

---

**lek. Milena Michalska**

**Wpływ wewnątrznaczyniowego leczenia tętniaków aorty  
na zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe i ich korelacja  
z wybranymi parametrami stanu zapalnego i układu  
krzepnięcia**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Tadeusz Grochowicki

Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej, Endokrynologicznej  
i Transplantacyjnej

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023

---

Słowa kluczowe: tętniak aorty piersiowo-brzuszej, zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe, markery powstawania sieci neutrofilowych

Key words: thoracoabdominal aortic aneurysm, neutrophil extracellular traps, markers of extracellular neutrophil traps development

Badania zostały sfinansowane przez Warszawski Uniwersytet Medyczny w ramach projektu TIME 2 WUM (numer: POWR.03.05.00-00-Z040/18-00).

---

Serdeczne podziękowania kieruję w stronę Promotora,  
Pana prof. dr hab. n. med. Tadeusza Grochowickiego  
za cierpliwość i wyrozumiałość, cenne wskazówki  
oraz nadzór merytoryczny nad niniejszą pracą.

Specjalne podziękowania kieruję w stronę  
Pana prof. dr hab. n. med. Tomasza Jakimowicza  
za pomoc w przeprowadzeniu badań, za przekazaną wiedzę,  
podzielenie się swoimi spostrzeżeniami oraz wsparcie naukowe.

Dziękuję moim Rodzicom- Marioli Sebastianowi,  
za motywację, dobre rady  
i wspieranie mnie na mojej ścieżce zawodowej.

Dziękuję moim Dziadkom- Barbarze i Edwardowi,  
za ogromny entuzjizm i zaangażowanie  
oraz że zawsze mogę na Was liczyć.

---

# Spis treści

<b>1</b>	<b>WSTĘP .....</b>	<b>15</b>
1.1	WPROWADZENIE .....	15
1.2	ANATOMIA I FIZJOLOGIA AORTY .....	16
1.3	BUDOWA ŚCIANY AORTY .....	17
1.4	TĘTNIAK AORTY.....	18
1.5	ETIOLOGIA TĘTNIAKA AORTY.....	20
1.6	SKRZEPLINA.....	21
1.7	STAN ZAPALNY.....	21
1.8	MIAŻDŻYCA .....	22
1.9	NADCIŚNIENIE TĘTNICZE .....	23
1.10	NEUTROFILE.....	23
1.11	ZESPÓŁ POIMPLANTACYJNY (PIS) .....	26
<b>2</b>	<b>ZAŁOŻENIA I CELE PRACY .....</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>METODY .....</b>	<b>29</b>
3.1	PROJEKT BADANIA .....	29
3.2	OPERACJA WEWNĄTRZNA CZYNIOWA TĘTNIAKA AORTY PIERSIOWO-BRZUSZNEJ.....	30
3.3	FARMAKOTERAPIA OKOŁOOPERACYJNA .....	30
3.4	POBIERANIE PRÓBEK KRWI .....	31
3.5	UZYSKANIE OSOCZA DO BADAŃ CF, dsDNA I CF, ssDNA .....	31
3.6	UZYSKANIE SUROWICY DO BADANIA Cit-H3 .....	32
3.7	IŁOŚCIOWA OCENA SWOBODNIE KRĄŻĄCEGO DWUNICOWEGO DNA (CF, dsDNA) I JEDNONICOWEGO DNA (CF, ssDNA) .....	32
3.8	OZNACZANIE STĘŻENIA Cit-H3.....	32
3.9	WSKAŹNIK OKREŚLAJĄCY DYNAMIKĘ WYDZIELANIA NETs Z NEUTROFILI .....	33
3.10	ANALIZA WYBRANYCH PARAMETRÓW UKŁADU BIAŁOKRWINKOWEGO, STANU ZAPALNEGO I UKŁADU KRZEPNIĘCIA.....	33
3.11	WSKAŹNIK NEUTROFILOWO LIMFOCYTARNY (NLR).....	33
3.12	KRYTERIA ZESPOŁU POIMPLANTACYJNEGO.....	33
3.13	OBSERWACJA CHORYCH PO OPERACJI WEWNĄTRZNA CZYNIOWEJ TĘTNIAKA AORTY PIERSIOWO-BRZUSZNEJ .....	34
3.14	GROMADZENIE DANYCH ORAZ ANALIZA STATYSTYCZNA .....	34
<b>4</b>	<b>MATERIAŁ.....</b>	<b>35</b>
<b>5</b>	<b>WYNIKI .....</b>	<b>39</b>
5.1	PARAMETRY NETs .....	39
5.1.1	Stężenie dsDNA .....	39
5.1.2	Stężenie ssDNA.....	40
5.1.3	Stężenie Cit-H3 .....	41
5.1.4	Relacja stężeń ssDNA i dsDNA.....	42
	Stosunek ssDNA/dsDNA .....	42
	Korelacje ssDNA i dsDNA.....	44
5.1.5	Wskaźniki określające dynamikę wydzielania NETs z neutrofilami .....	45
	Wskaźnik dsDNA/neu .....	45
5.1.6	Wskaźnik ssDNA/neu .....	46
5.1.7	Wskaźnik Cit-H3/neu.....	47
5.2	WYNIKI BADAŃ LABORATORYJNYCH .....	49

---

5.2.1	Parametry układu białokrwinkowego .....	53
5.2.1.1	Stężenie białych krwinek (WBC) .....	53
5.2.1.2	Stężenie i odsetek neutrofilów (NEU) .....	54
5.2.1.3	Stężenie i odsetek limfocytów (LYM) .....	56
5.2.1.4	Wskaźnik neutrofilowo-limfocytowy (NLR) .....	58
5.2.1.5	Stężenie i odsetek monocytów (MON).....	59
5.2.1.6	Eozynofile (EOS).....	61
5.2.1.7	Stężenie i odsetek bazofilów (BASO).....	63
5.2.2	Parametry układu krzepnięcia .....	65
5.2.2.1	Stężenie płytek krwi (PLT).....	65
5.2.2.2	Parametry płytek krwi (MPV, P- LCR) .....	66
5.2.2.3	Wartości płytkokrytu (PCT).....	67
5.2.2.4	Wartość szerokości dystrybucji płytek krwi (PDW) .....	68
5.2.2.5	Stężenie D-dimeru .....	69
5.2.2.6	Wartość czasu protrombinowego, wskaźnika protrombinowego .....	70
5.2.2.7	Wartość międzynarodowego współczynnika znormalizowanego (INR) .....	72
5.2.2.8	Stężenie fibrynogenu .....	73
5.2.2.9	Wartość czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT), APTT RATIO .....	74
5.2.3	Parametry stanu zapalnego .....	76
5.2.3.1	Stężenie białka C-reaktywnego (CRP).....	76
5.2.3.2	Stężenie prokalcytoniny .....	77
5.3	TABELE PODSUMOWUJĄCE .....	78
5.4	ZESPÓŁ POIMPLANTACYJNY .....	81
5.5	OBSERWACJA CHORYCH .....	82
5.5.1	Ocena predykcyjna wybranych parametrów .....	83
<b>6</b>	<b>DYSKUSJA.....</b>	<b>85</b>
6.1	OGRANICZENIA BADANIA.....	94
<b>7</b>	<b>WNIOSKI .....</b>	<b>95</b>
<b>8</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>96</b>
<b>9</b>	<b>SPIS TABEL.....</b>	<b>114</b>
<b>10</b>	<b>SPIS RYCIN.....</b>	<b>115</b>
<b>11</b>	<b>SPIS RYSUNKÓW.....</b>	<b>115</b>

---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

AAA- tętniak aorty brzusznej  
APTT- czas częściowej tromboplastyny po aktywacji  
BASO- bazofile  
cfDNA- pozakomórkowe DNA  
Cit-H3- cytrulinowane histony H3  
CRP- białko reaktywne C  
DAPT- podwójna terapia przeciwplatekowa  
dsDNA- podwójna nić DNA  
ECM- macierz pozakomórkowa  
EOS- eozynofile  
EVAR- wewnątrznaczyniowa naprawa tętniaka aorty  
ILT- skrzeplina wewnątrznaczyniowa  
INR- międzynarodowy współczynnik znormalizowany  
LYM- limfocyty  
MMP- metaloproteinaza  
MON- monocyty  
NETs- zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe  
NEU- neutrofile  
NLR- stosunek neutrofilów do limfocytów  
P-LCR- wskaźnik dużych płytek  
PAD4- deiminaza peptydyloargininowa 4  
PCT- płytkokryt  
PDW- szerokość dystrybucji płytek krwi  
PIS- zespół poimplantacyjny  
PLT- płytki krwi  
PT- czas protrombinowy  
ROS- reaktywne formy tlenu  
SMC- komórki mięśni gładkich  
ssDNA- pojedyncza nić DNA  
TAA- tętniak aorty piersiowej  
TAAA- tętniak aorty piersiowo-brzusznej  
TIMPs- tkankowe inhibitory metaloproteinaz

---

## STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

### Wstęp

Zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe (NETs) oraz proces ich tworzenia, czyli netozy (NETosis), stanowi istotny element w patogenezie rozwoju tętniaka aorty. Jednakże, mimo znaczenia tych procesów, dotychczas nie zbadano roli netozy u chorych z tętniakiem aorty piersiowo-brzusznym oraz nie określono dynamiki tego procesu w czasie okołoperacyjnym po leczeniu wewnątrznacyniowym. Okres okołoperacyjny po interwencji wewnątrznacyniowej z użyciem stentgraftu, charakteryzuje się szeregiem zmian w układzie krzepnięcia i układzie białokrwinkowym i w parametrach zapalnych, co ma związek między innymi z powstawaniem skrzepliny między stentem a tętniakiem. Implantacja stentgraftu może prowadzić do aktywacji procesów zapalnych, co może zwiększać ryzyko wystąpienia powikłań pooperacyjnych. Jednym z czynników wpływających na te proces jest aktywacja neutrofilów i uwolnienie zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych. Wobec tego, istotne znaczenie ma ocena netozy, układu białokrwinkowego, stanu zapalnego i układu krzepnięcia w okresie okołoperacyjnym oraz ich potencjalnego związku z ryzykiem powikłań po operacji.

### Założenia i cele

W niniejszej pracy przeprowadzono badania dotyczące markerów netozy (NETs) oraz wybranych parametrów układu białokrwinkowego, stanu zapalnego i układu krzepnięcia u chorych z tętniakiem aorty piersiowo-brzuszej, przed i po implantacji stentgraftu typu t-Branch. Celem pracy było określenie aktywności formowania NETs u pacjentów przed i po wewnątrznacyniowym leczeniu tętniaków aorty piersiowo-brzuszej oraz ich związku z wybranymi parametrami procesu zapalnego, układu krzepnięcia i układu białokrwinkowego. Zbadano rolę ssDNA jako markera NETs. Wszystkie parametry przeanalizowano w aspekcie oceny ryzyka zgonu i ponownej hospitalizacji chorych z tętniakiem aorty piersiowo-brzusznym poddanych operacji wewnątrznacyniowej.

---

## Material i Metody

Przeprowadzono prospektywne, jednośrodkowe obserwacyjne badanie, do którego włączono 20 chorych ze wskazaniami do leczenia tętniaka aorty piersiowo-brzuszej za pomocą stentu typu t-Branch w okresie od kwietnia 2021 do sierpnia 2021. Do badania włączono 85% mężczyzn i 15% kobiet, średni wiek pacjentów wynosił 70,65 lat. Najczęściej zgłaszanymi chorobami współistniejącymi były nadciśnienie i inne choroby układu sercowo-naczyniowego. Wszyscy chorzy przeszli skuteczną operację wewnątrznacyniową przy użyciu stentu typu t-Branch z poczwórnym szkieletem nacyniowym. Wskazaniem do wszczepienia stentgraftu była maksymalna średnica aorty  $\geq 55$  mm lub szybki wzrost średnicy tętniaka ( $\geq 10$  mm w ciągu 12 miesięcy). Zbadano parametry NETozy, układu białokrwinkowego, stanu zapalnego, układu krzepnięcia w okresie przedoperacyjnym (w ciągu 24 godzin przed operacją) oraz pooperacyjnym (w III i V dobie pooperacyjnej). Z krwi wyizolowano wolno krążące DNA (cfDNA) przy użyciu zestawu do izolacji DNA MagMAX™ Cell-Free. Następnie oznaczono ilościowo dwuniciowy DNA (dsDNA) i jednoniciowy DNA (ssDNA) przy użyciu zestawu Qubit dsDNA HS Assay Kit i zestawu Qubit ssDNA Assay Kit. Oznaczono stężenie Cit-H3 za pomocą enzymatycznego testu immunologicznego metodą ELISA (Cayman). Poddano analizie w zautomatyzowanych analizatorach hematologicznych parametry układu białokrwinkowego (w tym neutrofile, limfocyty, monocyty, bazofile i eozynofile), stanu zapalnego (CRP i prokalcytonina), układu krzepnięcia (w tym stężenie płytek i parametry płytkowe, czas protrombinowy, INR, fibrynogen i D-dimery). Rok po operacji przeprowadzono kontrolę, aby ocenić stan zdrowia badanych chorych. Analizę statystyczną przeprowadzono metodami nieparametrycznymi przy użyciu programu Statistica. Za pomocą analizy regresji hazardu Coxa zidentyfikowano niezależne czynniki wpływające na wystąpienie punktu końcowego, czyli zgonu i ponownej hospitalizacji. Istotność statystyczną zdefiniowano przy  $p < 0,05$ .



---

## Wyniki

Po operacji wewnątrznaczyniowej tętniaka aorty piersiowo-brzuszej zaobserwowano znamienny wzrost parametrów NETs. Stwierdzono znamienny wzrost wszystkich trzech markerów NETs w III dobie pooperacyjnej, w porównaniu z okresem sprzed operacji. Dla dwuniciowego DNA (dsDNA), dla jednoniciowego DNA (ssDNA) oraz cytrulinowanych histonów H3 (Cit-H3), wzrost ten wynosił odpowiednio  $1347,93\text{ng/ml} \pm 1551,65$  do  $5289,75\text{ng/ml} \pm 2815,52$  ( $p < 0,05$ );  $6551,00\text{ng/ml} \pm 7987,49$  do  $26151,75\text{ng/ml} + 14182,07$  ( $p < 0,05$ );  $16,20\text{ng/ml} + 9,92$  do  $66,57\text{ng/ml} + 54,10$  ( $p < 0,05$ ). Poziom histonów przed operacją i w V dobie pooperacyjnej nie różnił się znamiennie i wynosił odpowiednio  $16,20\text{ng/ml} + 9,92$  i  $26,97\text{ng/ml} \pm 17,48$  (ns). Natomiast stężenia dsDNA i ssDNA w V dobie pooperacyjnej były znamiennie wyższe niż przed operacją i wynosiły odpowiednio:  $1347,93\text{ng/ml} \pm 1551,6$  i  $5340,50\text{ng/ml} \pm 3767,26$  ( $p < 0,05$ ); oraz  $6551,00\text{ng/ml} + 7987,49$  i  $27426,75\text{ng/ml} \pm 18367,58$  ( $p < 0,05$ ). Na podstawie wyników korelacji rang Spearmana, można stwierdzić, że wystąpiła silna korelacja między ssDNA i dsDNA. W okresie przedoperacyjnym wynosił  $r = 0,975555$  ( $p < 0,05$ ), w trzeciej dobie pooperacyjnej  $r = 0,908271$  ( $p < 0,05$ ), a w piątej dobie  $r = 0,863158$  ( $p < 0,05$ ). Nie zaobserwowano korelacji między parametrami netozy a parametrami stanu zapalnego, układu krzepnięcia i układu białokrwinkowego.

W okresie okołoperacyjnym zaobserwowano znaczące zmiany we frakcji układu białokrwinkowego. Stwierdzono znamienny wzrost liczby neutrofilii z  $4,31 \times 10^3 / \mu\text{l} \pm 1,63$  przed operacją na  $7,84 \times 10^3 / \mu\text{l} \pm 3,06$  w III dobie ( $p < 0,05$ ) oraz  $6,91 \times 10^3 / \mu\text{l} \pm 6,91$  w V dobie ( $p < 0,05$ ) pooperacyjnej. W okresie przed i pooperacyjnym stwierdzono za pomocą wskaźników określających dynamikę wydzielania NETs z neutrofilii, że wzrost netozy nie był związany ze wzrostem liczby neutrofilii. Zaobserwowano spadek liczby limfocytów z  $2,48 \times 10^3 / \mu\text{l} \pm 1,42$  przed operacją do  $1,64 \times 10^3 / \mu\text{l} \pm 1,64$  w III dobie ( $p < 0,05$ ) i  $1,98 \times 10^3 / \mu\text{l} \pm 1,42$  w V dobie pooperacyjnej ( $p < 0,05$ ). Obliczony wskaźnik neutrofilii do limfocytów przed operacją, w III i V dobie pooperacyjnej wynosił odpowiednio  $2,15 \pm 1,49$ ;  $6,89 \pm 4,92$ ;  $4,92 \pm 5,14$  (I vs III doba  $p < 0,05$ , I vs V doba  $p < 0,05$ ).

Zaobserwowano znamienny wzrost parametrów zapalnych prokalcytoniny i CRP. Wartości prokalcytoniny dla okresu sprzed operacji, w III dobie i V dobie operacyjnej

---

wynosiły odpowiednio:  $0,05\text{ng/ml} \pm 0,03$ ;  $1,03\text{ng/ml} \pm 3,51$ ;  $0,45\text{ng/ml} \pm 1,08$  (I vs III doba  $p < 0,05$ ; I vs V doba  $p < 0,05$ ). Wartości CRP dla okresu sprzed operacji, w III dobie i V dobie operacyjnej wynosiły odpowiednio:  $21,86\text{ mg/l} \pm 31,19$ ;  $143,58\text{mg/l} \pm 54,35$ ;  $141,28\text{mg/l} \pm 52,07$  (I vs III doba  $p < 0,05$ ; I vs V doba  $p < 0,05$ ).

Czas obserwacji chorych wynosił  $314,68\text{ dni} \pm 30,24$  po operacji. Dwóch chorych zmarło w wyniku powikłań pooperacyjnych. Pierwszy pacjent zmarł w wyniku udaru krwotocznego, drugi pacjent zmarł z powodu nagłego zatrzymania krążenia. W ciągu jednego roku obserwacji doszło również do hospitalizacji u pięciu pacjentów.

Wykazano że czynnikami ryzyka wystąpienia punktu końcowego są: stężenie dsDNA i ssDNA w III dobie (odpowiednio  $\text{HR}=1,000259$  [PU 1,000029-1,000488]  $p < 0,05$ ;  $\text{HR}=1,000060$  [PU 1,00009-1,000111]  $p < 0,05$ ); stężenie neutrofilii w III i V dobie pooperacyjnej (odpowiednio  $\text{HR}=1,327054$  [PU 1,030406-1,709107]  $p < 0,05$ ;  $\text{HR}=1,259972$  [PU 1,005217-1,579291]  $p < 0,05$ ); wartość NLR w III i V dobie pooperacyjnej (odpowiednio  $\text{HR}=1,225678$  [PU 1,043126-1,440176]  $p < 0,05$ ;  $\text{HR}=1,178757$  [PU 1,031318-1,347274]  $p < 0,05$ ).

## **Wnioski**

Po leczeniu wewnątrznaczyniowym tętniaków aorty piersiowo-brzusznym dochodzi do aktywacji neutrofilii oraz uwolnienia NETs. Wzrost powstawania NET w okresie pooperacyjnym był niezależny od wzrostu liczby neutrofilii. Stwierdzono że jednoniciowe DNA (ssDNA) jest jednym z markerów NETs i koreluje z dsDNA. Analiza hazardu Coxa wykazała, że czynnikami ryzyka wystąpienia punktu końcowego są stężenie dsDNA i ssDNA, neutrofile i NLR.

---

## **STRESZCZENIE W JEZYKU ANGIELSKIM**

Influence of endovascular treatment of aortic aneurysms on neutrophil extracellular traps and their correlation with selected parameters of inflammation and the coagulation system.

### **Introduction**

Neutrophil extracellular networks (NETs) and the process of their creation, i.e., netosis (NETosis), is an important element in the pathogenesis of aortic aneurysm development. However, despite the importance of these processes, the role of netosis in patients with thoracoabdominal aortic aneurysm has not been studied so far, and the dynamics of this process in the perioperative period after endovascular treatment have not been determined. The perioperative period after endovascular intervention with the use of a stent graft is characterized by several changes in the coagulation system and the white blood cell system as well as in inflammatory parameters, which is related to the formation of a thrombus between the stent and the aneurysm. Stent graft implantation may lead to the activation of inflammatory processes, which may increase the risk of postoperative complications. One of the factors influencing this process is the activation of neutrophils and the release of extracellular neutrophil networks. Therefore, it is important to assess netosis, white blood cell count, inflammation, and coagulation in the perioperative period and their potential relationship with the risk of postoperative complications.

### **Principles and goals**

In this paper, studies were conducted on netosis markers (NETs) and selected parameters of the white blood cell system, inflammation, and coagulation in patients with thoracoabdominal aortic aneurysm, before and after t-Branch stent graft implantation. The study aimed to determine the activity of NETs formation in patients before and after endovascular treatment of thoracoabdominal aortic aneurysms and their relationship with selected parameters of the inflammatory process, the coagulation system, and the white blood cell system. The role of ssDNA as a marker of NETs was investigated. All parameters were analyzed in terms of risk assessment of death and rehospitalization in patients with thoracoabdominal aortic aneurysms undergoing endovascular surgery.

---

## Material and methods

A prospective, single-center, observational study was conducted in which 20 patients with indications for the treatment of thoracoabdominal aortic aneurysms with a t-Branch stent which were enrolled in the period from April 2021 to August 2021. The study included 85% of men and 15% of women, the mean age of patients was 70.65 years. The most reported comorbidities were hypertension and other cardiovascular diseases. All patients underwent successful endovascular surgery using a t-Branch stent with a quadruple vascular skeleton. The indication for stent graft implantation was a maximum aortic diameter  $\geq 55$  mm or a rapid increase in aneurysm diameter ( $\geq 10$  mm in 12 months). The parameters of NETosis, protein blood cell system, inflammation, and coagulation system were examined in the preoperative period (within 24 hours before surgery) and the postoperative period (on the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> postoperative day). Free-circulating DNA (cfDNA) was isolated from the blood using the MagMAX™ Cell-Free DNA Extraction Kit. Double-stranded DNA (dsDNA) and single-stranded DNA (ssDNA) were then quantified using the Qubit dsDNA HS Assay Kit and the Qubit ssDNA Assay Kit. Cit-H3 concentration was determined by enzyme immunoassay ELISA (Cayman). The parameters of the white blood cell system (including neutrophils, lymphocytes, monocytes, basophils, and eosinophils), inflammation (CRP and procalcitonin), coagulation system (including platelet concentration and platelet parameters, prothrombin time, INR, fibrinogen and D- dimers). One year after the operation, a check-up was carried out to assess the health status of the examined patients. Statistical analysis was performed using non-parametric methods using the Statistica program. Cox hazard regression analysis identified independent factors contributing to the endpoint of death and readmission. Statistical significance was defined at  $p < 0,05$ .

## Results

After endovascular surgery of a thoracoabdominal aortic aneurysm, a significant increase in NETs parameters was observed. A significant increase in all three NETs markers was found on the 3<sup>rd</sup> postoperative day, compared to the period before the operation. For double-stranded DNA (dsDNA), single-stranded DNA (ssDNA), and citrullinated H3 histones (Cit-H3), the increase was  $1347,93\text{ng/ml} \pm 1551,65$  to  $5289,75\text{ng/ml} \pm 2815,52$ , respectively ( $p < 0,05$ );  $6551,00\text{ng/mL} \pm 7987,49$  to  $26151,75\text{ng/mL} \pm 14182,07$  ( $p < 0,05$ );

---

16,20ng/ml  $\pm$  9,92 to 66,57ng/ml  $\pm$  54,10 ( $p < 0,05$ ). Histone levels before and on the 5<sup>th</sup> postoperative day did not differ significantly and amounted to 16,20ng/ml  $\pm$  9,92 and 26,97ng/ml  $\pm$  17,48 (ns), respectively. Concentrations of dsDNA and ssDNA on the 5<sup>th</sup> postoperative day were significantly higher than before surgery and amounted to 1347,93ng/ml  $\pm$  1551,6 and 5340,50ng/ml  $\pm$  3767,26, respectively ( $p < 0,05$ ); and 6551,00ng/mL  $\pm$  7987,49 and 27426,75ng/mL  $\pm$  18367,58 ( $p < 0,05$ ). Based on the Spearman rank correlation results, it can be concluded that there was a strong correlation between ssDNA and dsDNA. In the preoperative period, it was  $r = 0,975555$  ( $p < 0,05$ ), on the 3<sup>rd</sup> postoperative day  $r = 0,908271$  ( $p < 0,05$ ), and on the 5<sup>th</sup> day  $r = 0,863158$  ( $p < 0,05$ ). No correlation was observed between the parameters of netosis and the parameters of inflammation, the coagulation system, and the white blood cell system.

Significant changes in the fraction of the white blood cell system were observed in the perioperative period. There was a significant increase in the number of neutrophils from  $4,31 \times 10^3/\mu\text{l} \pm 1,63$  before surgery to  $7,84 \times 10^3/\mu\text{l} \pm 3,06$  on the 3<sup>rd</sup> day ( $p < 0,05$ ) and  $6,91 \times 10^3/\mu\text{l} \pm 6,91$  on 5<sup>th</sup> day ( $p < 0,05$ ) postoperatively. In the pre- and post-operative period, it was found using indicators determining the dynamics of NETs secretion from neutrophils that the increase in netosis was not associated with an increase in the number of neutrophils. A decrease in the number of lymphocytes was observed from  $2,48 \times 10^3/\mu\text{l} \pm 1,42$  before surgery to  $1,64 \times 10^3/\mu\text{l} \pm 1,64$  on the 3<sup>rd</sup> day ( $p < 0,05$ ) and  $1,98 \times 10^3/\mu\text{l} \pm 1,42$  on the 5<sup>th</sup> postoperative day ( $p < 0,05$ ). The calculated ratio of neutrophils to lymphocytes before surgery on the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> postoperative day was  $2,15 \pm 1,49$ , respectively;  $6,89 \pm 4,92$ ;  $4,92 \pm 5,14$  (Day I vs. III  $p < 0,05$ ; Day I vs. V  $p < 0,05$ ).

A significant increase in procalcitonin and CRP inflammatory parameters was observed. The values of procalcitonin for the period before the operation, on the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> day of operation were, respectively:  $0,05\text{ng/ml} \pm 0,03$ ;  $1,03\text{ng/mL} \pm 3,51$ ;  $0,45\text{ng/ml} \pm 1,08$  (I vs. III-day  $p < 0,05$ ; I vs V day  $p < 0,05$ ). The CRP values for the period before the operation, on the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> day of operation, were, respectively:  $21,86 \text{ mg/l} \pm 31,19$ ;  $143,58 \text{ mg/l} \pm 54,35$ ;  $141,28\text{mg/l} \pm 52,07$  (day I vs III  $p < 0,05$ ; day I vs V  $p < 0,05$ ).

The observation time of the patients was  $314,68 \text{ days} \pm 30,24$  after surgery. Two patients died as a result of postoperative complications. The first patient died as a result of

---

hemorrhagic stroke; the second patient died due to sudden cardiac arrest. Five patients were also hospitalized during one year of follow-up.

Risk factors for the occurrence of the endpoint were: concentration of dsDNA and ssDNA on 3<sup>rd</sup> day (HR=1,000259 [CI 1,000029-1,000488] p<0,05; HR=1,000060 [CI 1,00009- 1,000111] p<0,05); neutrophil concentration on the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> postoperative day (HR=1,327054 [CI 1,030406-1,709107] p<0,05; HR=1,259972 [CI 1,005217- 1,579291] p<0,05); NLR value on the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> postoperative day (HR=1,225678 [CI 1,043126-1,440176] p<0,05; HR=1,178757 [CI 1,031318-1,347274] p<0,05).

## **Conclusions**

After endovascular treatment of thoracoabdominal aortic aneurysms, neutrophils are activated, and NETs are released. The increase in NET formation in the postoperative period was independent of the increase in the number of neutrophils. Single-stranded DNA (ssDNA) is one of the markers of NETs and correlates with dsDNA. Cox hazard analysis showed that the risk factors for the endpoint were dsDNA and ssDNA, neutrophils, and NLR.

---

# 1 WSTĘP

## 1.1 Wprowadzenie

Choroby układu krążenia stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi na całym świecie. Jednym z najpoważniejszych schorzeń związanych z układem krążenia jest tętniak aorty, który może prowadzić do poważnych powikłań, w tym groźnego pęknięcia ściany, krwotoku wewnętrznego, niewydolności krążenia, a nawet śmierci. Tętniaki aorty są poważnym problemem klinicznym, którego leczenie wymaga dokładnego zrozumienia patogenezы choroby. Istnieje wiele czynników, które przyczyniają się do rozwoju tętniaków, w tym stan zapalny i działanie neutrofilów oraz uwolnienie zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (*NETs-neutrophil extracellular traps*). Istnieją doniesienia naukowe wskazujące, że stan zapalny oraz nadmierna aktywacja neutrofilów i uwalnianie NETs mogą wpływać na osłabienie ściany aorty i prowadzić do powstawania tętniaka [1].

Leczenie tętniaków aorty może być przeprowadzone za pomocą dwóch metod: tradycyjnej metody otwartej oraz naprawy wewnątrznaczyniowej.

Naprawa wewnątrznaczyniowa tętniaka aorty z użyciem stentów ma wiele zalet w porównaniu z tradycyjną operacją otwartą. Operacja jest mniej inwazyjna, co skraca czas rekonwalescencji i redukuje ryzyko powikłań. Ponadto, naprawa wewnątrznaczyniowa ma niższy wskaźnik zgonów i powikłań w porównaniu z operacją otwartą w okresie pooperacyjnym [2].

Coraz częściej w leczeniu tętniaków aorty stosuje się leczenie wewnątrznaczyniowe w którym wprowadza się stent do wnętrza naczynia, który stabilizuje uszkodzone miejsce dzięki powstaniu skrzepliny między uszkodzoną ścianą aorty a zaimplantowanym stentem. Mimo że naprawa wewnątrznaczyniowa za pomocą stentów jest powszechnie stosowana w leczeniu tętniaków aorty, to jednak wciąż brakuje pełnego zrozumienia procesów zachodzących po takiej interwencji [3].

Jednym z możliwych reakcji organizmu na implantację stentgraftu jest wystąpienie stanu zapalnego. Reakcja organizmu na wszczepienie stentgraftu jest indywidualna i zależy od wielu czynników, takich jak wiek, płeć, choroby współtowarzyszące, a także rodzaj i materiał z jakiego zbudowany jest stentgraft. W rezultacie, poziom odpowiedzi zapalnej organizmu może znacznie różnić się między pacjentami. W celu bardziej precyzyjnego

---

zdefiniowania odpowiedzi zapalnej na implantację stentu, wprowadzono pojęcie zespołu poimplantacyjnego. Zespół implantacyjny charakteryzuje się zespołem objawów oraz wzrostem parametrów zapalnych. Objawy obejmują m.in. gorączkę, osłabienie, bóle mięśni. Do kryteriów laboratoryjnych należy wzrost stężenia białka C-reaktywnego (CRP), liczby leukocytów i prokalcytoniny. Warto zaznaczyć, że większość pacjentów, u których wykonano implantację stentu, nie spełnia kryteriów diagnostycznych zespołu poimplantacyjnego. Niemniej jednak, u większości pacjentów obserwuje się wzrost parametrów stanu zapalnego, co wskazuje na istnienie reakcji zapalnej. Reakcja zapalna obserwowana po operacji wewnątrznaczyniowej jest wynikiem skomplikowanych procesów łączących reakcję zapalną na umieszczony stentgraft, rozległością operacji oraz obecnością chorób współtowarzyszących. Reakcja zapalna obserwowana po operacji może mieć poważne konsekwencje dla pacjenta, w tym przedłużający się czas hospitalizacji, pogorszenie stanu zdrowia i zwiększone ryzyko powikłań.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej jest przeanalizowanie roli stanu zapalnego, układu krzepnięcia oraz aktywacji neutrofilów dzięki uwalnianiu NETs przed operacją tętniaka aorty oraz wpływu naprawy wewnątrznaczyniowej na te procesy. Badania te mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia procesów zapalnych, roli neutrofilów, w tym NETs i zmian w układzie krzepnięcia zachodzących po implantacji stentu.

## **1.2 Anatomia i fizjologia aorty**

Największą tętnicą ludzkiego organizmu jest aorta i to ona daje początek naczyniom krążenia systemowego. Wychodzący z lewej komory serca stożek tętniczy jest początkiem aorty, która następnie przebiegając w śródpiersiu zatacza łuk i zstępuje pionowo w dół, przechodząc przez rozwór aorty w przeponie, aorta znajduje się w przestrzeni zaotrzewnowej jamy brzusznej. Aorta w tej przestrzeni schodzi w dół, gdzie ulega rozwidleniu na dwie tętnice biodrowe wspólne na wysokości kręgu L4 [4].

Aorta składa się z trzech głównych odcinków. Pierwszym odcinkiem jest wychodząca z lewej komory serca aorta wstępująca. Tworzy ona opuszkę aorty w pobliżu serca. Następnym odcinkiem jest łuk aorty który łączy aortę wstępującą i zstępującą. Ostatnim odcinkiem jest aorta zstępująca, która składa się z części piersiowej oraz brzusznej [5].



---

Aorta wstępująca jest najbardziej wysuniętą do przodu częścią aorty. Łuk aorty przechodzi na lewą stronę tchawicy, gdzie układa się nad oskrzelem lewym. W początkowym odcinku biegnie po lewej stronie przełyku, następnie przebiega za nim oraz przed kręgosłupem. Anatomiczne umiejscowienie aorty w tym miejscu w sytuacji poszerzenia ściany aorty (tętniak) może powodować zwężenia przełyku oraz prowadzić do trudności w przełykaniu (dysfagia). Aorta piersiowa na poziomie kręgu Th11/Th12 przechodzi przez rozwór aorty w przeponie stając się aortą brzuszną, która stanowi przedłużenie aorty piersiowej. Aorta brzuszna jest dolnym oraz krótszym odcinkiem aorty zstępującej. Do poziomu kręgu L4 biegnie nieznacznie na lewo od linii pośrodkowej na przedniej powierzchni trzonów kręgów lędźwiowych. Aorta brzuszna ulega podziałowi na parzyste tętnice biodrowe wspólne. Aorta brzuszna po stronie prawej sąsiaduje z żyłą główną dolną natomiast po stronie lewej z lewą odnogą przepony [6].

Krew do wszystkich narządów jest dostarczana dzięki odgałęzieniom aorty, przez które w ciągu minuty są w stanie przetransportować około 5 litrów krwi. W odcinku wstępującym oraz w łuku, aorta cechuje się grubsza ścianą a tym samym największą elastycznością. W czasie skurczu lewej komory jest generowana skurczowa fala ciśnienia, która prowadzi do szybkiego poszerzenia oraz równie szybkiego zwężenia odcinka wstępującego aorty oraz łuku. Skutkiem tego procesu jest absorbowanie i rozproszenie fali ciśnienia co umożliwia wytworzenie stałego i równomiernego przepływu krwi przez tętnice położone dalej od serca [7].

Poszerzenie średnicy aorty jest generowane przez naciski hemodynamiczne wraz z endogennymi zmianami jakie zachodzą w strukturze ściany tętnicy. Cykl prowadzący do poszerzenia ściany aorty jest napędzany przez zasadę Laplace'a, zgodnie z którą napięcie ściany jest proporcjonalne do ciśnienia pomnożonego przez promień tętnicy; stąd wraz ze wzrostem średnicy aorty podwyższone ciśnienie krwi znacznie nasila ten proces [8].

### **1.3 Budowa ściany aorty**

Ściana aorty zbudowana jest z trzech warstw: błony wewnętrznej, środkowej i zewnętrznej.

Błona wewnętrzna (*tunica intima*) składa się ze śródbłonka oraz błony sprężystej wewnętrznej. Najbardziej wewnętrzną warstwę wyścielającą światło naczynia jest śródbłonek (*endothelium*). Śródbłonek odgrywa wiele ważnych funkcji związanych

---

z zachowaniem prawidłowego przepływu krwi oraz regulacji aktywacji i adhezji płytek krwi i leukocytów. Śródbłonek odgrywa rolę w regulacji transportu substancji przez ścianę naczyń [11]. Komórki śródbłona są w stanie regulować ciśnienie krwi dzięki syntezie czynników obkurczających i rozkurczających. Przykładami takich czynników są prostacyklina (PGI<sub>2</sub>), endotheliny (ET-1, ET-2, ET-3), tlenek azotu (NO), enzym proteolityczny- konwertazę angiotensyny (ACE) [9].

