupině B (u pacientů, kteří postoupili sekundární a následující rekonstrukce RVOT) byla 5letá průchodnost konduktů u všech implantovaných konduktů 77 % (75 % u allograftů a 88 % u xenograftů), 10letá průchodnost stanovila 48 % (50 % u allograftů a 44 % xenograftů), 15letá průchodnost byla 21 % s 23 % u allograftů a 11 % u xenograftů, kde se naše data liší od dat hlášených Bielefeldem a spol. Srovnání se studii popisujícími přežití allograftu nebo xenograftu u pediatrických populací je obtížné, protože tyto konduity jsou menší a většinou jsou umístěny do neortotopické pozice.⁶³ Kalfa et al. uvádí lepší dlouhodobé výsledky u pacientů, kteří podstoupili Ross nebo Ross–Kono operaci než u pacientů s jinými vrozenými srdečními vadami.⁶⁷ To může být způsobeno tím, že allograft je implantován do ortotopické pozice, což snižuje turbulence v konduitu a zvyšuje jeho trvanlivost, další příčinou je uváděna možnost oversize konduitu. I když nebylo v naší studii srovnání přežití allograftu u pacientů z Ross a non-Ross statisticky významné ve skupině pacientů, kteří podstoupili sekundární a následující rekonstrukce RVOT – pravděpodobně kvůli malému počtu pacientů ve skupině Ross, kde je incidence reoperací vzácná – což může potvrdit lepší dlouhodobé přežití allograftu ve výše uvedené skupině. Mírně překvapivé bylo, že dlouhodobé výsledky přežití allograftů a xenograftů v RVOT se výrazně nelišily v žádné skupině pacientů. Při tomto srovnání je nutné vzít v úvahu, že ve skupině A do souboru xenograftů byli také zahrnuti pacienti, kterým byla implantována pouze biologická chlopenní protéza. V tomto případě, bioprotézy byly použity pouze jako náhrada pulmonální chlopně a implantovány do zcela normálního RVOT, zatímco allografty byly použity u komplexních vrozených srdečních vad s náhradou pulmonální chlopně a rekonstrukci RVOT, někdy i pro plastiku větve plicnice. Každopádně naše studie ukázala dobré dlouhodobé výsledky všech typu použitých konduktů.

Kumulativní mortalita v naší studii byla 9 % (53 pacientů) z 590 pacientů ve skupině A a 11 % (21 pacientů) u 197 příjemců sekundárních a následujících konduktů implantovaných do RVOT ve skupině B. Hlavními předoperačními diagnózami byly truncus arteriosus, pulmonální atrézie a stenóza, Fallotova teralgie, transpoziční komplexy, dvojjýtková pravá komora, a skupina pacientů, která podstoupila Ross/Ross-Konno operaci v důsledku aortální insuficience/stenózy. Mortalita je pravděpodobně hlavně spojena s ranou chirurgickou érou a vstupní diagnózou pacientů (TA a PA a PS). Tato data jsou v souladu s údaji publikovanými Rodefeldem a spol., kde diagnóza truncus arteriosus ($p=0,001$) a

operace provedena před rokem 1992 ($p = 0,05$) zůstávaly signifikantními negativními prediktory v multivariační analýze.⁶⁸

Mezi negativní prediktory akcelerované degenerace allograftů v RVOT podle předchozích studií patří také malá velikost allograftu, mladší věk příjemce, aortální typ allograftu a doba teplé ischemie^{65,41,69} Naše výsledky byly obdobné co se týče velikosti konduity a věku příjemce při intervenci, ve skupině A signifikantním negativním prediktorem byl také aortální typ allograftů. V našich výsledcích, v případě malé velikosti konduity bychom však měli poznamenat, že existovala silná korelace mezi velikostí konduity a věkem příjemce při intervenci. Byla také zaznamenána korelace delší prezervace s delším přežitím konduity ($p = 0,02$). Avšak doba prezervace také pozitivně koreluje s věkem příjemce při intervenci a stejné porovnání v upraveném modelu není signifikantní ($p = 0,7$). V naší studii byly silné důkazy o dalších rozdílech způsobených typem allograftu ve skupině A a mírné důkazy o dalších rozdílech způsobených typem konduity ve skupině B (aortální allograft vs. pulmonální allograft). Nicméně, ve skupině B, stejně jako v případě doby prezervace, tyto výsledky byly potenciálně falešně pozitivní a po několikanásobném testování nevedly ke statisticky významným rozdílům.

Při zkoumání počtu zákroku na RVOT jako možného negativního prediktoru akcelerované degenerace konduity, porovnání primárního s jakýmkoli následujícím konduitem neprokazuje statistický významný rozdíl ($p = 0,57$). Při porovnání sekundárních, terciárních a kvartérních implantací konduity do výtokového traktu pravé komory statistická analýza také prokázala že počet rekonstrukcí pravděpodobně není spojen s vyšším rizikem selhání konduity. Podle Bielefelda et al. je přežití allograftů při reoperaci na RVOT podobné přežití allograftů při primoooperaci - ačkoli ne statisticky významné, pojistně matematický křivky pro allografty, implantované u primoooperací a reoperací prokázaly lepší přežití konduity u skupiny allograftů, které byly implantovány jako sekundární a následující.⁶⁵ Meyns et al. také uvádí, že druhý allograft funguje stejně dobře jako první, kde Kaplan–Meierova křivka přežití allograftu pro první a druhé allografty implantované ve skupině pacientů, kteří dostali dva allografty, ukazuje, že přežití druhého konduity je o něco lepší než prvního.⁷⁰ Zřejmě v tomto případě je potřeba vzít v úvahu, že pacienti při implantaci druhého allograftů jsou starší. Výsledky jsou také v souladu s Lewisem et al., kteří neprokázali žádné důkazy o horším dlouhodobém přežití sekundárního allograftu.⁷¹

