



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΤΤΙΣΕΩΝ

Επιστημονική Υπεύθυνη: Ομότιμη Καθηγήτρια Ωρ. Σ. Τραυλού

Διπλωματική Εργασία

**«ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΣΚΥΛΟΥ ΜΕ ΤΗ
ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑΣ (ROTEM)»**

ΟΝΟΜΑ : ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΓΙΑΝΝΑΚΑΣ

Κτηνίατρος Χειρουργός Ζ.Σ.

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ : ΑΡΓΥΡΗ ΓΙΑΛΕΡΑΚΗ

Επίκουρη Καθηγήτρια

Ακαδημαϊκό Έτος : 2010-2011

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΤΤΙΣΕΩΝ

Επιστημονική Υπεύθυνη: Ομότιμη Καθηγήτρια Ωρ. Σ. Τραυλού

Τριμελής Επιτροπή Διπλωματικής Εργασίας:

- Ωρ. Σ. Τραυλού – Ομότιμη Καθηγήτρια Αιματολογίας
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
- Γιαλεράκη Α. – Επίκουρη Καθηγήτρια Βιοχημείας
Πανεπιστημίου Αθηνών
- Μερκούρη Ε. – Βιοχημικός, MSc, PhD

Στη σύντροφο της ζωής μου Χρύσα
και στην κορούλα μας Δέσποινα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	4
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	6
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	7
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ	8
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ	9
ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ	9
ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΗΞΗΣ.....	11
ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ	14
ΕΠΙΚΤΗΤΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	16
ΠΕΡΙΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ	17
Η ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ/ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ ΣΤΗΝ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗ ...	19
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	19
ΣΦΑΙΡΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	20
ΘΡΟΜΒΟΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ – ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ	21
ΟΡΟΛΟΓΙΑ.....	23
ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	26
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	28
ΠΡΟΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	30
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΗΝ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ	32
ΥΠΕΡΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑ	32
ΥΠΟΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑ.....	35
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	37
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	37

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	37
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	39
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	39
ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	50
Περίληψη:	54
Summary:	55
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	56
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	59

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ADP	Διφωσφορική Αδενοσίνη
ASA	American Society of Anesthesiologists
AT	Αντιθρομβίνη
aPTT	Ενεργοποιημένος Χρόνος Μερικής Θρομβοπλαστικής
ΓΕΑ	Γενική Εξέταση Αίματος
Ca	Ασβέστιο
cm	Centimeter: Εκατοστόμετρο
FDA	Food and Drug Administration
FDP	Fibrin/Fibrinogen Degradation Products
D-dimers	D-διμερή
DIC : ΔΕΠ	Disseminated Intravascular Coagulation: Διάχυτη Ενδοαγγειακή Πήξη
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
FelV	Feline Leukemia Virus
FNA	Fine Needle Aspiration: Αναρρόφηση Δια Λεπτής Βελόνης
G	Global Clot Strength: Δείκτης ελαστικότητας ανασχετικής δύναμης, (σε dynes/sec/cm ²)
HCT	Αιματοκρίτης
ICU: Μ.Ε.Θ.	Intensive Care Unit: Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (Μ.Ε.Θ.)
ΙΜΗΑ	Αυτοάνοση Αιμολυτική Αναμία
INR	International Normalized Ratio
IgG	Ανοσοσφαιρίνη Γ
MA	Maximum Amplitude: Μέγιστη Μεγέθυνση
ΜΣΑΦ	Μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη Φάρμακα
NS	Not Significant: Μη σημαντικό (στατιστικά)
PAF	Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων
PAIs	Αναστολείς ενεργοποίησης του πλασμινογόνου
PS	Φωσφατιδιλοσερίνη
PT	Χρόνος Προθρομβίνης
RCM	Red Cell Mass: Μάζα Ερυθρών Αιμοσφαιρίων
ROTEM	Rotational Thrombelastometry
rh-TF	Ανασυνδυασμένος Ανθρώπινος Ιστικός Παράγοντας
TAFI	Αναστολέας της Ινωδολύσης που ενεργοποιείται από τη Θρομβίνη
TEG	Thromboelastography: Θρομβοελαστογραφία
TF	Ιστικός Παράγοντας
TFPI	Αναστολέας της οδού του Ιστικού Παράγοντα
TM	Θρομβομοντουλίνη
TNF	Tumor Necrosis Factor
tPA	Ενεργοποιητής Πλασμινογόνου Ιστικού Τύπου
uPA	Ενεργοποιητής Πλασμινογόνου Τύπου Ουροκινάσης
Vs	Versus: Σε σύγκριση με, σε αντιπαράθεση
VT	Venous Thrombosis: Φλεβική Θρόμβωση
vWF	Παράγοντας von Willebrand
Z.Σ.	Ζώα Συντροφιάς
ΩΥΕ	Ωθηκυστερεκτομή

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της ολοκλήρωσης του Μεταπτυχιακού Προγράμματος «Θρόμβωση, Αιμορραγία και Ιατρική των Μεταγγίσεων» της Ιατρικής Σχολής του Ε.Κ.Π.Α.

Στο σημείο αυτό αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω τις ειλικρινείς και θερμές ευχαριστίες μου σε όσους συνεισέφεραν στην ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας. Ιδιαίτερα ευχαριστώ:

Την Ομότιμη Καθηγήτρια του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Ωρ. Τραυλού για τη διαρκή υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος και για την ευκαιρία που μου έδωσε να διευρύνω τους ορίζοντες μου στο γνωστικό αντικείμενο της Αιματολογίας.

Την επιβλέπουσά μου, Επίκουρη Καθηγήτρια Βιοχημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Αρ. Γιαλεράκη για την επίβλεψη και την αμέριστη βοήθειά της από την επιλογή του θέματος μέχρι την επιστημονική τεκμηρίωση της εργασίας.

Την Βιοχημικό κ. Ευφ. Μερκούρη, MSc, PhD, για τον πολύτιμο χρόνο της, τον οποίο και μου διέθεσε, πάντα με μεγάλη προθυμία, για την ανάλυση των δειγμάτων του πειραματικού και για την επεξεργασία των δεδομένων.

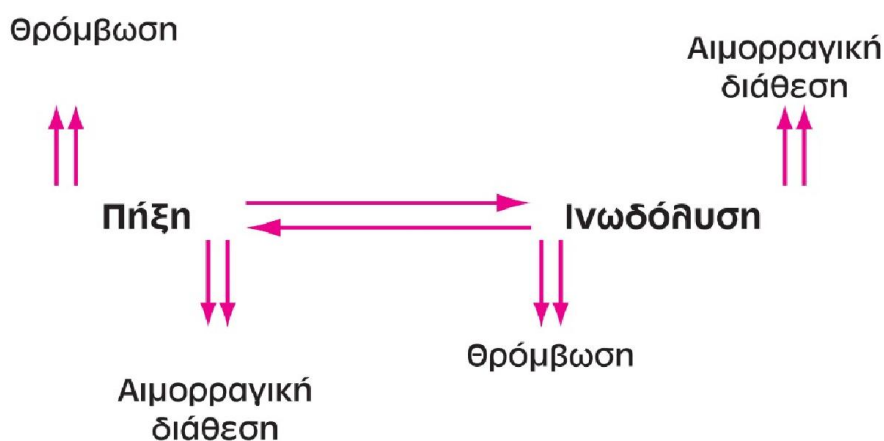
Την γραμματέα του μεταπτυχιακού προγράμματος κ. Φ. Παπανάγνου για την πάντα άμεση και πολύτιμη βοήθειά της.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αιμόσταση αποτελεί μια πολύπλοκη αλλά και λεπτή διαδικασία σχηματισμού θρόμβων, που σφραγίζουν τραυματισμένα αγγεία, και την αποδόμηση τέτοιων θρόμβων αφού αυτοί επιτελέσουν το έργο τους. Το 1856 ο ιατρός Rudolf Virchow διατύπωσε τη θεωρία ότι η διαταραχή στη ροή του αίματος, η βλάβη στο ενδοθήλιο και η υπερπηκτικότητα συμβάλλουν στην παθογένεια της φλεβικής θρόμβωσης (venous thrombosis, VT). Αυτοί οι παράγοντες είναι γνωστοί ως η τριάδα του Virchow και ακόμη θεωρούνται ως οι βασικοί υποκείμενοι μηχανισμοί της θρόμβωσης, ως σήμερα^{1,3}. Οι ποικίλες αντιδράσεις που συνθέτουν την αιμόσταση παραδοσιακά περιγράφονταν ως τρεις διακριτές φάσεις: την Πρωτογενή αιμόσταση, τη Δευτερογενή αιμόσταση και την Ινωδόλυση. Η Πρωτογενής αιμόσταση περιλαμβάνει το σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου. Η Δευτερογενής αιμόσταση αρχίζει με τη πλάγια σύνδεση (χιαστί) παχιών ταινιών ινώδους και τη σταθεροποίηση του αιμοπεταλιακού θρόμβου προκειμένου να μετατραπεί σε ώριμο θρόμβο. Η αποδόμηση του ώριμου θρόμβου περιγράφεται από τη διαδικασία της Ινωδόλυσης. Παρόλο που αυτό το υπεραπλουστευμένο σχήμα είναι χρήσιμο για την εκτίμηση της πηκτικότητας, ιδιαίτερα σε σχέση με τις κλασσικές εργαστηριακές εξετάσεις, είναι σημαντικό να αντιλαμβανόμαστε ότι in vivo η πήξη εξελίσσεται τελείως διαφορετικά.²³



Σχήμα 1: Συνοπτική παρουσίαση της αιμοστατικής ισορροπίας.²⁴

ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

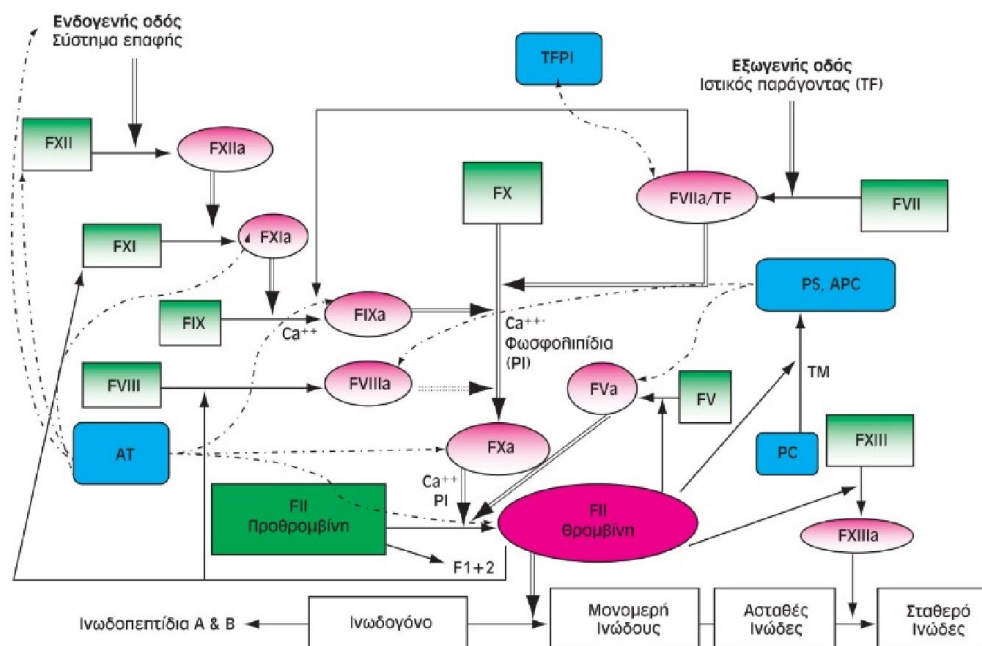
Τα γεγονότα που υποκινούν και τελικά οδηγούν στην ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης είναι η βλάβη του ενδοθηλίου και η, ως συνέπεια αυτής, αποκάλυψη του κολλαγόνου της υπενδοθηλιακής στοιβάδας. Ένας από τους μηχανισμούς με τον οποίο τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στο υπενδοθήλιο πραγματοποιείται με τη μεσολάβηση του παράγοντα Von Willebrand (VWF). Το κύριο γεγονός είναι η γεφύρωση του εκτεθειμένου κολλαγόνου με διάφορους γλυκοπρωτεϊνικούς υποδοχείς της επιφανείας πολλών αιμοπεταλίων μέσω του VWF. Ακολούθως της προσκόλλησης, τα αιμοπετάλια εκλύουν ADP, σεροτονίνη, και PAF που ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια. Στη συνέχεια με τη συσσώρευση σχηματίζεται ο προσωρινός αιμοστατικός θρόμβος (λευκός). Ο σχηματισμός αυτού του θρόμβου αναφέρεται ως Πρωτογενής αιμόσταση και αποδομείται σε λίγα λεπτά της ώρας. Ταυτόχρονα με τη συσσώρευση τους, τα αιμοπετάλια εκλύουν έναν μεγάλο αριθμό προπηκτικών και πηκτικών παραγόντων, δημιουργώντας το ιδανικό περιβάλλον για την ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης και συνεπώς για την έναρξη της Δευτερογενούς αιμόστασης.

ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

Η σταθεροποίηση του προσωρινού αιμοπεταλιακού θρόμβου με την σύνδεση ταινιών ινώδους, που συμβαίνει με τη βοήθεια πρωτεασών σερίνης, αποτελεί τη Δευτερογενή αιμόσταση. Παραδοσιακά, αυτή η διαδικασία εθεωρείτο ότι αποτελείται από την Ενδογενή, την Εξωγενή και την Κοινή οδό. Παρόμοια με την ενεργοποίηση της Πρωτογενούς αιμόστασης, μια μη φυσιολογική αγγειακή επιφάνεια αποτελεί το ερέθισμα επαφής που είναι απαραίτητο για την ενεργοποίηση του FXII σε FXIIa, ο οποίος ξεκινά την Ενδογενή (παράγοντες XI, IX, VIII) Οδό. Η Εξωγενής οδός ενεργοποιείται με την απελευθέρωση του ιστικού παράγοντα (TF), μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που είναι παρούσα στις μεμβράνες των περισσότερων μη ενδοθηλιακών κυττάρων (π.χ. ινοβλάστες, λείες μυϊκές ίνες αγγείων, μονοκύτταρα). Ο TF δημιουργεί συμπλέγματα με τον παράγοντα VII, και εν συνεχεία ενεργοποιεί τους παράγοντες IX και X. Μόλις ο παράγοντας X ενεργοποιηθεί, ξεκινά η κοινή οδός της πήξης. Οι ενεργοποιημένοι παράγοντες X και V οδηγούν αρχικά στη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη και τελικά η θρομβίνη

μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες. Η Θρομβίνη είναι επίσης υπεύθυνη για την ενεργοποίηση του παράγοντα XIII²³, παρουσία Ca⁺⁺, με τη δράση του οποίου σχηματίζονται ομοιοπολικοί δεσμοί, που οδηγούν σε χιαστί σύνδεση μεταξύ των πολυμερών και δημιουργείται με τον τρόπο αυτό το σταθερό ινώδες, αυξάνοντας έτσι την αντίστασή του στην πρωτεολυτική αποδόμηση.²⁴

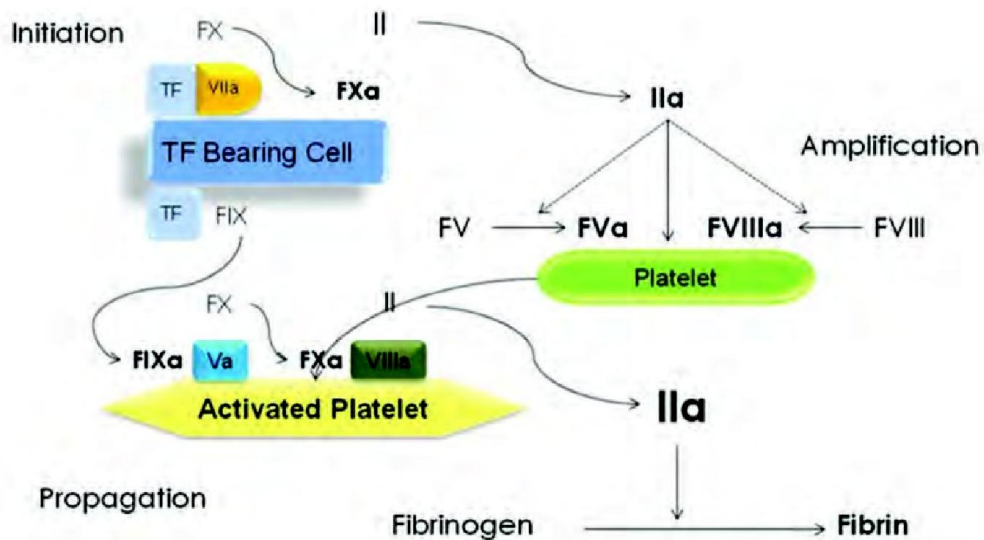
Ο παραδοσιακός τρόπος παρακολούθησης των διαταραχών στο αιμοστατικό προφίλ των ασθενών ήταν η παρακολούθηση μεταβολών στις τιμές που επηρεάζουν την πρωτογενή αιμόσταση (αριθμός και λειτουργικότητα αιμοπεταλίων), τη δευτερογενή αιμόσταση (χρόνος προθρομβίνης, PT, ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης, aPTT, χαμηλά επίπεδα ινωδογόνου) και την ινωδολύση (αύξηση συγκέντρωσης FDP και D-διμερών).¹⁰ Η σύγχρονη ερμηνεία της πήξης του αίματος σε κυτταρικό επίπεδο, με τον ιστικό παράγοντα να παίζει βασικό ρόλο στο μηχανισμό της αιμόστασης, αύξησε τις γνώσεις μας για την βιοχημική πολυπλοκότητα της δευτερογενούς αιμόστασης και ως συνέπεια αυτού έδωσε ώθηση στην ανασκόπηση της παραδοσιακής θεώρησης με την ενδογενή και εξωγενή οδό της πήξης.⁸



Σχήμα 2: Ο μηχανισμός πήξης του αίματος. F: Παράγων, PS: Πρωτεΐνη S, PC: Πρωτεΐνη C, APC: Ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, AT: Αντιθρομβίνη.²⁴

ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΗΞΗΣ

Το κυτταρικό μοντέλο της πήξης, σύμφωνα με τους Hoffman και Monroe (2007), ενσωματώνει την κυτταρική βάση της αιμόστασης στην *in vivo* πήξη του αίματος που λαμβάνει χώρα σε τρεις αλληλεπικαλυπτόμενες φάσεις. Αυτό απαιτεί την συμμετοχή κυττάρων που φέρουν τον ιστικό παράγοντα (TF), όπως οι ινοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, και των αιμοπεταλίων.¹⁰ Είναι σαφές ότι η φυσιολογική αιμόσταση είναι αδύνατη απουσία αιμοπεταλίων.⁸ Το μοντέλο αποτελείται από τις ακόλουθες αλληλένδετες φάσεις: την έναρξη, την ενίσχυση, την επέκταση και τη λήξη του προπηκτικού μηχανισμού της αιμόστασης.¹⁰



Σχήμα 3: Το κυτταρικό μοντέλο της αιμόστασης.²¹

Έναρξη (Initiation): Έναρξη της πήξης στα κύτταρα που φέρουν τον TF στην επιφάνειά τους.

Το ακέραιο ενδοθήλιο έχει αντιθρομβωτική δραστηριότητα και εμποδίζει την έναρξη του μηχανισμού της πήξης κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Τα κύτταρα που εκφράζουν τον TF βρίσκονται εντός των αγγειακών τοιχωμάτων. Τόσο το ενδοθήλιο, όσο και τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα μπορούν να εκφράσουν τον TF όταν εκτεθούν στις κυτταροκίνες της φλεγμονής. Η έναρξη της πήξης εκδηλώνεται κατά την ρήξη του ενδοθηλίου και την έκθεση των κυττάρων που φέρουν τον TF ή προάγουν την έκφρασή του. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας VII (FVIIa) συνδέεται ταχύτατα με τον TF και έτσι το

σύμπλεγμα TF-FVIIa ενεργοποιεί τον παράγοντα FX, προκειμένου να σχηματιστεί το *σύμπλεγμα της προθρομβινάσης (Xa/Va)* μαζί με τον συμπαράγοντα FV, καθώς και τον παράγοντα FXI, προκειμένου να σχηματιστεί το *σύμπλεγμα της ενδογενούς δεκάσης (VIIIa/IXa)* μαζί με τον συμπαράγοντα FVIII. Το σύμπλεγμα της δεκάσης επίσης ενεργοποιεί τον παράγοντα FX. Το σύμπλεγμα της προθρομβινάσης λειτουργεί ως καταλύτης κατά τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη. Ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI) και η αντιθρομβίνη (AT) απενεργοποιούν ταχύτατα όποια ποσότητα του FXa αποσυνδεθεί από το σύμπλεγμα.

Ενίσχυση (Amplification): Ενίσχυση του προπηκτικού σήματος από την θρομβίνη που παράγεται στην επιφάνεια των κυττάρων που φέρουν τον TF.

Ξεκινά με το σχηματισμό των πρώτων ιχνών θρομβίνης, η οποία είναι ισχυρή προπηκτική ουσία και προκαλεί αναδραστικά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων στην επιφάνεια κυττάρων που φέρουν TF. Η σύνδεση της θρομβίνης στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων προκαλεί την αναστροφή των φωσφολιπιδίων της, αλλάζοντας το σχήμα τους. Μετατρέπεται έτσι σε προπηκτική μεμβράνη, ενώ απελευθερώνονται από τα έγκλειστά τους (α-κοκκία) μεγάλες ποσότητες παραγόντων και άλλων ουσιών όπως το ασβέστιο, που είναι ενεργοποιητές της συσσώρευσης. Το Ca μπορεί να προάγει την συσσώρευση της φωσφατιδιλοσερίνης (PS) και την σύνδεση των πρωτεϊνών πήξης στις ενεργοποιημένες μεμβράνες.

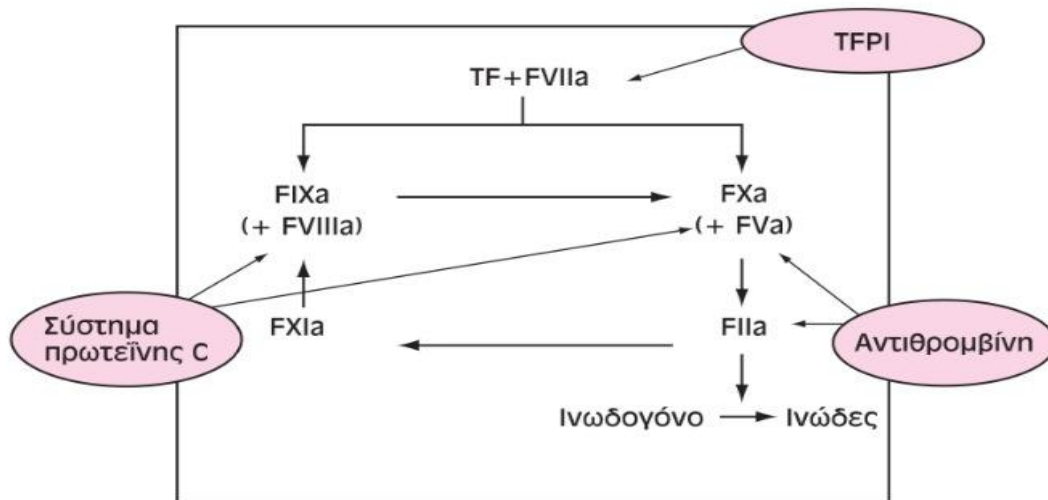
Επέκταση (Propagation): Συσσώρευση της παραγόμενης στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων θρομβίνης.

Έναυσμα για την επέκταση είναι η απελευθέρωση των εγκλειστών των α-κοκκίων, τα οποία με τη σειρά τους προσλαμβάνουν περισσότερα αιμοπετάλια στο σημείο του τραύματος. Η φάση της επέκτασης λαμβάνει χώρα πάνω στην επιφάνεια αυτών των αιμοπεταλίων. Η έκφραση των υποδοχέων προσκόλλησης επιτρέπει την αλληλεπίδραση μεταξύ κυττάρων που οδηγεί στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Προκειμένου να πραγματοποιηθεί αποτελεσματικά η διαδικασία της πήξης, θα πρέπει η θρομβίνη να παραχθεί σε μεγάλες ποσότητες, στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, που είναι γνωστή και ως έκρηξη της παραγωγής θρομβίνης. Τα παραπάνω πραγματοποιούνται μέσω της ενεργοποίησης του FX μέσω του *συμπλέγματος της δεκάσης*, το οποίο σχηματίζεται για να δεσμεύσει τον FXa. Αυτό συμβαίνει διότι η ποσότητα του FX που παράχθηκε αρχικά, στο στάδιο της έναρξης πάνω στις κυτταρικές μεμβράνες που έφεραν τον TF, αναστέλλεται

ταχύτατα μόλις αποσυνδεθεί από τον TF. Ο εκ νέου παραγόμενος FXa στη συνέχεια συνδέεται με τον FVa και ενεργοποιεί την προθρομβίνη σε θρομβίνη. Αυτό οδηγεί σε ταχύτατη έκρηξη παραγωγής μεγάλης ποσότητας θρομβίνης που υδρολύει το ινωδογόνο σε ινώδες, και που με τη σειρά του πολυμερίζεται, ενώ με τη δράση του XIIIa σχηματίζονται ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ των πολυμερών, μέχρι το σχηματισμό του σταθερού θρόμβου ινώδους. Αυτό το μοντέλο εξηγεί επαρκώς την αιμορραγική τάση που παρατηρείται σε ανεπάρκειες των FXI, FIX και FVIII διότι αυτές οι πρωτεΐνες απαιτούνται για την παραγωγή του FXa και τον επακόλουθο σχηματισμό θρομβίνης στην μεμβράνη των αιμοπεταλίων.

Λήξη (Termination): Με τον περιορισμό της αιμορραγίας, η διαδικασία της πήξης πρέπει να περιοριστεί προς αποφυγή θρομβωτικού αποκλεισμού της παρακείμενης φυσιολογικής αγγείωσης.

Φυσιολογικοί ανασταλτές του μηχανισμού πήξης ελέγχουν και ρυθμίζουν τη διαδικασία σχηματισμού του θρόμβου προκειμένου να περιορίζεται στο σημείο της βλάβης και να λύεται ικανοποιητικά όταν αυτό απαιτείται.¹⁵



Σχήμα 4: Οι τρεις κύριες φυσικές οδοί αναστολής της πήξης. Η Αντιθρομβίνη είναι ο σπουδαιότερος ανασταλτής της θρομβίνης και του παράγοντα X_a. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C αναστέλλει τους παράγοντες V_a και VIII_a. Ο ανασταλτής της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI) αναστέλλει το σύμπλεγμα TF/FVII_a. F: Παράγων.²⁴

Κατά την πρωτογενή αιμόσταση, τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκλύουν ADP-άση και προστακυκλίνη που αναστέλλουν την ενεργοποίηση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Κατά τη δευτερογενή αιμόσταση το σύμπλεγμα TF-FVIIa-FXa αναστέλλεται από τον ανασταλτή της οδού του ιστικού παράγοντα TFPI. Η αντιθρομβίνη (AT) δρα ως γενικός αναστολέας του καταρράκτη της πήξης με ειδική συγγένεια για τους FIXa, FXa και FXIa. Η θρομβομοντουλίνη (TM) που εκφράζεται από το ακέραιο ενδοθήλιο δεσμεύει οποιαδήποτε ελεύθερη ποσότητα θρομβίνης που πλεονάζει.