Błona środkowa (*tunica media*) jest najgrubszą błoną, która w dużej mierze składa się z białek strukturalnych (elastyny i kolagenu), które wpływają na jej właściwości takie jak pojemność i plastyczność naczyń. Między włóknami znajdują się mioocyty gładkie, które układają się okrężnie w stosunku do długiej osi naczyń [10]. Uszkodzenie warstwy środkowej które przyczynia się do osłabienia ściany aorty są spowodowane degradacją lub niedoborem białek strukturalnych.

Błona zewnętrzna (*tunica externa*) zwana także błoną dodatkową (*tunica adventitia*) jest zazwyczaj grubsza niż błona wewnętrzna. Jest zbudowana z tkanki łącznej właściwej która zawiera liczne włókna kolagenowe i niewiele włókien sprężystych. W tej warstwie znajdują się naczynia naczyniowe (*vasa vasorum*) i nerwy [11].

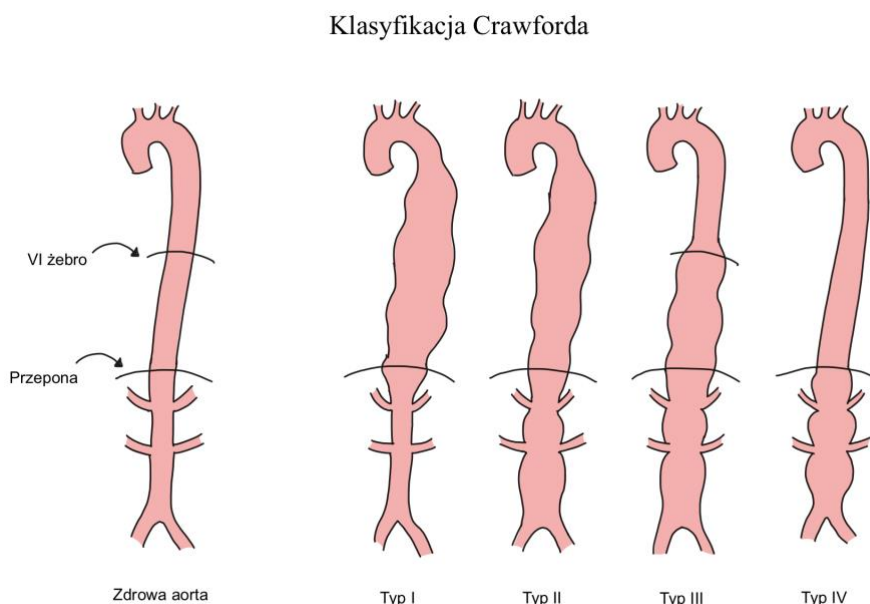
#### **1.4 Tętniak aorty**

Jednym ze schorzeń dotyczących aorty jest tętniak aorty, który definiuje się jako miejscowe, wrzecionowate albo workowate poszerzenie światła aorty o co najmniej 50% w porównaniu do niezmiennego odcinka. W zależności od umiejscowienia anatomicznego tętniaki mogą rozwijać się jako tętniak aorty piersiowej (*TAA- thoracic aortic aneurysm*), który obejmuje aortę zstępującą do poziomu przepony, a także jako tętniak aorty brzusznej (*AAA- abdominal aortic aneurysm*), który obejmuje aortę poniżej tętnic nerkowych. Powiększenie może wystąpić w obu częściach przyczyniając się do powstania tętniaka aorty piersiowo-brzusznej (*TAAA- thoracoabdominal aortic aneurysm*). Można zaobserwować wiele wariantów TAAA które mogą powstawać w aorcie od odejścia lewej tętnicy podobojczykowej aż do rozwidlenia aortalno-biodrowego [12]. W celu określenia umiejscowienia tętniaka aorty piersiowo-brzusznej stosuje się klasyfikację Crawforda (Rysunek 1).

Prawidłowa średnica aorty poniżej tętnic nerkowych >65 roku różni się między kobietami i mężczyznami. U kobiet wynosi  $1,9 \text{ cm} \pm 0,7$ , u mężczyzn  $2,0 \text{ cm} \pm 0,5$ . Tętniak aorty brzusznej definiuje się jako wzrost średnicy ściany powyżej 3 cm [13].

Tętniak aorty piersiowo-brzusznej jest rzadką jednostką chorobową, występującą z częstością 5,9 przypadków na 100 000 osób rocznie. U pacjentów można zaobserwować obecność chorób współistniejących, takich jak nadciśnienie tętnicze, choroba niedokrwienna serca czy przewlekła obturacyjna choroba płuc, którą główną przyczyną jest palenie tytoniu [14]. U obu płci zaawansowany wiek wiąże się ze zwiększonym ryzykiem, chociaż kobiety nabywają TAAA w bardziej zaawansowanym wieku niż mężczyźni, to właśnie one są bardziej narażone na pęknięcie tętniaka [15].

Tętniaki piersiowo-brzuszne występują dużo rzadziej niż tętniaki aorty brzusznej. Szacuje się że średnio 5% populacji w wieku 45-75 lat ma tętniaka aorty, z czego tylko 6% wśród tętniaków stanowią tętniaki aorty piersiowo-brzusznej [16]. Mimo że tętniaki aorty brzusznej zdecydowanie częściej występują wśród mężczyzn (od 3-6-krotnie częściej) i podobnych statystyk można by się spodziewać w tętniaku aorty piersiowo-brzusznej to statystyki są bardziej zróżnicowane i niektóre prace postulują że to kobiety mogą częściej chorować na TAAA [17].



Rysunek 1. Typy tętniaków aorty piersiowo-brzusznej według Crawforda

---

## 1.5 Etiologia tętniaka aorty

Rozwój tętniaka aorty i jego progresja jest złożona i obejmuje kilka procesów. Niektóre mechanizmy komórkowe mogą współistnieć w tętniaku aorty brzusznej i aorty piersiowej, a niektóre są bardziej charakterystyczne dla jednego z nich. Rozwój tętniaka aorty wymaga zmian w komórkach mięśni gładkich, komórkach śródbłonna, limfocytach, monocytach/makrofagach, płytkach krwi oraz neutrofilach [18].

Aktywowane neutrofile mogą prowadzić do dysfunkcji występującej między śródbłonkiem a neutrofilami, czego konsekwencją są zmiany w układzie krzepnięcia i stan zapalny [19].

Neutrofile to komórki układu odpornościowego, które biorą udział w obronie organizmu przed atakującymi mikroorganizmami i migrują jako pierwsza linia obrony do tkanek w których występuje zakażenie. Neutrofile odgrywają kluczową rolę w prawidłowym funkcjonowaniu wrodzonej odpowiedzi immunologicznej ze względu na ich zdolność do szybkiej odpowiedzi. Neutrofile mogą wykorzystywać kilka mechanizmów, takich jak fagocytoza, degranulacja, stres oksydacyjny, uwolnienie zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (NETs), aby zapobiec rozprzestrzenianiu się zakażenia i doprowadzić do eliminacji patogenu [20].

Jedną z przyczyn wzrostu tętniaka jest teoria oparta na współzależnościach jakie zachodzą między neutrofilami a uszkodzoną ścianą aorty. Proces ten jest wieloczynnikowy i obejmuje zależności między selektynami, chemokinami i cytokinami. Naciek komórek zapalnych do ściany aorty u pacjentów z tętniakami aorty potwierdza udział procesów związanych ze zmianami parametrów stanu zapalnego [21].

Upraszczając, współczesną etiologię tętniaków aorty można ją oddzielić na szlaki związane z przewlekłym stanem zapalnym naczyń (gdzie neutrofile odgrywają istotną rolę), z zaburzeniem hemostazy, miażdżycą tętnic, zaburzeniem w hemodynamice oraz wpływem czynników genetycznych.

---

## 1.6 Skrzeplina

Tworzenie się skrzepliny w naczyniu jest integralną częścią rozwoju tętniaka. Według triady Virchowa proces powstawania skrzepliny jest złożony i obejmuje wiele elementów, takich jak uszkodzenie naczyń, zastój i turbulentny przepływ krwi oraz hiperkoagulopatia. Tętniaki są w różnym stopniu pokryte skrzepliną, która może otaczać całą ścianę lub być umieszczona ekscentrycznie, pozostawiając część ściany worka tętniaka dostępną dla przepływu krwi [22]. Ta skrzeplina w świetle naczynia (*ILT-intraluminal thrombus*) jest siecią fibrynową, w której skład wchodzi komórki krwi, zwłaszcza neutrofile i płytki krwi. ILT występuje w różnym stopniu i jest obecna u około 75% pacjentów z tętniakiem aorty [23]. Skrzeplina może działać jako bariera dla transportu tlenu, powodując niedotlenienie leżącej pod nią ściany, co może skutkować zmniejszeniem grubości i wytrzymałości, potencjalnie prowadząc do jej pęknięcia [24]. Rozmiar jest najważniejszym czynnikiem ryzyka pęknięcia tętniaka. Wraz z rozmiarem tętniaka aorty zwiększa się również rozmiar skrzepliny [25]. Pokryta skrzepliną ściana aorty jest cieńsza i ma bardziej zróżnicowaną morfologię niż ściana aorty nie pokryta skrzepliną, wykazuje ona mniej komórek mięśni gładkich (*SMC-smooth muscle cells*) i mniej elastyny [26].

ILT zmniejsza i redystrybuuje siłę w ścianie aorty. Powód ten został wykorzystany do promowania stosowania wewnątrznaczyniowej naprawy tętniaka aorty (*EVAR-endovascular aortic repair*), w której skrzeplina rozwija się wewnątrz tętniaka między ścianą naczynia a stenem [27].

## 1.7 Stan zapalny

W tętniaku aorty składniki macierzy pozakomórkowej (*ECM- extracellular matrix*) takie jak kolagen, proteoglikan, laminina ulegają degradacji za pośrednictwem enzymów-metaloproteinaz (*MMP-metalloproteinase*). Proces ten przyczynia się do degradacji SMC, które są głównym producentem ECM [28], [29]. MMP obejmują grupę ponad 20 enzymów proteolitycznych których aktywność jest zwiększona u chorych z tętniakiem aorty [30]. Udowodniono wpływ MMP-2, MMP-8, MMP-9 z wystąpieniem tętniaka oraz ryzykiem rozwarstwienia. MMP-9 jest wytwarzana przez neutrofile, komórki śródbłonna oraz fibroblasty. W zespole Marfana stężenie MMP-9 i MMP-2 jest istotnie podwyższone a doksycyklina działa jako niespecyficzny inhibitor MMP, przyczyniając się do mniejszej

---

degradacji białek strukturalnych [32]. W badaniach, gdzie sprawdzano wpływ doksycykliny u pacjentów z AAA, udowodniono, że doksycyklina zmniejszyła napływ neutrofilów do ściany tętniaka oraz wykazano obniżone stężenia mRNA MMP-3 i MMP-25 [32], [33].

W prawidłowej regulacji stężeń metaloproteinaz kluczową rolę odgrywają tkankowe inhibitory metaloproteinaz (*TIMPs-tissue inhibitors of metalloproteinases*). Zmniejszona aktywność TIMPs została zaobserwowana u pacjentów z tętniakiem aorty w porównaniu do pacjentów z zaawansowaną miażdżycą i populacją osób zdrowych. Przyczyną zmniejszonego stężenia TIMPs może być wynik wtórej reakcji zapalnej oraz nadmiernej aktywności elastazy neutrofilów [34]. Proces degradacji białek ściany przyczynia się do odpowiedzi zapalnej przez naciek komórek w błonie środkowej naczynia [35]. Występuje naciek takich komórek jak neutrofile, makrofagi, komórki NK, komórki dendrytyczne, limfocyty T i B oraz komórki tłuszczne.

Przewlekły stan zapalny jest związany z produkcją reaktywnych form tlenu (ROS- reactive oxygen species) do których zalicza się grupę związków chemicznych zawierające w swoim składzie atomy tlenu wraz z niesparowanym elektronem (tzn. rodniki tlenu) [36]. MMP mogą aktywować ROS i powodować uszkodzenie komórek naczyń wraz z peroksydacją lipidów przyczyniających się do profilu promiażdżycowego [37].

## 1.8 Miażdżycyca

Do niedawna na pierwszym miejscu w patogenezie powstawania tętniaka aorty brało się pod uwagę proces miażdżycy. Miażdżycyca charakteryzuje się wytworzeniem płytek miażdżycowych (*atheromae*) prowadząc do stwardnienia ścian (*arteriosclerosis*). Na ogół zmiany te są zapoczątkowane przez wysokie stężenie lipoprotein LDL wraz z uszkodzeniem śródbłonna oraz odkładaniem się lipidów w błonie wewnętrznej. Procesowi towarzyszy naciek makrofagów ze sfagocytowanym tłuszczem i proliferacja miejscowych fibroblastów. Wraz z czasem płytka miażdżycowa ulega zwapnieniu, prowadząc do zmniejszenia światła. Gdy powierzchnia płytki ulegnie rozpadowi prowadzi do powstania przyściennych agregatów zbudowanych z płytek krwi i erytrocytów [38]. Miażdżycyca jest zaliczana do chorób proliferacyjnych, ponieważ dochodzi do proliferacji miocytów gładkich ściany naczynia. Proces ten jest możliwy dzięki stymulacji za pomocą

---

cytokin-PDGF i TGF które są uwalniane przez agregaty przyścienne z płytek krwi i erytrocytów [39]. W ostatnich latach zwraca się coraz większą uwagę na to że proces miażdżycowy może być wynikiem wtórnym do reakcji zapalnej, aniżeli procesem pierwotnym prowadzącym do powstania tętniaka aorty [40].

## **1.9 Nadciśnienie tętnicze**

Ciśnienie krwi to siła jaka jest wywierana przez krążącą krew na naczynia. Najwyższe ciśnienie panuje w aorcie i stopniowo się zmniejsza w naczyniach które są mniejszego kalibru. Nadciśnienie tętnicze odpowiada za rozwój zmian miażdżycowych między innymi w aorcie co sprzyja zwiększeniu sztywności ścian naczynia oraz zmniejsza mechanizmy regulujące jego średnicę [41]. Wraz ze wzrostem ciśnienia rośnie ryzyko rozwoju tętniaka aorty o 66%. Mimo że tętniak aorty 5-krotnie częściej rozwija się wśród mężczyzn to związek między nadciśnieniem a tętniakiem jest wyższy u kobiet [42]. Jednym z możliwych wyjaśnień tego zjawiska jest częstsze występowanie dodatkach czynników ryzyka powstawania rozwoju tętniaka aorty wśród mężczyzn np. związek z paleniem papierów, przewlekła obturacyjna choroba płuc. Relatywne ryzyko wystąpienia tętniaka aorty wśród palaczy jest 3,4-krotnie wyższe u osób z rozkurczowym ciśnieniem >90 mmHg i 4,1-krotnie wyższe u populacji ze średnim ciśnieniem >100mmHg [43].

## **1.10 Neutrofile**

Neutrofile są największą populacją białych krwinek i stanowią od 50-70% leukocytów we krwi obwodowej. Neutrofile powstają w szpiku kostnym z hematopoetycznych komórek macierzystych i po okresie dojrzewania są uwalniane do krwioobiegu. Neutrofile krążą we krwi bardzo krótko, nie dłużej niż 72h po czym przechodzą apoptozę w tkankach odwodowych albo wracają do szpiku, gdzie są fagocytowane przez makrofagi. Część neutrofilii pozostaje w kontakcie ze śródbłonkiem w żyłkach włosowatych, a część krąży w krwioobiegu. Neutrofile mają zdolność przechodzenia do tkanek, gdzie żyją zaledwie 1- 2 dni. Neutrofile biorą udział w nieswoistych mechanizmach układu odpornościowego. Główną funkcją neutrofilii jest walka z mikroorganizmami, które dostaną się do organizmu, więc neutrofile przybywają jako pierwsze na miejsce zakażenia i stanowią pierwszą linię obrony [44].

---

Naciek neutrofilów jest obecny w skrzeplinie występującej w świetle aorty [45]. Stała interakcja między neutrofilami a aktywacją płytek krwi świadczy o niezwykle dynamicznym procesie jakim jest tworzenie oraz remodeling ILT [46], [47]. Nagromadzenie neutrofilów wewnątrz ILT i ściany aorty może być związane z pierwotnymi mechanizmami rozwoju tętniaka, do których należą degradacja ściany, stres oksydacyjny i procesy zapalne [48].

Zgodnie z nowo odkrytą zdolnością neutrofilów do uwolnienia zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (*NETs-neutrophil extracellular traps*), obecnie badany jest wpływ neutrofilów w patomechanizmie wzrostu tętniaka aorty i powstawania skrzepliny. Aktywowane neutrofile uwalniają zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe (*NETs*), które są siecią pozakomórkowych włókien składających się ze zdekondensowanej chromatyny ze zmodyfikowanymi histonami wraz z elementami ziarnistości neutrofilów (jak mieloperoksydaza-MPO i elastaza neutrofilów-NE). Uwolnienie NETs poza błonę neutrofila może być indukowane przez infekcje, przeciwciała i kompleksy immunologiczne [49]. Sieci neutrofilowe działają jak rusztowanie, na którym mogą się kumulować płytki krwi oraz składniki promujące stan prokoagulacyjny (takie jak fibrynogen, fibronektyna, czynnik von Willebranda, czynnik XII [50]) które przyczyniają się do rozwoju skrzepliny. NETs jako czynnik trombogenny został udokumentowany w różnych tętniczych i żylnych chorobach zakrzepowych, w tym zawale mięśnia sercowego, udarze mózgu i zakrzepicy żył głębokich [51].

Odkrycie NETs w 2004 roku wykazało przede wszystkim na przeciwdrobnoustrojową funkcję NETs, która hamuje rozprzestrzenianie się mikroorganizmów. Później udowodniono wpływ jaki mają NETs w chorobach autoimmunologicznych, stanach zapalnych oraz procesach związanych z tworzeniem się skrzeplin [52]. Proces tworzenia i uwolnienia NETs jest znany jako netoza (*NETosis*). Opisano dwie ścieżki netozy. Pierwsza inaczej samobójcza, czasami nazywana także lityczną bądź klasyczną, ponieważ w procesie uwolnienia sieci neutrofilowych dochodzi do śmierci komórki neutrofila. Druga ścieżka netozy została opisana później, jest nazywana przyżyciową, ponieważ neutrofil po tym procesie zachowuje żywotność oraz funkcje efektorowe [53].

Najbardziej rozpoznawalnymi biomarkerami NETs są cytrulinowane histony i dwuniciowy DNA (*dsDNA*). Cytrulinacja histonów przez deiminazę peptydyloargininową 4 (*PAD4*), enzym zależny od wapnia, który znajduje się w jądrze, jest dobrze opisaną cechą netozy.



---

PAD4 cytrulinuje reszty argininy histonów H3 (*Cit-H3*) i H4 (*Cit-H4*), powodując zmniejszenie ładunku dodatniego, a tym samym umożliwiając dekondensację chromatyny. Brak enzymu PAD4 ogranicza netozę w izolowanych neutrofilach, co wskazuje na kluczową rolę enzymu [54]. Cit-H3 i Cit-H4 wykazują działanie cytotoksyczne na komórki śródbłonna [55] oraz promuje agregację płytek krwi [56]. Histony mogą oddziaływać z płytkami krwi niezależnie poprzez receptory toll-podobne (*TLR*) za pośrednictwem fibrynogenu, co skutkuje zwiększonym regionalnym tworzeniem trombiny [57].

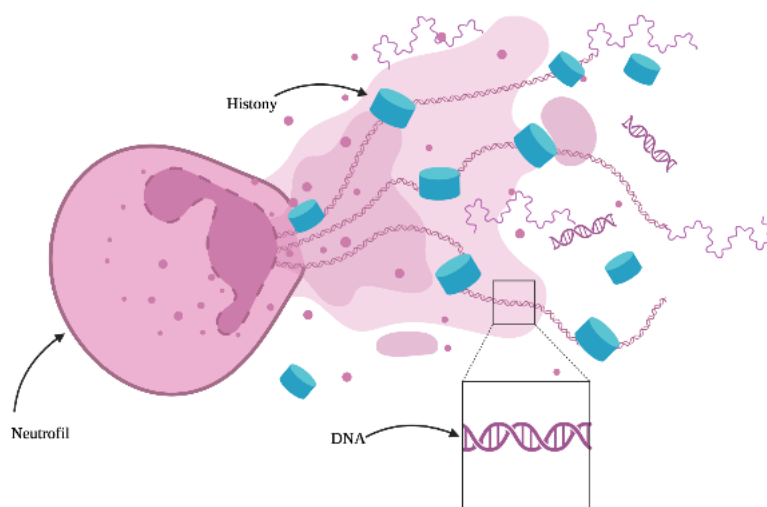
Aktywacja neutrofilów i uwolnienie NETs zostały szczegółowo opisane na modelach zwierzęcych dotyczących rozwoju tętniaka aorty ujawniając szczególną rolę neutrofilów i wytwarzanych sieci neutrofilowych w patogenezie i progresji tętniaka aorty. Neutrofile i NETs odgrywają również pośrednią rolę w rozwoju tętniaka aorty, wpływając na inne procesy, które przyczyniają się do osłabienia ściany aorty, takich jak miażdżycy i przewlekły stan zapalny [58].

Związek z procesami koagulacyjnymi jest niezbędny do progresji rozwoju tętniaka aorty, o czym świadczy zwiększenie stężenia białek osocza, takich jak fibrynogen, D-dimer i kompleks trombina-antytrombina na wiele lat przed klinicznymi objawami choroby [59].

Dotychczas opublikowano tylko jedną pracę naukową, która badała związek między NETs a tętniakiem aorty u ludzi. Badanie skupiło się na badaniu mechanizmów powstawania tętniaków aorty brzusznej oraz poszukiwaniu biomarkerów powiększania się tętniaka oraz ewentualnych zastosowań terapeutycznych w leczeniu tej choroby. W analizach porównano poziom cytrulinowanych histonów w tkance tętniaków aorty brzusznej i tętnicy aorty zdrowej. Wykazano, że poziom cytrulinowanych histonów był znacznie wyższy w tkance tętniaków aorty brzusznej, co sugeruje ich rolę w patogenezie tej choroby. Następnie, badacze przeprowadzili eksperymenty na zwierzętach mające na celu zahamowanie procesu cytrulinacji histonów. Wykorzystano do tego inhibitory enzymu PAD (peptydylarginina deiminazy), które są znane ze swojej zdolności do blokowania procesu cytrulinacji histonów. Okazało się na modelach zwierzęcych, że blokowanie tego procesu wpłynęło na zmniejszenie rozmiarów tętniaka aorty brzusznej i zmniejszenie ryzyka jego pęknięcia. Wyniki tych badań sugerują, że produkty netozy mogą być nowym biomarkerem dla tętniaków aorty i że hamowanie tego procesu może stanowić obiecujący cel terapeutyczny w leczeniu zachowawczym tętniaków aorty [60].

---

Rysunek 2 przedstawia proces uwolnienia zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych z komórki neutrofila. Rysunek został stworzony w aplikacji BioRender.



Rysunek 2. Zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe uwolnione z neutrofila

### 1.11 Zespół poimplantacyjny (PIS)

Zespół poimplantacyjny (PIS) jest słabo poznanym zjawiskiem, które pojawia się we wczesnym okresie po operacji wewnątrznacyniowej naprawie tętniaka aorty. Etiologia, czynniki ryzyka oraz następstwa kliniczne są w dużej mierze nieznane. U większości pacjentów PIS jest stanem łagodnym, chociaż może prowadzić do zaostrzenia stanu klinicznego pacjenta co może skutkować intensyfikacją leczenia pooperacyjnego oraz wydłużeniem czasu hospitalizacji. Brak jest jednoznacznych kryteriów diagnostycznych co sprawia trudność w diagnozowaniu PIS. W większości kryteriów diagnostycznych znajduje się leukocytoza oraz gorączka. Ze względu na brak jednoznacznych kryteriów nie ma szczegółowych danych na temat występowania PIS oraz brak jest algorytmu terapeutycznego [61]. Ze względu na podobne kryteria oraz objawy bardzo ważne jest zróżnicowanie zespołu poimplantacyjnego oraz występującego zespołu ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (SIRS), gdzie każde opóźnienie leczenia wiąże się z gorszym rokowaniem dla pacjenta. PIS jest uznawany za powikłanie operacji wewnątrznacyniowej i jest obserwowane najczęściej w ciągu dwóch dni po operacji.

---

Przyczyna powstawania zespołu jest złożona i obejmuje kilka procesów na poziomie komórkowym oraz narządowym [62]. Uważa się, że główną przyczyną jest wzrost IL-6, która jest uwalniana ze śródbłonna, którego uszkodzenie następuje w następstwie manipulacji stentu podczas operacji. Wzrost IL-6 jest także spowodowany powstawaniem skrzepliny, która powstaje po operacji między stentem a ścianą aorty, dlatego obecność skrzepliny odgrywa kluczową rolę w tym procesie [63]. Opisuje się, że przyczyną może być także degranulacja neutrofilii obserwowana po operacji, jednak tylko nieliczne prace opisują to zjawisko [64]. Czynniki które przyczyniają się do powstawania PIS to także translokacja bakterii jelitowych występująca w następstwie tymczasowego niedokrwienia jelit. Krótkoterminowa obserwacja chorych ze zdiagnozowanym PIS po leczeniu wewnątrznaczyniowym tętniaka aorty sugerowała, że pacjenci są narażeni na większe ryzyko powikłań pooperacyjnych oraz zwiększone ryzyko śmiertelności [65]. W obserwacji długoterminowej nie zaobserwowano różnic między pacjentami ze zdiagnozowanym PIS oraz bez tego zespołu [66]. W obserwacji długoterminowej pacjentów po implantacji stentu aorty, kryteria zespołu poimplantacyjnego nie jest wystarczające, ponieważ nie pozwalają na identyfikację chorych którzy po operacji wewnątrznaczyniowej tętniaka aorty wymagają szczególnej kontroli i intensyfikacji leczenia przeciwzakrzepowego. Konieczne jest znalezienie innych markerów, które lepiej odzwierciedlałyby stan zapalny i byłyby bardziej pomocne w identyfikacji pacjentów z większym ryzykiem hospitalizacji lub zgonu.

---

## **2 ZAŁOŻENIA I CELE PRACY**

Założeniem tego projektu jest określenie aktywności formowania NETs u osób przed oraz po wewnątrznacyniowym leczeniu tętniaków aorty piersiowo-brzuszej oraz ich związek z wybranymi parametrami procesu zapalnego oraz układu krzepnięcia.

### **CELE PRACY**

1. Ocena stężeń markerów NETs przed oraz po operacji wewnątrznacyniowej tętniaków aorty piersiowo-brzuszej.
2. Ocena ssDNA jako markera NETs.
3. Ocena ryzyka zgonu i hospitalizacji pacjentów z tętniakiem piersiowo-brzuszym poddanych operacji wewnątrznacyniowej a aktywnością formowania NETs i wybranymi badaniami laboratoryjnymi.

### 3 METODY

#### 3.1 Projekt badania

Jest to prospektywne, jednośrodkowe obserwacyjne badanie nadzorowane przez ośrodek o najwyższej referencyjności, który rocznie wykonuje ponad 100 wewnątrznaczyniowych napraw tętniaków aorty (EVAR). Kryteria włączenia i wyłączenia są przedstawione w tabeli 1. Dla lepszej jednorodności grupa badana została ograniczona do chorych poddanych leczeniu wewnątrznaczyniowemu za pomocą stentu t-Branch. Projekt badania został przygotowany zgodnie z Deklaracją Helsińską i został zaakceptowany przez Komisję Etyki Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (numer opinii KB/168/2020).

Kryteria włączenia	Kryteria wyłączenia
<ul style="list-style-type: none"><li>• Pacjenci z rozpoznaniem TAAA</li><li>• Wskazania do wewnątrznaczyniowej naprawy aorty za pomocą stentu t- Branch</li><li>• &gt;18 lat</li><li>• Pisemna świadoma zgoda na udział w badaniu</li><li>• Liczba płytek krwi 100 000- 450 000/<math>\mu</math>L</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Współistniejąca ciężka choroba nowotworowa</li><li>• Leczenie przedoperacyjne doustnymi antykoagulantami (dabigatran, rywaroksaban, apiksaban, edoksaban)</li><li>• Współistniejąca infekcja wirusowa lub bakteryjna</li><li>• Pacjenci z innymi chorobami powodującymi zaawansowaną niewydolność narządów: układu oddechowego/ krążenia/ nerek/ wątroby</li><li>• Kobiety w ciąży</li><li>• Pacjenci w złym stanie ogólnym (&gt; 3 wg ECOG/ WHO)</li></ul>

Tabela 1. Kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów.

---

### **3.2 Operacja wewnątrznacyniowa tętniaka aorty piersiowo-brzuszej**

Wszyscy pacjenci przeszli skuteczną operację wewnątrznacyniową przy użyciu stentgraftu Zenith t-Branch (Cook Medical, Bloomington, Indiana, USA) z poczwórnym szkieletem nacyniowym (podziały na pień trzewny, tętnicę kręzkową górną i obie tętnice nerkowe). Operacje przeprowadzono po uzyskaniu pisemnej świadomej zgody od każdego pacjenta przed operacją w okresie od kwietnia 2021 do sierpnia 2021. Pacjenci byli znieczuleni ogólnie. Operacje były wykonywane przez jednego wysoko wykwalifikowanego operatora (TJ) w hybrydowej sali operacyjnej z dostępu pachowego i udowego. Wskazaniem do wszczęcia stentgraftu była maksymalna średnica aorty  $\geq 55$  mm lub szybki wzrost średnicy tętniaka ( $\geq 10$  mm w ciągu 12 miesięcy). Cięcia podłużne zastosowano do wypreparowania lewej tętnicy pachowej, a tętnice udowe odsłonięto wykonując skośne lub podłużne cięcia w pachwinach. Podczas operacji nakłuto tętnicę pachową i przeprowadzono przewodnik pomiędzy pachą a pachwiną. Wprowadzono t-Branch i po identyfikacji ujść tętnic trzewnych otworzono go w pełni. Z dostępu pachowego implantowano stenty powlekane do pnia trzewnego, tętnicy kręzkowej górnej i obu tętnic nerkowych. Przedłużono t-Branch dystalnie stentgraftem rozwidlonym i stentgraftem prostym, kończącym się w prawej tętnicy biodrowej wspólnej. Miejsca połączeń stentgraftów dopięto balonem lateksowym. Kontrolną angiografię wykonano w celu sprawdzenia przepływu krwi do kończyn dolnych, tętnic biodrowych wewnętrznych, odgałęzień stentgraftu i tętnic trzewnych. Zastosowano mostkowe stenty powlekane: BeGraft (Bentley, Innomed GmbH, Niemcy) i Fluency (Bard Peripheral Vascular, Tempe, Arizona, USA), Zilver (Cook Medical Bloomington, Indiana, USA).

### **3.3 Farmakoterapia okołoperacyjna**

Chorzy otrzymali profilaktyczną dawkę antybiotyku, otrzymując 1 g cefazoliny dożylnie 30-60 min przed operacją wewnątrznacyniową. Wszyscy pacjenci otrzymali śródoperacyjnie wlew heparyny niefrakcjonowanej (UFH) w oparciu o wartości aktywnego czasu krzepnięcia (ACT) z docelowym czasem 200–250 sek.

Po operacji wszyscy chorzy otrzymywali wlew UFH w dawce określonej na podstawie oceny czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) (2–2,5x norma) przez 2 dni.

---

Doustna terapia przeciwplatekowa- DAPT (klopidogrel 75 mg i ASA 75 mg raz dziennie) została rozpoczęta w drugiej dobie pooperacyjnej i kontynuowana po wypisie ze szpitala.

Po przeprowadzonej operacji, pacjenci przyjmowali niesteroidowe leki przeciwzapalne oraz paracetamol w celu łagodzenia bólu i zmniejszenia stanu zapalnego organizmu. Dawka paracetamolu wynosiła 3-4 g na dobę, co pozwalało na skuteczne łagodzenie dolegliwości bólowych.

### 3.4 Pobieranie próbek krwi

Krew z żył obwodowych pobrano w trzech różnych punktach czasowych: 24 godziny przed operacją wewnątrznaczyniową, w trzeciej dobie pooperacyjnej oraz w piątej dobie pooperacyjnej, która u części pacjentów była dniem wypisu ze szpitala. W 24-godzinnym okresie przedoperacyjnym, w trzeciej i w piątej dobie pooperacyjnej pobierano krew przez wkłucie z żyły łokciowej. Próbkę krwi została pobrana przy użyciu łagodnej opaski uciskowej, którą szybko usunięto, a próbki zostały dobrze wymieszane przez lekkie odwrócenie probówek. Pobrano cztery próbki krwi na osocze (Sarstedt Monovette EDTA ke 2,6 ml) i jedną próbkę (Sarstedt Monovette Serum z 4,9 ml) na surowicę.

Okres przedoperacyjny	I- pobranie krwi	-24h
Okres pooperacyjny	II- pobranie krwi	Trzeci dzień pooperacyjny
	III- pobranie krwi	Piąty dzień pooperacyjny

Tabela 2. Kolejność pobierania krwi.

### 3.5 Uzyskanie osocza do badań cf, dsDNA i cf, ssDNA

Trzy próbki po 2,6 ml krwi na EDTA wirowano przez 10 minut przy 1600 xg w 4°C, następnie supernatant zebrano pipetą Pasteura (Sarstedt, 86.1171.010) i umieszczono w probówce (Sarstedt, 62.558.201) i ponownie wirowano przez 10 minut przy 16 000 xg w 4°C, następnie zebrano supernatant pipetą Pasteura (Sarstedt, 86.1171.010) i odpipetowano 2,0 ml do 2 sterylnych probówek (Sarstedt, 72.694.006).

---

### **3.6 Uzyskanie surowicy do badania Cit-H3**

Krew pobraną na skrzep pozostawiono w temperaturze pokojowej na co najmniej 30 minut przed odwirowaniem przy 85 xg przez 10 minut w temperaturze pokojowej, a supernatant zebrano za pomocą pipety Pasteura (Sarstedt, 86.1171.010) i odpipetowano 0,5 ml do dwie sterylne probówki (Sarstedt, 72.694.006).

Materiał otrzymano i przechowywano w zamrażarce (Eppendorf Cryocube F740hi) w temperaturze -80°C do czasu analizy.

### **3.7 Ilościowa ocena swobodnie krążącego dwuniciowego DNA (cf, dsDNA) i jednoniciowego DNA (cf, ssDNA)**

Pierwszym krokiem była izolacja wolnego krążącego DNA (cfDNA) wykonana przy użyciu zestawu do izolacji DNA MagMAX™ Cell-Free firmy Applied Biosystems (nr kat. A29319, Applied Biosystems). Materiałem do badań było osocze krwi. Do izolacji użyto 4 ml osocza wersenianu. Izolację przeprowadzono zgodnie z instrukcjami producenta.

Kolejnym krokiem było oznaczenie ilościowe dwuniciowego DNA (dsDNA) i jednoniciowego DNA (ssDNA). W próbce wyizolowanego cfDNA zmierzono stężenie dwuniciowego DNA i jednoniciowego DNA. Przeprowadzono to przy użyciu zestawu Qubit dsDNA HS Assay Kit (nr kat. Q32851, Invitrogen) i zestawu Qubit ssDNA Assay Kit firmy Invitrogen (nr kat. Q10212, Invitrogen). Badanie przeprowadzono w dubletach. Końcowy pomiar wykonano na fluorometrze Qubit 4 firmy Invitrogen.

### **3.8 Oznaczanie stężenia Cit-H3**

Stężenia Cit-H3 określono za pomocą enzymatycznego testu immunologicznego metodą ELISA. W badaniu zastosowano zestaw ELISA z cytrulinowanym histonem H3 firmy Cayman (klon 11D3) (nr kat. 501620, Cayman). Surowica posłużyła jako materiał do badań. Test przeprowadzono w dubletach. Końcowy pomiar przeprowadzono przy długości fali  $\lambda = 450$  nm na spektrofotometrze BioTek Power Wave XS firmy Bio-Tek Instruments. Obliczenia stężenia Cit-H3 w probówkach wykonano za pomocą programu komputerowego KCjuniorWin, stosując metodę krzywej wzorcowej.