V našem souboru (skupina B) mají allografty od ženských dárců v RVOT tendenci mít nižší riziko selhání. To je nečekané vzhledem k předchozím publikacím od Kalfa et al., které ukázaly, že allografty od ženských dárců významně mění výsledky dlouhodobého přežití allograftu, implantovaných do RVOT v multivariační analýze. Podle jejich studie je doporučeno pro rekonstrukce výtokového traktu pravé komory vybrat allograft od mužského dárce staršího 30 let, pokud jsou k dispozici.⁷² Nicméně, v naší studii při dalším testování se match/mismatch pohlaví dárce/příjemce neprokázaly jako statisticky významné. Takže vliv pohlaví dárce na přežití allograftů stále není jasný a důkazy verifikující toto tvrzení by měly být potvrzeny v dalších výzkumech zaměřených na match/mismatch pohlaví dárce/příjemce ve větších souborech.

Statistická analýza zaměřená na vstupní diagnózu a typ operace (skupina Ross vs. non-Ross) jako možné negativní prediktory dlouhodobého přežití konduktů v RVOT ve skupině A je v souladu s předchozími publikacemi, kde pacienti s diagnózou truncus arteriosus a double-outlet right ventricle prokázali vyšší riziko selhání použitého konduktu, zatímco pacienti s diagnózou Fallotovy tetralogie a skupina pacientů, kteří podstoupili Ross/Ross-Konno operace měli v dlouhodobém sledování lepší přežití konduktů RVOT.^{68,20} Ve skupině B analýzy zaměřené na další rizikové faktory (vstupní diagnóza, typ operace (skupina vs. non-Ross), doba od odběru do prezervace, pohlaví příjemce a ABO matching) neprokázaly statistické signifikantní výsledky ($p = 0,87; 0,30; 0,84; 0,70; 0,98$ respektive).

Allografty jsou obecně omezeně dostupné v menších velikostech (pod 16 mm). Takže dostupnost allograftů je problémem pro novorozence a kojence. Proto někteří chirurgové navrhuji redukce velikostí dospělých allograftů prostřednictvím odstranění jednoho cípu semilunární chlopně (bikuspidalizace). Dostupné literární údaje prokázaly, že daný způsob funguje dobře in vitro i u pacientů.⁷³ V našem souboru sekundárních a následujících allograftů jsme měli pouze 4 biskuspidalizované allografty. Všechny byly kryoprezervované pulmonální allografty se vstupní diagnózou pacienta truncus arteriosus. Nejčasnější explantace allograftu byla provedena po 9 měsících ode dne implantace, selhání allograftů u zbývajících konduktů bylo zaznamenáno v 46, 52 a 57 měsících po implantaci. Horší dlouhodobé přežití může být pravděpodobně spojeno s mladším věkem příjemce při implantaci a menší velikostí konduktu, což podle výsledků našeho výzkumu představují významné rizikové faktory selhání konduktu a také s primární diagnózou truncus arteriosus,

kteřá se ukázala jako jeden ze signifikantních rizikových faktorů selhání konduity ve skupině A, a také podle Rodefelda et al.⁶⁸

Existuje nedostatek údajů týkajících se toho, zda některé z klinických proměnných, uvedených výše korespondují s konkrétními mikroskopickými nálezy. Eventuální prediktivní hodnota histopatologického vyšetření kryoprezervovaných allograftů před jejich implantací zůstává nejasná.

V naší studii jsme hodnotili přítomnost strukturální degenerace, sníženou buněčnou viabilitu, přítomnost imunitních buněk a korelace daných změn s klinickými proměnnými. Příznaky strukturální degenerace byly obecně mírné a mohly být přítomny již v době odběru. Nicméně nelze vyloučit možný vliv kryoprezervace, doby ischemie nebo manipulací s konduitem protože světelná mikroskopie nemusí být dostatečně citlivá na detekci jemnějších změn.⁷⁴ Ve studii jsme neprokázali žádnou korelaci mezi stupněm mikroskopické degenerace a dobou studené ischemie, dobou od konce dekontaminace do zahájení kryoprezervace nebo dobou kryoprezervace. Tyto výsledky jsou v souladu s předchozími studiemi. Fiala a kol. nezaznamenali žádné změny v množství kolagenu a elastinu, mezní napětí pro všechny vzorky kryoprezervovaných allograftů po 10 letech kryoprezervace se také nelišilo.⁷⁵ Kubiková a spol. nenašli žádnou korelaci mezi mikroskopickou strukturou aortálních a pulmonálních allograftů a jejich mechanickými vlastnostmi.⁷⁶ Některé studie zkoumající ultrastrukturu kryoprezervovaných allograftů však ukazují podstatné strukturální poruchy kolagenu na ultrastrukturní úrovni ve srovnání s čerstvými allografty.⁷⁷ Kryoprezervované allografty mohou také projevovat změny v extracelulární matrix na funkční úrovni. Na základě studie od Kana a kol. se zdá, že metabolismus kolagenu je změněn s relativně zachovanou syntézou kolagenu, ale se sníženou celkovou syntézou proteinů a zvýšenou aktivitou kolagenolýzy.⁷⁸