Το σύμπλεγμα θρομβίνης-θρομβομοντουλίνης επίσης ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C και τον συμπαράγοντά της πρωτεΐνη S, που είναι σημαντικοί ανασταλτές της πήξης οι οποίοι στοχεύουν τους FVIII και FV. Η μείωση της ενεργοποίησης οδηγεί μειωμένη παραγωγή ινικής επιτρέποντας στην ινωδόλυση να εξελιχθεί.⁷ Με το σύστημα αυτό γίνονται εμφανείς οι αντιπηκτικές ιδιότητες του ακέραιου ενδοθηλίου.²³

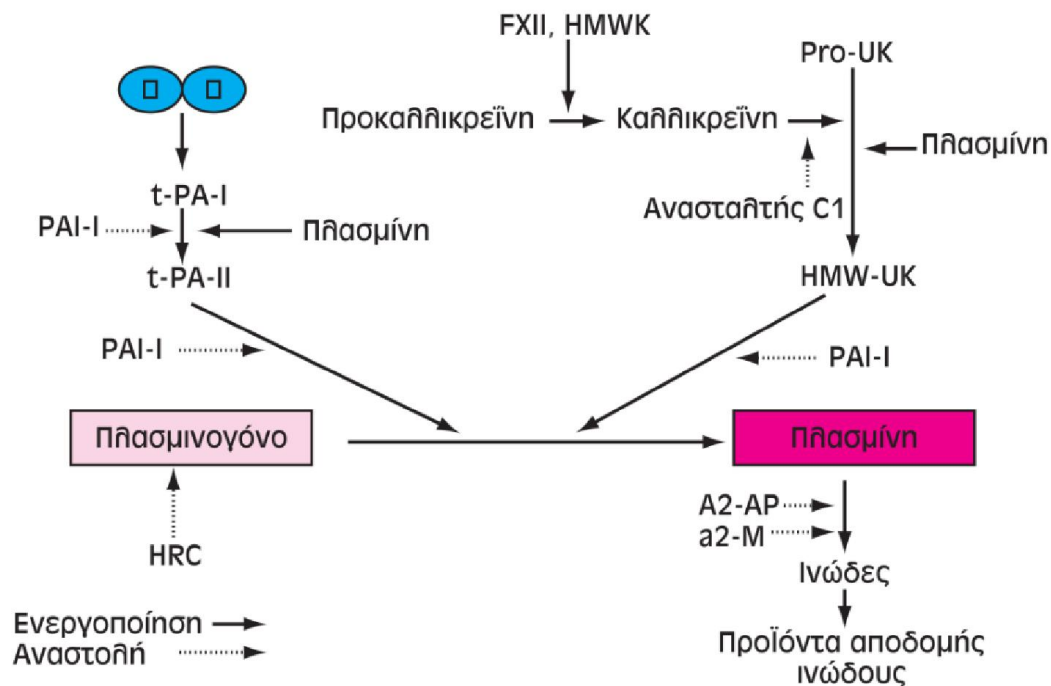
ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ

Το ινωδολυτικό σύστημα ενεργοποιείται άμεσα, καθώς σχηματίζεται θρόμβος ινικής εντός του οργανισμού. Ο τελικός ενεργοποιητής του ινωδολυτικού συστήματος είναι η πλασμίνη που διασπά το ινώδες σε διαλυτά προϊόντα αποδόμησης. Η πλασμίνη παράγεται από το ανενεργό πρόδρομο πλασμινογόνο, με τη δράση δυο ενεργοποιητών του πλασμινογόνου: τον ενεργοποιητή πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPA) και τον ενεργοποιητή πλασμινογόνου ιστικού τύπου (tPA). Οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου (PA) ρυθμίζονται με τη σειρά τους από τους αναστολείς ενεργοποίησης του πλασμινογόνου (PAIs). Το πλασμινογόνο κυκλοφορεί σε πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο πλάσμα από τους PAs, των οποίων η διαθεσιμότητα στο πλάσμα καθορίζει γενικά την έκταση του σχηματισμού πλασμίνης. Η έκκριση tPA από τα ενδοθηλιακά κύτταρα προκαλείται από την θρομβίνη και το φλεβικό αποκλεισμό. Ο tPA και το πλασμινογόνο συνδέονται και τα δυο στο εξελισσόμενο πολυμερές ινώδους. Με την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου σε πλασμίνη αποκόπτονται το ινώδες σε συγκεκριμένα θραύσματα λυσίνης και αργινίνης, και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αποδόμηση του θρόμβου⁸.

Ο αναστολέας της ινωδόλυσης που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη (TAFI) είναι ένα προένζυμο (ζυμογόνο) που μπορεί να ενεργοποιηθεί (TAFIa) από την θρομβίνη ή την πλασμίνη.¹⁶ Ο TAFI ρυθμίζει τη ινωδόλυση απομακρύνοντας πλευρές σύνδεσης λυσίνης από το μερικώς αποδομημένο ινώδες, προφυλάσσοντας έτσι από περαιτέρω σύνδεση του πλασμινογόνου και του tPA στο ινώδες.

Η δράση της πλασμίνης αφορά τόσο στο ινώδες όσο και στο ινωδογόνο και συνεπάγεται τη δημιουργία προϊόντων που ονομάζονται προϊόντα αποδομής του ινώδους και του ινωδογόνου (F/FDPs-fibrin/fibrinogen degradation products). Η διάσπαση του ινωδογόνου οδηγεί σε παραγωγή των μεγαλύτερων θραυσμάτων X και Y, και τελικά των μικρότερων D και E θραυσμάτων. Αντίθετα, η διάσπαση του ινώδους, εκτός από τα μεγαλύτερα θραύσματα, οδηγεί τελικά σε χαρακτηριστικά διμερή θραύσματα, τα DD, DY και YY, από τα οποία τα DD (D-dimers) έχουν μεγάλη κλινική σημασία. Τα προϊόντα διάσπασης του ινώδους, αλλά και του ινωδογόνου, απομακρύνονται από την κυκλοφορία κυρίως με τα μακροφάγα του ήπατος. Η λύση του θρόμβου συνεπάγεται και απελευθέρωση πλασμίνης και tPA στην κυκλοφορία του αίματος. Η απομάκρυνση της πλασμίνης από την κυκλοφορία συντελείται με την α_2 -αντιπλασμίνη και το σχηματισμό συμπλέγματος (PAP-Plasmin-Antiplasmin), ενώ ο t-PA απομακρύνεται επίσης από την κυκλοφορία με το σχηματισμό συμπλέγματος (tPA/PAI-1).¹⁶

10 από 11



Σχήμα 5: Ο Μηχανισμός της ινωδολύσης.²⁴

Η ινωδολύση, τέλος, είναι απαραίτητη για την απομάκρυνση των θρόμβων κατά τη διαδικασία της επούλωσης του τραύματος καθώς και για την ενδοαγγειακή αποδόμηση θρόμβων που θα μπορούσαν να εκδηλωθούν διαφορετικά και ως θρόμβωση.⁷

ΕΠΙΚΤΗΤΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Σε πολλούς ασθενείς που αιμορραγούν, δεν υπάρχει υποκείμενη αιμορραγική διάθεση που να μπορεί να αναγνωριστεί πριν το αιμορραγικό επεισόδιο. Αιμορραγία που έπεται χειρουργικής επέμβασης, τυχαίου τραυματισμού ή συστηματικής νόσου συχνά συνδέεται με την ανάπτυξη επίκτητων διαταραχών της πήκτικότητας. Το κύριο σύμπτωμα είναι η μικροαγγειακή αιμορραγία, που συνεπάγεται διαφυγή αίματος από χειρουργικές τομές ή ελάσσοнос σημασίας σημεία τραυματισμού, όπως η φλεβοκέντηση. Η μικροαγγειακή αιμορραγία μπορεί να οδηγήσει σε μαζική απώλεια αίματος.

Στις αιτίες διαταραχών της πήκτικότητας περιλαμβάνονται: η κατανάλωση των παραγόντων πήξης, η εκτεταμένη ινωδόλυση, η υποθερμία και η οξέωση.

Συνήθως η κατανάλωση των παραγόντων πήξης αφορά το σύνδρομο Διάχυτης Ενδοαγγειακής Πήξης (ΔΕΠ). Βέβαια η κατανάλωση των παραγόντων πήξης και των αιμοπεταλίων συμβαίνει και στη φυσιολογική διαδικασία της αιμόστασης. Σε αυτή την περίπτωση απαιτείται η αναπλήρωσή τους με μετάγγιση. Το σύνδρομο ΔΕΠ είναι πιο πολύπλοκο στη διαχείρισή του και πρωταρχικός μας στόχος είναι να αντιμετωπίσουμε το υποκείμενο αίτιο, όπως η σήψη. Στα αρχικά στάδια, η χορήγηση χαμηλής δόσης ηπαρίνης μπορεί να ελέγξει την προπηκτική απάντηση στη φλεγμονή, τη μόλυνση, ή την κακοήθεια. Σε σοβαρότερες περιπτώσεις απαιτούνται θεραπείες αντικατάστασης για την αναπλήρωση των παραγόντων πήξης που έχουν καταναλωθεί, προκαλώντας έτσι την αιμορραγική διάθεση.

Η διαδικασία της ινωδόλυσης ξεκινά αμέσως μόλις ενεργοποιηθεί ο προπηκτικός μηχανισμός της αιμόστασης. Στην εκτεταμένη ινωδόλυση μπορούν να χορηγηθούν αναστολείς της ινωδόλυσης κάτω από ορισμένες προϋποθέσεις.

Η υποθερμία επηρεάζει ευθέως την αιμοστατική διαδικασία επιβραδύνοντας τη δραστηριότητα των ενζύμων της πήξης. Ακόμη και ήπια υποθερμία μπορεί να προκαλέσει αναστολή στην προσκόλληση και τη συσώρευση των αιμοπεταλίων.⁷ Η υποθερμία οδηγεί σε *in vitro* αλλαγές της πήκτικότητας του αίματος υγιών σκύλων, οι οποίες μελετήθηκαν με τη μέθοδο TEG και από τις οποίες προκύπτει ότι ενώ ο θρόμβος σχηματίζεται πιο αργά σε μειωμένες θερμοκρασίες, η τελική δύναμη του θρόμβου εμφανίζεται ανεπηρέαστη.²²

Η οξέωση μπορεί να έχει ακόμη πιο σημαντική επίδραση στην πήκτικότητα από την υποθερμία, αν και συχνά οι δυο αυτές μεταβολικές διαταραχές συνυπάρχουν. Μια πτώση

του pH από 7,4 στο 7,2 μειώνει τη δραστηριότητα των πρωτεασών πήξης περισσότερο από το μισό. Η οξέωση θα πρέπει να θεωρείται πιθανός παράγοντας διαταραχής της πήξης σε χειρουργικούς και παθολογικούς ασθενείς.⁷

ΠΕΡΙΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ

Οι περιεγχειρητικές αιμορραγικές διαταραχές μπορούν να ταξινομηθούν σε χειρουργικές και μη-χειρουργικές. Οι χειρουργικές αιμορραγίες εκδηλώνονται στο χειρουργικό πεδίο και οδηγούν σε παρατεταμένη αιμορραγία λόγω εσφαλμένης τεχνικής (όπως σε απολινώσεις, ρήξεις αγγείων κ.α.). Οι μη-χειρουργικές αιμορραγίες οφείλονται σε αποτυχία του μηχανισμού της αιμόστασης και εμφανίζονται με παρατεταμένες μικροαιμορραγίες (διαρροές) στο χειρουργικό πεδίο, εκχυμώσεις, πετέχιες και μώλωπες μακριά από αυτό. Ο φυσιολογικός καταρράκτης των γεγονότων που έρχονται σε απάντηση στο χειρουργικό τραύμα και την τοπική φλεγμονή είναι μια εκτενής αντιπαράθεση των μηχανισμών της φλεγμονής και της πήξης. Σε αυτή την αλληλεπίδραση, ο ρόλος του κυτταρικού μοντέλου πήξης, όπως περιγράφηκε προηγουμένως, μπορεί να καθορίσει την ισορροπία μεταξύ αιμορραγίας και θρόμβωσης. Αυτός ο καταρράκτης ξεκινά ως μια φυσιολογική απάντηση στην υπέρ-αδρενεργική κατάσταση (συμπαθητικοτονία) που οφείλεται στο χειρουργικό stress. Στη συνέχεια η φλεγμονή πυροδοτεί την ενεργοποίηση της πήξης με την έκλυση και την έκθεση του ιστικού παράγοντα (TF) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα κυκλοφορούντα κύτταρα, όπως είναι τα μονοκύτταρα. Σε αυτό μεσολαβούν οι κυτταροκίνες της φλεγμονής (Ιντερλευκίνη 6) που πυροδοτούν το σχηματισμό ινώδους, περιορίζουν τις αντιπηκτικές οδούς (αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C και τον αναστολέα της οδού του TF), και αυξάνουν την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου, με μια καθυστερημένη αλλά παρατεταμένη αύξηση της συγκέντρωσης του PAI-1. Παρόλο που οι μη-χειρουργικές αιμορραγικές επιπλοκές έχουν περιγραφεί εκτενώς για τον άνθρωπο, σε σχέση με χειρουργικές επεμβάσεις (όπως καρδιακό bypass, μεταμόσχευση ήπατος) αλλά και σε σχέση με το τραύμα, στην κτηνιατρική είναι ελάχιστες οι αντίστοιχες δημοσιεύσεις. Σε διάφορες φυλές σκύλων, η συχνότητα περιεγχειρητικής αιμορραγίας μετά από ωθηκυστερεκτομή (ΩΥΕ) ή ορχεκτομή κυμαίνεται από 0 έως 2 τοις εκατό.²⁷

Μια πρόσφατη μελέτη απέδειξε ότι υπάρχει σημαντική αιμοστατική και ινωδολυτική ενεργοποίηση μετά από ωθηκυστερεκτομή σκύλων, που χαρακτηρίζεται από μια αξιόλογη αύξηση της σφαιρικής αντοχής του θρόμβου καθώς και από μια συνολικά

υπερπηκτική κατάσταση, τέσσερις ώρες μετά το χειρουργείο, και επιπροσθέτως από μειώσεις του αντιγόνου του vWF, της συγκέντρωσης του παράγοντα VIII και μειώσεις των χρόνων προθρομβίνης και aPTT.²⁸