---

### 3.9 Wskaźnik określający dynamikę wydzielania NETs z neutrofilami

W celu zbadania dynamiki wydzielania NETs z neutrofilami, wprowadzono wskaźnik określający stosunek stężeń parametrów (dsDNA, ssDNA, Cit-H3) na 1000 neutrofilów.

$$\text{wskaźnik} = \frac{\text{stężenie parametru NETs}}{\text{bezwzględna liczba neutrofilów}} \times 1000$$

### 3.10 Analiza wybranych parametrów układu białokrwinkowego, stanu zapalnego i układu krzepnięcia

Krew od pacjentów poddano analizie w zautomatyzowanych analizatorach hematologicznych. Uzyskano następujące dane: podział ilościowy i procentowy leukocytów (na następujące frakcje: neutrofile, limfocyty, monocyty, eozynofile, bazofile), stężenie płytek krwi, średnia objętość płytek krwi, wskaźnik dużych płytek, płytkokryt, szerokość dystrybucji płytek krwi, stężenie białka C-reaktywnego, D-dimer, prokalcytonina, czas i wskaźnik protrombinowy, międzynarodowy współczynnik znormalizowany, fibrynogen, czas częściowej tromboplastyny po aktywacji.

### 3.11 Wskaźnik neutrofilowo limfocytarny (NLR)

W oparciu o uzyskane dane obliczono wskaźnik jako stosunek neutrofilów do limfocytów krwi obwodowej według bezwzględnej liczby tych krwinek.

### 3.12 Kryteria zespołu poimplantacyjnego

W celu stwierdzenia zespołu poimplantacyjnego u pacjentów po operacji wewnątrznaczyniowej tętniaka aorty muszą być spełnione wszystkie cztery kryteria. W skład tych kryteriów wchodzi następujące parametry: gorączka ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), poziom prokalcytoniny ( $>0,5$  ng/ml), stężenie białka C-reaktywnego CRP ( $>10$  mg/l) i liczba leukocytów ( $>12\ 000/\text{ml}$ ).

---

### **3.13 Obserwacja chorych po operacji wewnątrznaczyniowej tętniaka aorty piersiowo-brzuszej**

Po upływie roku od operacji, kontrolę stanu zdrowia pacjentów przeprowadzono za pomocą rozmowy telefonicznej. Zebrano informacje o stanie zdrowia wszystkich chorych. Sprawdzone wystąpienie następujących zdarzeń: zgon, zawał mięśnia sercowego (MI), zakrzepica żył głębokich (DVT), zatorowość płucna (PE), przemijający napad niedokrwienny (TIA), udar, zwężenie stentu, zakrzepica w stencie, migracja stentu, poszerzenie średnicy tętniaka, rozwarstwienie lub pęknięcie ściany aorty, przeciek okołoprotezowy, reinterwencja, hospitalizacja, zaburzenia kończyn dolnych (parestezje, paraplegia).

Dla oceny wartości predykcyjnej badanych parametrów punkt końcowy został zdefiniowany jako zgon lub hospitalizacja.

### **3.14 Gromadzenie danych oraz analiza statystyczna**

Dane zostały zebrane, a następnie anonimowo wprowadzone do jednolitej komputerowej bazy danych. U pacjentów w okresie przedoperacyjnym przeprowadzono kwestionariusz dotyczący chorób współistniejących, przyjmowanych leków i objawów. Pooperacyjnie uzyskano informacje dotyczące szczegółów operacji. Dane operacyjne uzyskano z protokołu operacyjnego.

Dane analizowano za pomocą komercyjnego oprogramowania (Statsoft Statistica 13.3; Tibco Software, Palo Alto, CA, USA). Dla wszystkich danych podano statystyki opisowe. Założenie o normalności zbadano za pomocą testów Shapiro-Wilka. Rozkłady większości parametrów próbki nie były normalne, a testy Levene'a wykazały w tych przypadkach heteroskedastyczność. Dlatego dla wszystkich próbek zastosowano metody nieparametryczne. Do porównania wartości analizowanych parametrów w próbkach pobranych od pacjentów zastosowano testy rang Wilcoxon, a przy ocenie korelacji zastosowano korelacje rang Spearmana. Do określenia wpływu badanych parametrów na wystąpienie punktu końcowego wykorzystano regresję hazardu Coxa. Istotność statystyczną zdefiniowano przy  $p < 0,05$ .

#### 4 MATERIAŁ

U 20 chorych (85% mężczyzn, 15% kobiet) została przeprowadzona wewnątrznacyniowa operacja aorty przy użyciu stentu typu t-Branch z powodu tętniaka aorty piersiowo- brzusznej. U żadnego pacjenta nie zidentyfikowano pęknięcia ściany tętniaka. Średnia wieku pacjentów zakwalifikowanych do badania wynosiła  $70,65 \pm 6,23$  lat. Z tej grupy chorych 50% miało BMI>25 kg/m<sup>2</sup>, a u 35% pacjentów stwierdzono otyłość (BMI>30 kg/m<sup>2</sup>). Większość pacjentów, bo aż 60%, paliła w przeszłości papierosy, a średni czas bez palenia wyniósł  $9,3 \pm 7,57$  lat. Obecnie pali 35% pacjentów. Średni okres paczkolat palaczy wyniósł  $28,98 \pm 17,65$  lat. Tylko jeden pacjent nie był uzależniony od palenia papierosów. Charakterystykę chorych przedstawia tabela 3.

Parametr	Średnia $\pm$ SD, Mediana (IQR) lub No%
Wiek [lata]	70,65 $\pm$ 6,23; 71,50 (65,50-75,00)
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	26,82 $\pm$ 4,68; 24,89 (23,18-30,95)
BMI>25 [kg/m <sup>2</sup> ]	10 (50%)
BMI>30 [kg/m <sup>2</sup> ]	7 (35%)
Płeć:	
Kobieta	3 (15%)
Mężczyzna	17 (85%)
Status do palenia papierosów:	
Nigdy	1 (5%)
W przeszłości	12 (60%)
Czas bez palenia [lata]	9,3 $\pm$ 7,57; 5,00 (5-20)
Obecnie	7 (35%)
Paczkolata	28,98 $\pm$ 17,65; 27,00 (17,50-40)

Tabela 3. Charakterystyka pacjentów włączonych do badania.

Najczęściej zgłaszanymi chorobami współistniejącymi są nadciśnienie tętnicze (85%) i inne choroby układu sercowo-naczyniowego (65%). U 25% pacjentów był zdiagnozowany w przeszłości zawał mięśnia sercowego. Chorzy z rozpoznaniem nadciśnienia tętniczego (85%) przyjmowali leczenie hipotensyjne w 85%. Większość pacjentów przyjmowała beta-adrenolityki (65%), a także diuretyki (40%) i antagonistów wapnia (40%). ACEI stosowano rzadziej (35%), podobnie jak ARB (25%). Hiperlipidemia była rozpoznana u 65% pacjentów i leczona w 60% lekami hipolipemizującymi. Statyny przyjmowało 55% pacjentów, a fibraty 10%. U żadnego z pacjentów nie rozpoznano cukrzycy. Inne choroby współistniejące i ich częstość przedstawiono w tabeli 4.

Choroby współistniejące	No (%)
Zawał mięśnia sercowego	5 (25%)
Nadciśnienie	17 (85%)
Hiperlipidemia	13 (65%)
Przewlekła obturacyjna choroba płuc	3 (15%)
Udar mózgu	2 (10%)

Tabela 4. Choroby współistniejące uczestników badania.

Leki wpływających na układ krzepnięcia przyjmowało w sumie 65% pacjentów. ASA otrzymywało 50% pacjentów, a 10% chorych przyjmowało doustne inhibitory płytek P2Y12, a 5% antagonistów witaminy K. Tabela 5 przedstawia przedoperacyjne leczenie farmakologiczne pacjentów.

Leki	No (%)
Statyny	11 (55%)
Fibraty	2 (10%)
$\beta$ -blokery	13 (65%)
ACEI ( <i>angiotensin-converting-enzyme inhibitors</i> )	7 (35%)
ARB ( <i>angiotensin II receptor blockers</i> )	5 (25%)
Antagoniści wapnia	8 (40%)

Diuretyki	8 (40%)
ASA ( <i>acetylsalicylic acid</i> )	10 (50%)
Anty-PLT P2Y12 ( <i>oral inhibitors of platelets P2Y12</i> )	2 (10%)
Antagoniści witaminy K	1 (5%)
Leki hipoglikemiczne	1 (5%)
PPI ( <i>Proton-pump inhibitor</i> )	3 (15%)
Leki przeciw rozrostowi prostaty	4/17 (23,53%)

Tabela 5. Przedoperacyjne leczenie farmakologiczne pacjentów.

Objawy towarzyszące tętniakowi zgłaszało 80% pacjentów, z czego najczęstszymi dolegliwościami były bóle brzucha (40%) i pleców (35%). Tętniak, który był wyczuwalny przez pacjentów odczuwało 35% osób. Tabela 6 przedstawia częstość zgłaszanych objawów przez uczestników.

Objaw	No (%)
Ból pleców	7 (35%)
Ból brzucha	8 (40%)
Ból w okolicy pachwiny	2 (10%)
Zaparcia	4 (20%)
Kaszel	1 (5%)
Tętniak wyczuwalny przez pacjentów przez powłoki brzuszne	7 (35%)

Tabela 6. Objawy zgłaszane przez uczestników wraz z ich częstotliwością.

Całkowity czas hospitalizacji wyniósł  $13,9 \pm 6,92$  dni, przy czym okres pooperacyjny trwał średnio  $9,0 \pm 7,36$  dni. Przed operacją u wszystkich pacjentów został przeprowadzony test PCR w kierunku COVID, który był w 100% ujemny.

Klasyfikacja Crawforda została użyta w celu identyfikacji wariantów anatomicznych tętniaka piersiowo-brzusznego. Typ I został zdiagnozowany u 5% pacjentów, typ II u 0%,

typ III u 10% i typ IV u 85% uczestników. W żadnego pacjenta nie stwierdzono zakażenia rany pooperacyjnej. Sześciu pacjentów (30%) miało istotne zwężenie dowolnej gałęzi aorty (w tym u dwóch pacjentów zaobserwowano zwężenie pnia trzewnego, u dwóch pacjentów zaobserwowano zwężenie tętnicy biodrowej wewnętrznej, u dwóch pacjentów zaobserwowano zwężenie tętnicy nerkowej) Dodatkowe tętnice nerkowe miało 15% pacjentów, a u 10% dodatkowe tętnice nerkowe poddano embolizacji. Średnia ilość utraconej krwi wyniosła  $205 \pm 99,87$  ml. Operacja trwała średnio  $137,5 \pm 19,1$  minuty. W okresie pooperacyjnym u żadnego pacjenta nie obserwowano gorączki (temperatura  $>38$  °C). Tabela 7 przedstawia szczegóły operacji i charakterystykę TAAA.

Parametr	Średnia $\pm$ SD, Mediana (IQR) lub No%
Ilość dni w szpitalu po operacji [dni]	$9,0 \pm 7,36$ ; 7,00 (5-9)
Typ tętniaka według Crawforda (I-IV):	
I	1/20 (5%)
II	0/20 (0%)
III	2/20 (10%)
IV	17/20 (85%)
Dodatkowe tętnice nerkowe	3 (15%)
Embolizacja dodatkowych tętnic nerkowych	2 (10%)
Szacowana utrata krwi śródoperacyjnie [ml]	$205 \pm 99,87$ ; 175,00 (150-250)
Czas operacji [min]	$137,5 \pm 19,1$ ; 135,00 (120-150)
Czas fluoroskopii [min]	$27,4 \pm 11,9$ ; 24,30 (19-34,25)
Dawka promieniowania [mGy]	$873,88 \pm 543,49$ ; 678,30 (508,1-1110,65),
Dawka promieniowania [ $\mu$ Gy·cm <sup>2</sup> ]	$8203,81 \pm 4086,13$ ; 7189,250 (5476,1-10295,4)
Krytyczne zwężenie odgałęzień aorty	6 (30%)

Tabela 7. Charakterystyka TAAA oraz dane związane z operacją

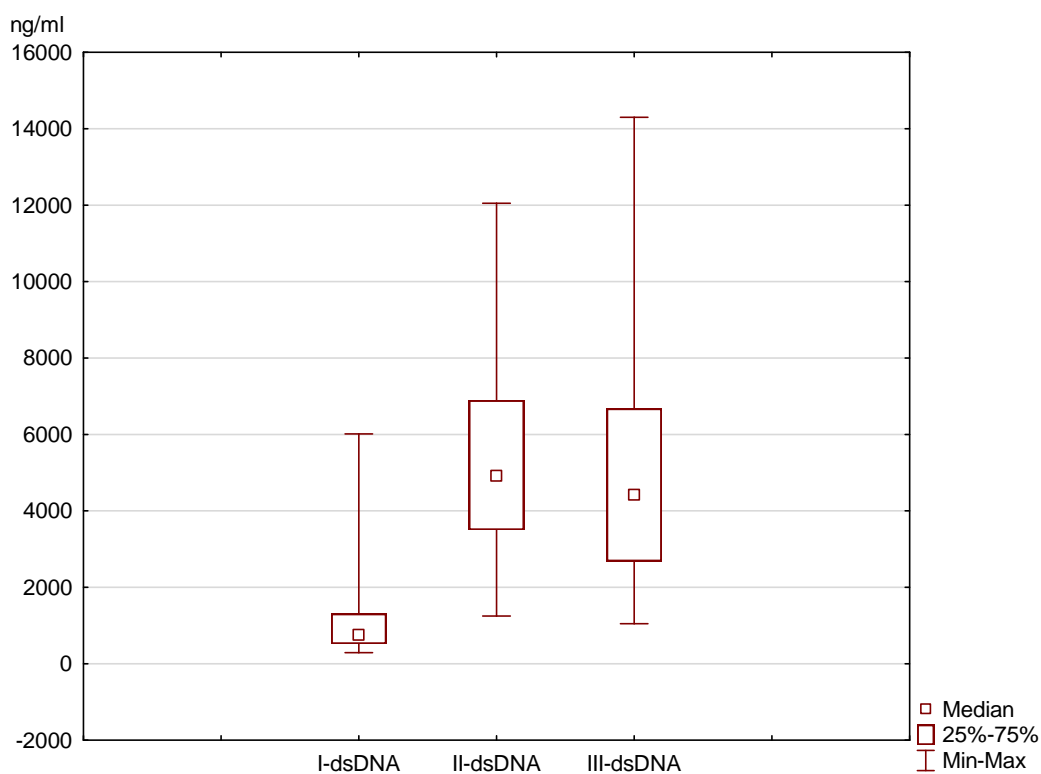
## 5 WYNIKI

### 5.1 Parametry NETs

Wartości parametrów NETs przedstawiono w tabeli 9.

#### 5.1.1 Stężenie dsDNA

W okresie przedoperacyjnym mediana stężenia dsDNA wynosiła 757,75 ng/ml (IQR: 520,75-1310,00 ng/ml). Stężenia dsDNA w dniach pooperacyjnych były istotnie wyższe niż w okresie przedoperacyjnym. (III dzień: dsDNA: mediana: 4907,50 ng/ml; IQR: 3500,00-6892,50 ng/ml; I-dsDNA & II-dsDNA  $p=0,000089$ , V dzień: dsDNA: mediana: 4420,00 ng/ml; IQR:2682,50-6677,50 ng/ml; I-dsDNA & III-dsDNA  $p=0,000176$ ) Stężenie dsDNA nie powracało do poziomu przedoperacyjnego aż do piątej doby pooperacyjnej (II-dsDNA & III-dsDNA  $p=0,925640$ ).



Rycina 1. Stężenie dsDNA przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

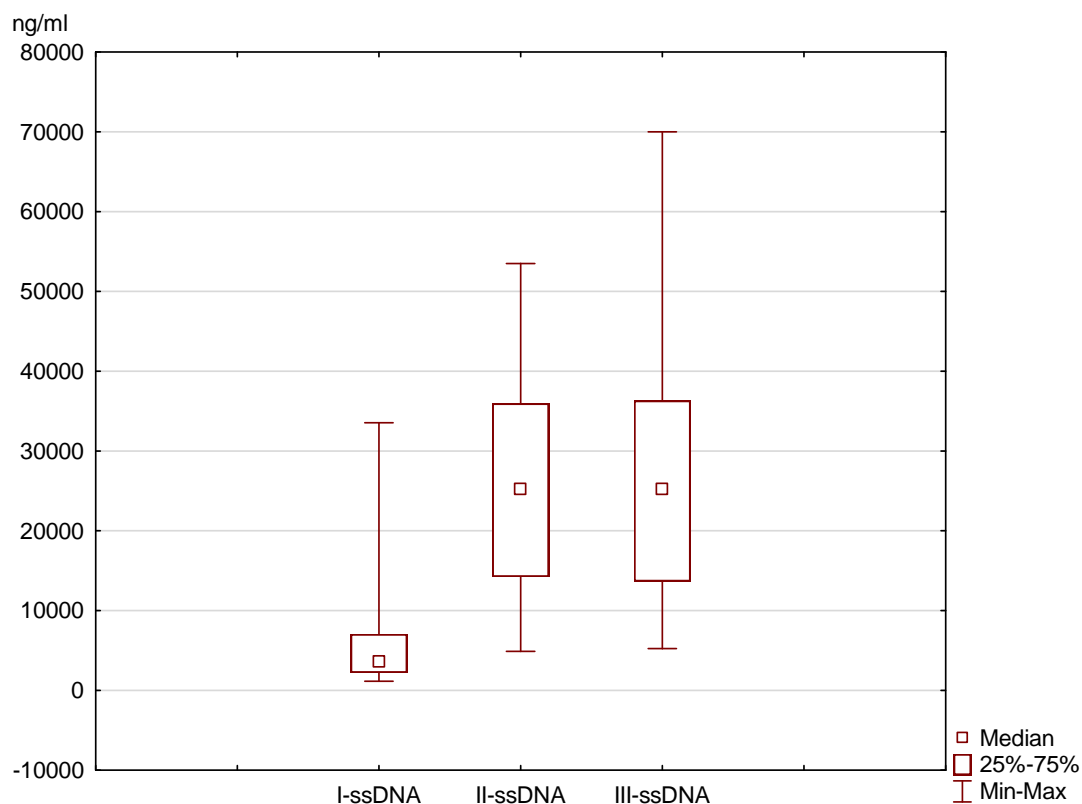
I-dsDNA & II-dsDNA  $p=0,000089$

I-dsDNA & III-dsDNA  $p=0,000176$

II-dsDNA & III-dsDNA  $p=0,925640$

### 5.1.2 Stężenie ssDNA

Najmniejsze stężenie spośród oznaczeń ssDNA uzyskano przedoperacyjnie (ssDNA: mediana: 3625,00 ng/ml; IQR: 2212,50-7057,50 ng/ml). W okresie pooperacyjnym stężenie ssDNA znacząco wzrosło w porównaniu ze stężeniem przedoperacyjnym ssDNA. W okresie pooperacyjnym stężenie ssDNA wyniosło III doba: mediana: 25250,00 ng/ml; IQR:14225,00-35975,00 ng/ml; I-ssDNA & II-ssDNA  $p= 0,000089$ , V doba: mediana: 25225,00 ng/ml; IQR: 13650,00-36325,00 ng/ml; I-ssDNA & III-ssDNA  $p= 0,000140$ . Podobnie jak w przypadku dsDNA, stężenie ssDNA nie uległo normalizacji do poziomu jaki był okresie przedoperacyjnym aż do piątej doby pooperacyjnej (II-ssDNA & III-ssDNA  $p = 0,736876$ ).



Rycina 2. Stężenie ssDNA przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).



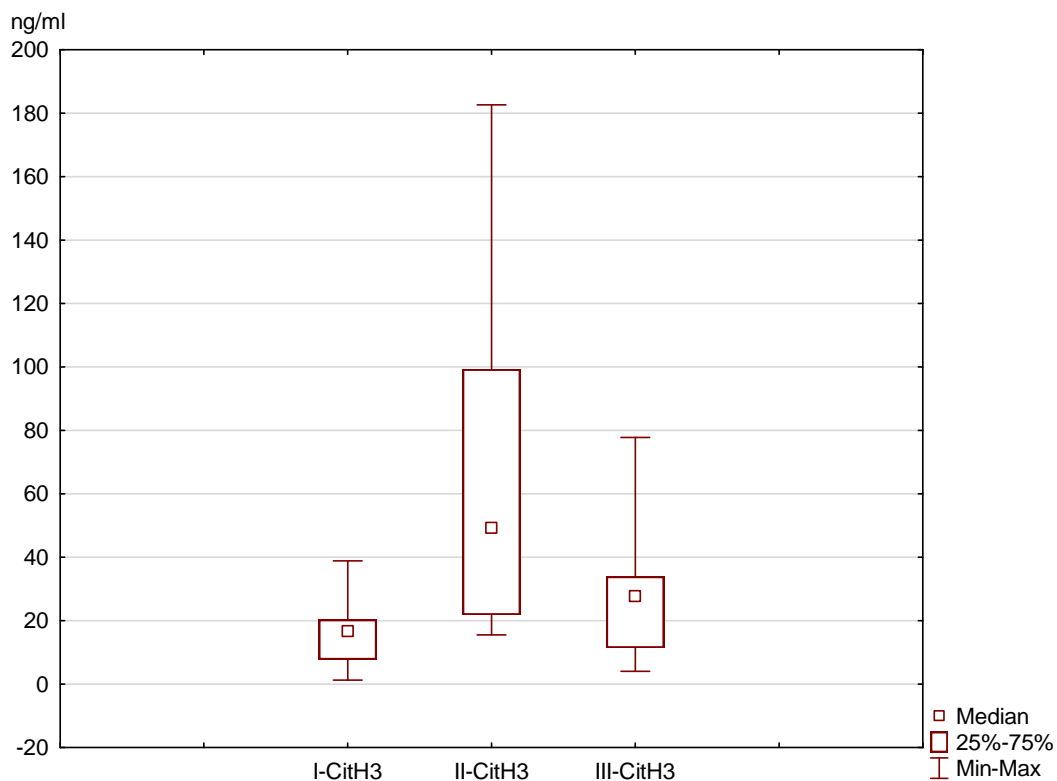
I-ssDNA & II-ssDNA  $p= 0,000089$

I-ssDNA & III-ssDNA  $p= 0,000140$

II-ssDNA & III-ssDNA  $p= 0,736876$

### 5.1.3 Stężenie Cit-H3

Stężenie Cit-H3 wykazało inną zmienność w czasie niż pozostałe parametry NETozy tj. dsDNA i ssDNA. Stężenie Cit-H3 wzrosło istotnie w trzeciej dobie pooperacyjnej w porównaniu z okresem przedoperacyjnym (Cit-H3 przedoperacyjne: mediana: 16,67 ng/ml; IQR:7,76-20,30 ng/ml; III doba: mediana: 49,23 ng/ml; IQR: 21,87-99,27 ng/ml; I-Cit-H3 i II-Cit-H3  $p=0,000103$ ). W piątej dobie pooperacyjnej stężenie Cit-H3 znacząco zmniejszyło się w porównaniu z dobą trzecią (dzień V: mediana: 27,73 ng/ml; IQR:11,44-33,92 ng/ml II-CitH3 & III-CitH3  $p= 0,001713$ ). Stężenie Cit-H3 nie różniło się istotnie między okresem przedoperacyjnym a piątą dobą pooperacyjną (I -Cit-H3 i III-Cit-H3  $p=0,061954$ ).



Rycina 3. Stężenie Cit-H3 przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).

I-CitH3 & II-CitH3 p= 0,000103

I-CitH3 & III-CitH3 p= 0,061954

II-CitH3 & III-CitH3 p= 0,001713

#### 5.1.4 Relacja stężeń ssDNA i dsDNA

Porównując stężenia ssDNA i dsDNA w każdym pobraniu krwi, stężenie ssDNA było istotnie wyższe niż stężenie dsDNA (I-dsDNA [ng/ml] & I-ssDNA [ng/ml] p=0,000089, II-dsDNA [ng/ml] i II-ssDNA [ng/ml] p=0,000089, III-dsDNA [ng/ml] i III-ssDNA [ng/ml] p=0,000089).

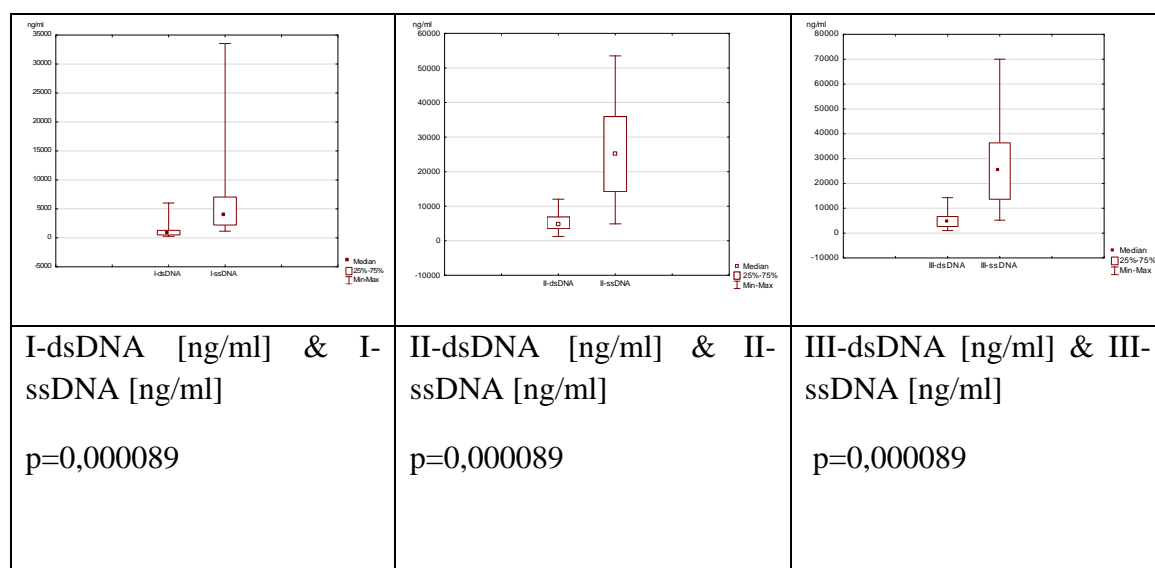
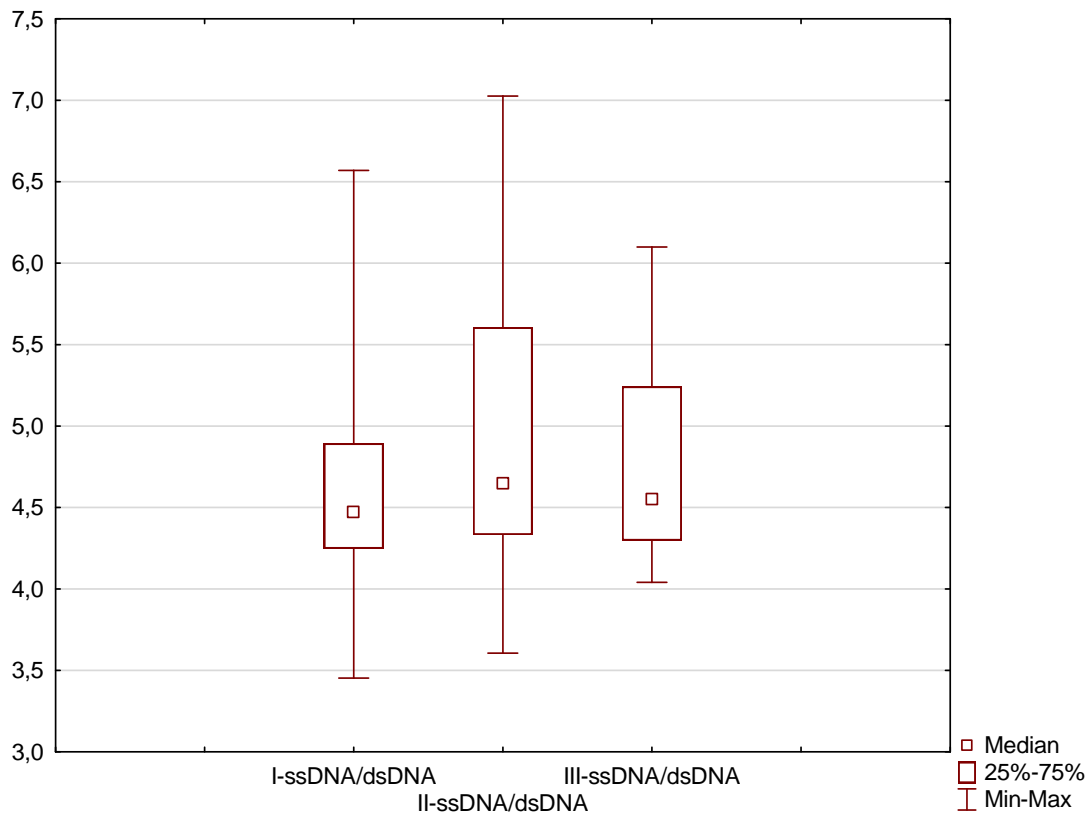


Tabela 8. Porównanie stężeń między ssDNA i dsDNA (test rang Wilcoxon).

#### Stosunek ssDNA/dsDNA

Stosunek ssDNA do dsDNA pozostawał na stałym poziomie w każdym pobraniu (I-ssDNA/dsDNA & II-ssDNA/dsDNA p=0,117525; I-ssDNA/dsDNA & III-ssDNA/dsDNA p=0,358795; II-ssDNA/dsDNA i III-ssDNA/dsDNA p=1). Pomimo pooperacyjnego wzrostu ssDNA i dsDNA stosunek ten pozostał niezmienny i był względnie porównywalny u każdego pacjenta (I-ssDNA/dsDNA IQR=4,27-4,86; II-ssDNA/dsDNA IQR=4,33-5,50, III-ssDNA/dsDNA IQR=4,37-5,21).



Rycina 4. Rozkład stosunku ssDNA do dsDNA przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

I-ssDNA/dsDNA & II-ssDNA/dsDNA  $p=0,117525$

I-ssDNA/dsDNA & III-ssDNA/dsDNA  $p=0,358795$

II-ssDNA/dsDNA & III-ssDNA/dosadna  $p=1,0000$

Parametr	Okres przedoperacyjny	Okres pooperacyjny	Okres pooperacyjny
	(- 24h)	(III dzień)	(V dzień)
	Średnia ± SD	Średnia ± SD	Średnia ± SD
	Mediana	Mediana	Mediana
	IQR	IQR	IQR
dsDNA [ng/ml]	1347,93 ± 1551,65 757,75 520,75-1310,00	5289,75 ± 2815,52 4907,50 3500,00-6892,50	5340,50 ± 3767,26 4420,00 2682,50-6677,50
ssDNA [ng/ml]	6551,00 ± 7987,49 3625,00 2212,50-7057,50	26151,75 ± 14182,07 25250,00 14225,00-35975,00	27426,75 ± 18367,58 25225,00 13650,00-36325,00
Cit-H3 [ng/ml]	16,20 ± 9,92 16,67 7,76-20,30	66,57 ± 54,10 49,23 21,87-99,27	26,97 ± 17,48 27,73 11,44-33,92
ssDNA/ dsDNA	4,67 ± 0,79 4,47 4,27-4,86	4,93 ± 0,91 4,65 4,33-5,50	4,84 ± 0,62 4,55 4,37-5,21

Tabela 9. Wartości badanych parametrów NETs.

### Korelacje ssDNA i dsDNA

Na podstawie wyników korelacji rang Spearmana, można stwierdzić, że wystąpiła silna korelacja między ssDNA i dsDNA. W okresie przedoperacyjnym wynosił  $r=0,975555$  ( $p=0,000000$ ), w trzeciej dobie pooperacyjnej  $r=0,908271$  ( $p=0,000000$ ), a w piątej dobie  $r=0,863158$  ( $p=0,000001$ ).

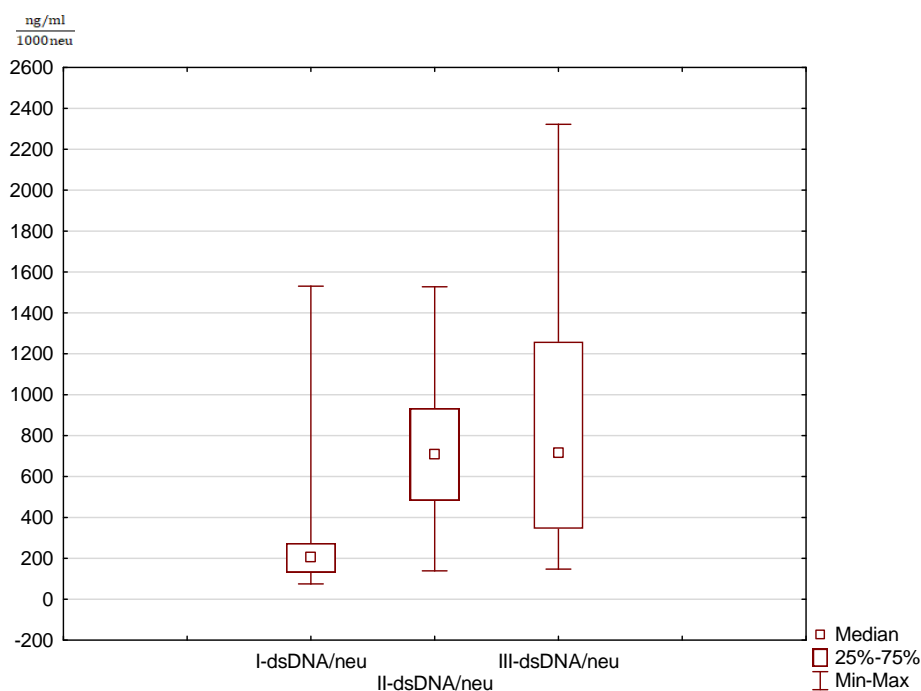
Parametr	I-dsDNA [ng/ml]	II-dsDNA [ng/ml]	III-dsDNA [ng/ml]
I-ssDNA [ng/ml]	0,975555	ns	ns
II-ssDNA [ng/ml]	ns	0,908271	0,548872
III-ssDNA [ng/ml]	ns	0,675188	0,863158

Tabela 10. Korelacje stężeń między ssDNA i dsDNA (Korelacje Spearmana) przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej.

### 5.1.5 Wskaźniki określające dynamikę wydzielania NETs z neutrofilii

#### Wskaźnik dsDNA/neu

Stosunek dsDNA na 1000 neutrofilii był istotnie zwiększony między okresem przedoperacyjnym a trzecim i piątym dniem pooperacyjnym (I-dsDNA/neu & II-dsDNA/neu  $p=0,000517$ ; I-dsDNA/neu i III-dsDNA/neu  $p=0,001477$ ). Stosunek ten nie powracał do wartości przedoperacyjnego, aż do piątej doby pooperacyjnej. W okresie pooperacyjnym, nie było istotnej różnicy między trzecią a piątą dobą po operacji (II-dsDNA/neu & III-dsDNA/neu  $p=0,903908$ ).



Rycina 5. Wskaźnik dsDNA do neutrofilii przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

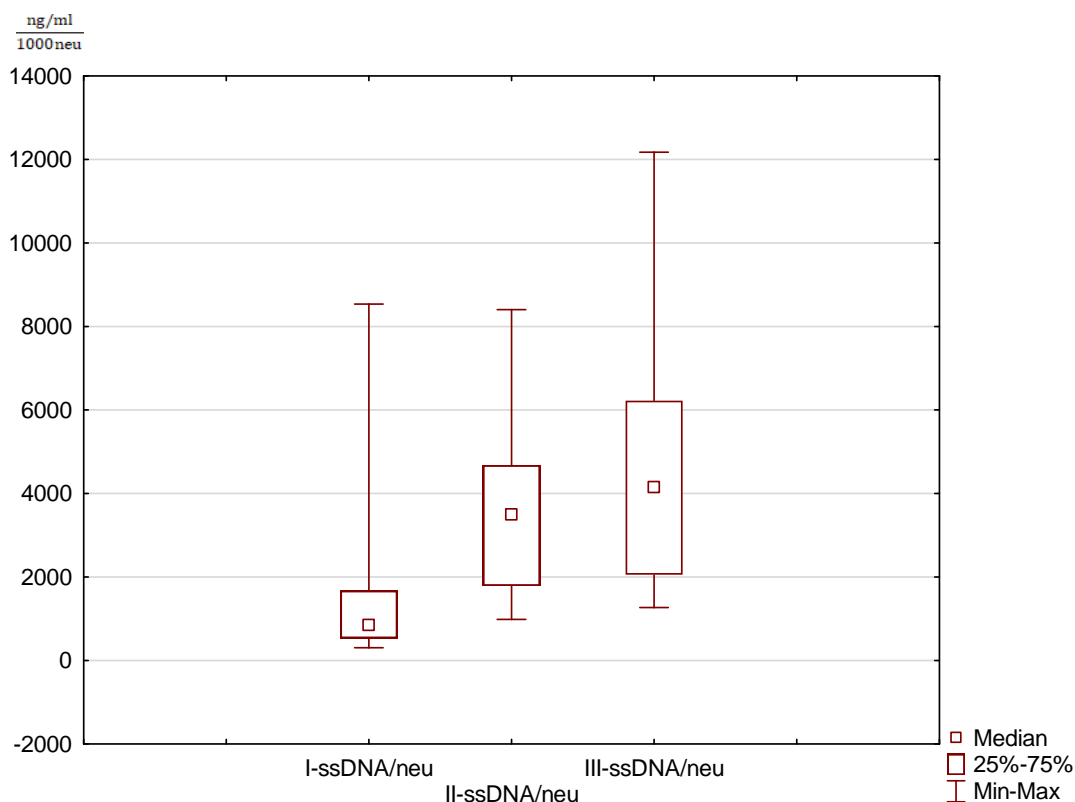
I-dsDNA/neu & II-dsDNA/neu  $p=0,000517$

I-dsDNA/neu & III-dsDNA/neu  $p=0,001477$

II-dsDNA/neu & III-dsDNA/neu  $p=0,903908$

### 5.1.6 Wskaźnik ssDNA/neu

Wskaźnik ssDNA do 1000 neutrofilii istotnie wzrósł między okresem przedoperacyjnym a okresem pooperacyjnym (I-ssDNA/neu i II-ssDNA/neu  $p=0,000219$ , I-ssDNA/neu i III-ssDNA/neu  $p=0,001116$ ). Zaobserwowano znamienny wzrost wskaźnika między trzecią a piątą dobą po operacji (II-ssDNA/neu i III-ssDNA/neu  $p=0,027721$ ).