Na druhé straně je negativní účinek kryoprezervace na buněčnou složku allograftů zřejmý. Všechny vzorky cévní stěny v naší studii a všechny vzorky cípu chlopní kromě jednoho prokázaly příznaky snížené buněčné viability, obvykle ve vyšší míře. Je zřejmé, že viabilitu buněk nelze posuzovat pouze na základě barvení jader HE a imunohistochemické detekci buněčných antigenů, jako je vimentin nebo h-kaldesmon. Tyto metody nejsou definitivním důkazem, že je buňka mrtvá. Nicméně můžeme určitě potvrdit významnou regresi buněčné složky. Přesto nebyla pozorována korelace stupně devitalizace s dobou prezervace. Dočasná ischemie, poškození v důsledku manipulace nebo poškození během reperfúze po implantaci

může také vést k variabilní ztrátě viabilních buněk.^{74,79} Endotel se zdá být nejvulnerabilnější strukturou. Předchozí studie prokázaly vysokou citlivost endotelu k ischemii. Když jsou uchovávány v antibiotickém roztoku, začínají endotelové buňky ztrácet viabilitu po 24 hodinách, čas se může lišit v závislosti na délce teplé a studené ischemie nebo komorbiditách dárce.⁶⁹ V případě kryoprezervovaných allograftů z našeho centra dochází k téměř úplné ztrátě endotelové vrstvy a narušení bazální membrány již během odběru.^{80,81} Současná studie podporuje tyto tvrzení. Dále jsme prokázali významnou korelaci mezi stupněm strukturální degenerace a sníženou buněčnou viabilitou jak u vzorků cévní stěny, tak u vzorků cípů chlopní. Interpretace těchto výsledků je náročná, protože chybí další studie podporující naše zjištění. Proto můžeme pouze spekulovat, že narušená extracelulární matrix může zvýšit uvolnění a následnou ztrátu buněk během prezervace allograftů.

Stupeň buněčné viability allograftu se odráží v míře zachované imunogenicity.⁶⁹ Dřívější studie kladly důraz na zachování buněčné viability, protože viabilní fibroblasty mohou zajistit delší přežití allograftů.⁸² Nicméně zachovaná buněčná viabilita je doprovázena viabilními imunitními buňkami, které mohou hrát roli v rozvoji časného nebo pozdního selhání allograftu. Je potřeba zdůraznit, že míra, kterou imunitní reakce přispívá k selhání allograftu stále zůstává nejasná, i když skutečnost, že mechanismy vlivu imunitní odpovědi na allograft existují je nezpochybnitelná.⁸³ Tato imunitní reakce může být zejména u malých dětí. Velké množství pacientů, kteří podstoupili implantace kryoprezervovaných allograftů do RVOT, následně vyvinuli sérovou pozitivitu pro ALA (anti-human leukocyte antibodies) proti tkáni dárce.^{69,74} Ve studii jsme se zaměřili na hodnocení viabilních S100 β + APC s základními počty lymfocytů. Zřejmě je počítání APC daleko od globálního přístupu k objasnění složitých mechanismů imunogenicity allograftu.⁷⁴ Naše výsledky prokázaly významnou negativní korelaci mezi úrovní snížené buněčné viability a počty S100 β + buněk. Na základě našich výsledků mohou být allografty s lepší buněčnou viabilitou náchylnější k silnější imunitní reakci. Někteří autoři dokonce doporučují dočasnou perioperační imunosupresi.⁶³ Nicméně se nám nepodařilo prokázat žádnou asociaci mezi počty buněk S100 β + a dobou studené ischemie, dobou od konce dekontaminace do zahájení kryoprezervace nebo dobou kryoprezervace. Kromě APC se zdá, že viabilní endotelové buňky hrají roli v imunogenicitě allograftu. Podle předchozích studií^{84,85} viabilní endotelové buňky projevují vysokou úroveň antigenicity. Na druhé straně snížená buněčná viabilita může negativně ovlivnit dlouhodobé přežití allograftu, pokud je kombinována s vyšším stupněm strukturální degenerace. S ohledem na skutečnost, že obnova extracelulární matrix

vyžaduje viabilní intersticiální buňky⁷⁴, použití výrazně degenerovaného allograftu v kombinaci s jeho decelularizací může mít negativní dopad na jeho dlouhodobé přežití. Narušená extracelulární matrix může být základem kalcifikací.⁷⁴ Aortální allografty prokázaly významně vyšší stupeň devitalizace ve srovnání s pulmonálními allografty, což by mohlo svědčit o jejich případně nižší imunogenicitě. Nicméně několik studií^{41,63} udává že aortální typ allograftu je jedním z negativních prediktorů dlouhodobého přežití konduktů. Vysvětlení by mohlo spočívat v odlišné patogenezi časného a pozdního selhání allograftu. Baskett RJ et al.⁶⁹ navrhli, že časté výskyty časně dysfunkce allograftu mezi prvními šesti až 12 měsíci po operaci v pediatrické populaci jsou pravděpodobně imunitně zprostředkovány. Selhání allograftů, na druhé straně, může být důsledkem neimunitního degenerativního procesu, pravděpodobně způsobeného vyšším vnitřním množstvím elastinu a vápníku v aortálních allograftech, což je činí náchylnějšími k následné kalcifikaci.⁸⁶ V každém případě možnou větší náchylnost pulmonálních allograftů k výše zmíněnému imunitně zprostředkovanému časnému selhání nelze plně potvrdit, protože jsme nenašli žádný statisticky významný rozdíl v počtu zachovaných imunitních buněk S100β+ ve srovnání s aortálními allografty.