Η ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ/ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ ΣΤΗΝ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αιμόσταση είναι μια σύνθετη φυσιολογική διαδικασία κατά την οποία τα αγγεία, τα κύτταρα του αίματος και παράγοντες του πλάσματος αλληλεπιδρούν με σκοπό να αποτρέψουν την αιμορραγία και την θρόμβωση. Η θρομβοελαστογραφία (TEG) είναι μια *in vitro* διαγνωστική τεχνική που αρχικά παρουσιάστηκε στην Γερμανία από τον Hartert^{1,3} στα τέλη της δεκαετίας του 1940. Η TEG συνδυάζει τους κυτταρικούς και τους διαλυτούς παράγοντες της αιμοστατικής διαδικασίας προκειμένου να εκφράσει μια σφαιρική εκτίμηση της αιμόστασης.⁴ Η τεχνική βασίζεται στη συνεχή ανίχνευση και καταγραφή των αλλαγών των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων του ολικού αίματος κατά την πήξη. Η γραφική και ποσοτική απεικόνιση της θρομβοελαστογραφίας αναπαριστά καλύτερα το κυτταρικό μοντέλο της αιμόστασης και έτσι προβλέπει καλύτερα την κινητική της πήξης σε σύγκριση με τις εξετάσεις ρουτίνας που χρησιμοποιούν το πλάσμα του αίματος. Οι εξετάσεις αυτές (PT, APTT, κα) έχουν περιορισμένες δυνατότητες να προβλέψουν την αιμορραγία ή την θρόμβωση, και ιδιαίτερα σε ασθενείς που υφίστανται διαγνωστικές ή θεραπευτικές επεμβάσεις. Η αύξηση του ενδιαφέροντος, αλλά και της χρήσης της TEG στην κτηνιατρική επιστήμη βασίζεται στη δυναμική των αποτελεσμάτων της να προβλέπει θρομβωτικά ή και αιμορραγικά συμβάντα σε συνθήκες κλινικής πράξης.^{4,5}

Οι όροι θρομβοελαστογραφία, θρομβοελαστογράφημα και TEG χρησιμοποιούνταν γενικά στην επιστημονική βιβλιογραφία μέχρι το 1996. Εκείνη την εποχή η εταιρεία Haemoscope Corporation (γνωστή σήμερα ως Haemonetics, Nilas, IL, USA) ονόμασε τον θρομβοελαστογραφικό αναλυτή της TEG, το οποίο έγινε σήμα κατατεθέν για την εταιρεία.² Υπάρχει, επίσης ο αναλυτής Sonoclot (Sienco Inc.) με σχετικά περιορισμένες μελέτες στην κτηνιατρική⁵. Ένας τρίτος αναλυτής, περιστροφικής ελαστομετρίας, ο ROTEM (Rotational Thrombelastometry, Tem International GmbH) χρησιμοποιείται κυρίως στην Ευρώπη αλλά έλαβε έγκριση από τον Αμερικάνικο FDA (Food and Drug Administration) για κλινική χρήση, σε ανθρώπους⁵, στις Η.Π.Α.^{3,4} Στην κτηνιατρική οι αναλυτές TEG και ROTEM έχουν επικυρωθεί για χρήση σε σκυλιά, άλογα και γάτες³. Υπάρχουν σποραδικές αναφορές εκτίμησης της πήκτικότητας σε βοοειδή, χοίρους, πρόβατα, ινδικά χοιρίδια, αρουραίους και διάφορα είδη ψαριών με χρήση TEG, αλλά τα στοιχεία τους δεν αποτελούν ευρέως αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές για άμεση κλινική χρήση ή ερμηνεία των ευρημάτων του TEG για τα είδη αυτά.²

ΣΦΑΙΡΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Οι σφαιρικές δοκιμές (TEG, ROTEM) αξιολογούν συνολικά την αιμοστατική λειτουργία στο δείγμα αίματος περιλαμβανομένης της σχέσης μεταξύ αιμοπεταλίων και του μηχανισμού πήξης. Γενικά, οι μέθοδοι αυτές έχουν περιορισμένη ευαισθησία σε ότι αφορά την ανίχνευση αλλαγών σε επιμέρους παράγοντες της αιμόστασης². Πιο συγκεκριμένα, η θρομβοελαστομετρία εκτιμά τις ιξωδοελαστικές ιδιότητες του ολικού αίματος, κατά την πήξη, εκφράζοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων (αιμοπετάλια, ερυθροκύτταρα, λευκοκύτταρα) και παραγόντων του πλάσματος, καθώς επίσης και της ινωδόλυσης².

Αντίστοιχα, οι συμβατικές εξετάσεις πήκτικότητας (PT, APTT) δεν περιλαμβάνουν τα κυτταρικά στοιχεία (αιμοπετάλια, ερυθροκύτταρα κλπ) και μόνον παρέχουν πληροφορίες για μεμονωμένα τμήματα του καταρράκτη της πήξης, όπως ο είναι αρχικός σχηματισμός θρομβίνης στο πλάσμα χωρίς την παρουσία των αιμοπεταλίων. Παρόλο που είναι πολύτιμες εξετάσεις για επιμέρους τμήματα του ενζυματικού καταρράκτη, αυτές παραβλέπουν παράγοντες όπως το ρυθμό σχηματισμού του θρόμβου, τη συνολική ισχύ θρόμβου καθώς και το ρυθμό και το βαθμό αποδόμησης, παράγοντες που αναπαριστούν σημαντικές αλληλεπιδράσεις και που αξιολογούν τον αιμοστατικό μηχανισμό σε κλινικά περιστατικά (ασθενείς)⁵.

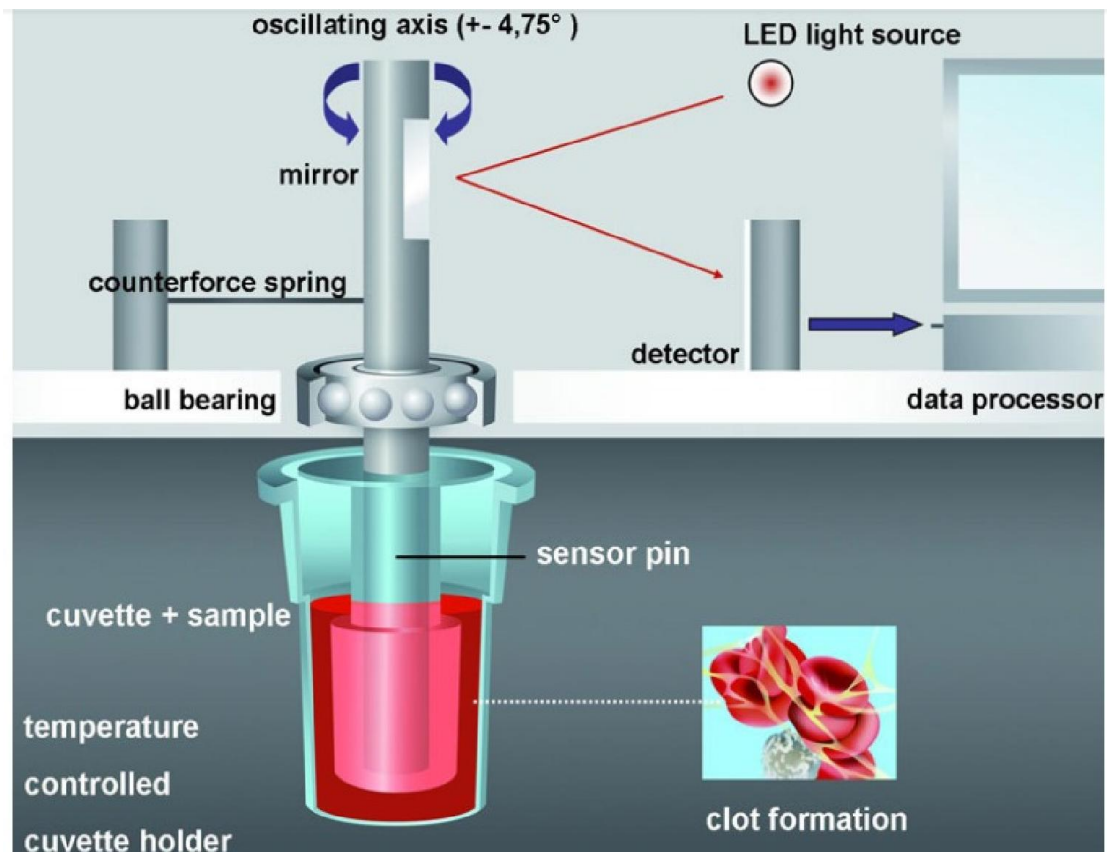
Το βασικό αιμοστατικό προφίλ, συνήθως, περιλαμβάνει την μέτρηση του αριθμού αιμοπεταλίων, του χρόνου προθρομβίνης και του χρόνου της ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης. Μπορεί να διευρυνθεί από το χρόνο θρομβίνης και/ή τη συγκέντρωση του ινωδογόνου, όταν είναι αυξημένα τα PT και APTT, προκειμένου διαφοροποιηθεί περαιτέρω το αν η τελική φάση της πήξης του αίματος (αλληλεπίδραση θρομβίνης-ινωδογόνου, σχηματισμός ινικής) έχει επηρεαστεί⁴⁴. Επιπροσθέτως, η μέτρηση του χρόνου ροής ενδείκνυται σε περιπτώσεις όπου υπάρχει υποψία αιμοπεταλιακών δυσλειτουργιών ή νόσος του von Willebrand⁴⁴.

Σε μια παρομοίωση που προτάθηκε από τον Hartert, ο έλεγχος της πήκτικότητας του αίματος συγκρίνεται με την κατασκευή ενός κτιρίου. Οι συμβατικές εξετάσεις πήκτικότητας ολοκληρώνονται με την κατασκευή των θεμελίων, ενώ οι σφαιρικές εξετάσεις παρέχουν πληροφορίες για ολόκληρο το οικοδόμημα, συμπεριλαμβανομένης της ταχύτητας της κατασκευαστικής διαδικασίας και της τελικής αντοχής του ολοκληρωμένου κτιρίου⁵.

ΘΡΟΜΒΟΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ – ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ

Η βασική αρχή πίσω από την μέθοδο είναι η μέτρηση των ιξωδοελαστικών χαρακτηριστικών της πήξης του αίματος. Ο σχηματισμός του θρόμβου λαμβάνει χώρα εντός μιας ειδικής κυψελίδας, με όγκο δείγματος 360μL, μέσα στην οποία υπάρχει ένα έμβολο με μια ακίδα που εισέρχεται στο κέντρο της κυψελίδας, η οποία περιστρέφεται υπό γωνία $4^{\circ}45'$ με περιοδικότητα 10 δευτερολέπτων. Η ακίδα συνδέεται σε ένα περιελισσόμενο μεταλλικό σύρμα. Κατά το σχηματισμό του θρόμβου, η ινική που παράγεται συνδέει μηχανικά την ακίδα με την κυψελίδα. Όσο η σύνδεση ενδυναμώνει, η περιστροφή της κυψελίδας μεταδίδεται στην ακίδα και αυτή η ροπή μεταδίδεται, από το σύρμα, ως γραφική παράσταση της TEG.²

Στο ROTEM κυψελίδα είναι σταθερή και η ακίδα ταλαντεύεται.² Το δείγμα αίματος (sample) τοποθετείται σε μια κυψελίδα (cuvette) και τοποθετείται στην θερμαινόμενη εσοχή του μηχανήματος (temperature controlled cuvette holder). Μια αναλώσιμη ακίδα (sensor pin) είναι σταθερά συνδεδεμένη στο άκρο ενός ταλαντευόμενου άξονα (oscillating axis) πάνω στον οποίο υπάρχει ένα κάτοπτρο (mirror). Το περιστρεφόμενο φρεάτιο είναι σταθεροποιημένο με ένα υψηλής ακρίβειας σύστημα σφαιροτριβέως (ball bearing). Το φρεάτιο περιστρέφεται και προς τις δυο κατευθύνσεις υπό γωνία 4.75° και συνδέεται με ένα έλασμα αντιτιθέμενης δύναμης (counterforce spring), το οποίο μετρά την ελαστικότητα των ταινιών του ινώδους και των συσσωρευμένων αιμοπεταλίων (clot formation) εντός της κυψελίδας. Η θέση του φρεατίου ανιχνεύεται από την αντανάκλαση φωτός (LED light source) πάνω στο κάτοπτρο. Τα στοιχεία συλλέγονται από τον ανιχνευτή (detector) του ανακλώμενου φωτός και μετά από επεξεργασία με ηλεκτρονικό υπολογιστή, προκύπτει ένα γράφημα.³⁴ Το γράφημα, αυτό, αποτυπώνεται σε πραγματικό χρόνο μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή και ειδικού λογισμικού προγράμματος. (Εικ.1).



Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση του εμβόλου και της κυψελίδας του αναλυτή ROTEM.
(Πηγή: www.rotem.de)

Sample: Δείγμα αίματος

Cuvette: Κυψελίδα

Temperature controlled cuvette holder: Θερμαινόμενη εσοχή, υποδοχή κυψελίδας

Sensor pin: Αναλώσιμη ακίδα (αισθητήρας)

Oscillating axis: Ταλαντευόμενος άξονας (υπό γωνία 4.75°)

Mirror: Κάτοπτρο

Ball bearing: Σύστημα ακρίβειας με σφαιροτριβέα (ρουλεμάν)

Counterforce spring: Έλασμα αντιτιθέμενης δύναμης

Clot formation: Σχηματισμός θρόμβου

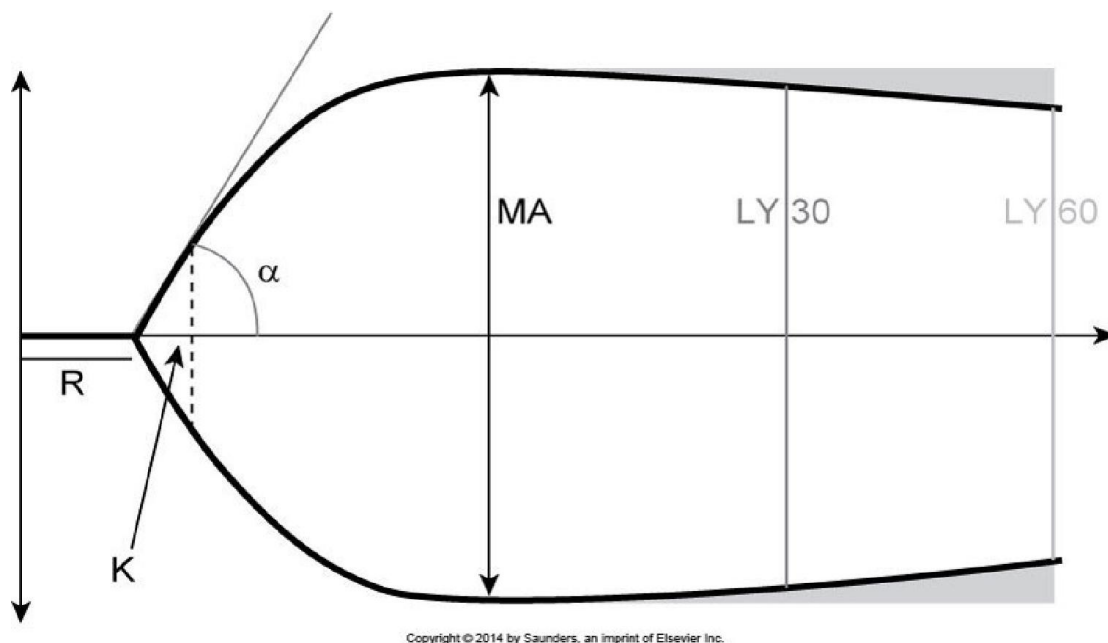
LED light source: Πηγή φωτός

Detector: Ανιχνευτής

Data processor: Επεξεργασία δεδομένων από Η/Υ

ΟΡΟΛΟΓΙΑ

Ο αναλυτής δημιουργεί τόσο ένα ποσοτικό, όσο και ένα ποιοτικό γράφημα του οποίου οι παράμετροι περιγράφουν το θρόμβο. (Σχ. 6).



Σχήμα 6: Γράφημα όπου εμφανίζονται οι κυριότερες παράμετροι TEG και η σχέση τους με το γράφημα. (Brainard B., Jandrey K., 2014).

Παρακάτω αναφέρονται πρώτα οι παράμετροι του TEG και συνοδεύονται από την ονοματολογία του ROTEM.²

Το *R-time* (Reaction time, χρόνος αντίδρασης) ή *CT* (Clotting Time, χρόνος πήξης) είναι ο χρόνος σε λεπτά της ώρας από τη στιγμή που το αίμα τοποθετείται στον αναλυτή μέχρι τον αρχικό σχηματισμό ινώδους. Ο χρόνος αντίδρασης αντανakλά γενικά τα επίπεδα των παραγόντων πήξης αλλά δεν συσχετίζεται πάντα με τον PT και τον aPTT.

Ο *K-time* ή *CFT* (Clot Formation Time, χρόνος σχηματισμού θρόμβου), μετρά σε λεπτά τον χρόνο που απαιτείται για το γράφημα να φτάσει ένα προκαθορισμένο επίπεδο (20mm) αντοχής του θρόμβου.

Η α -angle (α- γωνία, εφαπτομένη της κινητικής ανάπτυξης του θρόμβου) μετρά σε μοίρες τον ρυθμό δημιουργίας θρόμβου (ρυθμός συσσώρευσης του ινώδους και της σύνδεσης των πολυμερών) ως συνάρτηση πλάτους και χρόνου. Τόσο το K-time, όσο και η α -angle επηρεάζονται από τη διαθεσιμότητα του ινωδογόνου, τον παράγοντα XIII, και σε μικρότερο βαθμό από τα αιμοπετάλια.⁵ Η α-γωνία δεν συσχετίζεται πάντα με τη συγκέντρωση του Ινωδογόνου.³⁴

Το MA (Maximum Amplitude, Μέγιστη Μεγέθυνση) ή MCF (Maximal Clotting Firmness, Μέγιστη Αντοχή Θρόμβου), μετράται σε mm και είναι το πλατύτερο τμήμα του γραφήματος και αναπαριστά τη μεγαλύτερη διάσταση που απέκτησε ο θρόμβος πριν την έναρξη της ινωδόλυσης, ενώ είναι αποτέλεσμα της παραγωγής ινώδους και της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και εκπροσωπεί την τελική δύναμη του θρόμβου.²

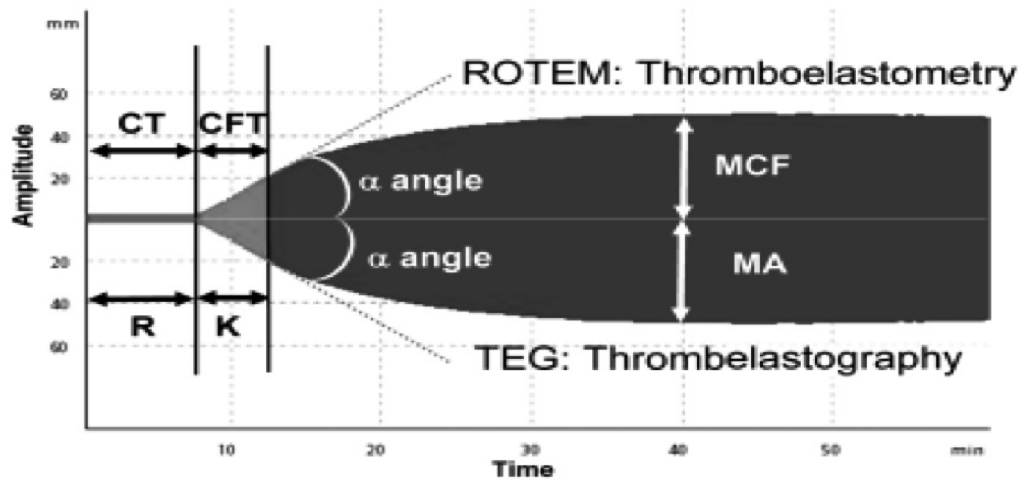
Άλλες μετρήσεις της δύναμης του θρόμβου είναι η μέγιστη ελαστικότητα του θρόμβου (MCE, Maximum Clot Elasticity) που υπολογίζεται από τη MCF χρησιμοποιώντας την εξίσωση:

$$MCE = (100 \times MCF) / (100 - MCF)$$

Καθώς επίσης και ο δείκτης ελαστικότητας ανασχετικής δύναμης (G, Global Clot Strength, σε dynes/sec/cm²) και υπολογίζεται από την MA χρησιμοποιώντας την εξίσωση:

$$G = 5000 \times MA / (100 - MA)$$

Πλέον του σχηματισμού του θρόμβου, το TEG ή το ROTEM αναπαριστούν και την ινωδόλυση. Το ποσοστό μείωσης μεγέθυνσης του γραφήματος σε 30 και 60 λεπτά εκφράζεται από τις παραμέτρους λύσης (CL 30 ή LI 30 και CL 60 ή LI 60, αντίστοιχα, σε % ποσοστό). Οι παράμετροι λύσης μετρούν τη σταθερότητα του θρόμβου. Στο Σχήμα 7 απεικονίζονται ταυτόχρονα οι παράμετροι των TEG και ROTEM στο ίδιο γράφημα.



Σχήμα 7: Σχηματική επεξήγηση του γραφήματος Θρομβοελαστομετρίας (πάνω) και Θρομβοελαστογραφίας (κάτω).⁵

Στον πίνακα 1 αναφέρονται οι φυσιολογικές τιμές που έχουν αναφερθεί στην βιβλιογραφία για το σκύλο.

ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ	R-time (λεπτά)	K-time (λεπτά)	α-Angle (μοίρες)	MA (mm)	n
Επαναπροσθήκη Ca	2,1-11,0	1,2-4,6	39-74	44,5-61,7	120
Καολίνη	1,8-8,6	1,3-5,7	36,9-74,6	42,9-67,9	56
TF (1:50000)	2,8-8,7	2,3-7,7	27,5-58,7	39,9-59,0	18

Πίνακας.1: Συγκεντρωτική παράθεση τιμών αναφοράς και διακυμάνσεων από πειραματικές μελέτες της θρομβοελαστογραφίας στο σκύλο.⁵⁵ (Jandrey et al, 2014. Τροποποιημένος).

Στον πίνακα 2 αναφέρονται συγκριτικά οι παράμετροι των τριών αναλυτών σε σχέση με το στάδιο της δημιουργίας θρόμβου και τους κυριότερους παράγοντες που τους επηρεάζουν.

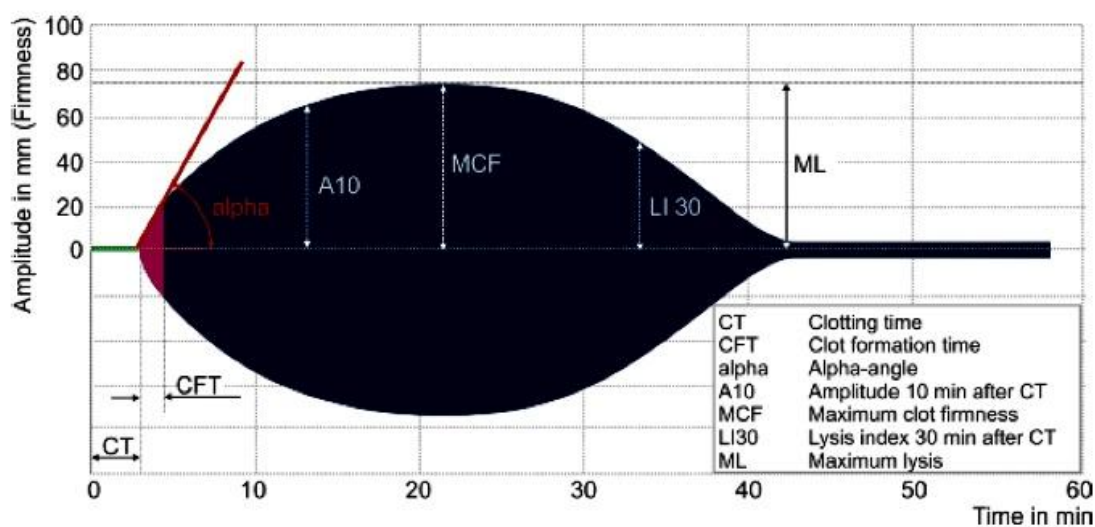
Σχηματισμός Θρόμβου	Παράγοντες που επηρεάζουν τον Θρόμβο	TEG	ROTEM	SONOCLOT
Αρχική δημιουργία ινώδους	Δραστηριότητα FXII και FXI, αντανακλά την ενδογενή οδό αν δεν χρησιμοποιηθούν ενεργοποιητές	R-time	CT (Clot Time)	SonACT
Ανάπτυξη θρόμβου ή ταχύτητα σχηματισμού του	Δραστηριότητα FII και FVIII, FXIII, αριθμός και λειτουργικότητα PLTs, ινωδογόνο, HCT	K και α-γωνία	CFT (Clot formation Time) και α-γωνία	Clot Rate (CR)
Μέγιστη δύναμη θρόμβου	Ινωδογόνο, αριθμός και λειτουργικότητα PLTs, θρομβίνη, δραστηριότητα FXIII, HCT	MA	MCF (maximum Clot Firmness)	Μέγιστο ύψος και χρόνος μέχρι την κορύφωση
Ινωδόλυση	Υπερινωδογονόλυση, Πλασμίνη	CL 30, CL60	LI 30, LI 60	R ₃

Πίνακας 2: Σύγκριση των μεταβλητών που καταγράφονται από το TEG το ROTEM και το Sonoclot.^{5,34}

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Γενικά τα ζώα θεωρούνται υπερπηκτικά όταν έχουν όλα ή κάποια από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: μικρό R-time/CT (ταχύτερη έναρξη σχηματισμού του θρόμβου), μεγαλύτερη α-γωνία (ταχύτερος σχηματισμός θρόμβου) και μεγαλύτερο MA/MCF από το εύρος τιμών αναφοράς. Κάποια ζώα εμφανίζουν όλα τα χαρακτηριστικά ενώ κάποια άλλα μόνο α-γωνία και MA/MCF. Σε μελέτες για ανθρώπους η μόνη παράμετρος που συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για θρόμβωση είναι το MA/MCF μεγαλύτερο από το εύρος τιμών αναφοράς. Στην κτηνιατρική θα πρέπει να αποδειχθεί η σχέση μεταξύ των παραμέτρων TEG και των κλινικών μετρήσεων των αποτελεσμάτων. Ζώα σε καταστάσεις μειωμένης πήκτικότητας τυπικά εμφανίζουν παρατεταμένο R-time/CT όταν έχουν μείωση των παραγόντων πήξης. Όταν αυτό οφείλεται σε θρομβοκυτταροπενία, ο R-time/CT παραμένει φυσιολογικός, διότι καθορίζεται από τις πρωτεΐνες του πλάσματος, αλλά η α-γωνία και η MA/MCF είναι σημαντικά μειωμένα. Σε ασθενείς με θρομβοπάθειες με χαμηλό

ινωδογόνο λόγω διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης (DIC), η α-γωνία και η MA/MCF είναι επίσης στενά σε σχέση με τις τιμές αναφοράς.



Σχήμα 8: Φυσιολογικό γράφημα ROTEM⁴.