Rycina 6. Wskaźnik ssDNA do neutrofilii przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

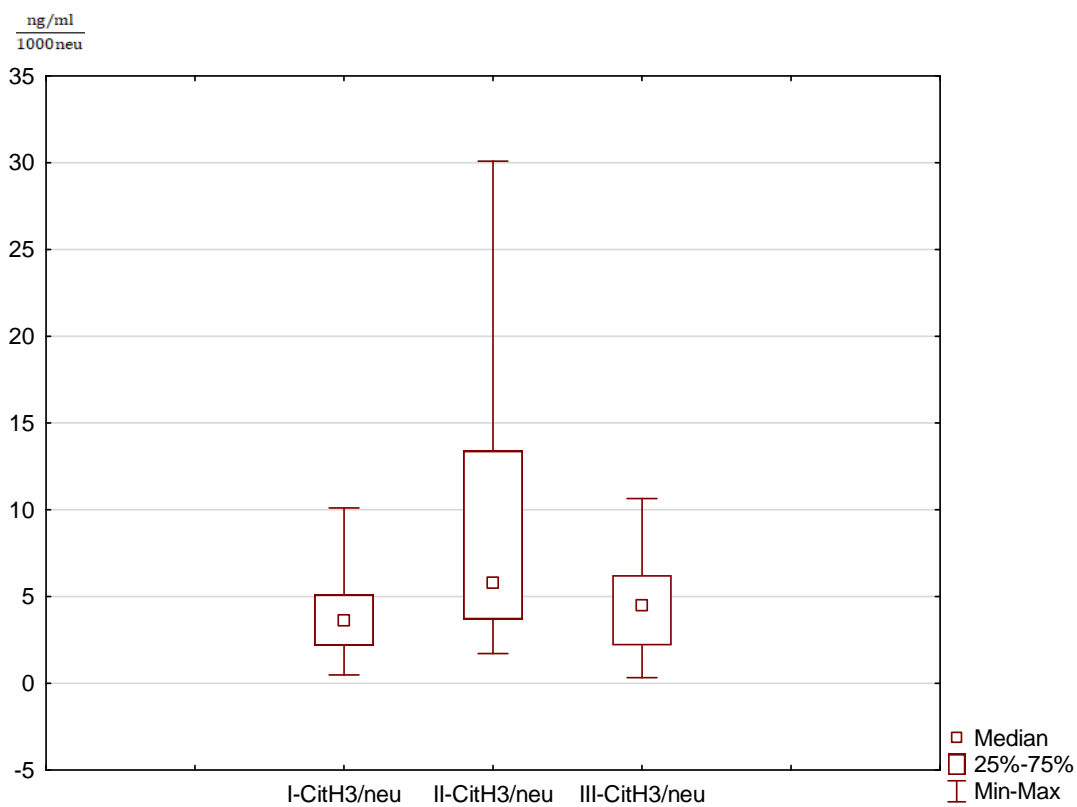
I-ssDNA/neu & II-ssDNA/neu  $p=0,000219$

I-ssDNA/neu & III-ssDNA/neu  $p=0,001116$

II-ssDNA/neu & III-ssDNA/neu  $p=0,027721$

### 5.1.7 Wskaźnik Cit-H3/neu

Wskaźnik stężenia Cit-H3 na 1000 neutrofilii uległ istotnemu wzrostowi pomiędzy okresem przedoperacyjnym a trzecią dobą pooperacyjną (I-CitH3/neu & II-CitH3/neu  $p=0,000681$ ). W okresie pooperacyjnym zaobserwowano istotne zmniejszenie wskaźnika między trzecią a piątą dobą po operacji (II-CitH3/neu & III-CitH3/neu  $p=0,011237$ ). Stosunek uległ normalizacji do stanu przedoperacyjnego w piątym dniu pooperacyjnym (I-CitH3/neu & III-CitH3/neu  $p=0,519657$ ).



Rycina 7. Wskaźnik Cit-H3 do neutrofilii przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

I-CitH3/neu & II-CitH3/neu  $p=0,000681$

I-CitH3/neu & III-CitH3/neu  $p=0,519657$

II-CitH3/neu & III-CitH3/neu  $p=0,011237$



Parametr	Okres przedoperacyjny	Okres pooperacyjny	Okres pooperacyjny
	(- 24h)	(III dzień)	(V dzień)
	Średnia ± SD	Średnia ± SD	Średnia ± SD
	Mediana	Mediana	Mediana
	IQR	IQR	IQR
dsDNA/neu	334,09 ± 366,00	736,28 ± 388,28	872,35 ± 616,84
	205,71	708,31	715,21
	131,83-263,31	486,73-920,40	374,60-1185,18
ssDNA/neu	1629,79 ± 1953,27	3588,95 ± 2083,50	4463,23 ± 3023,51
	852,07	3492,26	4151,32
	560,98-1660,28	1858,92-4583,56	2190,03-5693,89
CitH3/neu	4,00 ± 2,68	9,39 ± 8,25	4,47 ± 2,87
	3,61	5,77	4,49
	2,18-4,99	3,99-11,75	2,30-6,20

Tabela 11. Wskaźniki określające dynamikę wydzielania NETs z neutrofilami w okresie przedoperacyjnym oraz pooperacyjnym.

## 5.2 Wyniki badań laboratoryjnych

Wartości parametrów układu białokrwinkowego, stanu zapalnego i układu krzepnięcia są przedstawione w tabelach 12, 13, 14.

Parametr	Pobranie	Przedoperacyjnie	Pooperacyjnie	Pooperacyjnie
		(-24h)	(III dzień)	(V dzień)
		Średnia ( $\pm$ SD)	Średnia ( $\pm$ SD)	Średnia ( $\pm$ SD)
		Mediana	Mediana	Mediana
		IQR	IQR	IQR
1. WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ]		7,73 $\pm$ 2,11	10,70 $\pm$ 3,56	10,03 $\pm$ 3,74
		7,26	10,73	10,33
		6,23-9,10	7,77-13,37	6,96-12,76
2. NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ]		4,31 $\pm$ 1,63	7,84 $\pm$ 3,06	6,91 $\pm$ 6,91
		4,27	7,23	6,51
		3,05-4,91	5,68-9,74	5,00-7,90
3. LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ]		2,48 $\pm$ 1,42	1,64 $\pm$ 1,64	1,98 $\pm$ 1,42
		2,32	1,27	1,60
		1,55-2,65	0,93-2,00	1,39-2,30
4. neu/limf ratio (NLR)		2,15 $\pm$ 1,49	6,89 $\pm$ 4,94	4,92 $\pm$ 5,14
		1,87	5,62	3,41
		1,20-2,35	3,59-9,68	2,54-5,49
5. MON [ $10^3/\mu\text{l}$ ]		1,11 $\pm$ 1,48	1,37 $\pm$ 1,49	1,44 $\pm$ 1,48
		0,72	1,11	1,00
		0,60-1,12	0,62-1,52	0,90-1,60
6. EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ]		0,62 $\pm$ 1,59	0,50 $\pm$ 1,61	0,62 $\pm$ 1,63
		0,21	0,12	0,17
		0,16-0,42	0,04-0,24	0,10-0,50
7. BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ]		0,39 $\pm$ 1,63	0,38 $\pm$ 1,63	0,40 $\pm$ 1,67
		0,03	0,02	0,01
		0,01-0,05	0,00-0,03	0,00-0,02
8. NEU [%]		52,35 $\pm$ 15,65	73,91 $\pm$ 8,60	66,76 $\pm$ 10,38
		52,95	73,85	62,90

	47,15-59,10	67,75-79,85	60,70-72,70
9. LYM [%]	32,58 ± 13,61	16,73 ± 14,61	21,37 ± 14,46
	29,55	13,05	18,30
	24,50-38,85	8,35-19,00	13,70-24,50
10. MON [%]	13,55 ± 14,10	13,05 ± 14,41	14,68 ± 14,42
	10,50	10,45	12,10
	9,10-12,30	8,50-12,90	9,80-13,50
11. EOS [%]	7,01 ± 15,63	5,11 ± 15,96	6,29 ± 16,19
	3,25	1,40	2,20
	2,25-5,15	0,40-2,80	1,30-3,90
12. BASO [%]	4,14 ± 16,14	3,84 ± 16,21	4,05 ± 16,62
	0,50	0,20	0,30
	0,40-0,65	0,10-0,30	0,00-0,40

Tabela 12. Parametry układu białokrwinkowego w okresie przedoperacyjnym i pooperacyjnym.

Parametr	Pobranie	Przedoperacyjnie	Pooperacyjnie	Pooperacyjnie
		(-24h)	(III dzień)	(V dzień)
		Średnia (± SD)	Średnia (± SD)	Średnia (± SD)
		Mediana	Mediana	Mediana
		IQR	IQR	IQR
1. PLT [ $10^3/\mu\text{l}$ ]		211,49 ± 66,51	146,84 ± 60,21	152,59 ± 68,64
		203,00	129,00	136,50
		179,50-242,00	114,00-166,00	116,00-172,00
2. MPV [fl]		13,56 ± 13,97	13,57 ± 13,97	13,70 ± 13,94
		10,80	10,35	10,20
		10,15-11,05	9,55-11,60	9,70-11,50
3. PCT [%]		0,23 ± 0,06	0,15 ± 0,05	0,16 ± 0,07

	0,22	0,15	0,15
	0,20-0,25	0,12-0,16	0,12-0,017
4. PDW [fl]	13,36 ± 2,55	14,04 ± 2,43	15,01 ± 3,60
	12,55	14,30	15,10
	12,25-13,50	12,70-15,20	12,10-17,35
5. Czas protrombinowy [s]	12,40 ± 1,34	13,79 ± 1,48	12,67 ± 1,06
	12,10	13,70	12,30
	11,70-12,55	12,30-15,20	11,70-12,55
6. Indeks protrombinowy [%]	96,95 ± 9,12	87,21 ± 9,52	90,25 ± 20,19
	98,00	87,00	97,00
	95,00-102,00	78,00-97,00	87,00-102,00
7. INR	1,04 ± 0,12	1,17 ± 0,12	1,07 ± 0,09
	1,02	1,15	1,03
	0,98-1,06	1,03-1,28	0,98-1,11
8. Fibrinogen [mg/dl]	406,65 ± 129,78	441,10 ± 88,3	491,11 ± 139,18
	390,50	443,00	450,00
	298,00-472,00	384,50-490,50	376,00-609,00
9. D-dimer [ng/ml]	4113,25 ± 2734,32	6236,80 ± 2793,72	5839,42 ± 2577,47
	3460,50	6309,00	5533,00
	2012,75-5662,50	3605,50-8481,50	3276,00-7364,50
10. APTT [s]	33,31 ± 9,34	43,87 ± 20,98	31,31 ± 4,30
	30,45	32,20	31,60
	28,95-3,55	30,00-59,89	28,50-34,55
11. APTT RATIO	1,11 ± 0,31	1,46 ± 0,70	1,04 ± 0,14
	1,02	1,07	1,05
	0,97-1,15	1,00-2,00	0,95-1,16

Tabela 13. Parametry układu krzepnięcia w okresie przedoperacyjnym i pooperacyjnym.

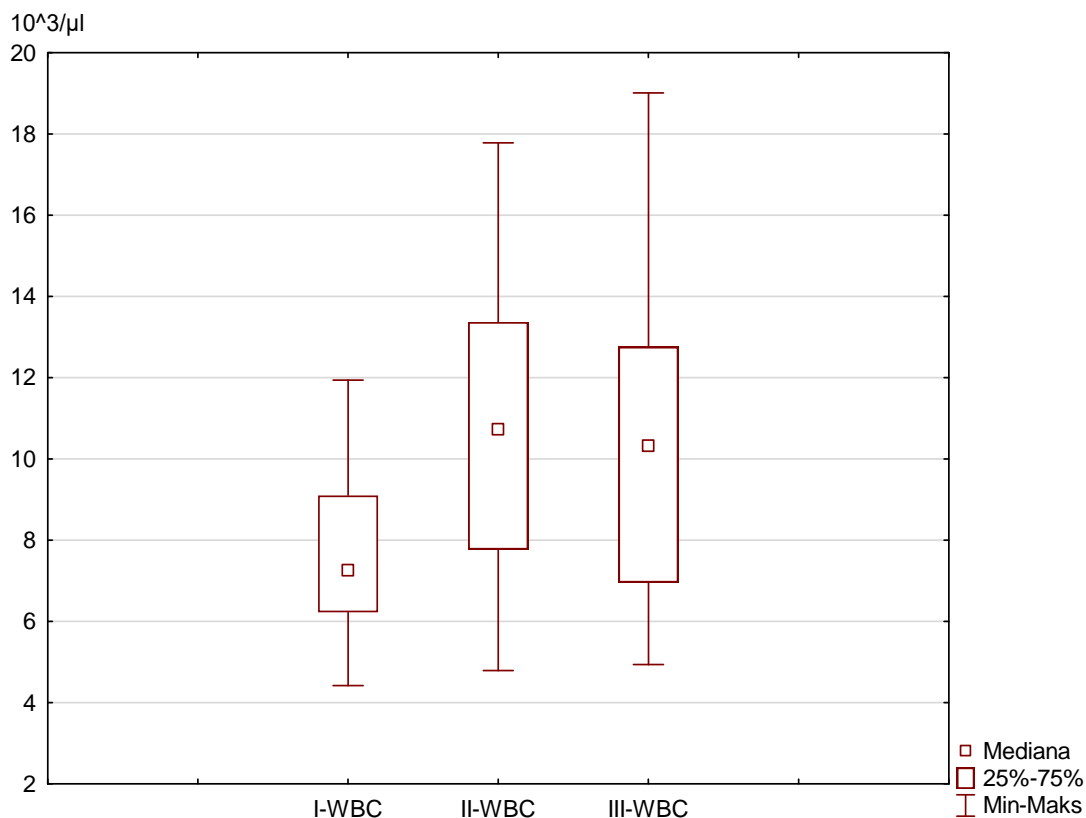
Parametr	Pobranie	Przedoperacyjnie	Pooperacyjnie	Pooperacyjnie
		(-24h)	(III dzień)	(V dzień)
		Średnia ( $\pm$ SD)	Średnia ( $\pm$ SD)	Średnia ( $\pm$ SD)
		Mediana	Mediana	Mediana
		IQR	IQR	IQR
1. CRP [mg/l]		21,86 $\pm$ 31,19	143,58 $\pm$ 54,35	141,28 $\pm$ 52,07
		7,50	131,2	152,50
		2,75-35,10	112,10-180,70	104,30-178,90
2. Prokalcytonina [ng/ml]		0,05 $\pm$ 0,03	1,03 $\pm$ 3,51	0,45 $\pm$ 1,08
		0,05	0,02	0,14
		0,03-0,05	0,14-0,25	0,12-0,24

Tabela 14. Parametry stanu zapalnego w okresie przedoperacyjnym i pooperacyjnym.

## 5.2.1 Parametry układu białokrwinkowego

### 5.2.1.1 Stężenie białych krwinek (WBC)

Stężenie białych krwinek (*WBC- white blood cells*) zmieniło się pomiędzy okresem przed i po implantacji stentu. Stężenie WBC wzrosło statystycznie po założeniu t-Branch (trzeciego i piątego dnia, I-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i II-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,001713$ ; I-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i III-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,002495$ ) i nie powróciło do wartości przedoperacyjnych aż do piątej doby pooperacyjnej (II-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,304587$ ).



Rycina 8. Stężenie WBC przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma WBC:  $4-11 \times 10^3/\mu\text{l}$

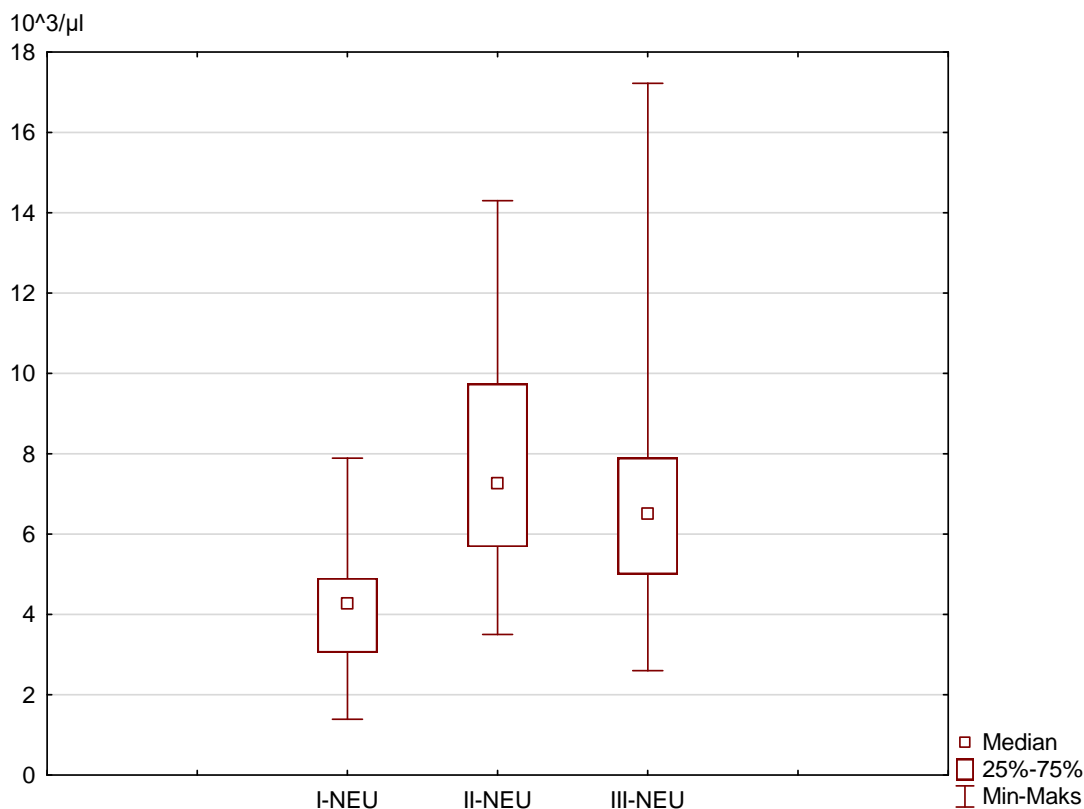
I-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & II-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,001713$

I-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,002495$

II-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,304587$

### 5.2.1.2 Stężenie i odsetek neutrofilów (NEU)

Neutrofile (*NEU- neutrophils*), które są największą frakcją WBC wykazują podobne zmiany jak WBC. Stężenie neutrofilów wzrosło w okresie pooperacyjnym (I-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & II-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,000455$ , I-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,004970$ ) i nie uległo obniżeniu aż do ostatniego pobrania krwi (II-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,092861$ ).



Rycina 9. Stężenie NEU przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

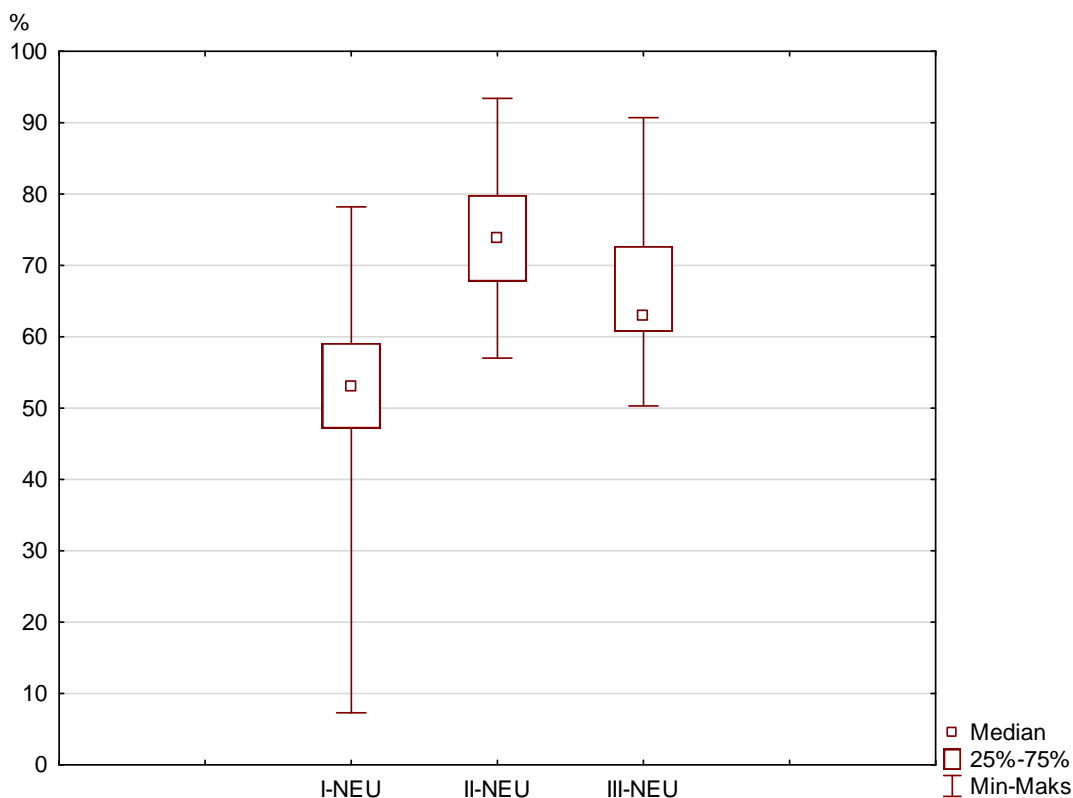
Norma NEU:  $1,9-8 \times 10^3/\mu\text{l}$

I-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & II-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,000455$

I-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,004970$

II-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,092861$

Odsetek neutrofilów wzrósł statystycznie między okresem przedoperacyjnym a trzecią dobą pooperacyjną (I-NEU [%] i II-NEU [%]  $p=0,000189$ ) i istotnie spadł między trzecią a piątą dobą pooperacyjną (II-NEU [%] i III-NEU [%]  $p=0,001370$ ). Mimo to odsetek neutrofilów w piątej dobie pooperacyjnej był nadal istotnie wyższy niż przed operacją (I-NEU [%] & III-NEU [%]  $p=0,003307$ ).



Rycina 10. Odsetek NEU przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).

Norma NEU: 50-66%

I-NEU [%] & II-NEU [%]  $p=0,000189$

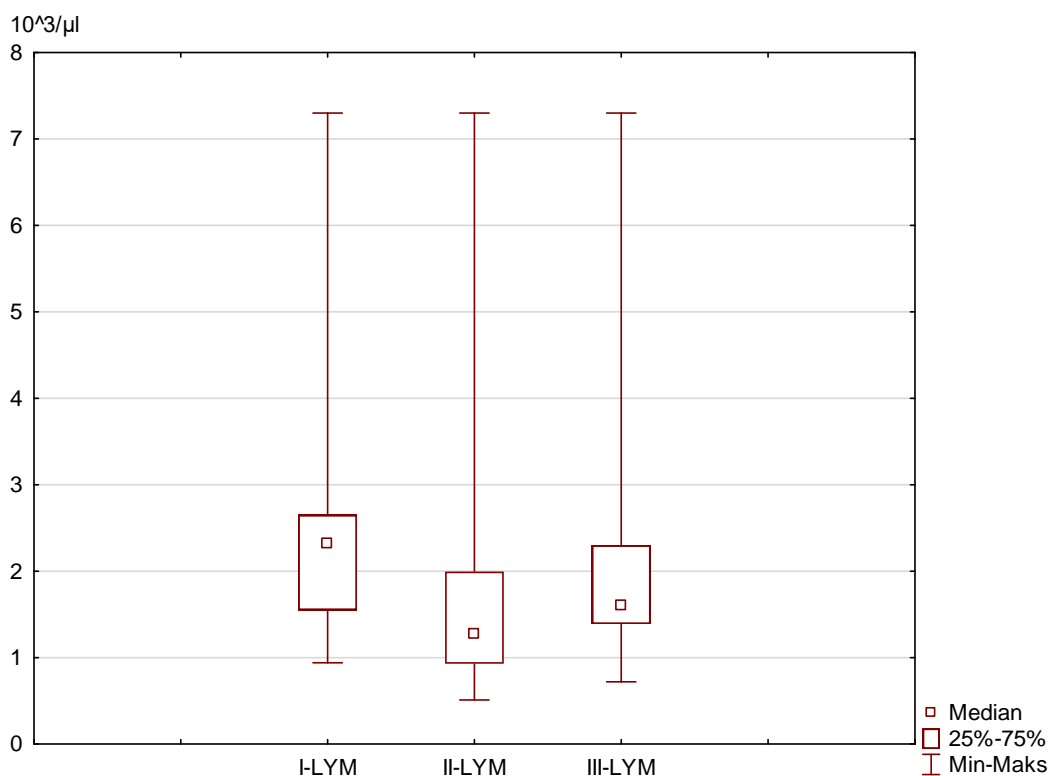
I-NEU [%] & III-NEU [%]  $p=0,003307$

II-NEU [%] & III-NEU [%]  $p=0,001370$

### 5.2.1.3 Stężenie i odsetek limfocytów (LYM)

Limfocyty (*LYM- lymphocytes*), druga pod względem liczebności frakcja białych krwinek po neutrofilach, uległy odwrotnym zmianom niż neutrofile. W przeciwieństwie do okresu przedoperacyjnego stężenie limfocytów spadło w trzeciej dobie pooperacyjnej (I-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i II-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p= 0,000625$ ). Następnie stężenie limfocytów statystycznie wzrosło między trzecim a piątym dniem po operacji (II-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i III-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,031105$ ), ale nie osiągając poziomu sprzed operacji (I -LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,004970$ ). Wskazuje to, że najniższe stężenie limfocytów stwierdzono w próbkach pobranych w trzeciej dobie pooperacyjnej.





Rycina 11. Stężenie LYM przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

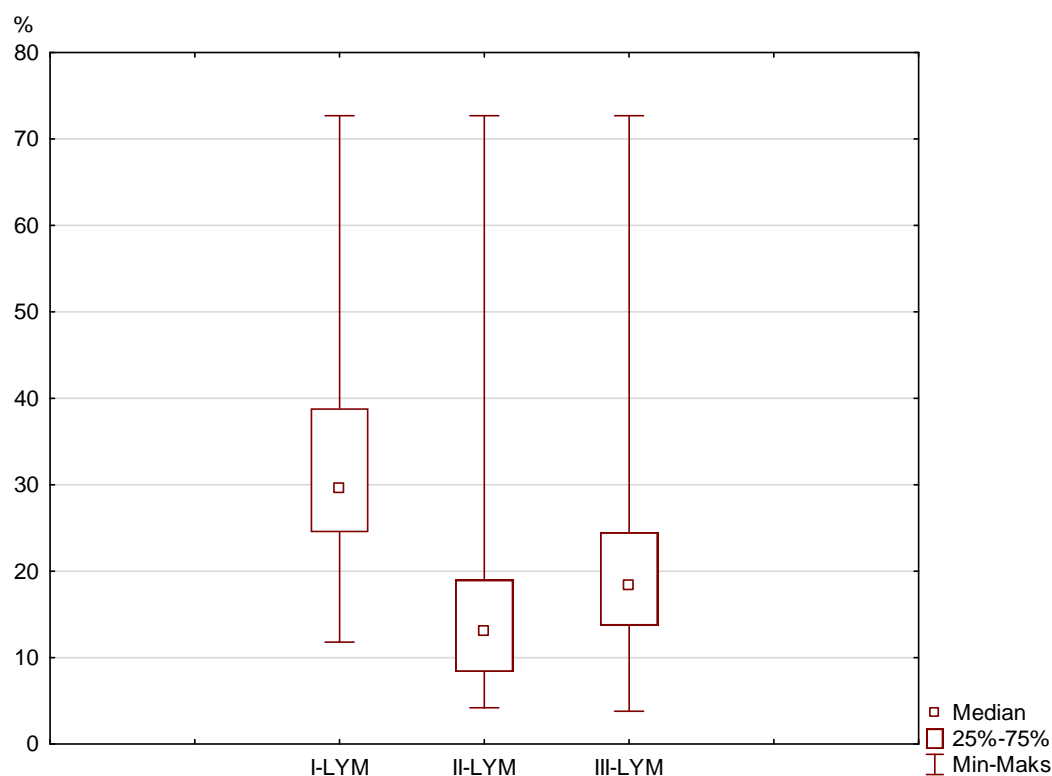
Norma LYM:  $0,9-5,2 \times 10^3/\mu\text{l}$

I-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & II-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,000625$

I-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p= 0,004970$

II-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,031105$

Odsetek limfocytów wykazywał te same zależności co stężenie limfocytów. Odsetek limfocytów zmniejszył się istotnie po operacji (I-LYM [%] i II-LYM [%]  $p=0,000214$ , I-LYM [%] i III-LYM [%]  $p=0,001009$ ). W trzeciej dobie pooperacyjnej stężenie było najniższe. Do piątej doby pooperacyjnej odsetek limfocytów nie zwiększył się do poziomu sprzed operacji, pomimo istotnego wzrostu między trzecią a piątą dobą po operacji (II-LYM [%] i III-LYM [%]  $p=0, 005317$ ).



Rycina 12. Odstek LYM przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).

Norma LYM: 20-40%

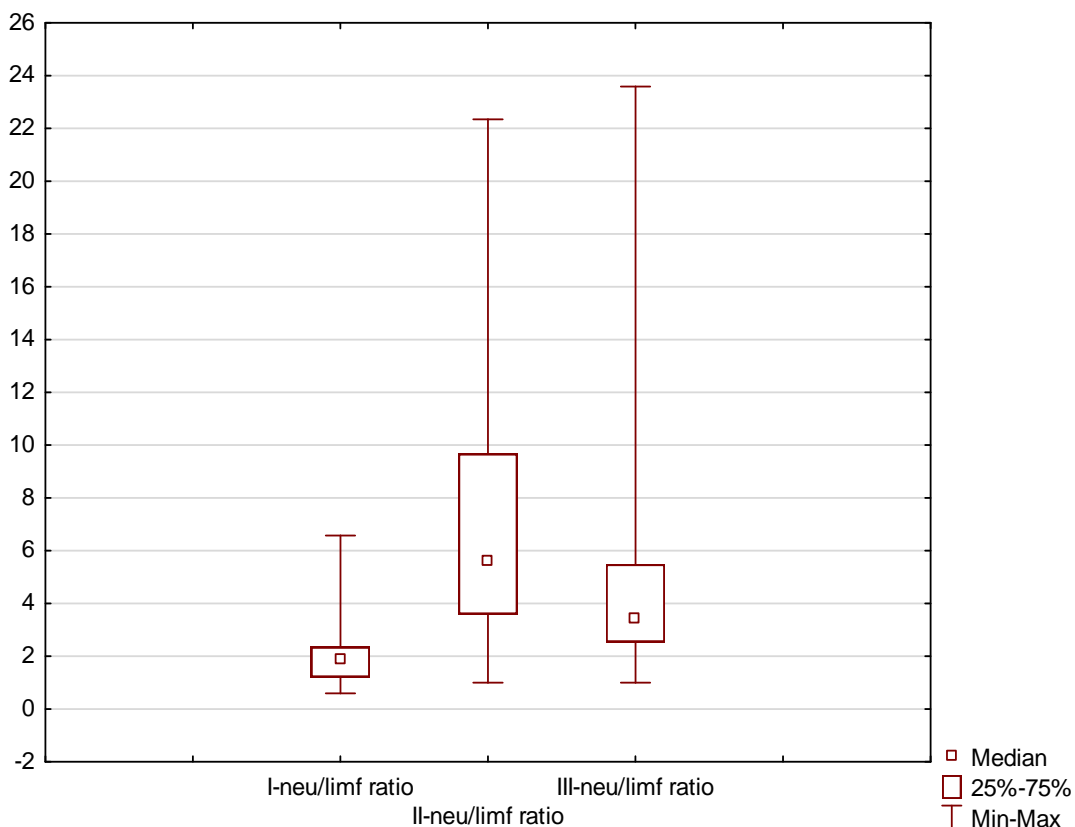
I-LYM [%] & II-LYM [%]  $p=0,000214$

I-LYM [%] & III-LYM [%]  $p=0,001009$

II-LYM [%] & III-LYM [%]  $p=0,005317$

#### 5.2.1.4 Wskaźnik neutrofilowo-limfocytowy (NLR)

Wzajemny stosunek neutrofilów i limfocytów, znany jako NLR (*neutrophils to lymphocytes ratio*), zmienia się wraz ze zmianą ich stężeń składowych tego stosunku. Porównując stan przedoperacyjny z trzecim dniem pooperacyjnym, NLR wzrosło (I-NLR i II-NLR  $p=0,000463$ ). NLR istotnie spadło między trzecim a piątym dniem pooperacyjnym (II-NLR i III-NLR  $p=0,007399$ ), i nie osiągnęło poziomu przedoperacyjnego (I-NLR i III-NLR  $p=0,009563$ ).



Rycina 13. Wskaźnik NLR przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma: 0,78-3,53

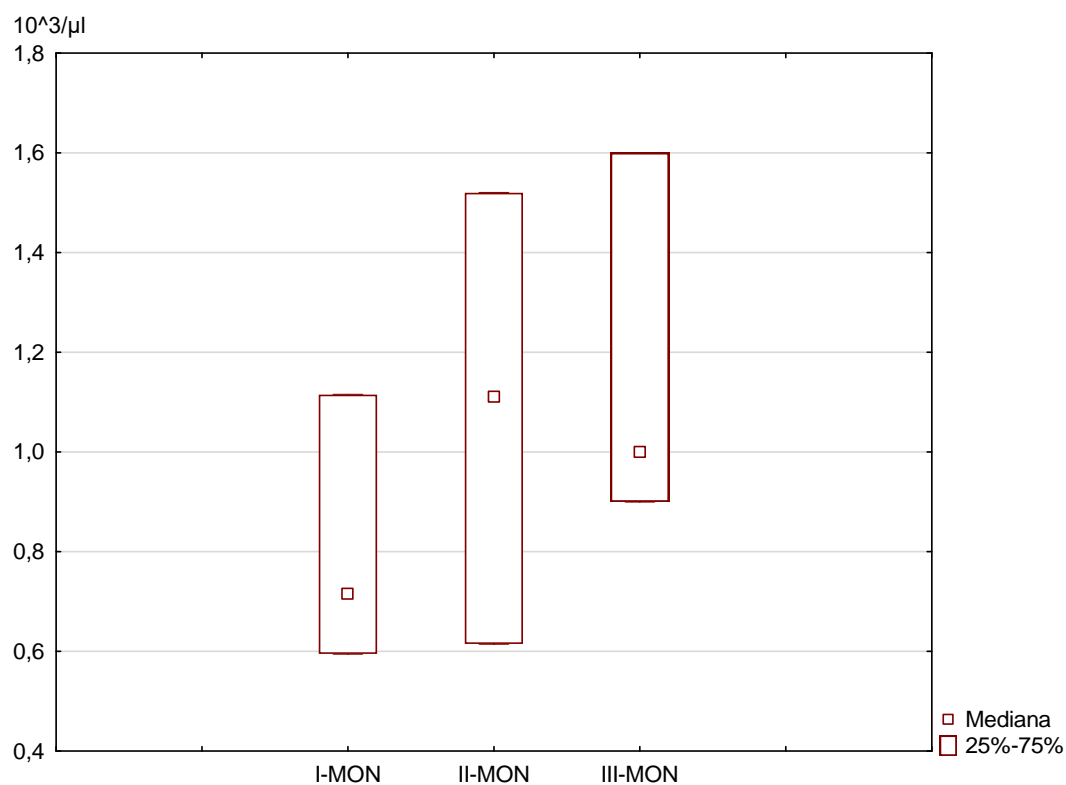
I-NLR & II- NLR  $p=0,000463$

I- NLR & III- NLR  $p=0,009563$

II- NLR & III- NLR  $p=0,007399$

### 5.2.1.5 Stężenie i odsetek monocytów (MON)

Monocyty (*MON- monocytes*), jedna ze składowych WBC, wykazują różnice w stężeniu przed i po interwencji chirurgicznej. Stężenie monocytów wzrosło między okresem przedoperacyjnym a trzecią dobą po operacji (I-MON [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & II-MON [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,007399$ ). Następnie stężenie pozostało podwyższone do 5. doby pooperacyjnej (I-MON [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-MON [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,000581$ , II-MON [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-MON [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,776389$ ).