Neustálá snaha o snížení antigenicity vedla k použití decelularizovaných allograftů. Použití decelularizovaných allograftů pro rekonstrukci RVOT u dětí bylo dle dostupných literárních dat spojeno s nízkou incidencí strukturální degenerace allograftů a selhání konduktů. Mechanismus decelularizace spočívá v odstranění všech viabilních buněk z extracelulární matrix, zatímco strukturální integrita allograftu je zachována. Původní tkáň je následně nahrazena migrací buněk specifických pro příjemce. Metody decelularizace jsou různé a byly aplikovány jak na čerstvé, tak na kryoprezervované allografty. Velmi slibné výsledky jiných autorů vedly mnoho chirurgů a kardiologů ke zvážení decelularizace allograftů jako způsobu snížení jejich imunogenicity a tím zlepšení jejich dlouhodobého přežití, zejména u dětí.⁸⁷ Vzhledem k výsledkům předchozích studií a výsledkům analýzy našeho souboru bychom mohli spekulovat, že děti, které jsou náchylné k silnější imunitní reakci, by mohly mít prospěch z decelularizovaných allograftů od mladších dárců s dobře zachovanou mikroskopickou strukturou. Na druhé straně decelularizace nemusela být vhodnou technikou pro allografty od starších dárců s pokročilejší strukturální degenerací. Jak bylo zmíněno výše, takové allografty v kombinaci s decelularizací mohou představovat zvýšené riziko urychlené degenerace. Nicméně tato hypotéza musí být potvrzena dalšími prospektivními

studiemi ve větších souborech s dlouhodobým sledováním příjemců, i když publikovaná data prokázala příznivé výsledky decelularizovaných allograftů v prvním desetiletí po operaci.⁶¹

Limitace studie

Limitací studie je její retrospektivní design vystavený všem omezením spojeným s tímto typem výzkumu. Studie byla limitována absencí dat, kdy kompletní údaje o konduitech nebyly k dispozici z důvodu jejich staršího původu (v 73 případech ve skupině A a v 7 případech ve skupině B nebyly k dispozici údaje o typu allograftů; 5 intervencí s neznámým typem konduitu ve skupině B)

Naše studie byla zaměřena na selhání chlopně/konduitů, nezahrnuli jsme dysfunkci v různých stupních, které nevedly k explantaci konduitu, perkutánní balonkové pulmonální valvuloplastice (včetně katetrizační náhrady pulmonální chlopně), plastice kmene plicnice, transplantaci srdce nebo úmrtí pacienta.

Při interpretaci výsledků neupravených modelů (kde zahrnujeme asociace z předchozí práce – věk příjemce při intervenci, velikost konduitu a jeho typ) bychom měli poznamenat, že existuje podstatná korelace mezi mnoha prediktory, a tak asociace jakéhokoli jednotlivého prediktoru výsledkem nemůže být bezpečně interpretována jako prediktivní mimo vzorkovací rámec studie. Toto omezení je však poněkud zmírněno v upraveném modelu, ale existuje mnoho dalších korelací, které nejsou ovlivněny úpravami.

Prospektivní část studie má také několik omezení. Počet vzorků cípů chlopní zahrnutých do této studie byl omezený, a většina statisticky významných výsledků byla proto spojena se vzorky cévní stěny. Protože byly kryoprezervované allografty následně použity k implantaci, fragmenty chlopní byly vyšetřovány pouze v případě redukce velikostí chlopně. Kromě toho byly histopatologické příznaky strukturální degenerace často velmi subtilní. Kvůli jejich jemnosti jsme také nemohli s jistotou tvrdit, zda byly skutečně způsobeny kryoprezervací, dočasnou ischemií nebo manipulací. Navíc uvedený mezinárodní konsensus pro posouzení degenerativních změn byl primárně stanoven pro aorty, zatímco mikroskopická struktura plicnice je trochu odlišná. Nicméně rozdíl je kvantitativní a ne kvalitativní, a proto se oficiální kritéria mohou aplikovat i na pulmonální allografty. Kromě toho byly všechny změny posouzeny zkušeným kardiopatologem a pevně věříme v reprodukovatelnost a objektivitu tohoto hodnocení pulmonálních kryoprezervovaných allograftů.

ZÁVĚR

Retrospektivní analýza představená v této disertační práci splnila vytyčený cíl – výsledky poskytují informace o faktorech ovlivňujících dlouhodobé přežití konduktů, implantovaných do výtokového traktu pravé komory. Studie je součástí dlouhodobých výzkumných projektů Centra pro Vrozené srdeční vady Dětského kardiocentra a Kliniky Kardiovaskulární chirurgie 2.LF UK a FN Motol ve spolupráci s Oddělením transplantací a tkáňové banky FN Motol.

Výsledky naší práce nepotvrdily její hypotézu – analýza prokázala, že dlouhodobé přežití konduktů ve výtokovém traktu pravé komory bylo nepříznivě ovlivněno nejen velikostí použitých konduktů, ale také mladším věkem příjemce, mladším věkem dárce, použitím aortálních allograftů, vstupní diagnózou a typem operace. U sekundárních a následujících intervencí negativním prediktorem přežití konduktu bylo také pohlaví dárce – v tomto případě výsledky naší studie se výrazně liší od výsledků předchozích publikací.

Naše studie také ukázala, že dlouhodobé přežití mezi allografty a xenografty v RVOT při vynikajícím přežití pacientů, nevykazuje statisticky významné rozdíly jak pro primoooperace, tak pro sekundární a následná intervence, což znamená, že oba typy konduktů lze v klinické praxi bezpečně používat pro rekonstrukce RVOT.

Závěrem práce lze také konstatovat, že mikroskopické strukturální změny lze detekovat téměř ve všech kryoprezervovaných allograftech. Změny ovlivňují jak cévní stěnu, tak cípy chlopně. Obvykle šlo o mírné změny, které u stěny cévy korelovaly s věkem, výškou, hmotností a povrchem těla dárců. Selhání štěpu je nevyhnutelné, s účastí jak imunitních, tak neimunitních mechanismů. Avšak mikroskopický vzhled dlouhodobých explantátů je často nespecifický a nálezy známek rejekce allograftů jsou vzácné. Vyšetření krátkodobých a střednědobých explantátů může být přínosnější.