Η συγκέντρωση των αιμοπεταλίων συσχετίζεται με τον G και την MA/MCF και τον K-time/CFT στον σκύλο και τον άνθρωπο. Ο συσχετισμός με το G και την MA/MCF είναι ισχυρός όταν τα αιμοπετάλια βρίσκονται εντός των τιμών αναφοράς ή χαμηλότερα. Αντίθετα σε θρομβοκυττάρωση (>400.000 plts/ μ L) δεν υπάρχει συσχετισμός με αύξηση του G και της MA/MCF, μια παρατήρηση που είναι σύμφωνη με τη διαπίστωση ότι ενώ η θρομβοπενία συμβάλλει σε αιμορραγικό φαινότυπο, η αντιδραστική θρομβοκυττάρωση δε συνδέεται με υπερπηκτικότητα.²

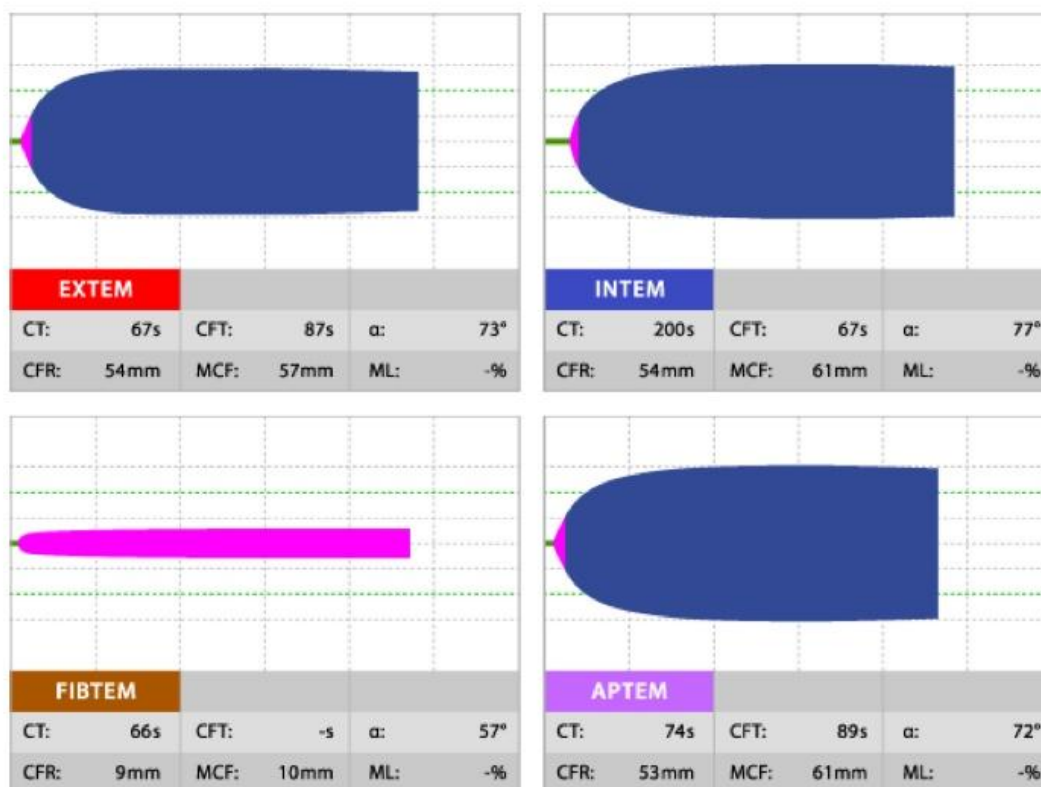
Η συγκέντρωση του ινωδογόνου, επίσης, συσχετίζεται ισχυρά με τα G, MA/MCF και K-time/CFT. Αυτό έχει αποδειχθεί με χρήση διαφόρων αντιδραστηρίων και μεθόδων, τόσο στον άνθρωπο όσο και σε πολλά είδη ζώων. Σε μια ομάδα ανθρώπων με συμπαγείς όγκους, η υπερिनωδογοναιμία είχε 86.5% ευαισθησία και 83.3% ειδικότητα, με τα γραφήματα του ROTEM να υποδεικνύουν υπερπηκτικότητα. Η υπερινωδογοναιμία είναι πιθανά ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για φλεβική και αρτηριακή θρόμβωση.²

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Γενικά δεν υπάρχουν επίσημα πρωτόκολλα στην κτηνιατρική. Τα δείγματα εξετάζονται με επαναπροσθήκη ασβεστίου στο κιτρικό νάτριο, στους 37°C, και μετά από 30λεπτη περίοδο ηρεμίας σε θερμοκρασία δωματίου.²⁰ Αυτό χρησιμεύει ως σημείο έναρξης της πήξης και αρχή της καταγραφής. Η χρήση ολικού αίματος άνευ αντιπηκτικού ή αίματος με αντιπηκτικό χωρίς ενεργοποίηση (με τη μέθοδο της επαναπροσθήκης ασβεστίου) δεν είναι πρακτική στην κτηνιατρική και πιθανώς να οδηγούν σε υψηλού βαθμού διακύμανση των αποτελεσμάτων της δοκιμής.^{2,6} Το αίμα του σκύλου υφίσταται σημαντικά μεγαλύτερη ex-vivo ενεργοποίηση, σε σχέση με το ανθρώπινο, κατά τη διάρκεια και μετά την αιμοληψία.⁴⁵ Πιο συγκεκριμένα, η χρήση ολικού αίματος άνευ αντιπηκτικού για ανάλυση TEG είναι δυνατή μόνο εντός τεσσάρων έως έξι λεπτών από την αιμοληψία^{10,36} και είναι συνεπώς δυνατή η άμεση εξέταση παρά τη κλίνη (point of care) του ασθενούς, όπως για παράδειγμα εντός του χειρουργείου. Αυτό καθιστά δύσκολα εφαρμόσιμη την άμεση εξέταση στην κτηνιατρική επιστήμη διότι η τεχνολογία TEG δεν είναι ευρέως διαδεδομένη. Η Haemoscope Corporation (TEG) παρέχει για χρήση στον αναλυτή της αντιδραστήρια καολίνης, κυψελίδες με επίστρωση ηπαρινάσης για παρακολούθηση θεραπείας με ηπαρίνη και ένα γρήγορο αντιδραστήριο (rapid-TEG) που περιέχει ένα μείγμα καολίνης και ιστικού παράγοντα (TF).²⁰ Ενεργοποίηση της ενδογενούς ή της εξωγενούς οδού της αιμόστασης μπορεί να επιτευχθεί με την καολίνη ή τον ιστικό παράγοντα, αντίστοιχα.⁵ Επιπρόσθετοι μη καθιερωμένοι ενεργοποιητές είναι η διατομική γη και ο ανασυνδυασμένος ανθρώπινος ιστικός παράγοντας (rHTF). Η χρήση διαφόρων ενεργοποιητών και ειδικών αναστολέων έχει δοκιμαστεί και έχει επικυρωθεί για τον έλεγχο της πήκτικότητας στα ζώα.²

Για το ROTEM υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια όπως INTEM (ισχυρή ενεργοποίηση ενδογενούς οδού), HEPTEM (ισχυρή ενεργοποίηση ενδογενούς οδού, παρουσία ηπαρινάσης που εξουδετερώνει τη δράση της ηπαρίνης στο δείγμα), EXTEM (ισχυρή ενεργοποίηση εξωγενούς οδού), FIBTEM (ισχυρή ενεργοποίηση εξωγενούς οδού, παρουσία κυτοχλαζίνης D, ενός αναστολέα των αιμοπεταλίων), APTEM (ισχυρή ενεργοποίηση εξωγενούς οδού, παρουσία απροτινίνης, ενός αναστολέα της ινωδόλυσης), και ECATEM (άμεση ενεργοποίηση της πήξης με ενεργοποιητή προθρομβίνης που προέρχεται από δηλητήριο φιδιού: την εκαρίνη). Προκειμένου να αποδοθεί ένα μη φυσιολογικό αποτέλεσμα σε διαταραχές των αιμοπεταλίων ή του ινωδογόνου, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας συνδυασμός EXTEM και FIBTEM. Τα παραπάνω αντιδραστήρια επιτρέπουν εξειδικευμένη εκτίμηση ποικίλων τμημάτων του συστήματος πήξης.⁵ Το

αντιδραστήριο NATEM (επαναπροσθήκη Ca μόνο, κλασική θρομβοελαστομετρία) αποδίδει μια πολύ ευαίσθητη εκτίμηση του σημείου ισορροπίας της ενεργοποίησης ή αναστολής του μηχανισμού πήξης.⁴



Σχήμα 8: Φυσιολογικά γραφήματα ROTEM με διαφορετικά αντιδραστήρια⁴.

Συμπερασματικά, υπάρχει πληθώρα στοιχείων στην κτηνιατρική και την ιατρική που υποδεικνύουν ότι οι δοκιμές TEG και ROTEM, που χρησιμοποιούν κιτρικό ως αντιπηκτικό, εμφανίζουν εγγενώς μικρότερη διακύμανση από αυτά που χρησιμοποιείται επαναπροσθήκη Ca, μόνο. Επίσης, υπάρχουν ισχυρά στοιχεία ότι στον σκύλο, τη γάτα και τον άνθρωπο δεν είναι ευθέως συγκρίσιμα τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με χρήση διαφορετικών ενεργοποιητών. Αντίθετα δεν υπάρχουν στοιχεία που να καταδεικνύουν έναν ενεργοποιητή ως συνολικά καλύτερο, έναντι κάποιου άλλου, για όλους τους πληθυσμούς ασθενών. Συνεπώς, περισσότερες από μια δοκιμές είναι απαραίτητες για την πλήρη θρομβοελαστική εκτίμηση της πήκτικότητας των ασθενών.²⁶

ΠΡΟΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Οι δονήσεις, το σοκ και οι ραγδαίες αλλαγές θερμοκρασίας κατά τη διάρκειά της εφαρμογής της και κατά το χειρισμό των δειγμάτων, θα πρέπει να αποφεύγονται. Ιδιαίτερα η θερμοκρασία είναι σπουδαία μεταβλητή σε όλες τις δοκιμές πήκτικότητας.

Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται για την ελαχιστοποίηση σφαλμάτων που προκαλούνται από εργώδη αιμοληψία, αυξημένη αναμονή δείγματος, ακραίες θερμοκρασίες και *in vitro* αιμόλυση. Πρόκληση μέτριας έως σοβαρής *in vitro* αιμόλυσης σε δείγματα αίματος σκύλου και ίππου, με προσθήκη κιτρικού, οδήγησε σε σημαντική μείωση τιμών G και MA (MCF), που είναι συμβατές με αιμορραγικές διαταραχές. Αυτό αποδόθηκε σε *in vitro* ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, των οποίων η μειωμένη αντίδραση συμβάλλει σε μειωμένη αντοχή θρόμβου.²⁹

Εκτός των παραπάνω προαναλυτικών παραγόντων, η μάζα των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RCM) συσχετίζεται με πολλές εκ των μεταβλητών της θρομβοελαστομετρίας. Τα ερευνητικά δεδομένα δείχνουν ότι υπάρχει αντίστροφος γραμμικός συσχετισμός μεταξύ του αιματοκρίτη (HCT) και των G, MA (MCF) και της α-γωνίας στον άνθρωπο και σε διάφορα είδη ζώων. Το αν η μείωση της μάζας των ερυθρών αιμοσφαιρίων πραγματικά αντικατοπτρίζει την *in vivo* υπερπηκτικότητα, αποτελεί θέμα προς συζήτηση. Τόσο στον άνθρωπο, όσο και στο σκύλο, μειωμένος αιματοκρίτης συνδέεται με υπερπηκτικότητα, ενώ αύξηση του αιματοκρίτη συνδέεται με αιμορραγικές διαταραχές (υποπηκτικότητα).^{5,2,30} Μεμονωμένη μείωση του αιματοκρίτη, στον άνθρωπο, άνευ μεταβολών στη συγκέντρωση των αιμοπεταλίων, τη συγκέντρωση των παραγόντων πήξης ή τη συγκέντρωση αντιπηκτικών, επιτάχυνε την πήξη του αίματος, όπως αποδείχθηκε σε δείγματα που ενεργοποιήθηκαν με διατομική γη τόσο με TEG, όσο και με ROTEM.² Σε δείγματα από αναιμικούς σκύλους, τα αποτελέσματα της θρομβοελαστομετρίας καταδεικνύουν υπερπηκτικότητα που πιθανώς να είναι τεχνουργηματική λόγω της χαμηλής μάζας των ερυθρών αιμοσφαιρίων.³⁰ Αυτό πιθανά να αποτελεί έναν περιορισμό στην τεχνολογία της θρομβοελαστομετρίας.³²

Πιο συγκεκριμένα, από μια μελέτη που συσχετίζει τον αιματοκρίτη (HCT) και τον αριθμό των αιμοπεταλίων με τις παραμέτρους της θρομβοελαστομετρίας (ROTEM), προκύπτει ότι η MCF ήταν συστηματικά χαμηλότερη με αυξανόμενο HCT, αλλά υψηλότερη με αυξανόμενο αριθμό αιμοπεταλίων. Ο χρόνος πήξης CT ήταν συστηματικά υψηλότερος με αυξανόμενο HCT, ενώ αύξηση του αριθμού των αιμοπεταλίων δεν είχε καμία επίδραση.

Ο CFT (K-time) ήταν επίσης συστηματικά υψηλότερος με αυξανόμενο HCT, αλλά συστηματικά χαμηλότερος με αυξανόμενο αριθμό των αιμοπεταλίων. Η α-γωνία εμφάνισε παρόμοια διακύμανση. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι τα αποτελέσματα της θρομβοελαστογραφίας πρέπει να επεξεργάζονται με βάση τη μέτρηση του HCT και τον αριθμό των αιμοπεταλίων προκειμένου να αξιολογηθούν ορθώς στην κλινική πράξη.³¹ Το ίδιο πρέπει να γίνεται και για ασθενείς με χρόνια αναιμία.³³

Συγγενείς και επίκτητες διαταραχές της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων έχουν μελετηθεί και είναι σχετικά συχνές στα ζώα³⁷. Οι επίκτητες δυσλειτουργίες των αιμοπεταλίων μπορούν να εκδηλωθούν δευτερογενώς σε ουραιμία, λοίμωξη από διάφορους παράγοντες, όπως *Ehrlichia canis*², *Babesia canis*¹⁰, FeLV, δήγμα από φίδι, νεοπλασία, ηπατοπάθεια και χορήγηση φαρμάκων, ιδιαίτερα μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (ΜΣΑΦ)². Σποραδικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι μετρήσεις θρομβοελαστογραφίας δεν διέφεραν μεταξύ φυσιολογικών σκύλων και σκύλων είτε με συγκεκριμένη λειτουργική διαταραχή των αιμοπεταλίων, όπως το σύνδρομο Scott, είτε με σκύλους στους οποίους χορηγήθηκαν ΜΣΑΦ³⁹.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΗΝ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ

Η Θρομβοελαστογραφία έχει μελετηθεί σε διάφορες κλινικές περιστάσεις και κυρίως για τους σκύλους. Έχουν γίνει μελέτες τεκμηρίωσης για το ROTEM για σκύλους, χρησιμοποιώντας ολικό αίμα ή με προσθήκη κιτρικού, με αντιδραστήρια INTEM και EXTEM.