Rycina 14. Stężenie MON przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).

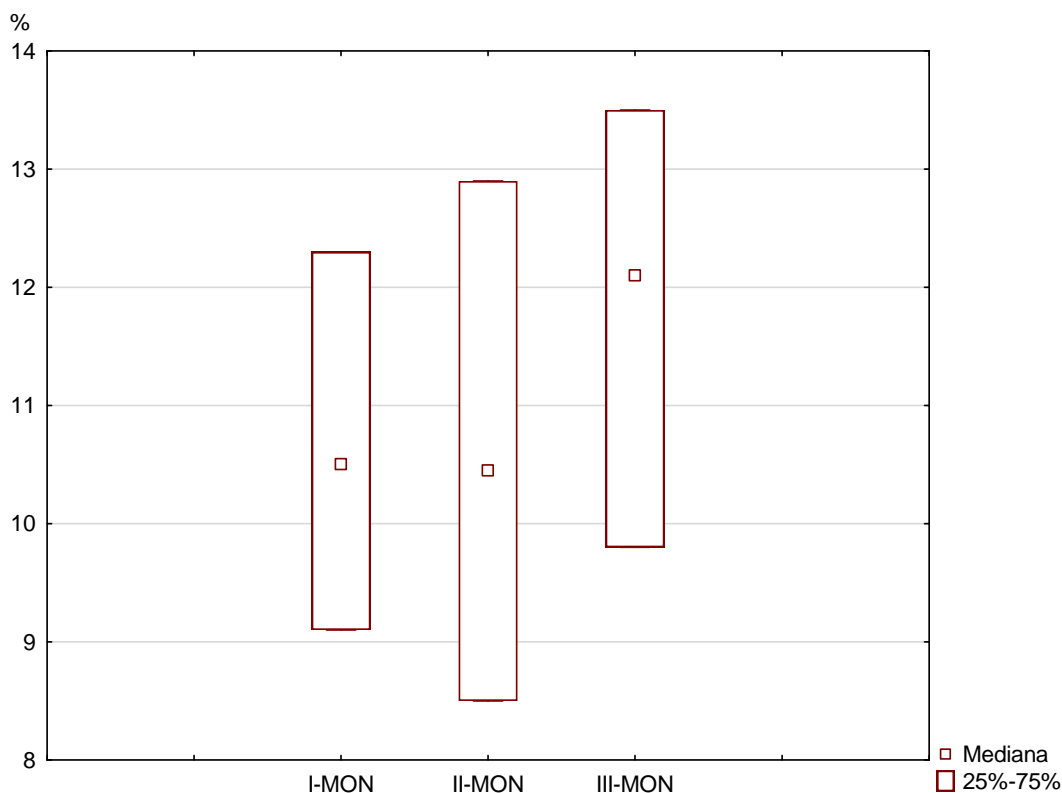
Norma MON:  $0,16-1 \times 10^3/\mu l$

I-MON [ $10^3/\mu l$ ] & II-MON [ $10^3/\mu l$ ]  $p=0,007399$

I-MON [ $10^3/\mu l$ ] & III-MON [ $10^3/\mu l$ ]  $p=0,000581$

II-MON [ $10^3/\mu l$ ] & III-MON [ $10^3/\mu l$ ]  $p=0,776389$

Pomimo statystycznie istotnych zmian stężenia monocytów w poszczególnych dniach, nie zaobserwowano statystycznych różnic w odsetku monocytów pomiędzy poszczególnymi pobraniami (I-MON [%] i II-MON [%]  $p=0,432617$ , I-MON [%] i III -MON [%]  $p=0,338009$ , II-MON [%] i III-MON [%]  $p=0,11192$ ).



Rycina 15. Odsetek MON przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).

Norma MON: 4-8%

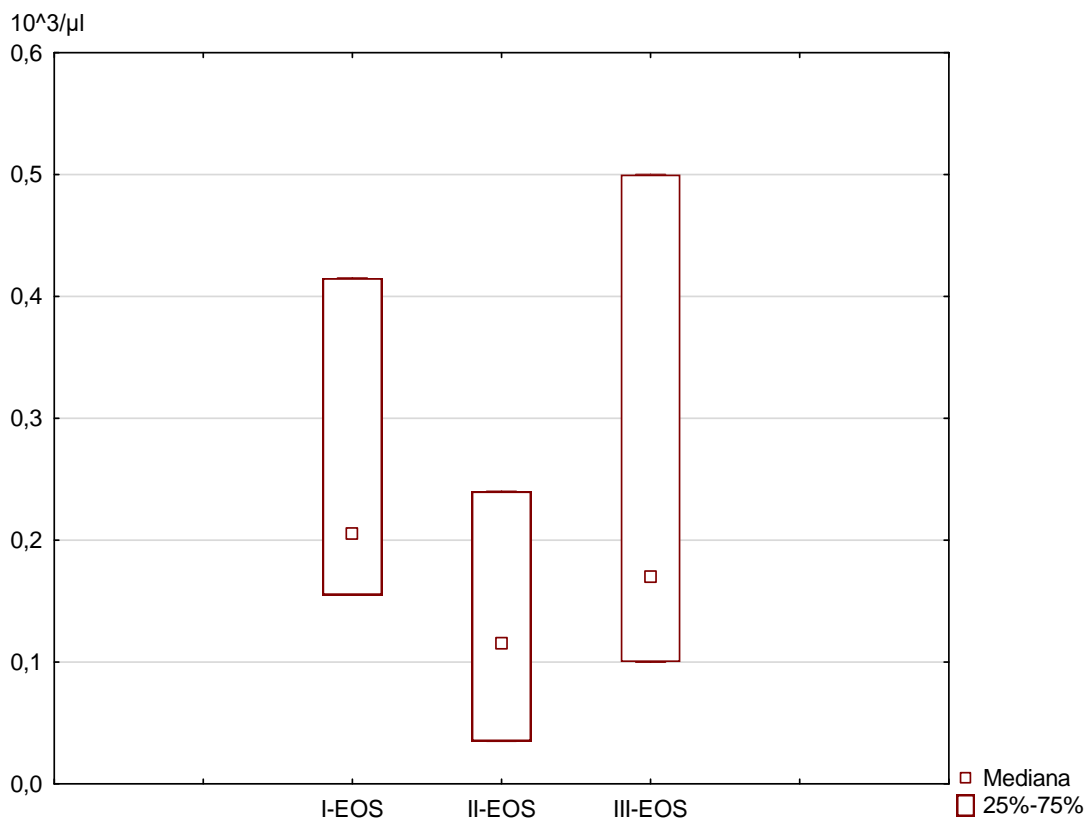
I-MON [%] & II-MON [%]  $p=0,432617$

I-MON [%] & III-MON [%]  $p=0,338009$

II-MON [%] & III-MON [%]  $p=0,11192$

### 5.2.1.6 Eozynofile (EOS)

Eozynofile (*EOS- eosinophils*), ich stężenie spadło wkrótce po implantacji stentu i osiągnęło najniższe wartości w trzeciej dobie pooperacyjnej (I-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i II-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,006211$ ). Po operacji poziom eozynofiliłów powrócił do poziomu sprzed operacji w piątej dobie pooperacyjnej (I-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i III-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,982627$ , II-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $\mu\text{l}$ ] & III-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,007745$ ).



Rycina 16. Stężenie EOS przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

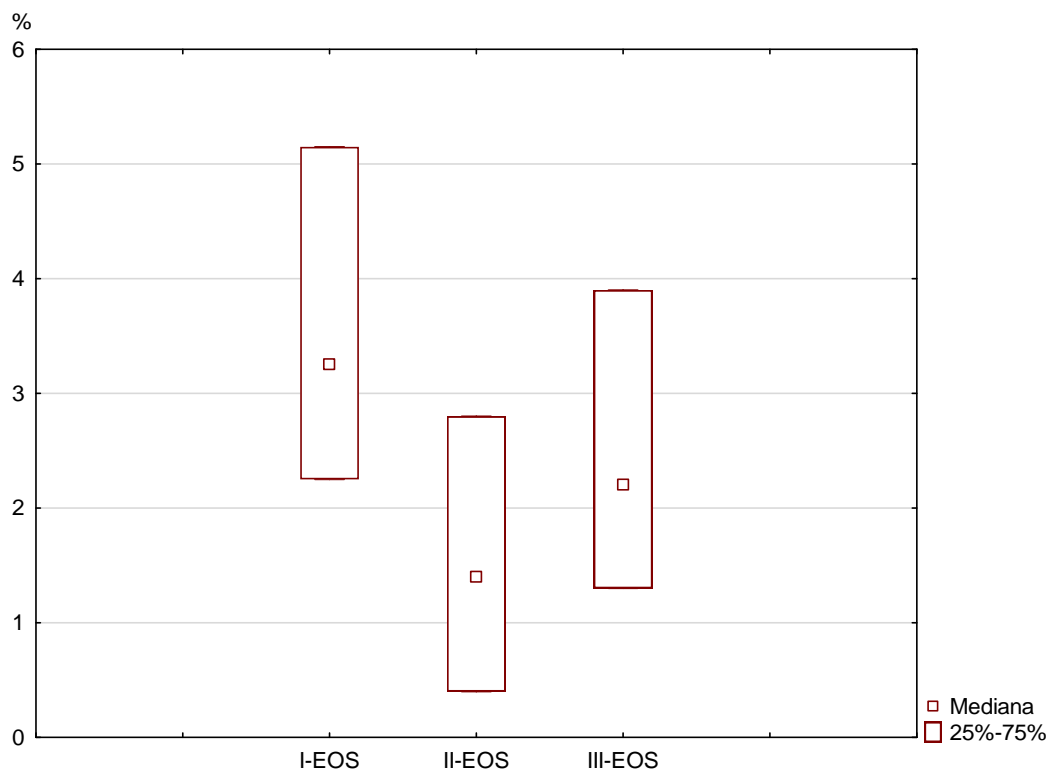
Norma EOS:  $<0,8 \times 10^3/\mu\text{l}$

I-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & II-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,006211$

I-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,982627$

II-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,007745$

Odsetek eozynofilów zmniejszył się między okresem przedoperacyjnym a trzecim dniem pooperacyjnym (I-EOS [%] i II-EOS [%]  $p=0,000900$ ) i wzrósł między trzecim a piątym dniem pooperacyjnym (II-EOS [%] & III-EOS [%]  $p=0,003090$ ). Odsetek eozynofilii powrócił do normy sprzed operacji w piątej dobie pooperacyjnej (I-EOS [%] i III-EOS [%]  $p=0,107509$ ).



Rycina 17. Odsetek EOS przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma EOS: 2-4%

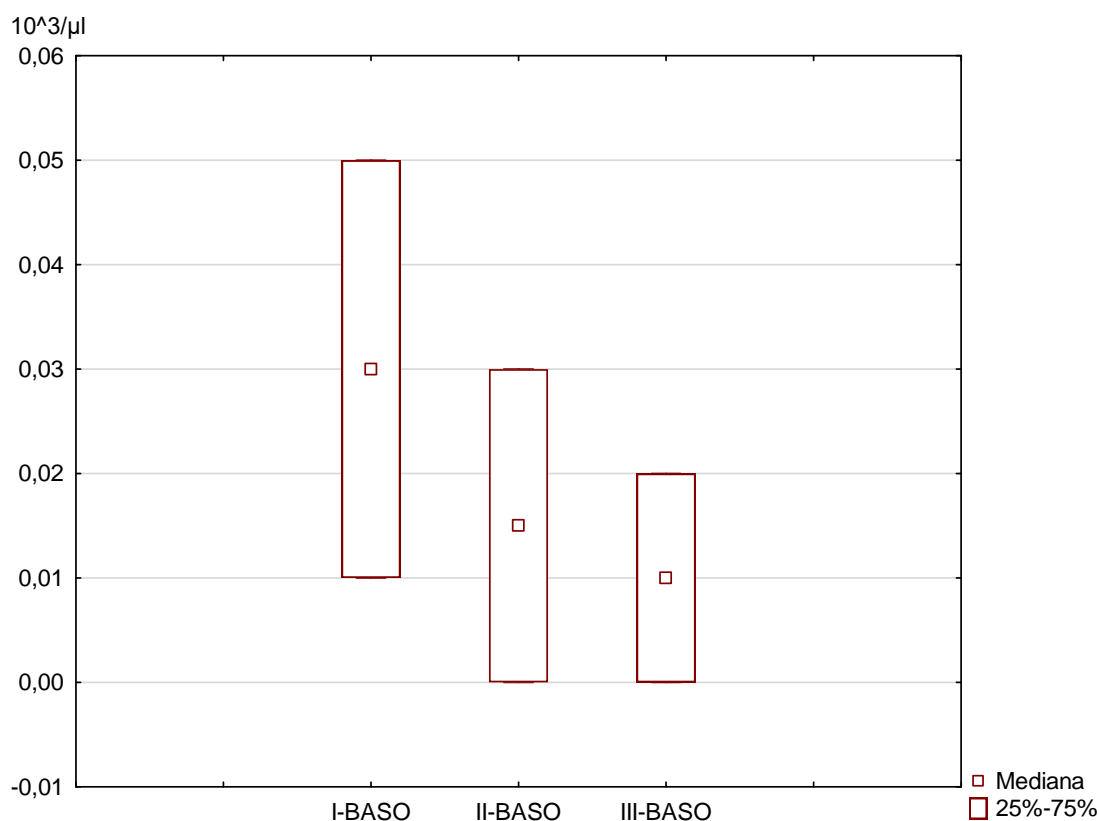
I-EOS [%] & II-EOS [%]  $p=0,000900$

I-EOS [%] & III-EOS [%]  $p=0,107509$

II-EOS [%] & III-EOS [%]  $p=0,003090$

### 5.2.1.7 Stężenie i odsetek bazofilów (BASO)

Ostatnią frakcją WBC są bazofile (*BASO- basophils*), których stężenie zmieniło się podczas hospitalizacji pacjenta. Stężenie bazofilów było najwyższe w fazie przedoperacyjnej, następnie spadło w okresie pooperacyjnym (I-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & II-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,014736$ , I-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $3/\mu\text{l}$ ] & III-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,023096$ ). Ich obniżone stężenie utrzymywało się do piątej doby pooperacyjnej (II-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i III-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,683481$ ).



Rycina 18. Stężenie BASO przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma BASO:  $<0,2 \times 10^3/\mu\text{l}$

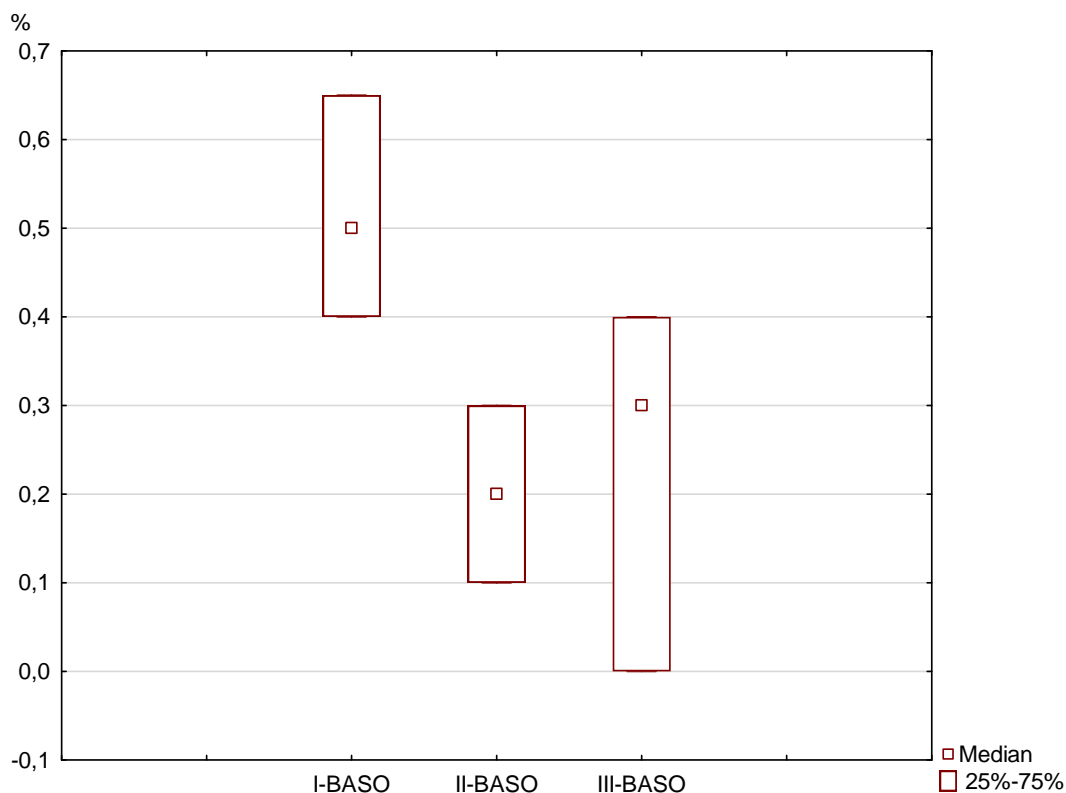
I-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & II-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,014736$

I-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,023096$

II-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ] & III-BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,683481$

Zależność między poszczególnymi dniami i procentową zawartością bazofilów jest analogiczna jak w przypadku stężenia bazofilów. W porównaniu z okresem przedoperacyjnym odsetek bazofilów spadł w okresie pooperacyjnym (I-BASO [%] i II-BASO [%]  $p=0,000581$ , I-BASO [%] i III-BASO [%]  $p=0,006134$ ). Stężenie bazofilów nie powróciło do poziomu sprzed operacji aż do piątej doby pooperacyjnej, a procentowa zmiana między trzecim a piątym dniem po operacji nie była istotna (II-BASO [%] & III-BASO [%]  $p=0,552494$ ).





Rycina 19. Odsetek BASO przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma BASO: <1%

I-BASO [%] & II-BASO [%]  $p=0,000581$

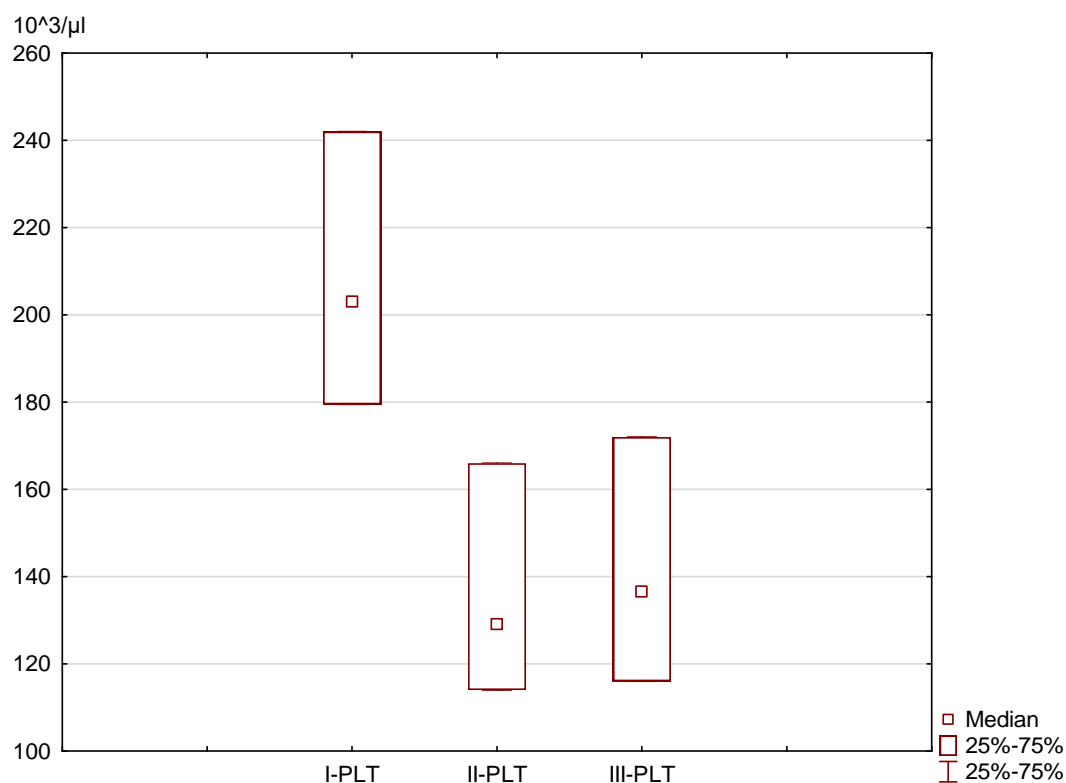
I-BASO [%] & III-BASO [%]  $p=0,006134$

II-BASO [%] & III-BASO [%]  $p=0,552494$

## 5.2.2 Parametry układu krzepnięcia

### 5.2.2.1 Stężenie płytek krwi (PLT)

Pomiędzy okresem przedoperacyjnym a trzecim dniem pooperacyjnym oraz między okresem przedoperacyjnym a piątym dniem pooperacyjnym stężenie płytek krwi (*PLT-platelets*) było istotnie obniżone (I-PLT [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i II-PLT [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,000132$ , I-PLT [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i III-PLT [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,000132$ ) Nie zaobserwowano istotnych zmian między trzecim a piątym dniem po operacji (II-PLT [ $10^3/\mu\text{l}$ ] i III-PLT [ $10^3/\mu\text{l}$ ]  $p=0,227331$ )



Rycina 20. Stężenie PLT przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma PLT: 150-400 x 10<sup>3</sup>/μl

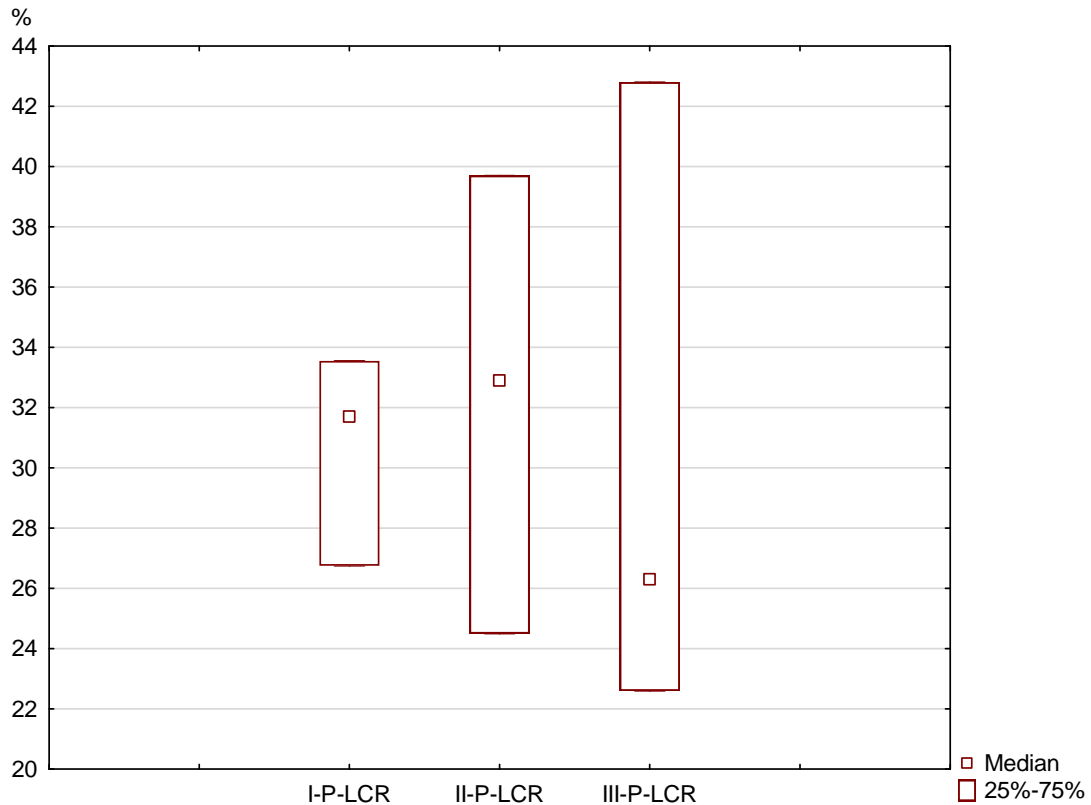
I-PLT [10<sup>3</sup>/μl] & II-PLT [10<sup>3</sup>/μl] p=0,000132

I-PLT [10<sup>3</sup>/μl] & III-PLT [10<sup>3</sup>/μl] p=0,000132

II-PLT [10<sup>3</sup>/μl] & III-PLT [10<sup>3</sup>/μl] p=0,227331

### 5.2.2.2 Parametry płytek krwi (MPV, P- LCR)

W badaniu nie stwierdzono istotnych zmian w średniej objętości płytek krwi (*MPV- mean platelet volume*) między poszczególnymi dniami. Zaobserwowano istotną różnicę między okresem przedoperacyjnym a trzecim dniem po operacji, co dotyczyło wskaźnika dużych płytek (*P- LCR- platelet-large cell ratio*) który uległ istotnemu wzrostowi (P-LCR między próbkami krwi (I-P-LCR [%] i II-P-LCR [%] p=0,007686).



Rycina 21. Rozkład wartości P-LCR przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma P-LCR: 18,2-40,2%

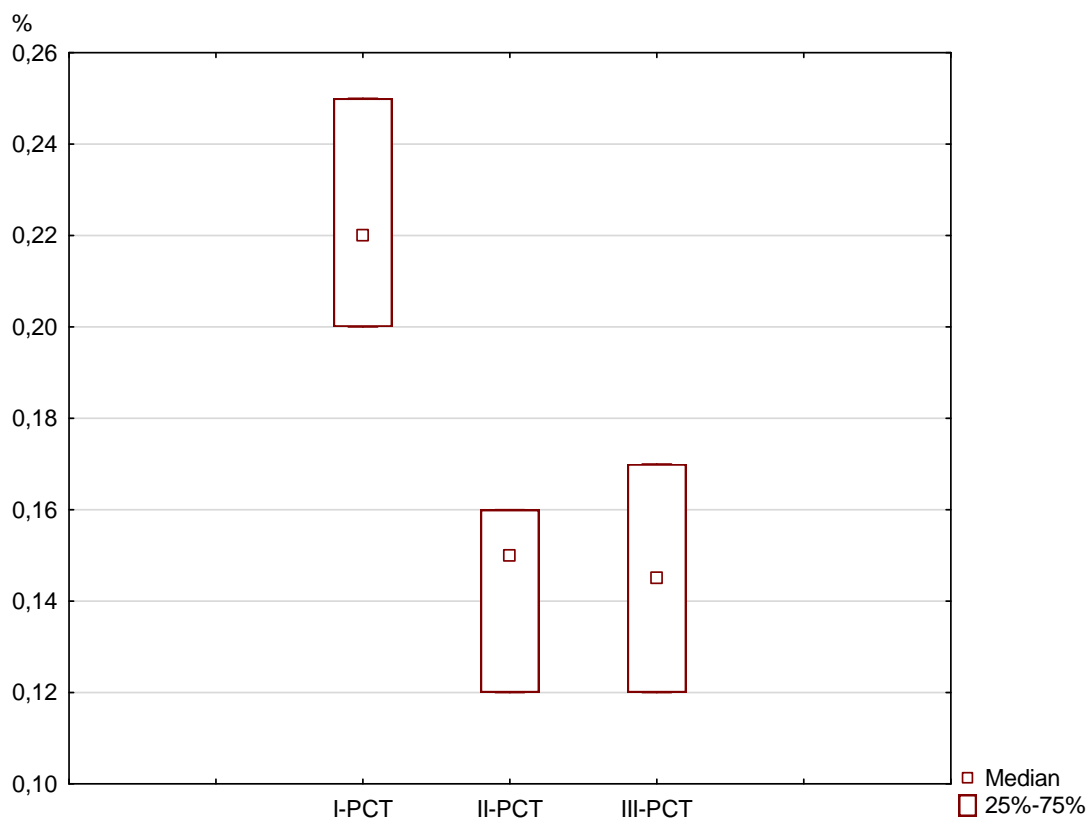
I-P-LCR [%] & II-P-LCR [%]  $p=0,007686$

I-P-LCR [%] & III-P-LCR [%]  $p=0,310495$

II-P-LCR [%] & III-P-LCR [%]  $p=0,123486$

### 5.2.2.3 Wartości płytkokrytu (PCT)

Pomiędzy okresem przedoperacyjnym i pooperacyjnym nastąpił znaczny spadek płytkokrytu (*PCT-platelet-crit*) (I-PCT [%] i II-PCT [%]  $p=0,000196$ , I-PCT [%] i III-PCT [%]  $p=0,000151$ ). Poziom płytkokrytu nie powrócił do poziomu sprzed operacji aż do piątej doby po zabiegu (II-PCT [%] i III-PCT [%]  $p=0,278708$ ).



Rycina 22. Wartości PCT przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma PCT: 0,19-0,33%

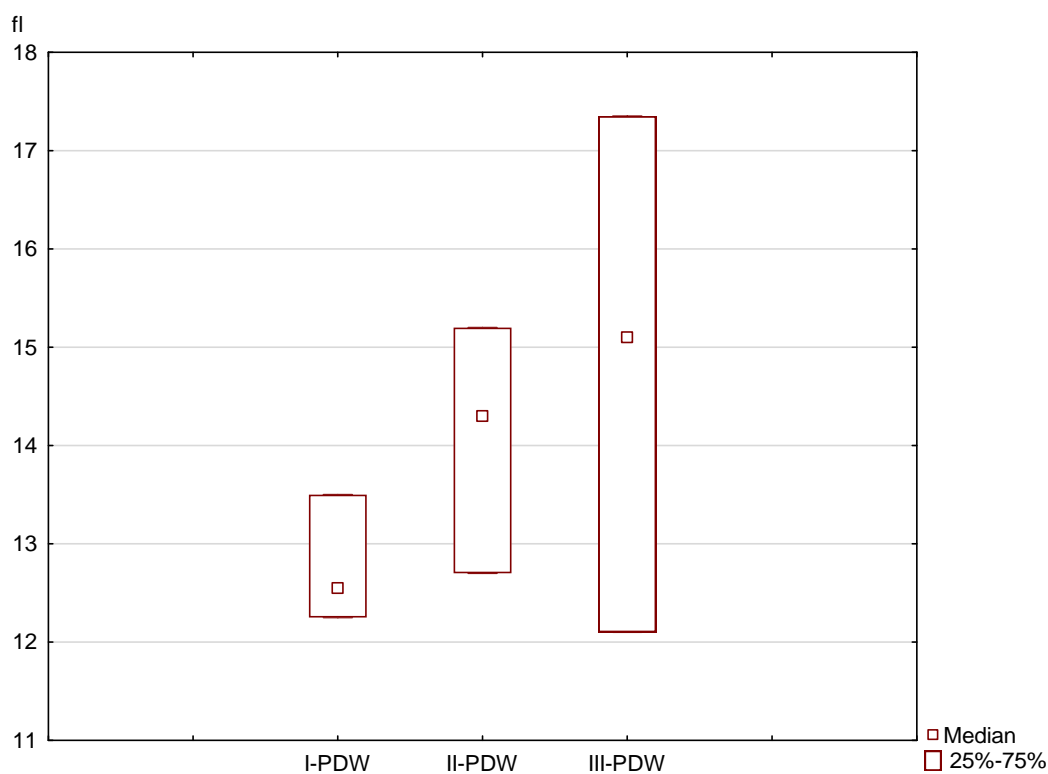
I-PCT [%] & II-PCT [%]  $p=0,000196$

I-PCT [%] & III-PCT [%]  $p=0,000151$

II-PCT [%] & III-PCT [%]  $p=0,278708$

#### 5.2.2.4 Wartość szerokości dystrybucji płytek krwi (PDW)

Szerokości dystrybucji płytek krwi zwany także wskaźnikiem anizocytozy płytek (*PDW-platelet distribution width*) między okresem przedoperacyjnym a piątym dniem po operacji uległ istotnemu wzrostowi (I-PDW [fl] i III-PDW [fl]  $p=0,013042$ ). Inne zależności PDW nie są istotne.



Rycina 23. Wartości PDW przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma PDW: 10,8-16,8f

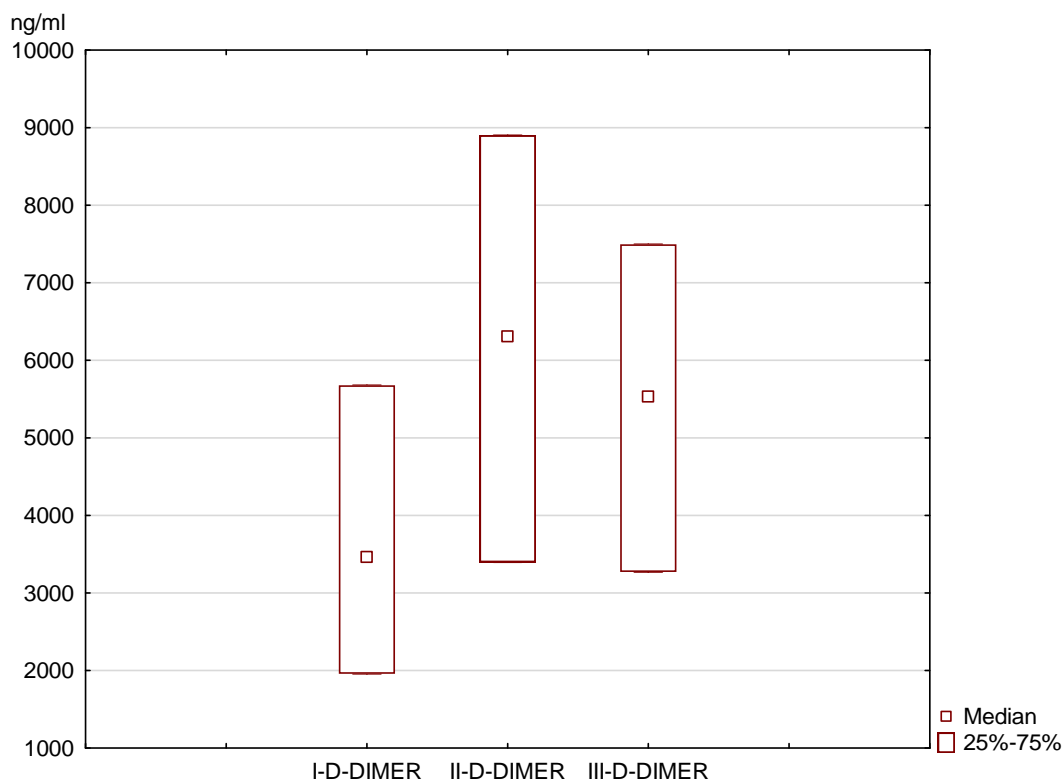
I-PDW [f] & II-PDW [f]  $p=0,145401$

I-PDW [f] & III-PDW [f]  $p= 0,013042$

II-PDW [f] & III-PDW [f]  $p=0,085925$

### 5.2.2.5 Stężenie D-dimeru

Pooperacyjne stężenie D-dimeru było statystycznie wyższe niż przedoperacyjne (I-D-dimer [ng/ml] & II-D-dimer [ng/ml]  $p=0,002225$ , I-D-dimer [ng/ml] & III -D-dimer [ng/ml]). Stężenie D-dimerów nie wróciło do poziomu sprzed operacji aż do piątej doby po operacji. Nie zaobserwowano istotnego spadku stężenia D-dimerów między 3. a 5. dobą po operacji (II-D-dimer [ng/ml] i III-D-dimer [ng/ml]  $p=0,463107$ ).