Věříme, že závěry výzkumu budou úspěšně aplikovány do klinické praxe a budou užitečné pro řadu kardiochirurgických pracovišť při volbě vhodného typu konduktu implantovaného do výtokového traktu pravé komory.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Brown JW, Ruzmetov M, Vijay P, Rodefeld MD, Turrentine MW. Right ventricular outflow tract reconstruction with a polytetrafluoroethylene monocusp valve: a twelve-year experience. *J Thorac Cardiovasc Surg.* May 2007;133(5):1336-43. doi:10.1016/j.jtcvs.2006.12.045
2. Cc pMJD. Mechanické srdeční chlopně versus bioprotézy. *Interní Med.*; 2006.
3. Warrell DA, Cox TM, Firth JD, Dwight J. *Oxford textbook of medicine : cardiovascular disorders : selected and updated chapters from the Oxford textbook of medicine, fifth edition.* 5th ed. Oxford University Press; 2016:xvii, 668 p. : ill. (b&w, and col.).
4. Fiala R. Mechanické a morfologické vlastnosti lidských chlopněných štěpů v závislosti na délce kryoprezervace. *Mechanické a morfologické vlastnosti lidských chlopněných štěpů v závislosti na délce kryoprezervace /.* 2019;
5. van de Woestijne PC, Mokhles MM, de Jong PL, Witsenburg M, Takkenberg JJ, Bogers AJ. Right ventricular outflow tract reconstruction with an allograft conduit in patients after tetralogy of Fallot correction: long-term follow-up. *Ann Thorac Surg.* Jul 2011;92(1):161-6. doi:10.1016/j.athoracsur.2011.02.036
6. Čihák R. Anatomie. *Anatomie /.* 2016;
7. Muresian H. The clinical anatomy of the right ventricle. *Clin Anat.* Apr 2016;29(3):380-98. doi:10.1002/ca.22484
8. Jan D, Pavel Ž. *Chirurgie srdečních chlopní: (...nejen pro kardiochirurgy) ve 200 vyobrazeních.* Grada Publishing a.s.; 2009.
9. Bashey RI, Torii S, Angrist A. Age-related collagen and elastin content of human heart valves. *J Gerontol.* Apr 1967;22(2):203-8. doi:10.1093/geronj/22.2.203
10. Mohammadi H, Mequanint K. Prosthetic aortic heart valves: modeling and design. *Med Eng Phys.* Mar 2011;33(2):131-47. doi:10.1016/j.medengphy.2010.09.017
11. Anderson RD, Kumar S, Parameswaran R, et al. Differentiating Right- and Left-Sided Outflow Tract Ventricular Arrhythmias: Classical ECG Signatures and Prediction Algorithms. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* Jun 2019;12(6):e007392. doi:10.1161/CIRCEP.119.007392
12. Zipes DP, Jalife J, Stevenson WG. *Cardiac electrophysiology : from cell to bedside.* Seventh edition. ed. Elsevier; 2018:xxxii, 1389 pages.

13. Hai JJ, Lachman N, Syed FF, Desimone CV, Asirvatham SJ. The anatomic basis for ventricular arrhythmia in the normal heart: what the student of anatomy needs to know. *Clin Anat*. Sep 2014;27(6):885-93. doi:10.1002/ca.22362
14. Hamlet H. Anatomical and Physiological Patterns of Right Ventricle. *Journal of Cardiology & Current Research* 2015.
15. Rubáčková Popelová J. *Vrozené srdeční vady v dospělosti*. 2., zcela přepracované a doplněné vydání ed. Grada Publishing; 2018.
16. Hučín B, Žáček P. *Dětská kardiochirurgie 2., doplněné vydání*. 1. elektronické vydání ed. Grada; 2012.
17. Popelová J. *Vrozené srdeční vady v dospělosti*. Vyd. 1. ed. Avicenum. Grada; 2003:333 p.
18. Gerosa G, McKay R, Ross DN. Replacement of the aortic valve or root with a pulmonary autograft in children. *Ann Thorac Surg*. Mar 1991;51(3):424-9. doi:10.1016/0003-4975(91)90858-n
19. Vojáček J, El-Hamamsy I, Ondrášek J, et al. Current status of the Ross procedure in aortic valve surgery. journal article. *Cor et Vasa*. 2017;59(1):e71-e76.
20. Brown JW, Ruzmetov M, Rodefeld MD, Vijay P, Turrentine MW. Right ventricular outflow tract reconstruction with an allograft conduit in non-ross patients: risk factors for allograft dysfunction and failure. *Ann Thorac Surg*. Aug 2005;80(2):655-63; discussion 663-4. doi:10.1016/j.athoracsur.2005.02.053
21. Selamet Tierney ES, Gersony WM, Altmann K, et al. Pulmonary position cryopreserved homografts: durability in pediatric Ross and non-Ross patients. *J Thorac Cardiovasc Surg*. Aug 2005;130(2):282-6. doi:10.1016/j.jtcvs.2005.04.003
22. StatPearls. 2023.
23. Rodriguez-Gabella T, Voisine P, Puri R, Pibarot P, Rodés-Cabau J. Aortic Bioprosthetic Valve Durability: Incidence, Mechanisms, Predictors, and Management of Surgical and Transcatheter Valve Degeneration. *J Am Coll Cardiol*. Aug 22 2017;70(8):1013-1028. doi:10.1016/j.jacc.2017.07.715
24. Capodanno D, Petronio AS, Prendergast B, et al. Standardized definitions of structural deterioration and valve failure in assessing long-term durability of transcatheter and surgical aortic bioprosthetic valves: a consensus statement from the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI) endorsed by the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic

- Surgery (EACTS). *Eur J Cardiothorac Surg.* Sep 01 2017;52(3):408-417. doi:10.1093/ejcts/ezx244
25. Dvir D, Bourguignon T, Otto CM, et al. Standardized Definition of Structural Valve Degeneration for Surgical and Transcatheter Bioprosthetic Aortic Valves. *Circulation.* Jan 23 2018;137(4):388-399. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030729
26. Kostyunin AE, Yuzhalin AE, Rezvova MA, Ovcharenko EA, Glushkova TV, Kutikhin AG. Degeneration of Bioprosthetic Heart Valves: Update 2020. *J Am Heart Assoc.* Oct 20 2020;9(19):e018506. doi:10.1161/JAHA.120.018506
27. Baumgartner H, De Backer J, Babu-Narayan SV, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of adult congenital heart disease. *Eur Heart J.* Feb 11 2021;42(6):563-645. doi:10.1093/eurheartj/ehaa554
28. Marek D, Gebauer AR, Mates M, Rubackova Popelova J, Antonova P, Zatocil T. (2020 ESC Guidelines for the management of adult congenital heart disease. Summary of the document prepared by the Czech Society of Cardiology). *Cor et Vasa.* / 2021;63(2):163-195.
29. Popelová J, Benesova M, Brtko M, et al. Doporučené postupy pro diagnostiku a léčbu chlopenních srdečních vad v dospělosti. *Cor et vasa.* 01/01 2007;49:6-45.
30. Starr A, Edwards ML. Mitral replacement: clinical experience with a ball-valve prosthesis. *Ann Surg.* Oct 1961;154(4):726-40. doi:10.1097/00000658-196110000-00017
31. Hlubocký J, Mokráček A, Nováček V, et al. Mechanical properties of mitral allografts are not reasonably influenced by cryopreservation in sheep model. *Physiol Res.* 2011;60(3):475-82. doi:10.33549/physiolres.932074
32. Doporučené postupy pro diagnostiku a léčbu chlopenních srdečních vad v dospělosti. journal article. *Cor et Vasa.* 2007;49(7):K195-234.
33. van Geldorp MW, Eric Jamieson WR, Kappetein AP, et al. Patient outcome after aortic valve replacement with a mechanical or biological prosthesis: weighing lifetime anticoagulant-related event risk against reoperation risk. *J Thorac Cardiovasc Surg.* Apr 2009;137(4):881-6, 886e1-5. doi:10.1016/j.jtcvs.2008.09.028
34. Dehaki MG, Al-Dairy A, Rezaei Y, Omrani G, Jalali AH, Javadikasgari H. Mid-term outcomes of mechanical pulmonary valve replacement: a single-institutional experience of 396 patients. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* Mar 2019;67(3):289-296. doi:10.1007/s11748-018-1012-0

35. Stulak JM, Dearani JA, Burkhart HM, et al. The increasing use of mechanical pulmonary valve replacement over a 40-year period. *Ann Thorac Surg.* Dec 2010;90(6):2009-14; discussion 2014-5. doi:10.1016/j.athoracsur.2010.07.023
36. Yang CC, Wei HJ, Hsieh SR, et al. Excellent mid-term durability of the On-X mechanical aortic valve in the pulmonary position with a low international normalized ratio. *J Heart Valve Dis.* May 2014;23(3):333-7.
37. Holmes AA, Co S, Human DG, Leblanc JG, Campbell AI. The Contegra conduit: Late outcomes in right ventricular outflow tract reconstruction. *Ann Pediatr Cardiol.* Jan 2012;5(1):27-33. doi:10.4103/0974-2069.93706
38. Ruffer A, Wittmann J, Potapov S, et al. Mid-term experience with the Hancock porcine-valved Dacron conduit for right ventricular outflow tract reconstruction. *Eur J Cardiothorac Surg.* Dec 2012;42(6):988-95. doi:10.1093/ejcts/ezs103
39. Burkhart HM, Phillips SD. Commentary: Pulmonary valve bioprosthesis: Longevity and reintervention. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2021;161(2):364-365. doi:10.1016/j.jtcvs.2020.08.003
40. Kwak JG, Bang JH, Cho S, et al. Long-term durability of bioprosthetic valves in pulmonary position: Pericardial versus porcine valves. *J Thorac Cardiovasc Surg.* Aug 2020;160(2):476-484. doi:10.1016/j.jtcvs.2019.11.134
41. Tweddell JS, Pelech AN, Frommelt PC, et al. Factors affecting longevity of homograft valves used in right ventricular outflow tract reconstruction for congenital heart disease. *Circulation.* Nov 07 2000;102(19 Suppl 3):III130-5. doi:10.1161/01.cir.102.suppl_3.iii-130
42. Clarke DR, Campbell DN, Hayward AR, Bishop DA. Degeneration of aortic valve allografts in young recipients. *J Thorac Cardiovasc Surg.* May 1993;105(5):934-41; discussion 941-2.
43. da Costa FDA, Etnel JRG, Torres R, Balbi Filho EM, Calixto A, Mulinari LA. Decellularized Allografts for Right Ventricular Outflow Tract Reconstruction in Children. *World J Pediatr Congenit Heart Surg.* 09 2017;8(5):605-612. doi:10.1177/2150135117723916
44. Turrentine MW, McCarthy RP, Vijay P, McConnell KW, Brown JW. PTFE monocusp valve reconstruction of the right ventricular outflow tract. *Ann Thorac Surg.* Mar 2002;73(3):871-9; discussion 879-80. doi:10.1016/s0003-4975(01)03441-5
45. Quintessenza JA, Jacobs JP, Morell VO, Giroud JM, Boucek RJ. Initial experience with a bicuspid polytetrafluoroethylene pulmonary valve in 41 children and adults: a new