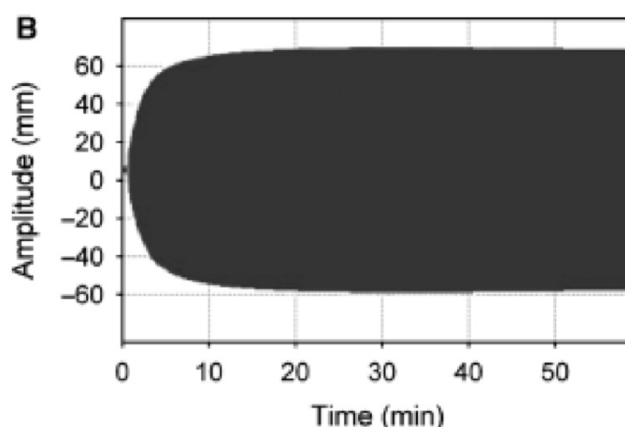
ΥΠΕΡΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η φλεβική θρόμβωση (VT) είναι μια επικίνδυνη για τη ζωή επιπλοκή σε πολλές υποκείμενες παθολογικές καταστάσεις, περιλαμβανομένων των νεοπλασιών, της Αυτοάνοσης Αιμολυτικής Αναιμίας (IMHA), της σήψης, της Διροφιλαρίωσης (*Dirofilaria immitis*), του υπέρφλοιοεπινεφριδισμού και άλλων. Ο συσχετιζόμενος κίνδυνος για την VT σε ζώα έχει περιγραφεί. Οι δοκιμές αιμόστασης ρουτίνας έχουν μικρή ευαισθησία σε αντίθεση με την θρομβοελαστογραφία που έχει αξιολογηθεί για την δυνατότητα πρώιμης και ευαίσθητης ανίχνευσης της αύξησης της πηκτικότητας. Ανακολουθίες μεταξύ των μελετών, περιλαμβανομένης της ποικιλότητας της μεθοδολογίας της Θρομβοελαστογραφίας και της περιστασιακής απουσίας αιματολογικών δεδομένων, όπως αριθμός αιμοπεταλίων, συγκέντρωση ινωδογόνου και αιματοκρίτης, περιορίζουν τη δυνατότητα να ερμηνεύσουμε και να συγκρίνουμε τα αποτελέσματα των μελετών μεταξύ τους. Η ορθή ερμηνεία περιορίζεται ακόμη περισσότερο από την απουσία μακράς διάρκειας προοπτικών μελετών που θα επιβεβαίωναν θετική συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων της θρομβοελαστογραφίας που υποδεικνύουν υπερπηκτικότητα και τον πραγματικό κίνδυνο θρόμβωσης στα ζώα. Μέχρι σήμερα, η αύξηση της πηκτικότητας, όπως αποδεικνύεται από τον G και την MA (MCF), έχει αποδειχθεί σε σκυλιά με εντερίτιδα από παρβοϊό, νεοπλασία, ΔΕΠ, και Αυτοάνοση Αιμολυτική Αναιμία.^{2,12,13,19} Πρόσφατα, απεδείχθη η αύξηση της πηκτικότητας σε σκύλους με μερική ή ολική εξωηπατική έμφραξη χοληφόρων αγγείων με τη βοήθεια της θρομβοελαστογραφίας.¹⁷ Επίσης, με τη μέθοδο της θρομβοελαστομετρίας, απεδείχθη αύξηση της πηκτικότητας σε σκύλους με νεφρική νόσο, και πιο συγκεκριμένα, ότι σε σκύλους με ταυτόχρονη πρωτεϊνουρία και αζωθαιμία υπάρχει αυξημένος κίνδυνος θρομβωτικών/θρομβοεμβολικών επεισοδίων.¹⁸

Σε μια πρώιμη μελέτη ελέγχου περιστατικών, εννέα κουτάβια με φυσική λοίμωξη εντερίτιδας από παρβοϊό συγκρίθηκαν με εννέα αντίστοιχα κουτάβια μάρτυρες. Και τα εννέα με παρβοεντερίτιδα παρουσίασαν αύξηση της πηκτικότητας του αίματος όπως καταγράφηκε με αύξηση της MA (MCF) σε αίμα με προσθήκη κιτρικού και επαναπροσθήκη

ασβεστίου. Αυτά τα κουτάβια επίσης εμφάνισαν αυξημένη συγκέντρωση ινωδογόνου σε σχέση με τους μάρτυρες. Τέσσερα από τα σκυλιά με παρβοεντερίτιδα εμφάνισαν κλινικά συμπτώματα φλεβίτιδας ή φλεβικής θρόμβωσης, συσχετιζόμενης με τον φλεβοκαθετήρα.

Η υποκείμενη κακοήθεια θεωρείται παράγοντας κινδύνου για θρόμβωση σε ζώα και ανθρώπους. Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί του σχηματισμού του θρόμβου δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως, αλλά πιθανώς περιλαμβάνουν τροποποιημένη προπηκτική και ινωδολυτική δραστηριότητα στο πλάσμα και σε επίπεδο κυττάρων, αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών, περιλαμβανομένων του TNF, της ιντερλευκίνης-1β και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, από νεοπλασματικά κύτταρα, ασυνήθη έκφραση TF, παραγωγή προπηκτικού παράγοντα από νεοπλασματικά κύτταρα και παραγωγή αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων. Σκύλοι με κακοήγη νεοπλασία ήταν σημαντικά πιο πιθανοί να εμφανίσουν υπερπηκτικότητα, σε σχέση με σκύλους που είχαν καλοήγη νεοπλάσματα, παρόλο που το 31% των τελευταίων εμφανίζονταν επίσης υπερπηκτικοί. Η υπερπηκτικότητα δεν αποδόθηκε στη συγκέντρωση ινωδογόνου αφού δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις ινωδογόνου μεταξύ σκύλων με κακοήγη, σε σύγκριση, με σκύλους με καλοήγη νεοπλασία. Καμία πληροφορία δεν προέκυψε για τη συνολική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του ινωδογόνου και των G και MA(MCF) ή του αριθμού των σκύλων με αποτελέσματα θρομβοελαστογραφίας που υποδείκνυαν υπερπηκτικότητα και ανέπτυξαν φλεβική θρόμβωση. Αυτά τα ευρήματα είναι συμβατά με μια ανάλογη μελέτη στην οποία άνθρωποι με κακοήγη νεοπλάσματα εμφάνιζαν αυξημένες τιμές G και MA (MCF).



Σχήμα 9: Μη φυσιολογικό γράφημα ROTEM. **B:** Μια υπερπηκτική κατάσταση εμφανίζεται με μειωμένο CT και CFT, αυξημένη α-γωνία, και αυξημένη MCF².

Αποτελέσματα θρομβοελαστογραφίας που υποδείκνυαν αυξημένη, φυσιολογική και μειωμένη πηκτικότητα παρατηρήθηκαν επίσης σε σκύλους με ΔΕΠ. Σε 50 σκύλους που διαγνώστηκαν με ΔΕΠ, μετά από εκτενή σειρά αιμοστατικών δοκιμών, τα αποτελέσματα της θρομβοελαστογραφίας, με χρήση rHTF-TEG, έδειξαν ότι το 22% είχε μειωμένη πηκτικότητα, το 34% φυσιολογική και το 44% αυξημένη. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το ότι οι σκύλοι με μειωμένη πηκτικότητα είχαν 2,4 φορές μεγαλύτερο σχετικό κίνδυνο θνησιμότητας εντός των επόμενων 28 ημερών, σε σχέση με τους σκύλους με αυξημένη πηκτικότητα. Ο δείκτης ελαστικότητας ανασχετικής δύναμης G αποδείχθηκε ότι αναπαριστά καλύτερα την αιμοστατική κατάσταση των σκύλων με ΔΕΠ, ενώ τιμές θρομβοελαστογραφίας που υποδεικνύουν υπερπηκτικότητα θεωρούνται ευνοϊκός προγνωστικός δείκτης. Σε παρόμοια μελέτη με ανθρώπους ασθενείς που έπασχαν από σοβαρή σήψη με ή χωρίς εμφανές ΔΕΠ, η τιμή MCF (Μέγιστη Αντοχή Θρόμβου) του ROTEM (που είναι ανάλογη της MA) σε ασθενείς με σοβαρή σήψη δε διέφεραν σημαντικά από την ομάδα υγείων μαρτύρων. Παρόλα αυτά, οι ασθενείς με εμφανές ΔΕΠ είχαν σημαντικά μειωμένη τιμή MCF, που υποδείκνυε μειωμένη πηκτικότητα (υποπηκτικότητα).

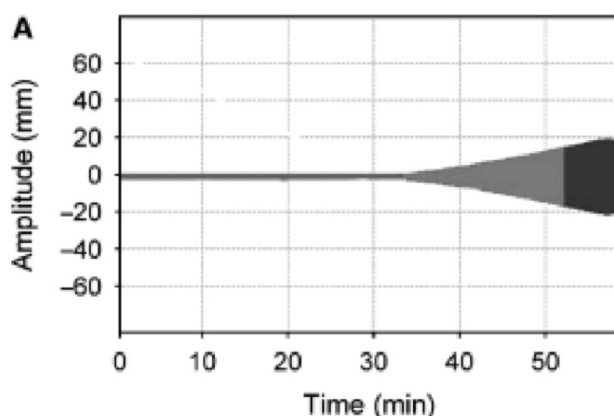
Η υπερπηκτικότητα είναι μια συνηθισμένη αιμοστατική διαταραχή σε σκύλους που εισάγονται σε μονάδες εντατικής θεραπείας (ICU) με ποικίλες υποκείμενες παθολογικές καταστάσεις και σε σκύλους με Αυτοάνοση Αιμολυτική Αναιμία (AAA).¹² Έντεκα από τα 27 σκυλιά στην εντατική κατατάχθηκαν ως υπερπηκτικά (με rHTF-TEG) με υποστηρικτικά στοιχεία που περιελάμβαναν μειωμένη δραστηριότητα αντιθρομβίνης και αυξημένη συγκέντρωση D-διμερών. Η πλειοψηφία των σκύλων με AAA είχαν θρομβοελαστογραφικές τιμές που υποδείκνυαν υπερπηκτικότητα και μόνο έξι από τα 39 σκυλιά κατατάχθηκαν ως φυσιολογικής πηκτικότητας. Ένας πιθανός παράγοντας σύγχυσης στους σκύλους με AAA ήταν ότι όλοι είχαν λάβει προηγουμένως θεραπεία με κορτικοστεροειδή, που θεωρούνται ύποπτα για την πρόκληση υπερπηκτικής κατάστασης και τη διαφοροποίηση των θρομβοελαστογραφικών παραμέτρων. Οι ερευνητές ισχυρίζονται ότι σε αυτές τις συγκεκριμένες κλινικές συνθήκες, θρομβοελαστογραφικές παράμετροι που υποδείκνυαν φυσιολογική πηκτικότητα αποτελούσαν πτωχό προγνωστικό δείκτη.

Στοιχεία από κλινικές μελέτες σε ανθρώπους υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η αυξημένη πηκτικότητα, όπως υποδεικνύεται από τις θρομβοελαστογραφικές παραμέτρους, προβλέπει θρομβοεμβολικά συμβάντα, ιδιαίτερα μετεγχειρητικά. Εξάλλου δεν υπάρχει συμφωνία μεταξύ των δεδομένων. Είναι βέβαιο ότι στην κτηνιατρική απαιτούνται προοπτικές μελέτες που θα βοηθούσαν καλύτερα στο να εκτιμηθούν οι επιδράσεις της

συγκέντρωσης ινωδογόνου, της συγκέντρωσης αιμοπεταλίων και του αιματοκρίτη στις θρομβοελαστογραφικές παραμέτρους και για να εκτιμηθούν η ευαισθησία, η ειδικότητα, η θετική και αρνητική προγνωστική αξία καθώς και ακρίβεια στην πρόβλεψη θρομβοεμβολικών συμβάντων σε ποικίλες κλινικές περιστάσεις.

ΥΠΟΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η ακριβής ανίχνευση της μειωμένης ηπηκτικότητας με επακόλουθο την αύξηση του κινδύνου αιμορραγίας θα μπορούσε να καθοδηγήσει τη μετάγγιση και την αιμοστατική θεραπεία κατά τη διάρκεια και μετά από χειρουργικές επεμβάσεις ή άλλες επεμβατικές διαδικασίες, όπως η βιοψία ήπατος. Δοκιμές πήξης όπως ο PT και ο aPTT, η συγκέντρωση ινωδογόνου και μέτρηση της συγκέντρωσης των αιμοπεταλίων χρησιμοποιούνται, συχνά, τόσο στην κτηνιατρική όσο και στην ιατρική προκειμένου να εκτιμηθεί ο κίνδυνος αιμορραγίας μετά από διαγνωστικές ή χειρουργικές επεμβάσεις. Παρόλα αυτά, βρέθηκε μικρή συσχέτιση, στον άνθρωπο, μεταξύ παρατεταμένου PT και αιμορραγίας, μετά από επεμβατικές διαδικασίες, που οδήγησε στο συμπέρασμα ότι δεν επαρκούν τα στοιχεία για υποστηριχτεί η χρήση της μετάγγισης πριν από τις επεμβάσεις, με βάσει μόνο τις δοκιμές ηπηκτικότητας του αίματος που στηρίζονται στο πλάσμα. Αντίστοιχα, στην κτηνιατρική, δυο αναδρομικές μελέτες έδειξαν ποικίλη συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων των δοκιμών ηπηκτικότητας και της αιμορραγίας μετά από αναρρόφηση δια λεπτής βελόνης (FNA) και βιοψία μάζας ολικού πάχους.²



Σχήμα 10: Μη φυσιολογικό γράφημα ROTEM. **A:** Μια κατάσταση μειωμένης ηπηκτικότητας εμφανίζεται με παρατεταμένο CT και CFT, μειωμένη α -γωνία, και μειωμένη MCF^2 .