Rycina 24. Stężenie D-dimerów przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma d-dimer: <500ng/ml

I-D-dimery [ng/ml] & II-D-dimery [ng/ml]  $p=0,002225$

I-D-dimery [ng/ml] & III-D-dimery [ng/ml]  $p=0,022232$

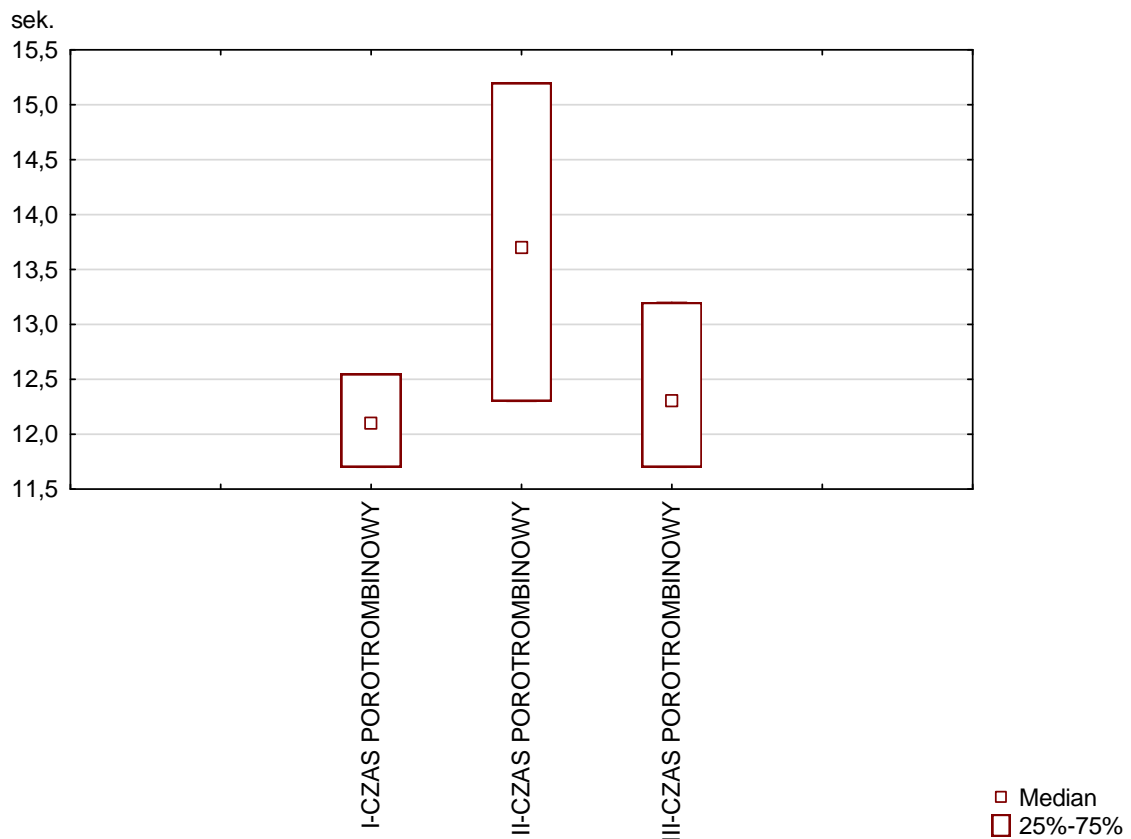
II-D-dimery [ng/ml] & III-D-dimery [ng/ml]  $p=0,463107$

### 5.2.2.6 Wartość czasu protrombinowego, wskaźnika protrombinowego

Czas protrombinowy był wydłużony między okresem przedoperacyjnym a trzecią dobą pooperacyjną (I-czas protrombiny [s] i II- czas protrombiny [s]  $p=0,000536$ ). Pomiędzy trzecią a piątą dobą po operacji czas protrombinowy obniżył się do poziomu sprzed operacji (I- czas protrombiny [s] & III- czas protrombiny [s]  $p=0,081507$ , II- czas protrombiny [s] & III- czas protrombiny [s]  $p=0,000438$ ).

Wskaźnik protrombinowy wykazał podobną zależność. Pomiędzy okresem przedoperacyjnym a trzecią dobą pooperacyjną wskaźnik ten uległ zwiększeniu (I- wskaźnik protrombiny [%] i II- wskaźnik protrombiny [%]  $p=0,000536$ ). Wskaźnik

protrombinowy w okresie pooperacyjnym uległ obniżeniu między trzecim a piątym dniem do poziomu sprzed operacji (I-wskaźnik protrombinowy [%] & III-wskaźnik protrombinowy [%]  $p=0,062672$ ; II-wskaźnik protrombinowy [%] & III-wskaźnik protrombinowy [%]  $p=0,000438$ ).



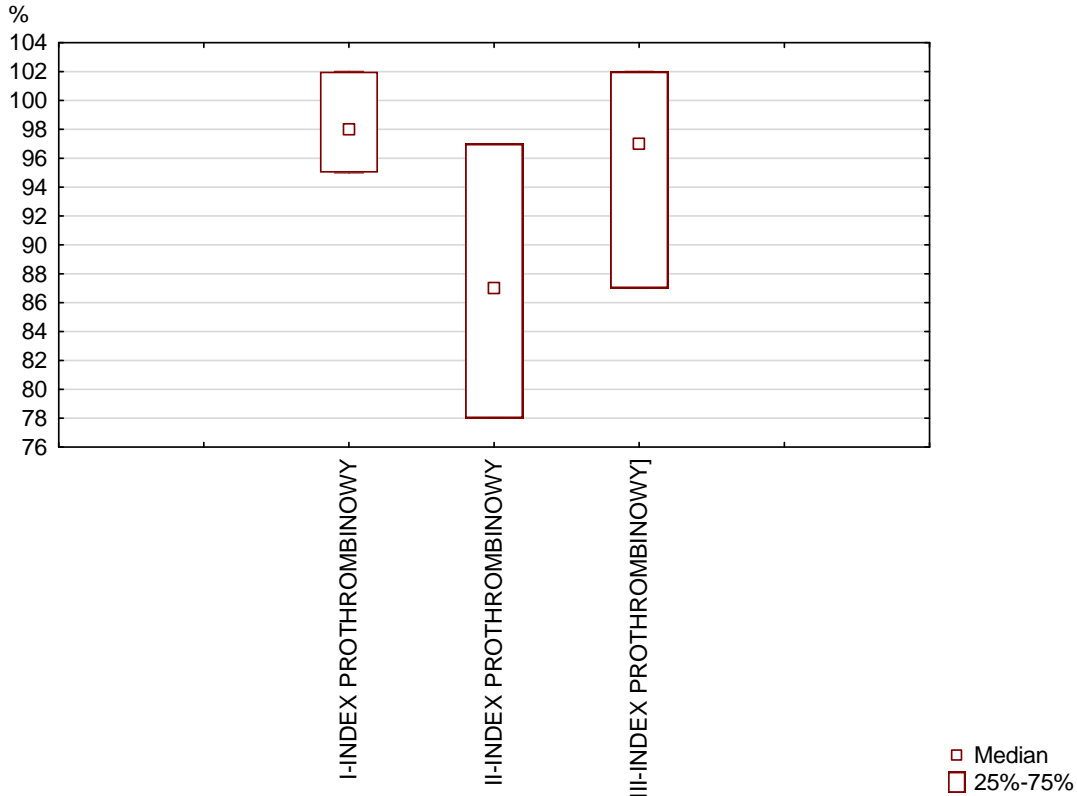
Rycina 25. Wartości czasu protrombinowego przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma czasu protrombinowego: 12-16s

I-czas protrombiny [s] & II-czas protrombiny [s]  $p=0,000536$

I-czas protrombiny [s] & III-czas protrombiny [s]  $p=0,081507$

II-czas protrombiny [s] & III-czas protrombiny [s]  $p=0,000438$



Rycina 26. Wartości indeksu protrombinowego przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma wskaźnika protrombinowego: 30-120%

I-wskaźnik protrombinowy [%] & II-wskaźnik protrombinowy [%]  $p=0,000536$

I-wskaźnik protrombinowy [%] & III-wskaźnik protrombinowy [%]  $p=0,062672$

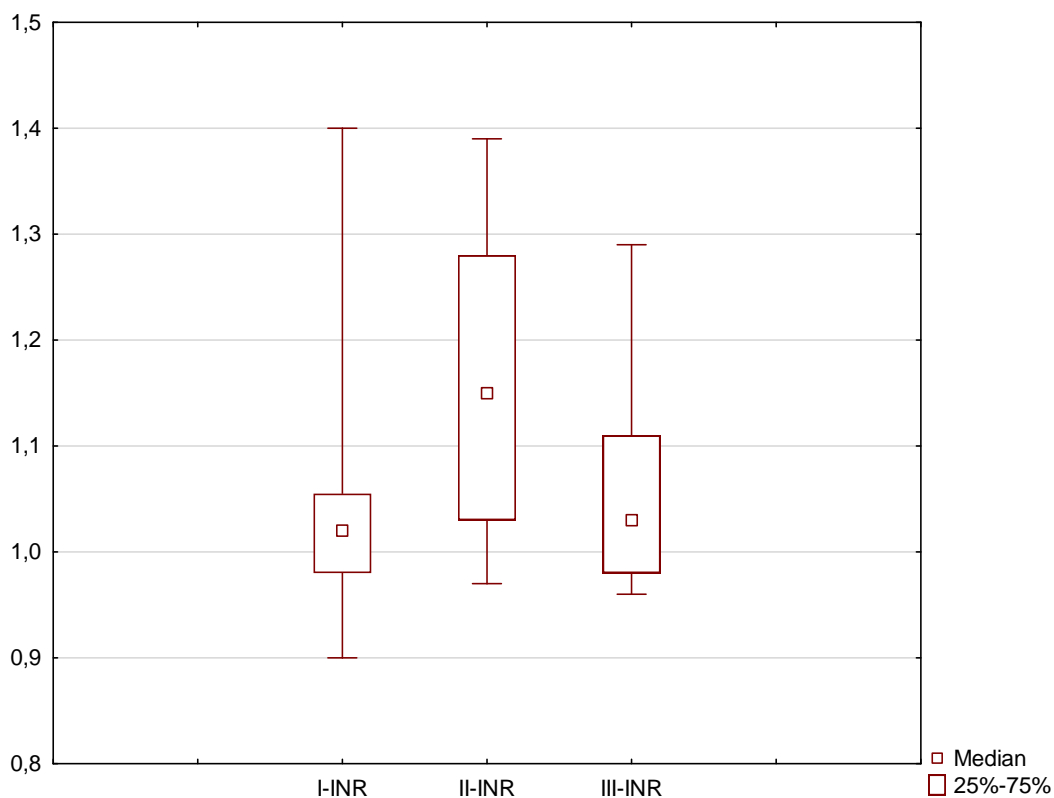
II-wskaźnik protrombinowy [%] & III-wskaźnik protrombinowy [%]  $p=0,000438$

### 5.2.2.7 Wartość międzynarodowego współczynnika znormalizowanego (INR)

Pomiędzy okresem przedoperacyjnym a trzecim dniem pooperacyjnym poziom INR (*international normalised ratio*) był istotnie wyższy (I-INR i II-INR  $p=0,000342$ )

Pomiędzy trzecim a piątym. dniem po operacji nastąpił istotny spadek do poziomu przedoperacyjnego INR (II-INR i III-INR  $p=0,000293$ ). Doszło do normalizacji poziomu INR w piątej dobie pooperacyjnej (I-INR i III-INR  $p=0,089421$ ).





Rycina 27. Wartości INR między przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma INR: 0,9-1,3

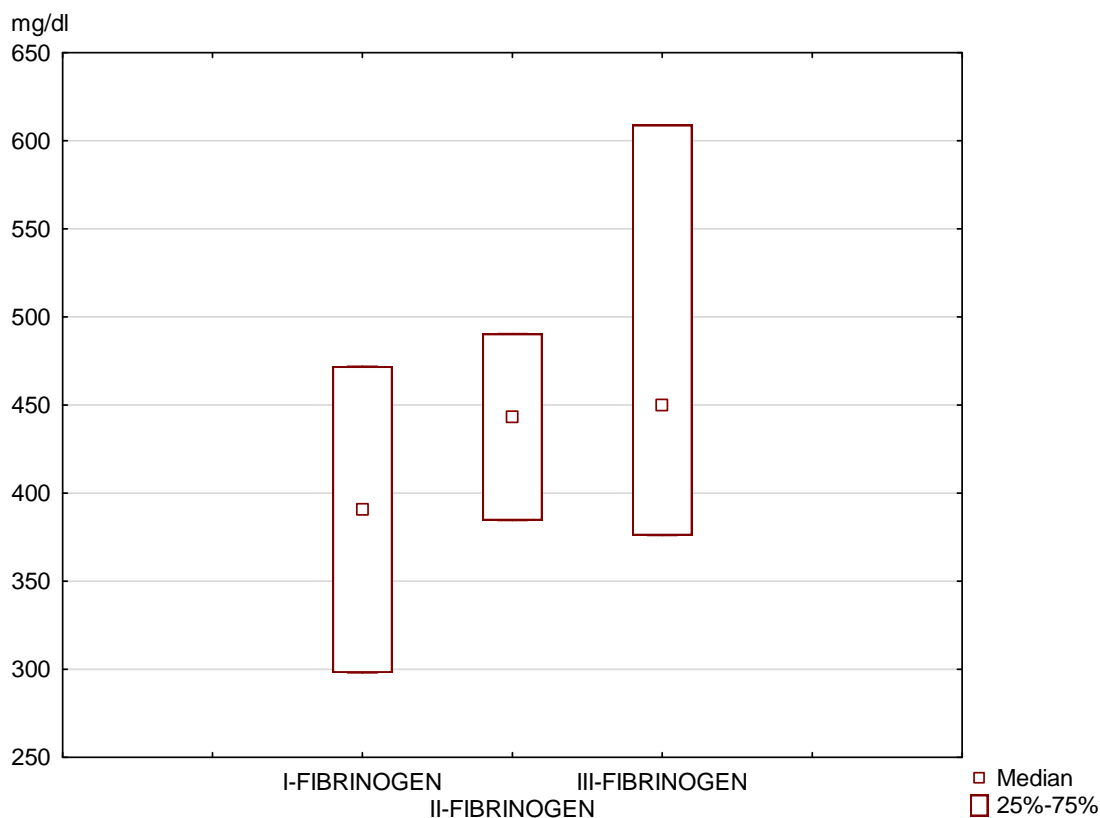
I-INR & II-INR  $p=0,000342$

I-INR & III-INR  $p=0,089421$

II-INR & III-INR  $p=0,000293$

### 5.2.2.8 Stężenie fibrynogenu

Stężenie fibrynogenu nie uległo znaczącym wahaniom, a jedynie istotne podwyższenie fibrynogenu obserwowano się między okresem przedoperacyjnym a piątą dobą pooperacyjną (I- fibrynogen [mg/dl] & III- fibrynogen [mg/dl]  $p=0,036386$ )



Rycina 28. Stężenie fibrynogenu przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma fibrynogenu: 200-400mg/dl

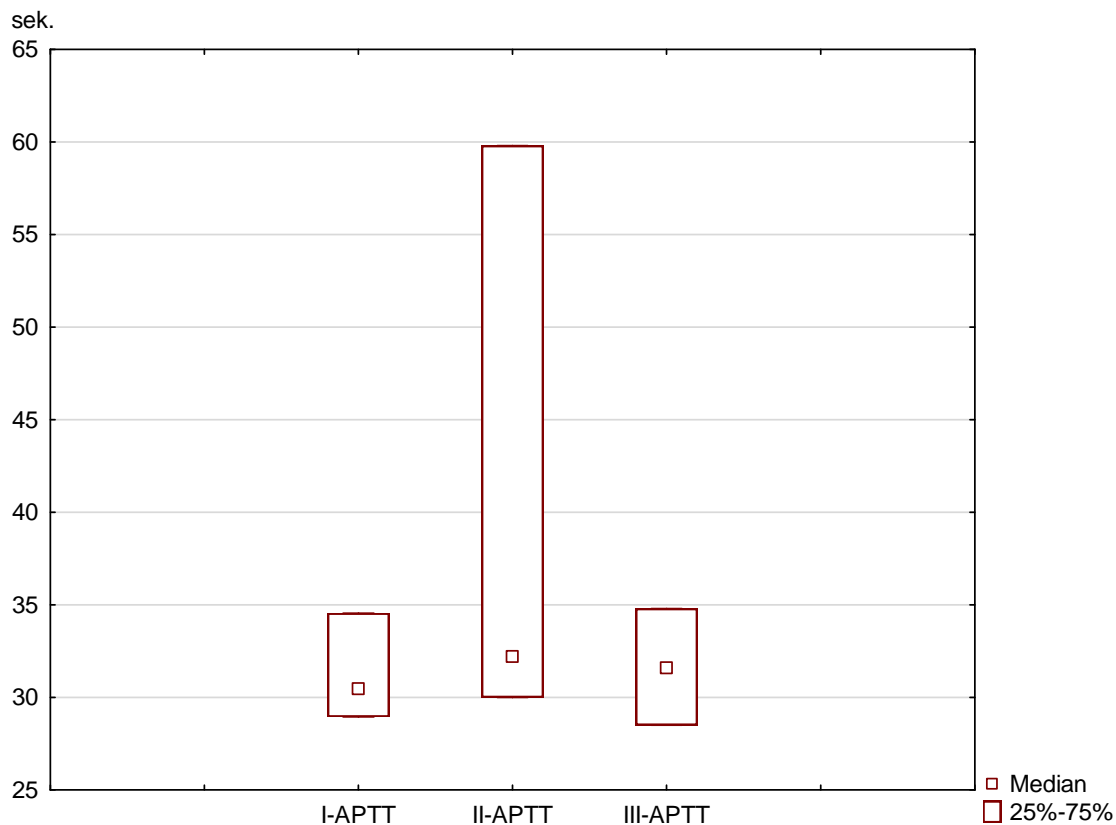
I-fibrynogen [mg/dl] & II-fibrynogen [mg/dl]  $p=0,073139$

I-fibrynogen [mg/dl] & III-fibrynogen [mg/dl]  $p=0,036386$

II-fibrynogen [mg/dl] & III-fibrynogen [mg/dl]  $p=0,076619$

### 5.2.2.9 Wartość czasu częściowej trombolastyny po aktywacji (APTT), APTT RATIO

Pomiędzy okresem przedoperacyjnym a trzecią dobą pooperacyjną APTT (*activated partial thromboplastin time*) uległ znacznemu wydłużeniu (I-APTT [s] i II-APTT [s]  $p=0,030366$ ). Pomiędzy trzecim a piątym dniem po operacji APTT uległ istotnemu skróceniu (II-APTT [s] i III-APTT [s]  $p=0,006211$ ). W piątej dobie pooperacyjnej czas APTT powrócił do poziomu sprzed operacji (I-APTT [s] & III-APTT [s]  $p=0,747500$ ).



Rycina 29. Wartości APTT przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

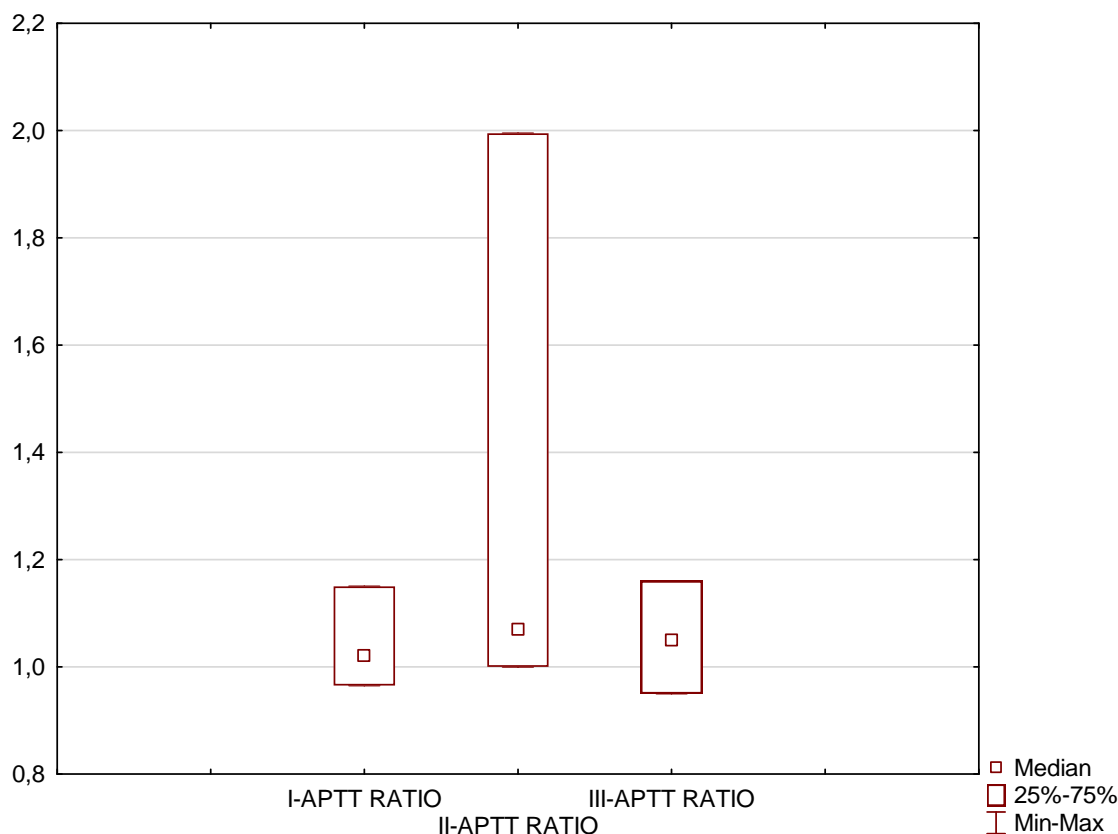
Norma APTT: 25-37s

I-APTT [s] & II-APTT [s]  $p=0,030366$

I-APTT [s] & III-APTT [s]  $p=0,747500$

II-APTT [s] & III-APTT [s]  $p=0,006211$

APTT ratio podlegało tym samym zależnościom. APTT ratio wzrosło między okresem przedoperacyjnym a trzecią dobą pooperacyjną (I- APTT ratio & II- APTT ratio  $p=0,036386$ ), a następnie istotnie zmalało między trzecią a piątą dobą pooperacyjną (II- APTT ratio & III- APTT ratio  $p=0,007449$ ) osiągając poziom przedoperacyjny (I- APTT ratio & III- APTT ratio  $p=0,732307$ ).



Rycina 30. Wartości APTT RATIO przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

I-APTT ratio & II-APTT ratio  $p=0,036386$

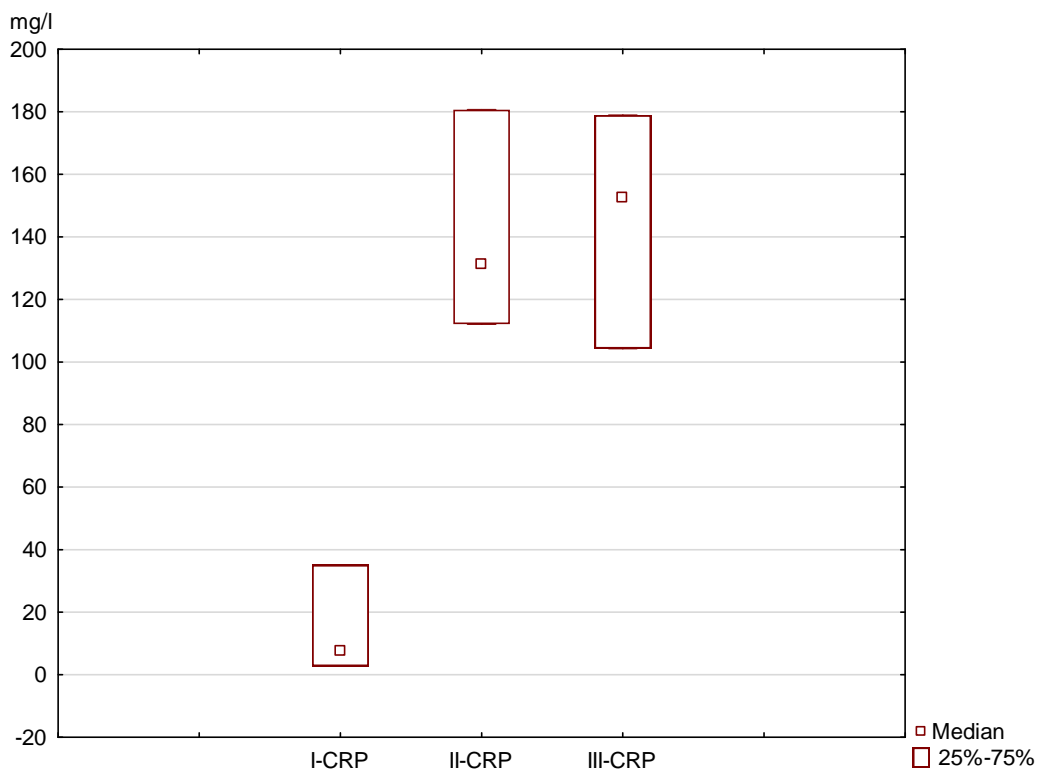
I-APTT ratio & III-APTT ratio  $p=0,732307$

II-APTT ratio & III-APTT ratio  $p=0,007449$

### 5.2.3 Parametry stanu zapalnego

#### 5.2.3.1 Stężenie białka C-reaktywnego (CRP)

Stężenie CRP (*C-reactive protein*) uległo istotnemu podwyższeniu w okresie pooperacyjnym w porównaniu do poziomu sprzed operacji (I-CRP [mg/l] i II-CRP [mg/l]  $p=0,000140$ , I-CRP [mg/l] i III-CRP [mg/l]  $p=0,000120$ ). CRP nie uległo normalizacji aż do piątej doby pooperacyjnej (II-CRP [mg/l] i III-CRP [mg/l]  $p=0,765199$ ).



Rycina 31. Stężenie CRP przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma CRP: <10 mg/l

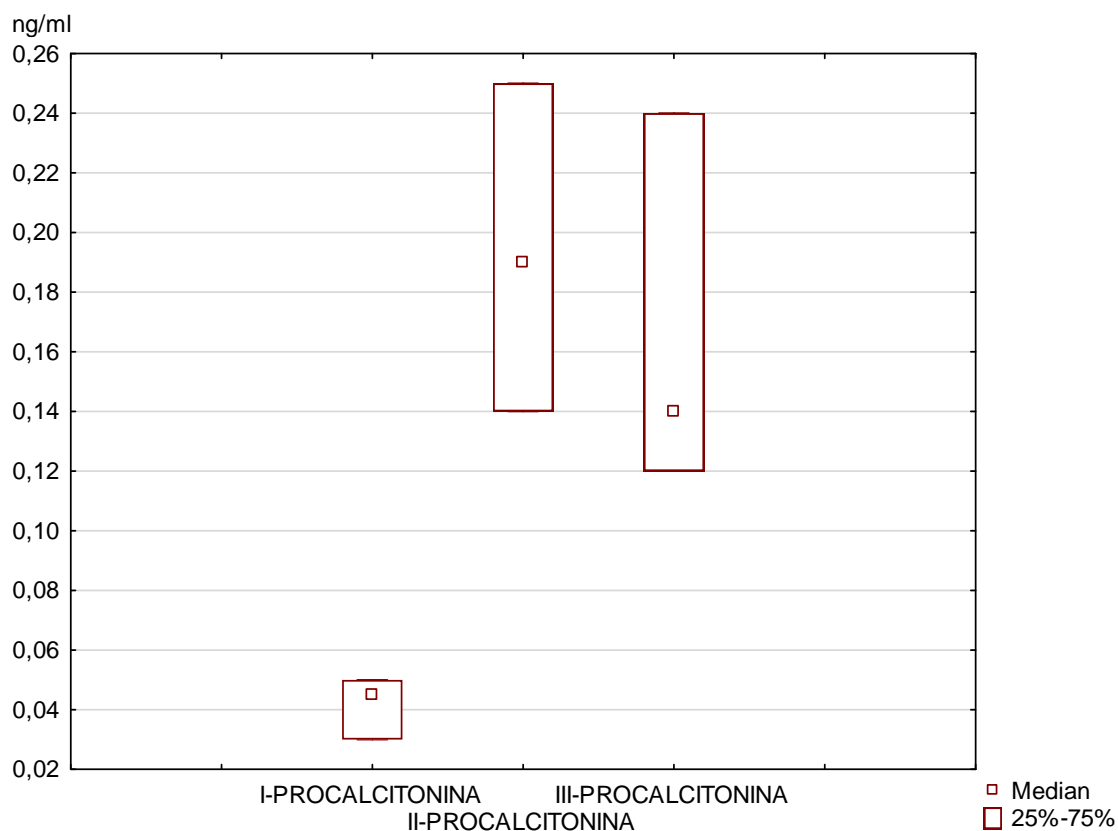
I-CRP [mg/l] & II-CRP [mg/l]  $p=0,000140$

I-CRP [mg/l] & III-CRP [mg/l]  $p=0,000120$

II-CRP [mg/l] & III-CRP [mg/l]  $p=0,765199$

### 5.2.3.2 Stężenie prokalcytoniny

Stężenie prokalcytoniny uległo istotnemu podwyższeniu między okresem przedoperacyjnym a trzecim dniem pooperacyjnym (I-prokalcytonina [ng/ml] i II-prokalcytonina [ng/ml]  $p=0,000293$ ) i podwyższone stężenie utrzymywało się do piątej doby pooperacyjnej (I-prokalcytonina [ng/ml] i III-prokalcytonina [ng/ml]  $p=0,000233$ ). Nie stwierdzono istotnej różnicy w stężeniu prokalcytoniny między trzecią a piątą dobą po operacji (II-prokalcytonina [ng/ml] i III-prokalcytonina [ng/ml]  $p=0,236631$ ).



Rycina 32. Stężenie prokalcytoniny przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxon).

Norma prokalcytoniny: <0,5ng/ml

I-prokalcytonina [ng/ml] & II-prokalcytonina [ng/ml] p=0,000293

I-prokalcytonina [ng/ml] & III-prokalcytonina [ng/ml] p=0,000233

II-prokalcytonina [ng/ml] & III-prokalcytonina [ng/ml] p=0,236631

### 5.3 Tabele podsumowujące

Tabele 15, 16, 17,18 podsumowują istotne zmiany w układzie białokrwinkowym, układzie krzepnięcia i stanu zapalnego między pobraniami.

Legenda:

↑- znamieny wzrost

↓-znamieny spadek

=- brak znamiennej zmiany

Pobranie \ Parametr	I vs II pobranie	I vs III pobranie	II vs III pobranie
1. WBC [ $10^3/\mu\text{l}$ ]	↑	↑	=
2. NEU [ $10^3/\mu\text{l}$ ]	↑	↑	=
3. LYM [ $10^3/\mu\text{l}$ ]	↓	↓	↑
4. neu/limf ratio (NLR)	↑	↑	↓
5. MON [ $10^3/\mu\text{l}$ ]	↑	=	↑
6. EOS [ $10^3/\mu\text{l}$ ]	↓	=	↑
7. BASO [ $10^3/\mu\text{l}$ ]	↓	↓	=
8. NEU [%]	↑	↑	↓
9. LYM [%]	↓	↓	↑
10. MON [%]	=	=	=
11. EOS [%]	↓	=	↑
12. BASO [%]	↓	↓	=

Tabela 15. Zmiany wartości parametrów w układzie białokrwinkowym między dniem przedoperacyjnym i trzecim oraz piątym dniem pooperacyjnym.

Pobranie \ Parametr	I vs II pobranie	I vs III pobranie	II vs III pobranie
1. PLT [ $10^3/\mu\text{l}$ ]	↓	↓	=
2. MPV [fl]	=	=	=
3. PCT [%]	↓	↓	=
4. PDW [fl]	=	↑	=
5. Czas protrombinowy [s]	↑	=	↓
6. Indeks protrombinowy [%]	↓	=	↑

7. INR	↑	=	↓
8. Fibrinogen [mg/dl]	=	↑	=
9. D-dimer [ng/ml]	↑	↑	=
10. APTT [s]	↑	=	↓
11. APTT RATIO	↑	=	↓

Tabela 16. Zmiany wartości parametrów w układzie krzepnięcia między dniem przedoperacyjnym i trzecim oraz piątym dniem pooperacyjnym.

Pobranie	I vs II pobranie	I vs III pobranie	II vs III pobranie
1. CRP [mg/l]	↑	↑	=
2. Prokalcytonina [ng/ml]	↑	↑	=

Tabela 17. Zmiany wartości parametrów stanu zapalnego między dniem przedoperacyjnym i trzecim oraz piątym dniem pooperacyjnym.

Pobranie	I vs II pobranie	I vs III pobranie	II vs III pobranie
1. dsDNA	↑	↑	=
2. ssDNA	↑	↑	=
3. Cit-H3	↑	=	↓
4. ssDNA/dsDNA	=	=	=
5. dsDNA/neu	↑	↑	=
6. ssDNA/neu	↑	↑	↑
7. CitH3/neu	↑	=	↓

Tabela 18. Zmiany wartości parametrów NETs między dniem przedoperacyjnym i trzecim oraz piątym dniem pooperacyjnym.



## 5.4 Zespół poimplantacyjny

Nie zdiagnozowano zespołu poimplantacyjnego (PIS) u żadnego pacjenta, który został poddany leczeniu wewnątrznaczyniowemu tętniaka aorty piersiowo-brzuszej, który został włączony do tego badania. Ilość pacjentów spełniająca poszczególne kryteria PIS są przedstawione w tabeli 19.

Pobranie Parametr	Ilość oraz % pacjentów spełniająca dany parametr	
	II pobranie (III doba pooperacyjna)	III pobranie (V doba pooperacyjna)
1. Gorączka (>38°C)	0 (0%)	0 (0%)
2. Poziom prokalcytoniny (>0,5 ng/ml)	1 (5%)	1 (5%)
3. Stężenie białka CRP (>10 mg/l)	20 (100%)	20 (100%)
4. Liczba leukocytów (>12 000/ml).	8 (40%)	6 (30%)
5. Liczba pacjentów spełniająca wszystkie kryteria PIS	0 (0%)	0 (0%)

Tabela 19. Ilość pacjentów spełniająca kryteria zespołu poimplantacyjnego w okresie pooperacyjnym.

---

## 5.5 Obserwacja chorych

Obserwacją objęto łącznie 20 pacjentów. Średni czas obserwacji po operacji wyniósł  $314,68 \pm 30,24$  dni (IQR 289-399), czyli  $10,49 \pm 1,00$  miesięcy (IQR 9,63-11,30). Zmarło dwóch chorych. Jeden pacjent zmarł po 52 dniach od zabiegu w wyniku udaru krwotocznego, pacjent był w trakcie DAPT. Drugi zgon nastąpił po 101 dniach z powodu nagłego zatrzymania krążenia. W tabeli 20 przedstawiono szczegóły zdarzeń medycznych do których doszło po operacji w czasie obserwacji. Do hospitalizacji doszło u 5 pacjentów (25%), przyczyny hospitalizacji były następujące: zmiany zawałowe w nerce prawej na tle zatorowości, zakrzepica w prawej odnodze stentu, niedokrwistość wymagająca toczenia krwi, zawał mięśnia sercowego, paraplegia. Dwóch pacjentów (10%) miało przeciek okołoprotezowy typu II, który w żadnym przypadku nie wymagał interwencji. U jednego pacjenta (5%) rozpoznano zakrzepicę w stencie, przy czym zakrzepica wystąpiła w prawej tętnicy biodrowej i wymagała ponownej interwencji. Zaburzenia czynności kończyn dolnych stwierdzono u 5 pacjentów (25%), u 3 (15%) chromanie przestankowe, a u 2 (10%) paraplegie. Chromanie przestankowe pojawiło się jako opóźniony objaw w wszystkich trzech pacjentów. Chromanie przestankowe było jedynie tymczasowym objawem u dwóch pacjentów, podczas gdy u jednego pacjent chromanie jest objawem stałym. W jednym przypadku paraplegia wystąpiła bezpośrednio po operacji i ustąpiła po czterech tygodniach; u drugiego pacjenta objaw ten pojawił się po trzech tygodniach od operacji i utrzymuje się do czasu przeprowadzenia kontroli. DAPT zalecana na okres 3 miesięcy po operacji przyjmowało 18 (90%) pacjentów. U 3 (15%) pacjentów DAPT była kontynuowana po upływie 3 miesięcy.

Obserwacja	No (%)
Zgon	2 (10%)
Hospitalizacja ponowna	5 (25%)
Zawał mięśnia sercowego	1 (5%)
Udar mózgu	1 (4%)
Zakrzepica w stencie	1 (5%)
Przeciek do worka tętniaka	2 (10%)
Reinterwencja	1 (5%)
Chromanie	3 (15%)
Paraplegia	2 (10%)
DAPT otrzymywana po zabiegu przez 3 miesiące	18 (90%)

Tabela 20. Szczegóły zdarzeń medycznych do których doszło po operacji w czasie obserwacji.