- option for right ventricular outflow tract reconstruction. *Ann Thorac Surg.* Mar 2005;79(3):924-31. doi:10.1016/j.athoracsur.2004.05.045
46. Carrel T. Past, present, and future options for right ventricular outflow tract reconstruction. *Front Surg.* 2023;10:1185324. doi:10.3389/fsurg.2023.1185324
47. Ando M, Takahashi Y. Trileaflet Polytetrafluoroethylene Valved Conduit for Pulmonary Reconstruction. *Operative Techniques in Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2011;16(3):168-178. doi:10.1053/j.optechstcvs.2011.02.002
48. Tocharoenchok T, Siriprompatr S, Subtaweesin T, Tantiwongkosri K, Nitiyarom E, Sriyoschati S. Early Outcome of Simplified Standardized Trileaflet Polytetrafluoroethylene Valved Conduit Placement. *World J Pediatr Congenit Heart Surg.* Nov 2022;13(6):723-730. doi:10.1177/21501351221117707
49. Hongu H, Yamagishi M, Maeda Y, et al. Expanded Polytetrafluoroethylene Conduits With Bulging Sinuses and a Fan-Shaped Valve in Right Ventricular Outflow Tract Reconstruction. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2022;34(3):972-980. doi:10.1053/j.semtcvs.2021.02.026
50. Mylonas KS, Tasoudis PT, Pavlopoulos D, Kanakis M, Stavridis GT, Avgerinos DV. Aortic valve neocuspidization using the Ozaki technique: A meta-analysis of reconstructed patient-level data. *Am Heart J.* Jan 2023;255:1-11. doi:10.1016/j.ahj.2022.09.003
51. Baird CW, Chávez M, Friedman KG. Pulmonary Valve Reconstruction Using the Ozaki Leaflet Reconstructive Techniques. *Ann Thorac Surg.* Jan 2021;111(1):e19-e21. doi:10.1016/j.athoracsur.2020.04.088
52. Giugno L, Faccini A, Carminati M. Percutaneous Pulmonary Valve Implantation. *Korean Circ J.* Apr 2020;50(4):302-316. doi:10.4070/kcj.2019.0291
53. Esmaeili A, Khalil M, Behnke-Hall K, et al. Percutaneous pulmonary valve implantation (PPVI) in non-obstructive right ventricular outflow tract: limitations and mid-term outcomes. *Transl Pediatr.* Apr 2019;8(2):107-113. doi:10.21037/tp.2019.04.02
54. **Mates Martin KP, Kopřiva Karel.** Katetrizační náhrada pulmonální chlopně u dospělých pacientů. 2018
55. Burkert J, Kochová P, Tonar Z, et al. The time has come to extend the expiration limit of cryopreserved allograft heart valves. *Cell Tissue Bank.* Jun 2021;22(2):161-184. doi:10.1007/s10561-020-09843-2
56. Therneau TM, Grambsch PM. *Modeling Survival Data: Extending the Cox Model.* 1st 2000. ed. Statistics for biology and health. Springer New York : Imprint: Springer; 2000.

57. Hochberg Y, Benjamini Y. More powerful procedures for multiple significance testing. *Stat Med*. Jul 1990;9(7):811-8. doi:10.1002/sim.4780090710
58. Kassambara A, Kosinski M, Biecek P, Fabian S. survminer: Drawing Survival Curves using ‘ggplot2’. *R package version 03*. 2017;1
59. Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med*. Oct 22 1987;317(17):1098. doi:10.1056/NEJM198710223171717
60. Halushka MK, Angelini A, Bartoloni G, et al. Consensus statement on surgical pathology of the aorta from the Society for Cardiovascular Pathology and the Association For European Cardiovascular Pathology: II. Noninflammatory degenerative diseases - nomenclature and diagnostic criteria. *Cardiovasc Pathol*. 2016;25(3):247-257. doi:10.1016/j.carpath.2016.03.002
61. Cleveland DC, Williams WG, Razzouk AJ, et al. Failure of cryopreserved homograft valved conduits in the pulmonary circulation. *Circulation*. Nov 1992;86(5 Suppl):III150-3.
62. Albert JD, Bishop DA, Fullerton DA, Campbell DN, Clarke DR. Conduit reconstruction of the right ventricular outflow tract. Lessons learned in a twelve-year experience. *J Thorac Cardiovasc Surg*. Aug 1993;106(2):228-35; discussion 235-6.
63. Niwaya K, Knott-Craig CJ, Lane MM, Chandrasekaran K, Overholt ED, Elkins RC. Cryopreserved homograft valves in the pulmonary position: risk analysis for intermediate-term failure. *J Thorac Cardiovasc Surg*. Jan 1999;117(1):141-6; discussion 46-7. doi:10.1016/s0022-5223(99)70479-4
64. Stark J, Bull C, Stajevic M, Jothi M, Elliott M, de Leval M. Fate of subpulmonary homograft conduits: determinants of late homograft failure. *J Thorac Cardiovasc Surg*. Mar 1998;115(3):506-14; discussion 514-6. doi:10.1016/S0022-5223(98)70312-5
65. Bielefeld MR, Bishop DA, Campbell DN, Mitchell MB, Grover FL, Clarke DR. Reoperative homograft right ventricular outflow tract reconstruction. *Ann Thorac Surg*. Feb 2001;71(2):482-7; discussion 487-8. doi:10.1016/s0003-4975(00)02521-2
66. Vitanova K, Cleuziou J, Hörer J, et al. Which type of conduit to choose for right ventricular outflow tract reconstruction in patients below 1 year of age?†. *Eur J Cardiothorac Surg*. Dec 2014;46(6):961-6; discussion 966. doi:10.1093/ejcts/ezu080
67. Kalfa DM, Loundou A, Nouaille de Gorce Y, et al. Pulmonary position cryopreserved homograft in non-Ross patients: how to improve the results? *Eur J Cardiothorac Surg*. Dec 2012;42(6):981-7. doi:10.1093/ejcts/ezs248