### 5.5.1 Ocena predykcyjna wybranych parametrów

Punkt końcowy został zaobserwowany u 7 (35%) pacjentów w okresie obserwacji wynoszącym średnio  $314,68 \pm 30,24$  dni. Analiza hazardu Coxa wybranych parametrów jest przedstawiona w tabeli 21.

Przeprowadzona analiza hazardu Coxa badanych parametrów wykazała że ryzyko wystąpienia punktu końcowego (zgonu i hospitalizacji) wzrasta w związku ze wzrostem następujących parametrów: dsDNA (w II pobraniu), ssDNA (w II pobraniu), neutrofile (w II i III pobraniu), stosunek neutrofile do limfocytów (w II i III pobraniu).

	Ocena parametru	Poziom p	Hazard względny (HR)	95% PU HR dolna	95% PU HR górna
I-dsDNA [ng/ml]	0,000079	0,743579	1,000079	0,999605	1,000554
II-dsDNA [ng/ml]	0,000259	0,027230	1,000259	1,000029	1,000488
III-dsDNA [ng/ml]	0,000152	0,082215	1,000152	0,999981	1,000324
I-ssDNA [ng/ml]	0,000030	0,514037	1,000030	0,999941	1,000118
II-ssDNA [ng/ml]	0,000060	0,022323	1,000060	1,000009	1,000111
III-ssDNA [ng/ml]	0,000028	0,109813	1,000028	0,999994	1,000063
I-CitH3 [ng/ml]	0,013386	0,742733	1,013476	0,935623	1,097807
II-CitH3 [ng/ml]	0,005819	0,328322	1,005836	0,994168	1,017641
III-CitH3 [ng/ml]	0,002959	0,884390	1,002964	0,963745	1,043778
I-NEU [10 <sup>3</sup> /μl]	-0,156683	0,521643	0,854975	0,529457	1,380628
II-NEU [10 <sup>3</sup> /μl]	0,282962	0,028380	1,327054	1,030406	1,709107
III-NEU [10 <sup>3</sup> /μl]	0,231090	0,044951	1,259972	1,005217	1,579291
I-WBC [10 <sup>3</sup> /μl]	-0,106325	0,529317	0,899132	0,645579	1,252270
II-WBC [10 <sup>3</sup> /μl]	0,102411	0,310436	1,107839	0,908937	1,350268
III-WBC [10 <sup>3</sup> /μl]	0,107056	0,330818	1,112997	0,896990	1,381021
I-LYM [10 <sup>3</sup> /μl]	-0,107996	0,691415	0,897631	0,526631	1,529991
II-LYM [10 <sup>3</sup> /μl]	-0,457732	0,446014	0,632717	0,194961	2,053394
III-LYM [10 <sup>3</sup> /μl]	-0,725020	0,230055	0,484315	0,148231	1,582402
I-neu/limf ratio	-0,042911	0,860599	0,957996	0,593431	1,546526
II-neu/limf ratio	0,203494	0,013395	1,225678	1,043126	1,440176
III-neu/limf ratio	0,164460	0,015853	1,178757	1,031318	1,347274
I-NEU [%]	0,018703	0,493691	1,018879	0,965747	1,074934
II-NEU [%]	0,139701	0,012091	1,149930	1,031063	1,282500
III-NEU [%]	0,101930	0,021680	1,107306	1,015027	1,207973
I-LYM [%]	-0,006318	0,827535	0,993702	0,938797	1,051818
II-LYM [%]	-0,160304	0,051583	0,851885	0,724909	1,001102
III-LYM [%]	-0,072491	0,197474	0,930074	0,832989	1,038474

Tabela 21. Ocena hazardu Coxa wybranych parametrów.

---

## 6 DYSKUSJA

Ze względu na główną rolę neutrofilów jako mediatorów stanu zapalnego, neutrofile są szeroko stosowane jako wskaźnik stresu chirurgicznego, gojenia się ran, i sepsy pooperacyjnej [67]. Po założeniu stentgraftu zachodzą procesy zapalne [68], [69]. W niniejszej pracy badawczej skupiono się na zbadaniu aktywności uwolnienia zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych oraz wybranych parametrów stanu zapalnego i układu krzepnięcia w okresie przed- i pooperacyjnym wewnątrznaczyniowej naprawy tętniaka aorty piersiowo-brzuszej.

Jak dotąd, żadne badania nie zostały przeprowadzone w celu zbadania roli procesu netozy w tętniaku aorty piersiowo-brzuszej, a zwłaszcza po operacji wewnątrznaczyniowej. Jest to pierwsze badanie obejmujące osoby z TAAA. W ramach badania poddano ocenie markery NETs, które są uwalniane w odpowiedzi na proces zapalny, jaki towarzyszy umieszczeniu stentgraftu.

Wszystkie badane markery, takie jak dsDNA, ssDNA i Cit-H3, były podwyższone we wczesnym okresie pooperacyjnym (trzecia doba pooperacyjna). W tym dniu zaobserwowano również wzrost stężenia neutrofilów we krwi. Celem zróżnicowania czy wzrost netozy jest zależny od wzrostu liczby neutrofilów w pracy wprowadzono stosunek stężenia markera NETs do liczby neutrofilów (w przeliczeniu na 1000 neutrofilów). Gdyby intensywność netozy była zależna od liczby neutrofilów, to stosunek ten nie różniłby się istotnie statystycznie między oznaczeniami. W tym badaniu zaobserwowano, że stosunek ten różni się między pobraniami, przy czym największy wzrost występuje w trzecim dniu pooperacyjnym. Wynika z tego, że intensywność produkcji NETs jest niezależna od pooperacyjnego wzrostu neutrofilów. Okres pooperacyjny charakteryzuje się nie tylko znacznym wzrostem neutrofilów, ale również aktywacją neutrofilów prowadzącą do uwolnienia markerów takich jak ssDNA, dsDNA i Cit-H3 poza błonę komórkową. Znaczący wzrost markerów NETs krótko po operacji wskazuje na zwiększoną aktywność neutrofilów i pooperacyjny wzrost netozy. Jedynym markerem netozy, który powraca do poziomu sprzed operacji są Cit-H3. Marker ten jest wykrywany w krwioobiegu podczas uwalniania sieci neutrofilów w początkowym okresie i jest uznawany za najbardziej specyficzny marker netozy, ponieważ nie jest wytwarzany w żadnym innym mechanizmie [70]. Pozakomórkowe DNA może być uwalniane do krążenia nie tylko w trakcie netozy, ale także w sytuacji rozpadu komórek, w których błona komórkowa uległa uszkodzeniu.

---

Proces ten został opisywany u pacjentów z chorobami nowotworowymi, a cfDNA jako marker jest stosowany do przewidywania przeżycia pacjentów z nowotworem [71].

W piątym dniu pooperacyjnym oznaczenie markerów netozy wykazuje wyższe stężenie niż przed operacją, jednakże jest to wynik początkowego okresu normalizacji parametrów netozy, który osiągnął swój szczyt w trzecim dniu pooperacyjnym. Warto zwrócić uwagę, że spadek stężenia Cit-H3 jest obserwowany bardzo wcześnie w porównaniu z innymi markerami netozy, co czyni go najbardziej specyficznym wskaźnikiem normalizacji uwolnienia sieci neutrofilowych w okresie pooperacyjnym. W przypadku pozostałych markerów takich jak ssDNA i dsDNA, ich poziom pozostaje nadal podwyższony, co wskazuje na utrzymujący się proces zapalny oraz trwającą przebudowę architektury sieci NETs. Można przypuszczać, że utrzymujące się wysokie stężenie cfDNA (dsDNA i ssDNA) aż do piątej doby pooperacyjnej, kiedy stężenie Cit-H3 uległo normalizacji, może pochodzić z uszkodzonych komórek, które uczestniczą w rozwoju skrzepliny między stentem a ścianą tętnicy. Płytki krwi, erytrocyty i czynniki krzepnięcia są przyłączone do sieci NETs, które aktywnie uczestniczą w tworzeniu skrzeplin. Proces przebudowy skrzepliny między śródbłonkiem a wszczepionym stentem pozwala na zmniejszenie średnicy tętniaka w dłuższym czasie obserwacji [72].

W przeciwieństwie do poprzednich badań dotyczących NETs, które badały cfDNA całościowo, w tej pracy zostało zbadane oddzielnie jednoniciowy (ssDNA) i dwuniciowy DNA (dsDNA). Jak dotąd nie prowadzono badań nad jednoniciowym DNA w kontekście markera NETs. Nić pojedyncza DNA miała znacznie wyższe stężenia niż dsDNA w każdym pobraniu. Poziom ssDNA ma silną korelację w każdym pobraniu krwi przed i po operacji z dsDNA. Można przypuszczać że poziom ssDNA jest wyższy z powodu rozpadu kwasu nukleinowego w związku z promieniowaniem jakie jest użyte w celu wizualizacji naczyń podczas operacji [73]. Jednakże ta teoria wydaje się nieprawdziwa, ponieważ wyniki badań wykazały, że poziom ssDNA był wyższy od dsDNA przed operacją, kiedy nie było stosowane promieniowanie. W celu lepszej analizy wprowadzony został stosunek ss/dsDNA, który został porównany między pobraniami. Stosunek ss/dsDNA nie różnił się istotnie statystycznie między okresem przedoperacyjnym oraz trzecim i piątym dniem pooperacyjnym. Wydaje się, że promieniowanie nie wpływa na dysproporcje poziomu ssDNA do dsDNA, ponieważ stosunek przedoperacyjny jest na podobnym poziomie jak stosunek pooperacyjny.

---

Wynika z tego że ssDNA może być markerem powstawania NETs, podobnie jak dsDNA. Dalsze badania mogą zweryfikować, czy ssDNA jest wydzielane razem z dsDNA poza komórkę neutrofila podczas netozy, czy też ssDNA wynika z przzerwania dsDNA po uwolnieniu dsDNA.

W badaniu wykluczono wzrost netozy w odpowiedzi na zakażenie patogenami ze względu na brak objawów klinicznych i negatywny wynik testów PCR na obecność patogenów (dane nieprzedstawione).

W tym badaniu zbadano markery NETs w kontekście wybranych parametrów biochemicznych. Wzrost markerów stanu zapalnego po implantacji stentu może wskazywać na rozwój zespołu poimplantacyjnego (*PIS- postimplantation syndrome*). Jednak bardzo ważne jest rozróżnienie, kiedy wzrost mierzonych parametrów jest patologią, ponieważ reakcja na umieszczenie stentgraftu może się różnić w zależności od pacjenta. Sugeruje się, aby oprócz wartości bezwzględnych stosowanych w diagnostyce zespołu poimplantacyjnego, takich jak gorączka ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), prokalcytonina ( $>0,5\text{ ng/ml}$ ), CRP ( $>10\text{ mg/l}$ ) i leukocyty ( $>12\ 000/\text{ml}$ ) bardziej istotne jest długoterminowe podwyższenie tych parametrów po operacji [62], [74]. U żadnego pacjenta w tym badaniu nie zaobserwowano PIS ze względu na brak spełnienia wszystkich kryteriów. Warto jednak podkreślić, że PIS wywołuje silną ogólnoustrojową odpowiedź zapalną organizmu na implantację stentu, co stanowi wyzwanie w spełnieniu wszystkich kryteriów diagnostycznych [75]. Chociaż żaden z badanych pacjentów nie spełniał wszystkich kryteriów, to większość z nich wykazywała podwyższone wartości niektórych parametrów diagnostycznych PIS, przede wszystkim podwyższone CRP i leukocytoza. Gorączka i poziom prokalcytoniny są uważane za najbardziej miarodajne kryteria diagnostyczne w przypadku PIS. Te dwa czynniki są uznawane za bardziej wiarygodne, ze względu na ich wyższą swoistość i czułość w rozpoznawaniu choroby niż inne parametry, takie jak CRP czy poziom leukocytów [76]. Warto pamiętać, że poziom CRP, prokalcytoniny i leukocytów może ulec zmianie przez inne czynniki, takie jak choroby współistniejące lub zaburzenia metaboliczne, dlatego należy je interpretować ostrożnie i w połączeniu z innymi czynnikami diagnostycznymi i objawami klinicznymi. Niektóre badania wskazują na korzyści z zastosowania parametrów takich jak stężenie cytokin, trombocytów i fibrynogenu, co umożliwi lepszą ocenę stopnia odpowiedzi zapalnej na implantację stentu [77]. Warto jednak zauważyć, że nadal potrzebne są dalsze badania w celu ustalenia

---

optymalnych kryteriów diagnostycznych dla PIS, uwzględniających różnice w charakterystyce pacjentów, rodzajach stentów i technikach implantacji.

W celu dokładnej oceny stanu zapalnego w ramach tego badania porównywano zmianę poziomów różnych parametrów laboratoryjnych, takich jak neutrofile, CRP oraz prokalcytonina. Wzrost poziomu tych markerów po operacji wskazuje na obecność reakcji zapalnej organizmu w odpowiedzi na operację wewnątrznacyniową tętniaka aorty piersiowo-brzuszej.

Po operacji stężenie CRP jest znacznie wyższe niż przed nią. Wzrost CRP nie ma związku z infekcją, ponieważ powikłania tego typu są bardzo rzadkie, zwłaszcza przy wartości CRP poniżej 160 mg/l [78]. Średnie wartości CRP pooperacyjne nie przekraczały tej wartości. Obserwowany wzrost stężenia CRP po zabiegu wewnątrznacyniowym tętniaka aorty piersiowo-brzuszej jest związany z reakcją zapalną organizmu, a jego najwyższe wartości tego parametru obserwuje w ciągu 48h po operacji [79] i takie same wyniki są zaprezentowane w niniejszym badaniu. Zgodnie z innymi badaniami, normalizacja poziomu CRP następuje zazwyczaj w ciągu kilkunastu dni od zabiegu naprawy tętniaka aorty brzusznej [80],[81]. Tym badaniu nie zaobserwowano normalizacji CRP, aż do piątego dnia pooperacyjnego ze względu na dużą rozległość operacji tętniaka aorty piersiowo-brzuszej.

W badaniu nie zaobserwowano korelacji pomiędzy stężeniem CRP a markerami netozy, prawdopodobnie z powodu różnic w mechanizmach ich powstawania. CRP jest wytwarzany w wątrobie w odpowiedzi na obecność cytokin prozapalnych, takich jak IL-6 i TNF, podczas gdy proces netozy odzwierciedla reakcję zapalną w naczyniach [82].

Stężenie prokalcytoniny w tym badaniu ulega znaczącemu wzrostowi w wyniku operacji, ale pozostaje w granicach normy. Taki stan jest spowodowany stanem zapalnym związanym z samą operacją [83], a nie infekcją bakteryjną, podczas której poziom prokalcytoniny najczęściej przekracza poziom 0,5 ng/ml [84]. W innych badaniach udowodniono, że poziom prokalcytoniny jest bardziej swoisty dla infekcji bakteryjnej niż wzrost CRP czy leukocytoza [85]. Dlatego też, poziom prokalcytoniny w granicach normy w tym badaniu nie wskazuje na obecność infekcji bakteryjnej, która mogłaby wpłynąć na wyniki stężeń markerów NETs.



---

Poziom neutrofilii po operacji istotnie wzrasta w porównaniu z okresem przedoperacyjnym. Nie ma żadnej korelacji między stężeniem neutrofilii a jakimkolwiek markerem NETs. W trzecim i piątym dniu po operacji zaobserwowano znaczący spadek liczby limfocytów w porównaniu z poziomem przedoperacyjnym. W tym badaniu, wskaźnik neutrofilii do limfocytów (NLR) jest przydatnym narzędziem służącym ocenie stanu zapalnego po operacji oraz umożliwia ocenę ryzyka powikłań pooperacyjnych w obserwacji długoterminowej. Podwyższony poziom neutrofilii wraz z jednoczesnym spadkiem liczby limfocytów, prowadzi do wzrostu wartości NLR obserwowanego pooperacyjnie. Na podstawie poziomu NLR, który osiąga szczytową wartość w trzeciej dobie pooperacyjnej, można wnioskować, że największa odpowiedź zapalna występuje w tym okresie. Zarówno neutrofile jak i limfocyty są kluczowe w prawidłowej regulacji odpowiedzi zapalnej organizmu. Z jednej strony, neutrofile stanowią pierwszą linię obrony przeciwko infekcjom i szybko reagują na uszkodzenie tkanek. Jednak, z drugiej strony, ich nadmierna aktywacja i długotrwała obecność mogą przyczynić się do poważnych powikłań, takich jak uogólniona reakcja zapalna [86].

Z kolei, limfocyty odgrywają kluczową rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej, a ich obecność jest związana z ograniczaniem stanu zapalnego. W tym kontekście, zmniejszenie liczby limfocytów pooperacyjnie może prowadzić do osłabienia funkcji odpornościowej organizmu i zwiększenia ryzyka zakażeń [87]. NLR jest coraz szerzej uznawanym parametrem opisującym stan zapalny. Jest opisywany jako niezależny czynnik zwiększonego ryzyka wystąpienia powikłań pooperacyjnych oraz pomaga w określeniu rokowania po operacji. [88]. NLR cieszy się coraz większą popularnością w porównaniu z innymi parametrami opisującymi stan zapalny, ponieważ może pomóc w identyfikacji zwiększonego ryzyka wystąpienia powikłań pooperacyjnych oraz może pomóc w określeniu rokowania po operacji [88]. Głównym powodem tej popularności jest prostota obliczeń, ponieważ wymaga ona tylko dwóch parametrów, z których każdy odgrywa ważną rolę w przeciwstawnych mechanizmach. Spadek liczby limfocytów oznacza działanie immunosupresyjne, podczas gdy wzrost liczby neutrofilii odzwierciedla odpowiedź zapalną organizmu. Jednak główną wadą tego wskaźnika jest brak wyraźnych punktów odcięcia [89]. W innym badaniu stwierdzono, że wartość NLR jest istotnie wyższa u pacjentów z tętniakiem aorty brzusznej w porównaniu z grupą kontrolną (9,3 vs 3,39). Pacjenci z NLR powyżej 5 mieli gorsze wyniki 30-dniowej śmiertelności [90], [91].

---

W niniejszym badaniu, pacjenci poddani operacji wewnątrznaczyniowej byli obserwowani długoterminowo, w celu zidentyfikowania tych chorych, u których doszło do zgonu lub hospitalizacji w ciągu około roku od operacji tętniaka aorty piersiowo-brzuszej. Analiza danych została przeprowadzona poprzez porównanie czasu przeżycia pacjentów, czyli okresu od operacji do zdarzenia (śmierci lub hospitalizacji). Wyniki uzyskane w okresie okołoperacyjnym zostały poddane analizie, w celu zidentyfikowania czynników wpływających na przeżycie pacjentów.

W analizie hazardu Coxa stwierdzono, że wartości wskaźnika NLR obliczone w trzeciej i piątej dobie pooperacyjnej wpływają na ryzyko zgonu i hospitalizacji do roku od operacji tętniaka aorty piersiowo-brzuszej. Warto jednak zauważyć, że wartości NLR w okresie przedoperacyjnym nie wykazywały istotnego znaczenia statystycznego w ocenie ryzyka zgonu i hospitalizacji.

Z kolei, okazało się, że oznaczenie wskaźnika NLR w trzeciej dobie pooperacyjnej ma większą wartość prognostyczną niż w piątej dobie pooperacyjnej. Jest to prawdopodobnie związane z faktem, że w piątej dobie pooperacyjnej zachodzi początkowy okres normalizacji wartości NLR, co może wpływać na mniejszą skuteczność tego parametru w prognozowaniu wyników. Z tego względu, wartość wskaźnika NLR w trzeciej dobie pooperacyjnej, podczas której zaobserwowano największy wzrost parametrów stanu zapalnego, jest lepszym wskaźnikiem prognostycznym niż oznaczenia wskaźnika NLR w późniejszym okresie pooperacyjnym.

Podobne wyniki analizy hazardu Coxa zaobserwowano również w przypadku stężenia neutrofilów we krwi oraz procentowej zawartości neutrofilów względem leukocytów w trzecim i piątym dniu pooperacyjnym, co jednoznacznie potwierdza wpływ tych parametrów na ryzyko zgonu i hospitalizacji.

Warto podkreślić, że stężenie neutrofilów we krwi, jest kluczowym wskaźnikiem stanu zapalnego organizmu, które odzwierciedla aktywację układu odpornościowego [92]. Stąd też ich wartość może mieć istotne znaczenie w określeniu rokowania pacjenta po operacji tętniaka aorty piersiowo-brzuszej, dlatego monitorowanie tych parametrów może pomóc we wczesnym wykryciu potencjalnych powikłań i zminimalizowaniu ryzyka zgonu i hospitalizacji.

W niniejszym badaniu przeprowadzonym na chorych poddanych leczeniu wewnątrznaczyniowemu tętniaka aorty piersiowo-brzuszej wykazano, że stężenie dsDNA

---

i ssDNA w trzecim dniu pooperacyjnym są kluczowymi markerami prognostycznymi, odzwierciedlającymi ryzyko zgonu i hospitalizacji. Warto zauważyć, że oznaczenie Cit- H3 nie wykazało istotnego wpływu na analizę przeżycia.

Wyniki badania potwierdzają, że trzeci dzień pooperacyjny jest kluczowym momentem w monitorowaniu stanu pacjenta poddanego leczeniu tętniaka aorty piersiowo-brzuszej. W tym czasie obserwuje się największe odchylenia parametrów stanu zapalnego i netozy, które wpływają na rokowanie pacjenta. Dlatego też, stężenie dsDNA i ssDNA w trzecim dniu pooperacyjnym są szczególnie ważnymi wskaźnikami prognostycznymi.

Operacja wewnątrznaczyniowa tętniaka aorty (EVAR) jest inwazyjnym zabiegiem, który wpływa na układ krzepnięcia organizmu. W wyniku EVAR, organizm może odpowiedzieć na uraz chirurgiczny poprzez uruchomienie kaskady krzepnięcia. To z kolei może zwiększyć ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych, takich jak zatorowość płucna, zawał mięśnia sercowego lub udar mózgu [93]. W celu zmniejszenia ryzyka takich powikłań, podczas operacji podawana jest heparyna niefrakcjonowana.

W przypadku zastosowania heparyny niefrakcjonowanej, APTT ulega wydłużeniu, co jest oczekiwanym efektem leczenia przeciwzakrzepowego. APTT służy do oceny funkcji układu krzepnięcia krwi, a dokładniej drogi wewnątrzpochodnej [94]. W przypadku leczenia wewnątrznaczyniowego tętniaków aorty piersiowo-brzuszej obserwuje się wydłużenie APTT między okresem przedoperacyjnym a trzecim dniem po operacji. Następuje normalizacja APTT między trzecią a piątą dobą ze względu czas działania heparyny niefrakcjonowanej który utrzymuje się do 4-6 h od zaprzestania wlewu [95].

Z kolei wpływ heparyny niefrakcjonowanej na czas protrombinowy (PT) jest zwykle mniej istotny, ponieważ PT jest testem, który mierzy funkcję drogi zewnętrznej krzepnięcia, a heparyna niefrakcjonowana działa przede wszystkim na drogę wewnętrzną. Niemniej jednak, w przypadku stosowania bardzo wysokich dawek heparyny niefrakcjonowanej stosowanych podczas EVAR dochodzi do wydłużenia czasu PT.

W trzeciej dobie pooperacyjnej rozpoczyna się leczenie DAPT przy użyciu ASA i kłopidogrelu. W tym dniu obserwuje się największe wydłużenie czasu protrombinowego. Wpływ ASA i kłopidogrelu na czas protrombinowy (PT) jest zwykle niewielki lub nie ma wpływu [96]. PT jest testem, który mierzy czas, w którym osoczowa krew krzepnie,

---

a to z kolei zależy głównie od funkcji czynników krzepnięcia związanych z drogą zewnętrzną. ASA i kłopidogrel nie wpływają bezpośrednio na czynniki krzepnięcia, które biorą udział w drodze zewnętrznej. ASA i kłopidogrel są lekami przeciwplatekowymi i hamują agregację płytek krwi [97].

INR jest standaryzowanym współczynnikiem czasu protrombinowego dlatego odzwierciedla działanie szlaku zewnętrznego [98]. Dlatego zmiany INR są skorelowane ze zmianami PT.

W związku z tym, kontrola czasu APTT i PT jest istotna u pacjentów otrzymujących heparynę niefrakcjonowaną, aby zapewnić odpowiednią kontrolę nad krzepnięciem krwi.

Po operacji wewnątrznaczyniowej stężenie fibrynogenu może ulec zmianom. Zazwyczaj po operacji stężenie fibrynogenu może wzrosnąć, ponieważ organizm w odpowiedzi na uraz zwiększa jego produkcję w wątrobie, ponieważ fibrynogen jest białkiem ostrej fazy [99]. Z drugiej strony, podczas operacji stosuje się leki przeciwkrzepliwne, które mogą wpłynąć na stężenie fibrynogenu [100]. W tym badaniu zaobserwowano wzrost stężenia fibrynogenu między okresem przedoperacyjnym a ostatnim pobraniem.

Fibrynogen ulega przekształceniu w fibrynę, która tworzy sieć włókien. D-dimery są małymi fragmentami fibryny, które powstają w wyniku jej rozpadu enzymatycznego. Wzrost poziomu D-dimerów we krwi może być wskaźnikiem aktywacji procesu krzepnięcia [101].

W tym badaniu oceniono, jak zachowuje się poziom D-dimerów, przed i po operacji wewnątrznaczyniowej tętniaka aorty. Należy wziąć pod uwagę, że przedoperacyjne stężenia D-dimerów są zwykle wyższe niż u zdrowych osób, ze względu na enzymatyczny rozkład fibryny zawartej w skrzeplinie przyściennej, która jest obecna przed leczeniem naczyniowym. Co więcej, wielkość skrzepliny jest ściśle skorelowana ze średnicą tętniaka [102], a zatem D-dimery wykazują tendencję do wzrostu wraz z postępującą progresją tętniaka [103]. Można przypuszczać, że znamienne wyższy poziom D-dimerów po operacji obserwowany w tym badaniu jest spowodowany uwalnianiem tego czynnika w wyniku tworzenia się skrzepliny wewnątrznaczyniowej [104] między zaimplantowanym stentem a ścianą aorty.

Spadek liczby płytek krwi po operacji wewnątrznaczyniowej tętniaka aorty piersiowo-brzuszej, może być spowodowany kilkoma czynnikami. Po pierwsze, operacja ta jest

---

inwazyjnym procesem chirurgicznym, który może prowadzić do znacznej utraty krwi. Takie utraty krwi mogą skutkować spadkiem liczby płytek krwi, ponieważ płytki krwi są częścią składu krwi i mogą być tracone wraz z krwią.

Po drugie, stres i uraz spowodowany operacją mogą wpływać na funkcjonowanie układu odpornościowego, co może wpłynąć na liczbę płytek krwi. Szczególnie u osób starszych z ciężkimi chorobami współistniejącymi, taki uraz może prowadzić do zmniejszenia liczby płytek krwi [105]. Zmniejszenie stężenia płytek w badaniu było obserwowane w okresie pooperacyjnym i podobna zależność jest widoczna w badaniu płytkokrytu. Zaobserwowano istotny wzrost P-LCR między okresem przedoperacyjnym i trzecim dniem po operacji. Wzrost odsetka dużych płytek (P-LCR) w tym okresie wskazuje na odbudowę populacji płytek, ponieważ płytki młode są większe.

Warto podkreślić, że interakcje między płytkami krwi a neutrofilami wydzielającymi NETs mają istotny wpływ na proces krzepnięcia i tworzenie się skrzeplin. Badania wykazują, że aktywne neutrofile pobudzają aktywację płytek krwi, co z kolei prowadzi do uwalniania NETs i dalszego nasilenia procesu krzepnięcia, prowadząc do błędnego koła. Istnieją również dowody na to, że płytki krwi mogą stymulować uwalnianie NETs przez neutrofile poprzez integryny, selektyny i chemokiny. Leczenie przeciwplatekcyjne może zahamować proces błędnego koła [106].

Sieci neutrofilowe (NETs) są odgrywają kluczową rolę w procesie krzepnięcia krwi. NETs mogą przyczyniać się do aktywacji procesu krzepnięcia na kilka sposobów. NETs regulują głównie układ krzepnięcia poprzez szlak zewnętrzny, uwalniając czynniki krzepnięcia, takie jak tkankowy czynnik krzepnięcia (TF) oraz czynnik VIIa [107]. Aktywacja czynnika VIIa prowadzi do dalszej aktywacji szlaku zewnątrzpo pochodnego.

Ponadto, NETs zawierają enzymy proteolityczne, takie jak elastaza i katepsyna G, które również mogą aktywować czynnik krzepnięcia [108]. NETs charakteryzują się także unikalną konfiguracją przestrzenną, która umożliwia im tworzenie miejsc, do których przylegają takie czynniki, jak fibronektyna, płytki krwi [109]. W ten sposób NETs są w stanie tworzyć rusztowania dla czynników krzepnięcia i wzmocnić ich interakcje prowadzące do powstania skrzepliny. To właśnie dzięki temu skrzeplina utworzona z NETs jest bardziej stabilna [110].

W ramach niniejszego badania dokładnie przeanalizowano mechanizmy wpływu markerów NETs na proces krzepnięcia. Niestety, w trakcie badania nie udało się zaobserwować korelacji między markerami NETs a badanymi czynnikami układu

---

krzepnięcia. Główną przyczyną tego zjawiska jest fakt, że po wewnątrznaczyniowym leczeniu tętniaków aorty zabiegu zachodzi wiele zmian w układzie krzepnięcia, które są wynikiem stanu prozakrzepowego spowodowanego implantacją stentu oraz stosowanych leków przeciwkrzepliwych, takich jak heparyna niefrakcjonowana oraz licznych leków przeciwplatek, takie jak ASA i kłopidogrel. Choć wiele badań wskazuje na rolę NETs w patologii prozakrzepowej, to badania dotyczące ich wpływu na układ krzepnięcia po EVAR są wciąż niewystarczające. W związku z tym, aby lepiej zrozumieć rolę NETs w procesie krzepnięcia po EVAR, potrzebne są dalsze badania.

### **6.1 Ograniczenia badania**

Głównym ograniczeniem przeprowadzonego badania jest jego mała liczba pacjentów z tętniakiem aorty piersiowo-brzusznym, którzy zostali zakwalifikowani ze względu na ściśle określone kryteria wykluczenia. Ponadto, ograniczenia finansowe uniemożliwiły zakup większej ilości odczynników potrzebnych do przeprowadzenia badania na większej liczbie uczestników. Kolejnym ograniczeniem tego badania jest trypunktowość pobierania krwi; aby dokładniej opisać oscylację parametrów, krew należałoby pobierać częściej, np. codziennie. Ostatnia analiza parametrów miała miejsce w piątej dobie pooperacyjnej, a większość analizowanych parametrów nie powróciła do stanu sprzed operacji, dlatego aby ocenić ich dalsze fluktuacje, markery te należałoby ocenić w późniejszym czasie.

---

## 7 WNIOSKI

1. NETs są wydzielane w odpowiedzi na złożony proces, który zachodzi po umieszczeniu stentgraftu. Wzrost powstawania NETs w fazie pooperacyjnej był niezależny od wzrostu liczby neutrofilii co świadczy o aktywacji neutrofilii.
2. Stężenie jednoniciowego DNA (ssDNA) koreluje z dsDNA co świadczy że ssDNA może być markerem NETozy.
3. Analiza badanych parametrów wykazała że ryzyko wystąpienia zgonu i hospitalizacji wzrasta w związku ze wzrostem następujących parametrów: dsDNA (w II pobraniu), ssDNA (w II pobraniu), neutrofile (w II i III pobraniu), stosunek neutrofilii do limfocytów (w II i III pobraniu). Ocena tych parametrów pomaga określić ryzyko wystąpienia powikłań pooperacyjnych.

---

## 8 BIBLIOGRAFIA

1. Yuan, Z., Lu, Y., Wei, J., Wu, J., Yang, J., & Cai, Z. (2021). Abdominal Aortic Aneurysm: Roles of Inflammatory Cells. *Frontiers in Immunology*, 11  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.609161>
2. Hu, Z., Li, Y., Peng, R., Liu, J., Jia, X., Liu, X., Xiong, J., Ma, X., Zhang, H., & Guo, W. (2016). Multibranched Stent-Grafts for the Treatment of Thoracoabdominal Aortic Aneurysms. *Journal of Endovascular Therapy*, 23(4), 626–633.  
<https://doi.org/10.1177/1526602816647723>
3. Sadek, M., Dexter, D. T., Rockman, C. B., Hoang, H., Mussa, F. F., Cayne, N. S., Jacobowitz, G. R., Veith, F. J., Adelman, M. A., & Maldonado, T. S. (2013). Preoperative Relative Abdominal Aortic Aneurysm Thrombus Burden Predicts Endoleak and Sac Enlargement After Endovascular Aneurysm Repair. *Annals of Vascular Surgery*, 27(8), 1036–1041.  
<https://doi.org/10.1016/j.avsg.2013.04.006>
4. Feller, I., & Woodburne, R. T. (1961). Surgical Anatomy of Abdominal Aorta. *Annals of Surgery*, 154 (Suppl 6), 239–252.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1466817/>
5. Dagenais, F. (2011). Anatomy of the Thoracic Aorta and of Its Branches. *Thoracic Surgery Clinics*, 21(2), 219–227.  
<https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2010.12.004>
6. Schunke, M. (2009). *PROMETEUSZ Atlas anatomii człowieka: Vol. Tom 2 (Szyja i narządy wewnętrzne, p. 262)*. MedPharm Polska.
7. M. Schunke, M. (2009). *PROMETEUSZ Atlas anatomii człowieka: Vol. Tom 2 (Szyja i narządy wewnętrzne, p. 114)*. MedPharm Polska.



- 
8. Frederick, J. R., & Woo, Y. J. (2012). Thoracoabdominal aortic aneurysm. *Annals of Cardiothoracic Surgery*, 1(3), 277–285.  
<https://doi.org/10.3978/j.issn.2225-319X.2012.09.01>
  9. Sawicki, W., & Malejczyk, J. (2012). *Histologia* (6th ed., p. 322). PZWL.
  10. Sawicki, W., & Malejczyk, J. (2012). *Histologia* (6th ed., p. 326). PZWL.
  11. Sawicki, W., & Malejczyk, J. (2012). *Histologia* (6th ed., p. 327). PZWL.
  12. Coselli, J. S., Bozinovski, J., & LeMaire, S. A. (2007). Open Surgical Repair of 2286 Thoracoabdominal Aortic Aneurysms. *The Annals of Thoracic Surgery*, 83(2), S862–S864.  
<https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2006.10.088>
  13. Vliet, J. A. van der, & Boll, A. P. (1997). Abdominal aortic aneurysm. *The Lancet*, 349(9055), 863–866.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)07282-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)07282-0)
  14. Kalder, J., Kotelis, D., & Jacobs, M. J. (2016). Thorakoabdominelles Aortenaneurysma. *Der Chirurg*, 87(9), 797–810.  
<https://doi.org/10.1007/s00104-016-0283-1>
  15. Juvonen, T., Ergin, M., Arisan., Galla, J. D., Lansman, S. L., Nguyen, K. H., McCullough, J. N., Levy, D., de Asla, R. A., Bodian, C. A., & Griep, R. B. (1997). Prospective Study of the Natural History of Thoracic Aortic Aneurysms. *The Annals of Thoracic Surgery*, 63(6), 1533–1545.  
[https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(97\)00414-1](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(97)00414-1)
  16. Stein, L. H., & Elefteriades, J. A. (2011). Epidemiology and Natural History of Thoraco-Abdominal Aortic Aneurysms. *Thoraco-Abdominal Aorta*, 25–32.  
[https://doi.org/10.1007/978-88-470-1857-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-88-470-1857-0_3)

- 
17. Clouse, W. D., Hallett, Jr, J. W., Schaff, H. V., Gayari, M. M., Ilstrup, D. M., & Melton III, L. J. (1998). Improved Prognosis of Thoracic Aortic Aneurysms. *JAMA*, *280*(22), 1926.  
<https://doi.org/10.1001/jama.280.22.1926>
18. Quintana, R. A., & Taylor, W. R. (2019). Cellular Mechanisms of Aortic Aneurysm Formation. *Circulation Research*, *124*(4), 607–618.  
<https://doi.org/10.1161/circresaha.118.313187>
19. Meegan, J. E., Yang, X., Coleman, D. C., Jannaway, M., & Yuan, S. Y. (2017). Neutrophil-mediated vascular barrier injury: Role of neutrophil extracellular traps. *Microcirculation*, *24*(3), e12352.  
<https://doi.org/10.1111/micc.12352>
20. Vorobjeva, N. V., & Chernyak, B. V. (2020). NETosis: Molecular Mechanisms, Role in Physiology and Pathology. *Biochemistry (Moscow)*, *85*(10), 1178–1190.  
<https://doi.org/10.1134/s0006297920100065>
21. Plana, E., Oto, J., Medina, P., Fernández-Pardo, Á., & Miralles, M. (2020). Novel contributions of neutrophils in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysm, the role of neutrophil extracellular traps: A systematic review. *Thrombosis Research*, *194*, 200–208.  
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.07.039>
22. Kazi, M., Thyberg, J., Religa, P., Roy, J., Eriksson, P., Hedin, U., & Swedenborg, J. (2003). Influence of intraluminal thrombus on structural and cellular composition of abdominal aortic aneurysm wall. *Journal of Vascular Surgery*, *38*(6), 1283–1292.  
[https://doi.org/10.1016/S0741-5214\(03\)00791-2](https://doi.org/10.1016/S0741-5214(03)00791-2)

- 
23. Harter, L. P., Gross, B. H., Callen, P. W., & Barth, R. A. (1982). Ultrasonic evaluation of abdominal aortic thrombus. *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine*, 1(8), 315–318.  
<https://doi.org/10.7863/jum.1982.1.8.315>
24. Davis, F. J., Gupta, M., Pogwizd, S. M., Bacha, E., Jeevanandam, V., & Gupta, M. P. (2002). Increased expression of alternatively spliced dominant-negative isoform of SRF in human failing hearts. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 282(4), H1521–H1533.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00844.2001>
25. Wolf, Y. G., Thomas, W. S., Brennan, F. J., Goff, W. G., Sise, M. J., & Bernstein, E. F. (1994). Computed tomography scanning findings associated with rapid expansion of abdominal aortic aneurysms. *Journal of Vascular Surgery*, 20(4), 529–538.  
[https://doi.org/10.1016/0741-5214\(94\)90277-1](https://doi.org/10.1016/0741-5214(94)90277-1)
26. Airhart, N., Brownstein, B. H., Cobb, J. P., Schierding, W., Arif, B., Ennis, T. L., Thompson, R. W., & Curci, J. A. (2014). Smooth muscle cells from abdominal aortic aneurysms are unique and can independently and synergistically degrade insoluble elastin. *Journal of Vascular Surgery*, 60(4), 1033-1042.e5.  
<https://doi.org/10.1016/j.jvs.2013.07.097>
27. Ding, Y., Shan, Y., Zhou, M., Cai, L., Li, X., Shi, Z., & Fu, W. (2020). Amount of Intraluminal Thrombus Correlates with Severe Adverse Events in Abdominal Aortic Aneurysms after Endovascular Aneurysm Repair. *Annals of Vascular Surgery*, 67, 254–264.  
<https://doi.org/10.1016/j.avsg.2020.02.011>

- 
28. Henderson, E. L., Geng, Y.-J., Sukhova, G. K., Whittemore, A. D., Knox, J., & Libby, P. (1999). Death of Smooth Muscle Cells and Expression of Mediators of Apoptosis by T Lymphocytes in Human Abdominal Aortic Aneurysms. *Circulation*, *99*(1), 96–104.  
<https://doi.org/10.1161/01.cir.99.1.96>
29. Li, T., Lv, Z., Jing, J.-J., Yang, J., & Yuan, Y. (2017). Matrix metalloproteinase family polymorphisms and the risk of aortic aneurysmal diseases: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Genetics*, *93*(1), 15–32.  
<https://doi.org/10.1111/cge.13050>
30. Brinckerhoff, C. E., & Matrisian, L. M. (2002). Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *3*(3), 207–214.  
<https://doi.org/10.1038/nrm763>
31. Nataatmadja, M. (2003). Abnormal Extracellular Matrix Protein Transport Associated With Increased Apoptosis of Vascular Smooth Muscle Cells in Marfan Syndrome and Bicuspid Aortic Valve Thoracic Aortic Aneurysm. *Circulation*, *108*(90101), 329II--334.  
<https://doi.org/10.1161/01.cir.0000087660.82721.15>
32. Xiong, W., Knispel, R. A., Dietz, H. C., Ramirez, F., & Baxter, B. T. (2008). Doxycycline delays aneurysm rupture in a mouse model of Marfan syndrome. *Journal of Vascular Surgery*, *47*(1), 166–172.  
<https://doi.org/10.1016/j.jvs.2007.09.016>
33. Brophy, C. M., Marks, W. H., Reilly, J. M., & David Tilson, M. (1991). Decreased tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) in abdominal aortic aneurysm tissue: A preliminary report. *Journal of Surgical Research*, *50*(6), 653–657.  
[https://doi.org/10.1016/0022-4804\(91\)90058-t](https://doi.org/10.1016/0022-4804(91)90058-t)

- 
34. Brophy, C. M., Marks, W. H., Reilly, J. M., & David Tilson, M. (1991). Decreased tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) in abdominal aortic aneurysm tissue: A preliminary report. *Journal of Surgical Research*, 50(6), 653–657.  
[https://doi.org/10.1016/0022-4804\(91\)90058-t](https://doi.org/10.1016/0022-4804(91)90058-t)
35. Yuan, Z., Lu, Y., Wei, J., Wu, J., Yang, J., & Cai, Z. (2021). Abdominal Aortic Aneurysm: Roles of Inflammatory Cells. *Frontiers in Immunology*, 11.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.609161>
36. Xiong, W., Mactaggart, J., Knispel, R., Worth, J., Zhu, Z., Li, Y., Sun, Y., Baxter, B. T., & Johanning, J. (2009). Inhibition of reactive oxygen species attenuates aneurysm formation in a murine model. *Atherosclerosis*, 202(1), 128–134.  
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.03.029>
37. Chen, Q., Wang, Q., Zhu, J., Xiao, Q., & Zhang, L. (2018). Reactive oxygen species: key regulators in vascular health and diseases. *British Journal of Pharmacology*, 175(8), 1279–1292.  
<https://doi.org/10.1111/bph.13828>
38. Sawicki, W., & Malejczyk, J. (2012). *Histologia* (6th ed., p. 331). PZWL.
39. Madaric, J., Vulev, I., Bartunek, J., Mistrik, A., Verhamme, K., De Bruyne, B., & Rieckens, I. (2005). Frequency of Abdominal Aortic Aneurysm in Patients >60 Years of Age With Coronary Artery Disease. *The American Journal of Cardiology*, 96(9), 1214–1216.  
<https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.06.058>
40. Peshkova, I. O., Schaefer, G., & Koltsova, E. K. (2016). Atherosclerosis and aortic aneurysm – is inflammation a common denominator? *The FEBS Journal*, 283(9), 1636–1652.  
<https://doi.org/10.1111/febs.13634>

- 
41. Baguet, J.-P., Chavanon, O., Sessa, C., Thony, F., Lantelme, P., Barone-Rochette, G., & Mallion, J.-M. (2011). Nadciśnienie tętnicze a choroby aorty. *Choroby Serca I Naczyń*, 8(3), 119–123.  
[https://journals.viamedica.pl/choroby\\_serca\\_i\\_naczyn/article/view/18615](https://journals.viamedica.pl/choroby_serca_i_naczyn/article/view/18615)
42. Kobeissi, E., Hibino, M., Pan, H., & Aune, D. (2019). Blood pressure, hypertension and the risk of abdominal aortic aneurysms: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *European Journal of Epidemiology*, 34(6), 547–555.  
<https://doi.org/10.1007/s10654-019-00510-9>
43. Franks, P. J., Edwards, R. J., Greenhalgh, R. M., & Powell, J. T. (1996). Risk factors for abdominal aortic aneurysms in smokers. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 11(4), 487–492.  
[https://doi.org/10.1016/s1078-5884\(96\)80186-9](https://doi.org/10.1016/s1078-5884(96)80186-9)
44. Gołąb, J. (2012). *Immunologia* (Vol. 6, p. 234). PWN.
45. Houard, X., Ollivier, V., Louedec, L., Michel, J., & Back, M. (2009). Differential inflammatory activity across human abdominal aortic aneurysms reveals neutrophil-derived leukotriene B4 as a major chemotactic factor released from the intraluminal thrombus. *The FASEB Journal*, 23(5), 1376–1383.  
<https://doi.org/10.1096/fj.08-116202>
46. Houard, X., Rouzet, F., Touat, Z., Philippe, M., Dominguez, M., Fontaine, V., Sarda-Mantel, L., Meulemans, A., Le Guludec, D., Meilhac, O., & Michel, J.-B. (2007). Topology of the fibrinolytic system within the mural thrombus of human abdominal aortic aneurysms. *The Journal of Pathology*, 212(1), 20–28.  
<https://doi.org/10.1002/path.2148>
47. SWEDENBORG, J., & ERIKSSON, P. (2006). The Intraluminal Thrombus as a Source of Proteolytic Activity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1085(1), 133–138.  
<https://doi.org/10.1196/annals.1383.044>

- 
48. Siennicka, A., Adamowicz, M., Grzesch, N., Kłysz, M., Woźniak, J., Cnotliwy, M., Galant, K., & Jastrzębska, M. (2022). Association of Aneurysm Tissue Neutrophil Mediator Levels with Intraluminal Thrombus Thickness in Patients with Abdominal Aortic Aneurysm. *Biomolecules*, *12*(2), 254.  
<https://doi.org/10.3390/biom12020254>
49. Olsson, A.-K., & Cedervall, J. (2016). NETosis in Cancer – Platelet–Neutrophil Crosstalk Promotes Tumor-Associated Pathology. *Frontiers in Immunology*, *7*.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00373>
50. von Brühl, M.-L., Stark, K., Steinhart, A., Chandraratne, S., Konrad, I., Lorenz, M., Khandoga, A., Tirniceriu, A., Coletti, R., Köllnberger, M., Byrne, R. A., Laitinen, I., Walch, A., Brill, A., Pfeiler, S., Manukyan, D., Braun, S., Lange, P., Riegger, J., & Ware, J. (2012). Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *Journal of Experimental Medicine*, *209*(4), 819–835.  
<https://doi.org/10.1084/jem.20112322>
51. Laridan, E., Martinod, K., & De Meyer, S. (2019). Neutrophil Extracellular Traps in Arterial and Venous Thrombosis. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, *45*(01), 086–093.  
<https://doi.org/10.1055/s-0038-1677040>
52. Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., Weinrauch, Y., & Zychlinsky, A. (2004). Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science (New York, N.Y.)*, *303*(5663), 1532–1535.  
<https://doi.org/10.1126/science.1092385>
53. Thiam, H. R., Wong, S. L., Wagner, D. D., & Waterman, C. M. (2020). Cellular Mechanisms of NETosis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *36*(1), 191–218.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-020520-111016>

- 
54. Martinod, K., Demers, M., Fuchs, T. A., Wong, S. L., Brill, A., Gallant, M., Hu, J., Wang, Y., & Wagner, D. D. (2013b). Neutrophil histone modification by peptidylarginine deiminase 4 is critical for deep vein thrombosis in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(21), 8674–8679.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1301059110>
55. Xu, J., Zhang, X., Pelayo, R., Monestier, M., Ammollo, C. T., Semeraro, F., Taylor, F. B., Esmon, N., Lupu, F., & Esmon, C. T. (2009). Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nature Medicine*, *15*(11), 1318–1321.  
<https://doi.org/10.1038/nm.2053>
56. Gould, T. J., Vu, T. T., Swystun, L. L., Dwivedi, D. J., Mai, S. H. C., Weitz, J. I., & Liaw, P. C. (2014). Neutrophil Extracellular Traps Promote Thrombin Generation Through Platelet-Dependent and Platelet-Independent Mechanisms. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *34*(9), 1977–1984.  
<https://doi.org/10.1161/atvbaha.114.304114>
57. Semeraro, F., Ammollo, C. T., Morrissey, J. H., Dale, G. L., Friese, P., Esmon, N. L., & Esmon, C. T. (2011). Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood*, *118*(7), 1952–1961.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2011-03-343061>
58. Michalska, M., Grochowicki, T., Jakimowicz, T., & Nazarewski, S. (2021). A Review of the Impact of Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps (NETs) on the Development of Aortic Aneurysms in Animal and Human Studies. *Medical Science Monitor*, *28*.  
<https://doi.org/10.12659/msm.935134>
59. Piechota-Polanczyk, A., Jozkowicz, A., Nowak, W., Eilenberg, W., Neumayer, C., Malinski, T., Huk, I., & Brostjan, C. (2015). The Abdominal Aortic Aneurysm and Intraluminal Thrombus: Current Concepts of Development and Treatment. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *2*.  
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2015.00019>



- 
60. Eilenberg, W., Zagrapan, B., Bleichert, S., Ibrahim, N. K., Knöbl, V., Brandau, A., Martelanz, L., Grasl, M., Hayden, H., Nawrozi, P., Rajic, R., Häusler, C., Potolidis, A., Schirwani, N., Scheuba, A., Klopff, J., Teubenbacher, P., Weigl, M., Kirchweger, P., Brostjan, C. (2021). Histone citrullination as a novel biomarker and target to inhibit progression of abdominal aortic aneurysms. *Translational Research*, 233, 32-46.  
<https://doi.org/10.1016/j.trsl.2021.02.003>
61. Bradley, N., Roxburgh, C. S., Khan, F., & Guthrie, G. (2021c). Postimplantation syndrome in endovascular aortic aneurysm repair – a systematic review. *VASA*, 50(3), 174–185.  
<https://doi.org/10.1024/0301-1526/a000913>
62. Sartipy, F., Lindström, D., Gillgren, P., & Ternhag, A. (2015). The Impact of Stent Graft Material on the Inflammatory Response After EVAR. *Vascular and Endovascular Surgery*, 49(3-4), 79–83.  
<https://doi.org/10.1177/1538574415595209>
63. Ferreira, R., & Gonçalves, F. B. (2018). Postimplantation Syndrome after Endovascular Aneurysm Repair. *Abdominal Aortic Aneurysm - From Basic Research to Clinical Practice*.  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.77392>
64. Han, Y., Yang, T., Kim, D., Jin, H., Chung, S., Seo, J., Jang, J., Kim, D., Kim, D., Kim, K., Seol, S., & Kim, D. (2013). Neutrophil to Lymphocyte Ratio Predicts Long-Term Clinical Outcomes in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention. *Korean Circulation Journal*, 43(2), 93.  
<https://doi.org/10.4070/kcj.2013.43.2.93>

- 
65. Arnaoutoglou, E., Kouvelos, G., Papa, N., Kallinteri, A., Milionis, H. J., Koulouras, V., & Matsagkas, M. (2015). Prospective Evaluation of Post-implantation Inflammatory Response After EVAR for AAA: Influence on Patients' 30 Day Outcome. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 49(2), 175–183.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2014.12.006>
66. Ferreira, R., Oliveira-Pinto, J., Ultee, K. H., Voûte, M. T., Oliveira, N., Hoeks, S. E., Verhagen, H. J., & Gonçalves, F. B. (2021). Long Term Outcomes of Post-Implantation Syndrome After Endovascular Aneurysm Repair. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 62(4), 561–568.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2021.06.025>
67. Eustache, J. H., Tohme, S., Milete, S., Rayes, R. F., Tsung, A., & Spicer, J. D. (2019). Casting A Wide Net On Surgery. *Annals of Surgery*, 1.  
<https://doi.org/10.1097/sla.0000000000003586>
68. Chang, C. K., Chuter, T. A. M., Niemann, C. U., Shlipak, M. G., Cohen, M. J., Reilly, L. M., & Hiramoto, J. S. (2009). Systemic inflammation, coagulopathy, and acute renal insufficiency following endovascular thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Journal of Vascular Surgery*, 49(5), 1140–1146.  
<https://doi.org/10.1016/j.jvs.2008.11.102>
69. Abdelhamid, M. I., Davies, R. J. O., Adam, D. J., Vohra, R., & Bradbury, A. (2012). Changes in thrombin generation, fibrinolysis, platelet and endothelial cell activity, and inflammation following endovascular abdominal aortic aneurysm repair. *Journal of Vascular Surgery*, 55(1), 41–46.  
<https://doi.org/10.1016/j.jvs.2011.07.094>
70. Wong, S. L., & Wagner, D. D. (2018). Peptidylarginine deiminase 4: a nuclear button triggering neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases and aging. *The FASEB Journal*, 32(12), 6258–6370  
<https://doi.org/10.1096/fj.201800691r>

- 
71. Grilz, E., Mauracher, L., Posch, F., Königsbrügge, O., Zöchbauer-Müller, S., Marosi, C., Lang, I., Pabinger, I., & Ay, C. (2019). Citrullinated histone H3, a biomarker for neutrophil extracellular trap formation, predicts the risk of mortality in patients with cancer. *British Journal of Haematology*, *186*(2), 311–320  
<https://doi.org/10.1111/bjh.15906>
72. Kim, J.-E., Lee, N., Gu, J.-Y., Yoo, H. J., & Kim, H. K. (2015). Circulating levels of DNA-histone complex and dsDNA are independent prognostic factors of disseminated intravascular coagulation. *Thrombosis Research*, *135*(6), 1064–1069.  
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2015.03.014>
73. Ward, J. F., & Kuo, I. (1978). Radiation Damage to DNA in Aqueous Solution: A Comparison of the Response of the Single-Stranded Form with That of the Double-Stranded Form. *Radiation Research*.  
<https://doi.org/10.2307/3574903>
74. Voûte, M. T., Gonçalves, F. M. B., Luijtgarden, K. M. van de, Nulent, C. G. A. K., Hoeks, S. E., Stolker, R. J., & Verhagen, H. J. M. (2012). Stent graft composition plays a material role in the postimplantation syndrome. *Journal of Vascular Surgery*, *56*(6), 1503–1509.  
<https://doi.org/10.1016/j.jvs.2012.06.072>
75. Arnaoutoglou, E., Kouvelos, G., Papa, N., Gartzonika, K., Milionis, H., Koulouras, V., & Matsagkas, M. (2016b). Prospective evaluation of postimplantation syndrome evolution on patient outcomes after endovascular aneurysm repair for abdominal aortic aneurysm. *Journal of Vascular Surgery*, *63*(5), 1248–1255.  
<https://doi.org/10.1016/j.jvs.2015.11.043>
76. Sartipy, F., Lindström, D., Gillgren, P., & Ternhag, A. (2014b). The Role of Procalcitonin in Postimplantation Syndrome after EVAR: A Pilot Study. *Annals of Vascular Surgery*, *28*(4), 866–873.  
<https://doi.org/10.1016/j.avsg.2013.11.011>

- 
77. Kakisis, J. D., Moulakakis, K. G., Antonopoulos, C. N., Mylonas, S. N., Giannakopoulos, T. G., Sfyroeras, G. S., Karakitsos, P., & Liapis, C. D. (2014). Volume of new-onset thrombus is associated with the development of postimplantation syndrome after endovascular aneurysm repair. *Journal of Vascular Surgery*, *60*(5), 1140–1145.  
<https://doi.org/10.1016/j.jvs.2014.05.041>
78. Gans, S. L., Atema, J. J., van Dieren, S., Koerkamp, B. G., & Boermeester, M. A. (2015). Diagnostic value of C-reactive protein to rule out infectious complications after major abdominal surgery: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Colorectal Disease*, *30*(7), 861–873.  
<https://doi.org/10.1007/s00384-015-2205-y>
79. Cole, D., Watts, A. G., Scott-Coombes, D., & Avades, T. Y. (2008). Clinical Utility of Peri-Operative C-Reactive Protein Testing in General Surgery. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, *90*(4), 317–321.  
<https://doi.org/10.1308/003588408x285865>
80. Kim, E. N., Yu, J., Lim, J. S., Jeong, H., Kim, C. J., Choi, J.-S., Kim, S. R., Ahn, H.-S., Kim, K., & Oh, S. J. (2021). CRP immunodeposition and proteomic analysis in abdominal aortic aneurysm. *PLOS ONE*, *16*(8), e0245361.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245361>
81. De Haro, J., Bleda, S., & Acin, F. (2016). C-reactive protein predicts aortic aneurysmal disease progression after endovascular repair. *International Journal of Cardiology*, *202*, 701–706.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.09.122>
82. Majello, B., Arcone, R., Toniatti, C., & Ciliberto, G. (1990). Constitutive and IL-6-induced nuclear factors that interact with the human C-reactive protein promoter. *The EMBO Journal*, *9*(2), 457–465.  
<https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08131.x>

- 
83. Sponholz, C., Sakr, Y., Reinhart, K., & Brunkhorst, F. (2006). Diagnostic value and prognostic implications of serum procalcitonin after cardiac surgery: a systematic review of the literature. *Critical Care*, *10*(5), R145.  
<https://doi.org/10.1186/cc5067>
84. FALCOZ, P., LALUC, F., TOUBIN, M., PUYRAVEAU, M., CLEMENT, F., MERCIER, M., CHOCRON, S., & ETIEVENT, J. (2005). Usefulness of procalcitonin in the early detection of infection after thoracic surgery. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, *27*(6), 1074–1078.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2005.02.022>
85. Thayyil, S., Shenoy, M., Hamaluba, M., Gupta, A. K., Frater, J., & Verber, I. G. (2005). Is procalcitonin useful in early diagnosis of serious bacterial infections in children? *Acta Paediatrica*, *94*(2), 155–158.  
<https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2005.tb01883.x>
86. Pillay, J., Hietbrink, F., Koenderman, L., & Leenen, L. P. H. (2007). The systemic inflammatory response induced by trauma is reflected by multiple phenotypes of blood neutrophils. *Injury-International Journal of the Care of the Injured*, *38*(12), 1365–1372.  
<https://doi.org/10.1016/j.injury.2007.09.016>
87. Koyasu, S., & Moro, K. (2012). Role of Innate Lymphocytes in Infection and Inflammation. *Frontiers in Immunology*, *3*.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00101>
88. Xu, H., Sun, Y., & Zhang, S. (2019). The Relationship Between Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Clinical Outcome in Pediatric Patients After Cardiopulmonary Bypass Surgery: A Retrospective Study. *Frontiers in Pediatrics*, *7*.  
<https://doi.org/10.3389/fped.2019.00308>

- 
89. Forget, P., Khalifa, C., Defour, J.-P., Latinne, D., Van Pel, M.-C., & De Kock, M. (2017). What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? *BMC Research Notes*, *10*(1).  
<https://doi.org/10.1186/s13104-016-2335-5>
90. Aurelian, S. V., Adrian, M., Andercou, O., Bruno, S., Alexandru, O., Catalin, T., & Dan, B. (2019). Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio: A Comparative Study of Rupture to Nonruptured Infrarenal Abdominal Aortic Aneurysm. *Annals of Vascular Surgery*, *58*, 270–275.  
<https://doi.org/10.1016/j.avsg.2018.11.026>
91. Klopff, J., Brostjan, C., Neumayer, C., & Eilenberg, W. (2021). Neutrophils as Regulators and Biomarkers of Cardiovascular Inflammation in the Context of Abdominal Aortic Aneurysms. *Biomedicines*, *9*(9), 1236.  
<https://doi.org/10.3390/biomedicines9091236>
92. Tillack, K., Breiden, P., Martin, R., & Sospedra, M. (2012). T Lymphocyte Priming by Neutrophil Extracellular Traps Links Innate and Adaptive Immune Responses. *Journal of Immunology*, *188*(7), 3150–3159.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103414>
93. Monaco, M., Di Tommaso, L., Stassano, P., Smimmo, R., De Amicis, V., Wang, K., Pinna, G. B., & Iannelli, G. (2006). Impact of blood coagulation and fibrinolytic system changes on early and midterm clinical outcome in patients undergoing stent endografting surgery. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, *5*(6), 724–728.  
<https://doi.org/10.1510/icvts.2006.136507>
94. Marlar, R. A., Clement, B., & Gausman, J. N. (2016). Activated Partial Thromboplastin Time Monitoring of Unfractionated Heparin Therapy: Issues and Recommendations. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, *43*(3), 253–260.  
<https://doi.org/10.1055/s-0036-1581128>

- 
95. Hirsh, J., Anand, S. S., Halperin, J. L., & Fuster, V. (2001). Guide to Anticoagulant Therapy: Heparin. *Circulation*, *103*(24), 2994–3018.  
<https://doi.org/10.1161/01.cir.103.24.2994>
96. Robert, A., & Chazouillères, O. (1996). Prothrombin time in liver failure: Time, ratio, activity percentage, or international normalized ratio. *Hepatology*, *24*(6), 1392–1394.  
<https://doi.org/10.1002/hep.510240613>
97. Reaume, K. T., Regal, R. E., & Dorsch, M. P. (2008). Indications for Dual Antiplatelet Therapy with Aspirin and Clopidogrel: Evidence-Based Recommendations for Use. *Annals of Pharmacotherapy*, *42*(4), 550–557.  
<https://doi.org/10.1345/aph.1k433>
98. Dorgalaleh, A., Favaloro, E. J., Bahraini, M., & Rad, F. (2021). Standardization of Prothrombin Time/International Normalized Ratio (PT/INR). *International Journal of Laboratory Hematology*, *43*(1), 21–28.  
<https://doi.org/10.1111/ijlh.13349>
99. Schultz, D., & Arnold, P. (1990). Properties of four acute phase proteins: C-reactive protein, serum amyloid a protein,  $\alpha$ 1-acid glycoprotein, and fibrinogen. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, *20*(3), 129–147.  
[https://doi.org/10.1016/0049-0172\(90\)90055-k](https://doi.org/10.1016/0049-0172(90)90055-k)
100. Brackexridge, C. (1960). The interaction of plasma fibrinogen with anticoagulants in vitro. *Clinica Chimica Acta*.  
[https://doi.org/10.1016/0009-8981\(60\)90067-x](https://doi.org/10.1016/0009-8981(60)90067-x)
101. Nana, P., Dakis, K., Brodis, A., Spanos, K., & Kouvelos, G. (2021). Circulating Biomarkers for the Prediction of Abdominal Aortic Aneurysm Growth. *Journal of Clinical Medicine*, *10*(8), 1718.  
<https://doi.org/10.3390/jcm10081718>

- 
102. Golledge, J., Wolanski, P., Parr, A., & Buttner, P. (2008). Measurement and determinants of infrarenal aortic thrombus volume. *European Radiology*, *18*(9), 1987–1994.  
<https://doi.org/10.1007/s00330-008-0956-3>
103. Golledge, J., Muller, R., Clancy, P., McCann, M., & Norman, P. E. (2010). Evaluation of the diagnostic and prognostic value of plasma D-dimer for abdominal aortic aneurysm. *European Heart Journal*, *32*(3), 354–364.  
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq171>
104. Takagi, H., Manabe, H., Kawai, N., Goto, S., & Umemoto, T. (2009). Plasma Fibrinogen and D-dimer Concentrations are Associated with the Presence of Abdominal Aortic Aneurysm: A Systematic Review and Meta-analysis. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, *38*(3), 273–277.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2009.05.013>
105. Chang, J. H. (1996). Postoperative Thrombocytopenia: With Etiologic, Diagnostic, and Therapeutic Consideration. *The American Journal of the Medical Sciences*, *311*(2), 96–105.  
[https://doi.org/10.1016/s0002-9629\(15\)41648-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9629(15)41648-9)
106. Demyanets, S., Stojkovic, S., Mauracher, L.-M., Kopp, C. W., Wojta, J., Thaler, J., Panzer, S., & Gremmel, T. (2020). Surrogate Markers of Neutrophil Extracellular Trap Formation are Associated with Ischemic Outcomes and Platelet Activation after Peripheral Angioplasty and Stenting. *Journal of Clinical Medicine*, *9*(2), 304.  
<https://doi.org/10.3390/jcm9020304>
107. Badimon, L., & Vilahur, G. (2015). Neutrophil extracellular traps: a new source of tissue factor in atherothrombosis. *European Heart Journal*, *36*(22), 1364–1366.  
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv105>



- 
108. Folco, E. J., Mawson, T. L., Vromman, A., Bernardes-Souza, B., Franck, G., Persson, O., Nakamura, M., Newton, G., Luscinskas, F. W., & Libby, P. (2018). Neutrophil Extracellular Traps Induce Endothelial Cell Activation and Tissue Factor Production Through Interleukin-1 $\alpha$  and Cathepsin G. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 38(8), 1901–1912.  
<https://doi.org/10.1161/atvbaha.118.311150>
109. De Bont, C. M., Boelens, W. C., & Pruijn, G. J. M. (2019). NETosis, complement, and coagulation: a triangular relationship. *Cellular & Molecular Immunology*, 16(1), 19–27.  
<https://doi.org/10.1038/s41423-018-0024-0>
110. Oklu, R., Albadawi, H., Watkins, M. T., Monestier, M., Sillesen, M., & Wicky, S. (2012). Detection of Extracellular Genomic DNA Scaffold in Human Thrombus: Implications for the Use of Deoxyribonuclease Enzymes in Thrombolysis. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 23(5), 712–718.  
<https://doi.org/10.1016/j.jvir.2012.01.072>

---

## 9 SPIS TABEL

Tabela 1. Kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów .....	29
Tabela 2. Kolejność pobierania krwi. ....	31
Tabela 3. Charakterystyka pacjentów włączonych do badania. ....	35
Tabela 4. Choroby współistniejące uczestników badania.....	36
Tabela 5. Przedoperacyjne leczenie farmakologiczne pacjentów.....	37
Tabela 6. Objawy zgłaszane przez uczestników wraz z ich częstotliwością. ....	37
Tabela 7. Charakterystyka TAAA oraz dane związane z operacją.....	38
Tabela 8. Porównanie stężeń między ssDNA i dsDNA (test rang Wilcoxon). ....	42
Tabela 9. Wartości badanych parametrów NETs. ....	44
Tabela 10. Korelacje stężeń między ssDNA i dsDNA (Korelacje Spearmana) przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej.....	45
Tabela 11. Wskaźniki określające dynamikę wydzielania NETs z neutrofilami w okresie przedoperacyjnym oraz pooperacyjnym. ....	49
Tabela 12. Parametry układu białokrwinkowego w okresie przedoperacyjnym i pooperacyjnym.....	51
Tabela 13. Parametry układu krzepnięcia w okresie przedoperacyjnym i pooperacyjnym. ....	52
Tabela 14. Parametry stanu zapalnego w okresie przedoperacyjnym i pooperacyjnym. ..	53
Tabela 15. Zmiany wartości parametrów w układzie białokrwinkowym między dniem przedoperacyjnym i trzecim oraz piątym dniem pooperacyjnym. ....	79
Tabela 16. Zmiany wartości parametrów w układzie krzepnięcia między dniem przedoperacyjnym i trzecim oraz piątym dniem pooperacyjnym. ....	80
Tabela 17. Zmiany wartości parametrów stanu zapalnego między dniem przedoperacyjnym i trzecim oraz piątym dniem pooperacyjnym. ....	80
Tabela 18. Zmiany wartości parametrów NETs między dniem przedoperacyjnym i trzecim oraz piątym dniem pooperacyjnym. ....	80
Tabela 19. Ilość pacjentów spełniająca kryteria zespołu poimplantacyjnego w okresie pooperacyjnym.....	81
Tabela 20. Szczegóły zdarzeń medycznych do których doszło po operacji w czasie obserwacji. ....	83
Tabela 21. Ocena hazardu Coxa wybranych parametrów. ....	84

---

## 10 SPIS RYCIN

Rycina 1. Stężenie dsDNA przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	39
Rycina 2. Stężenie ssDNA przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	40
Rycina 3. Stężenie Cit-H3 przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	41
Rycina 4. Rozkład stosunku ssDNA do dsDNA przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona). ....	43
Rycina 5. Wskaźnik dsDNA do neutrofilii przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona). ....	46
Rycina 6. Wskaźnik ssDNA do neutrofilii przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona). ....	47
Rycina 7. Wskaźnik Cit-H3 do neutrofilii przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona). ....	48
Rycina 8. Stężenie WBC przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	54
Rycina 9. Stężenie NEU przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	55
Rycina 10. Odsetek NEU przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	56
Rycina 11. Stężenie LYM przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	57
Rycina 12. Odsetek LYM przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	58
Rycina 13. Wskaźnik NLR przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	59
Rycina 14. Stężenie MON przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	60
Rycina 15. Odsetek MON przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	61
Rycina 16. Stężenie EOS przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	62

---

Rycina 17. Odsetek EOS przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	63
Rycina 18. Stężenie BASO przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	64
Rycina 19. Odsetek BASO przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	65
Rycina 20. Stężenie PLT przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	66
Rycina 21. Rozkład wartości P-LCR przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona). ....	67
Rycina 22. Wartości PCT przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	68
Rycina 23. Wartości PDW przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	69
Rycina 24. Stężenie D-dimerów przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	70
Rycina 26. Wartości czasu protrombinowego przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona). ....	71
Rycina 27. Wartości indeksu protrombinowego przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona). ....	72
Rycina 28. Wartości INR między przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	73
Rycina 29. Stężenie fibrynogenu przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	74
Rycina 30. Wartości APTT przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	75
Rycina 31. Wartości APTT RATIO przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona). ....	76
Rycina 32. Stężenie CRP przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona).....	77
Rycina 33. Stężenie prokalcytoniny przed operacją (-24h) oraz w III i V dobie pooperacyjnej (test rang Wilcoxona). ....	78

---

## 11 SPIS RYSUNKÓW

Rysunek 1. Typy tętniaków aorty piersiowo-brzuszej według Crawforda .....	19
Rysunek 2. Zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe uwolnione z neutrofila .....	26



## Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym

Tel.: 022/ 57 - 20 -303  
Fax: 022/ 57 - 20 -165

ul. Żwirki i Wigury nr 61  
02-091 Warszawa

e-mail: komisja.bioetyczna@wum.edu.pl  
www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl

**KB/168/2020**

Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym  
w dniu 14 października 2020 r. po zapoznaniu się z wnioskiem:

**Prof. Tadeusz Grochowicki**  
Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej i Transplantacyjnej,  
ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa

**dotyczącym:** wyrażenia opinii w sprawie badania pt.: „Wpływ wewnątrznaczyniowego leczenia tętniaków aorty na zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe i ich korelacja z wybranymi parametrami stanu zapalnego i układu krzepnięcia.”

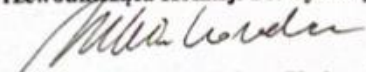
**wyraża następującą  
opinię**

- stwierdza, że jest ono dopuszczalne i zgodne z zasadami naukowo-etycznymi\*.
- ~~— stwierdza, że jest ono niedopuszczalne i niezgodne z zasadami naukowo-etycznymi.\*~~

**Uwagi Komisji – verte**

Komisja działa na podstawie art.29 ustawy z dnia 5.12.1996r. o zawodzie lekarza /Dz.U.nr 28/97 poz.152 wraz z późn.zm./, zarządzenia MZiOS z dn.11.05.1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych /Dz.U.nr 47 poz.480/, Ustawy prawo farmaceutyczne z dnia 6 września 2001r. (Dz.U.Nr 126, poz. 1381 z późn. zm.) oraz Zarządzenie nr 56/2007 z dnia 15 października 2007r. w sprawie działania Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym /Regulamin Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym/.  
Komisja działa zgodnie z zasadami GCP .

**Przewodnicząca Komisji Bioetycznej**

  
**Prof. dr hab. n. med. Magdalena Kuźma-Kozakiewicz**

\*niepotrzebne skreślić

strona podpisowa do uchwały Komisji Bioetycznej przy Warszawskim  
Uniwersytecie Medycznym nr KB/.....168..... z dnia 14 października 2020r.

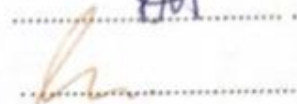
1. Prof. dr hab. n.med. Magdalena Kuźma –Kozakiewicz



2. Dr hab. n. med. Tomasz Grzela



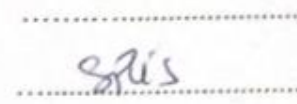
3. Dr hab. n. med. Andrea Horvath-Stolarczyk



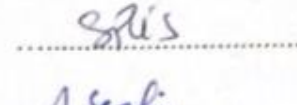
4. Dr hab. n. med. Marek Postuła



5. Prof. dr hab. n. med. Marcin Ufnal



6. Dr hab. n. farm. Sylwia Flis




7. Dr n. med. Agnieszka Serafin



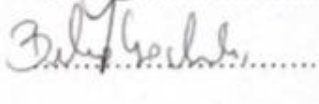
8. Ks. Paweł Śmierchalski



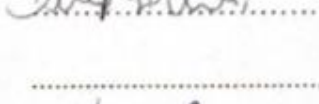
9. Mec. Danuta Lewandowska



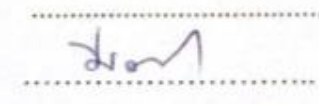
10. Prof. Joanna Domagała-Kulawik



11. Dr hab. n.med. Barbara Grzechocińska



12. Dr hab. n. med. Michał Grą



13. Dr n. med. Joanna Drozd-Sokołowska