68. Rodefeld MD, Ruzmetov M, Turrentine MW, Brown JW. Reoperative right ventricular outflow tract conduit reconstruction: risk analyses at follow up. *J Heart Valve Dis.* Jan 2008;17(1):119-26; discussion 126.
69. Baskett RJ, Ross DB, Nanton MA, Murphy DA. Factors in the early failure of cryopreserved homograft pulmonary valves in children: preserved immunogenicity? *J Thorac Cardiovasc Surg.* Nov 1996;112(5):1170-8; discussion 1178-9. doi:10.1016/S0022-5223(96)70130-7
70. Meyns B, Jashari R, Gewillig M, et al. Factors influencing the survival of cryopreserved homografts. The second homograft performs as well as the first. *Eur J Cardiothorac Surg.* Aug 2005;28(2):211-6; discussion 216. doi:10.1016/j.ejcts.2005.03.041
71. Lewis MJ, Malm T, Hallbergson A, et al. Long-Term Follow-Up of Right Ventricle to Pulmonary Artery Biologic Valved Conduits Used in Pediatric Congenital Heart Surgery. *Pediatr Cardiol.* Jan 2023;44(1):102-115. doi:10.1007/s00246-022-02956-3
72. Kalfa D, Macé L, Metras D, Kreitmann B. How to choose the best available homograft to reconstruct the right ventricular outflow tract. *J Thorac Cardiovasc Surg.* Oct 2011;142(4):950-3. doi:10.1016/j.jtcvs.2011.03.005
73. Koirala B, Merklinger SL, Van Arsdell GS, et al. Extending the usable size range of homografts in the pulmonary circulation: outcome of bicuspid homografts. *Ann Thorac Surg.* Mar 2002;73(3):866-9; discussion 869-70. doi:10.1016/s0003-4975(01)03559-7
74. Lisy M, Kalender G, Schenke-Layland K, Brockbank KG, Biermann A, Stock UA. Allograft Heart Valves: Current Aspects and Future Applications. *Biopreserv Biobank.* Apr 2017;15(2):148-157. doi:10.1089/bio.2016.0070
75. Fiala R, Kochová P, Kubíková T, et al. Mechanical and structural properties of human aortic and pulmonary allografts do not deteriorate in the first 10 years of cryopreservation and storage in nitrogen. *Cell Tissue Bank.* Jun 2019;20(2):221-241. doi:10.1007/s10561-019-09762-x
76. Kubíková T, Kochová P, Fiala R, et al. Histological Composition and Mechanical Properties of Cryopreserved Samples of Aortic and Pulmonary Valves. *Solid State Phenomena.* 12/01 2016;258:341-344. doi:10.4028/www.scientific.net/SSP.258.341
77. Schenke-Layland K, Madershahian N, Riemann I, et al. Impact of Cryopreservation on Extracellular Matrix Structures of Heart Valve Leaflets. *The Annals of thoracic surgery.* 04/01 2006;81:918-26. doi:10.1016/j.athoracsur.2005.09.016

78. Kano M, Masuda Y, Tominaga T, et al. Collagen synthesis and collagenase activity of cryopreserved heart valves. *J Thorac Cardiovasc Surg.* Oct 2001;122(4):706-11. doi:10.1067/mtc.2001.115421
79. Kitagawa T, Masuda Y, Tominaga T, Kano M. Cellular biology of cryopreserved allograft valves. *J Med Invest.* Aug 2001;48(3-4):123-32.
80. Burkert J, Krs O, Vojáček J, et al. Cryopreserved semilunar heart valve allografts: leaflet surface damage in scanning electron microscopy. *Zentralbl Chir.* Aug 2008;133(4):367-73. doi:10.1055/s-2008-1076872
81. Krs O, Slízová D, Burkert J, Spatenka J, Hottmar P. Impact of processing on surface structure of human cardiac valve allografts. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2004;47(2):97-9.
82. Heacox AE, McNally RT, Brockbank KGM. Factors affecting the viability of cryopreserved allograft heart valves. *Steinkopff;* 1988:37-42.
83. Koolbergen DR, Hazekamp MG, de Heer E, et al. The pathology of fresh and cryopreserved homograft heart valves: an analysis of forty explanted homograft valves. *J Thorac Cardiovasc Surg.* Oct 2002;124(4):689-97. doi:10.1067/mtc.2002.124514
84. Lupinetti FM, Christy JP, King DM, el Khatib H, Thompson SA. Immunogenicity, antigenicity, and endothelial viability of aortic valves preserved at 4 degrees C in a nutrient medium. *J Card Surg.* Dec 1991;6(4):454-61. doi:10.1111/j.1540-8191.1991.tb00345.x
85. Yankah AC, Wottge HU, Muller-Hermelink HK, et al. Transplantation of aortic and pulmonary allografts, enhanced viability of endothelial cells by cryopreservation, importance of histocompatibility. *J Card Surg.* Mar 1987;2(1 Suppl):209-20. doi:10.1111/jocs.1987.2.1s.209
86. Livi U, Abdulla AK, Parker R, Olsen EJ, Ross DN. Viability and morphology of aortic and pulmonary homografts. A comparative study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* May 1987;93(5):755-60.
87. da Costa FD, Takkenberg JJ, Fornazari D, et al. Long-term results of the Ross operation: an 18-year single institutional experience. *Eur J Cardiothorac Surg.* Sep 2014;46(3):415-22; discussion 422. doi:10.1093/ejcts/ezu013