Η θρομβοελαστογραφία είναι καλύτερη από τις συμβατικές δοκιμές πηκτικότητας, που βασίζονται στο πλάσμα, λόγω της δυνατότητάς της να προβλέπει ακριβέστερα αιμορραγικά επεισόδια στο σκύλο.^{2,11} Σε μια μελέτη που συνέκρινε αιμοστατικούς φαινότυπους σκύλων βρέθηκε ότι η τιμή G (MA/MCF) μόνο είχε 89% θετική προγνωστική αξία και 98% αρνητική προγνωστική αξία για αιμορραγία. Επιπλέον, η τιμή G προέβλεπε ακριβέστερα την αιμορραγία από το συνδυασμό μέτρησης αιμοπεταλίων, των αποτελεσμάτων PT και aPTT, της συγκέντρωσης D-διμερών και της συγκέντρωσης ινωδογόνου. Η θρομβοελαστογραφία μπορεί επίσης να προβλέψει την αιμορραγία σε σκύλους με σοβαρή ανεπάρκεια του παράγοντα VIII (Αιμοφιλία Α)². Τέλος, θρομβοελαστογραφικές μετρήσεις που έδειχναν μειωμένη πηκτικότητα (υποπηκτικότητα), με τη μέθοδο rh-TF-TEG, συσχετίστηκαν με πτωχότερη πρόγνωση και αυξημένη θνησιμότητα σε σκύλους που εισήχθησαν στην Μ.Ε.Θ. με κλινική υποψία ΔΕΠ¹³. Αυτά τα ευρήματα στηρίζονται και από μια νέα μελέτη στην οποία μια κατάσταση μειωμένης πηκτικότητας (υποπηκτικότητα), βασισμένη σε μετρήσεις TEG με ενεργοποιητή την καολίνη, σε ασθενείς που εισήχθησαν στην Μ.Ε.Θ., αποτελούσε έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για θάνατο εντός των επόμενων 30 ημερών.²

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της μελέτης ήταν η περιγραφή και η αξιολόγηση των εργαστηριακών ευρημάτων των διαταραχών της πήκτικότητας του αίματος, περιεγχειρητικά της ωθηκυστερεκτομής στο σκύλο, με τη μέθοδο της θρομβοελαστογραφίας. Η ωθηκυστερεκτομή αποτελεί μια από τις συχνότερες χειρουργικές επεμβάσεις, στην κλινική πράξη, που εκτελείται από κτηνιάτρους ζώων συντροφιάς⁴¹. Συνεπώς, η μελέτη της περιεγχειρητικά της αιμόστασης παρουσιάζει σημαντικό ενδιαφέρον.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στη μελέτη περιλήφθησαν 15 δεσποζόμενοι υγιείς θηλυκοί σκύλοι, με μέση ηλικία 3,47 έτη και μέσου βάρους 23,9 Kg, αναισθησιολογικής βαρύτητας ASA 1 (υγιείς ασθενείς)²⁵, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε ωθηκυστερεκτομή. Όλα τα ζώα έλαβαν ως προνάρκωση δεξμεδετομιδίνη (300μg/m² im, Dexdomitor, OrionPharma) σε συνδυασμό με βουτορφανόλη (0,2mg/kg im, Dolorex, MSD) ενδομυϊκά, η εγκατάσταση της αναισθησίας έγινε με πεντοθάλη (2mg/kg iv, Thiopental, VUAB) και η διατήρησή της με ισοφλουράνιο (1,5-2%) σε O₂. Διεγχειρητικά τους χορηγήθηκε ορός NaCl 0,9% με ρυθμό χορήγησής 10 ml/kg/h. Οι φλεβοκαθετήρες που χρησιμοποιήθηκαν για τη χορήγηση υγρών ήταν 20G ή 22G (Introcath, B.Braun). Σε κάθε ζώο πραγματοποιήθηκαν τρεις αιμοληψίες: η πρώτη πριν την προνάρκωση, η δεύτερη λίγο πριν το τέλος της επέμβασης (πριν την συρραφή των κοιλιακών τοιχωμάτων) και η τρίτη μια ώρα μετά την ανάνηψη. Οι φλεβοκεντήσεις πραγματοποιήθηκαν ατραυματικά από τις σφαγίτιδες φλέβες, αποφεύγοντας την παρατεταμένη αιμόσταση, εναλλάξ με βελόνη 21G (5/8" Kruuse) σε σύριγγα 5ml (Silk-Ject, Kessler) και η συλλογή γινόταν άμεσα σε φιαλίδια με αντιπηκτικό κιτρικό νάτριο 3.8% χωρητικότητας 2.5 ml (Meus srl PROVE DI SACCO-ITALY) για τις δοκιμές πήκτικότητας, και σε φιαλίδια με EDTA των 1.3ml (EDTA KE, SARSTEDT) για τη ΓΕΑ και τον έλεγχο των λοιμωδών νοσημάτων.

Για κάθε σκύλο πραγματοποιήθηκε γενική εξέταση αίματος (ΓΕΑ), ορολογικός έλεγχος IFA (IgG) τόσο για Ehrlichia canis όσο και για Leishmania infantum. Οι γενικές εξετάσεις αίματος (ΓΕΑ) πραγματοποιήθηκαν με τον αιματολογικό αναλυτή ABX Pentra 120 (Horiba Medical) και παρουσιάζονται αναλυτικά στο παράρτημα. Επίσης για κάθε ζώο

μετρήθηκαν, κατά την πρώτη αιμοληψία, ο χρόνος προθρομβίνης PT, ο ενεργοποιημένος μερικός χρόνος θρομβοπλαστίνης aPTT και το ινωδογόνο FIB.

Με τη μέθοδο της θρομβοελαστογραφίας ROTEM πραγματοποιήθηκε μελέτη των τιμών για την αιμοληψία πριν (Ομάδα Α), κατά τη διάρκεια (Ομάδα Β) και μία ώρα μετά (Ομάδα C) σε κάθε ζώο, όπως προαναφέρθηκε παραπάνω. Συγκεκριμένα, καταγράφηκαν: ο Χρόνος Πήξης CT, ο Χρόνος Σχηματισμού Θρόμβου CFT, η Μέγιστη Αντοχή του Θρόμβου MCF, η α-γωνία, το πλάτος του θρόμβου A, σε χρόνο 5, 10, 15 και 20 λεπτά μετά την έναρξη σχηματισμού τους, και τέλος η παράμετρος λύσης του θρόμβου LI60 στα 60 λεπτά.

Μετά την εγκατάσταση γενικής αναισθησίας, χορηγήθηκε σε κάθε ζώο κεφαζολίνη (25 mg/Kg, Vifazolin, Vianex) ενδοφλεβίως, και μελοξικάμη (0,2 mg/Kg Metacam, Boehringer Ingelheim) υποδορίως. Η χρήση κεφαζολίνης προεγχειρητικά δεν επηρεάζει την αιμόσταση όταν χορηγείται σε υγιείς σκύλους, εξάλλου η προεγχειρητική χορήγηση μελοξικάμης σε σκύλους επηρεάζει ελάχιστα ή καθόλου την αιμόσταση⁴².

Η προσπέλαση στην κοιλιακή χώρα έγινε με τομή (νυστέρι No 10, B.Braun) στο δέρμα και τον υποδόριο ιστό 7 με 12 cm, αρχίζοντας ένα cm οπισθίως του ομφαλού και κατά μήκος της λευκής γραμμής των κοιλιακών μυών. Για την απολίνωση των ωοθηκών και του τραχήλου χρησιμοποιήθηκε η τεχνική με τις δυο αιμοστατικές λαβίδες. Οι πλατείς σύνδεσμοι ρίχθηκαν με απλή μηχανική έλξη και όχι με διατομή.

Οι απολινώσεις των αγγείων και η συρραφή της μέσης γραμμής του κοιλιακού τοιχώματος έγιναν με ράμμα Vicryl (2-0, Ethicon), ενώ στον υποδόριο ιστό και στο δέρμα χρησιμοποιήθηκε ράμμα Monosyn (3-0, B.Braun). Η σύγκλιση του δέρματος έγινε με απλή συνεχή ενδοδερμική ραφή. Ο χρόνος των χειρουργικών επεμβάσεων δεν ξεπέρασε τα 45 λεπτά.

Το χειρουργικό τραπέζι που χρησιμοποιήθηκε ήταν θερμαινόμενο (Heated V-Top Surgery Table, Hydraulic base, SHOR-LINE), προκειμένου να αποφευχθεί η υποθερμία των σκύλων κατά τη διάρκεια της αναισθησίας. Κατά την ανάνηψη όλα τα ζώα είχαν χαμηλότερη θερμοκρασία, αλλά μεγαλύτερη των 38°C που είναι εντός των φυσιολογικών τιμών.

Η μεταφορά των δειγμάτων στο εργαστήριο, για ανάλυση, γινόταν εντός δύο ωρών, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, και το αντιδραστήριο της συσκευής ROTEM που χρησιμοποιήθηκε για την θρομβοελαστογραφία ήταν το NATEM.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Μετά τη συλλογή και καταγραφή των αποτελεσμάτων του δείγματος των 15 ζώων, ακολούθησε η επεξεργασία και στατιστική ανάλυση των παραμέτρων του ROTEM για κάθε ζώο καθώς και η συσχέτισή τους με τα αποτελέσματα των αιματολογικών τους εξετάσεων. Πραγματοποιήθηκε έλεγχος για το αν τα δεδομένα ακολουθούν την κανονική κατανομή, ενώ υπολογίστηκαν οι διάμεσοι και τα διαστήματα εύρους. Επίσης, έγινε σύγκριση των διαμέσων των ομάδων και συσχέτιση με τις αιματολογικές παραμέτρους. Εξάλλου, η ανάλυση οδήγησε στη δημιουργία τριών ομάδων: A,B και C που αναφέρονται στις δειγματοληψίες πριν, κατά τη διάρκεια και μια ώρα μετά το πέρας των επεμβάσεων, αντίστοιχα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ακολουθεί η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Πιο συγκεκριμένα περιγράφονται τα παρακάτω:

- i. Shapiro Wilks W test for normality / Έλεγχος κανονικότητας δεδομένων.
- ii. Περιγραφικά δεδομένα (διάμεσος, IQ – ενδοτεταρτομοριακό εύρος)
- iii. Σύγκριση των διαμέσων των ομάδων με Mann-Whitney τεστ
- iv. Ανάλυση συσχετίσεων των μεταβλητών με αιματολογικές παραμέτρους.

i. Shapiro Wilks W test for normality / Έλεγχος κανονικότητας

Πραγματοποιήθηκε στατιστικός έλεγχος κανονικότητας και κανένας συνδυασμός μεταβλητών από τις ομάδες A, B και C δεν ακολουθούσε την κανονική κατανομή ($p\text{-value} \geq 0.05$) των μεταβλητών, σύμφωνα με το Shapiro-Wilks test. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε το Mann-Whitney test, που είναι μη παραμετρικό τεστ, για την σύγκριση των μεταβλητών μεταξύ των ομάδων A, B, και C, όπως περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω.

ΟΜΑΔΑ Α

Μεταβλητές	# δειγμάτων	W	V	z	Prob>z
CT	15	0.94468	1.073	0.139	0.44482
CFT	15	0.78317	4.204	2.840	0.00225
MCF	15	0.79700	3.936	2.710	0.00336
α-ANGLE	15	0.89705	1.996	1.367	0.08580
A ₅	15	0.92891	1.378	0.635	0.26277
A ₁₀	15	0.79602	3.955	2.719	0.00327
A ₁₅	15	0.80375	3.805	2.643	0.00411
A ₂₀	15	0.81341	3.618	2.543	0.00549
MCE	15	0.85376	2.835	2.061	0.01964
LI60	15	0.93506	1.259	0.456	0.32430

ΟΜΑΔΑ Β

Μεταβλητές	# δειγμάτων	W	V	z	Prob>z
CT	15	0.85057	2.897	2.104	0.01769
CFT	15	0.64979	6.790	3.788	0.00008
MCF	15	0.81922	3.505	2.481	0.00656
α-ANGLE	15	0.84919	2.924	2.122	0.01692
A ₅	15	0.76918	4.475	2.964	0.00152
A ₁₀	15	0.77557	4.352	2.908	0.00182
A ₁₅	15	0.79541	3.967	2.725	0.00321
A ₂₀	15	0.75775	4.697	3.060	0.00111
MCE	15	0.87467	2.430	1.756	0.03953
LI60	15	0.95200	0.931	-0.142	0.55641

ΟΜΑΔΑ C

Μεταβλητές	# δειγμάτων	W	V	z	Prob>z
CT	15	0.86741	2.571	1.867	0.03092
CFT	15	0.91271	1.693	1.041	0.14898
MCF	15	0.90011	1.937	1.307	0.09553
α-ANGLE	15	0.89762	1.985	1.356	0.08753
A ₅	15	0.89963	1.946	1.317	0.09394
A ₁₀	15	0.93966	1.170	0.310	0.37817
A ₁₅	15	0.94945	0.980	-0.040	0.51584
A ₂₀	15	0.93662	1.229	0.408	0.34182
MCE	15	0.91380	1.671	1.016	0.15485
LI60	15	0.89139	2.106	1.473	0.07038

Με κίτρινο χρώμα έχουν σημανθεί τα κελιά των οποίων οι μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή. Όπως φαίνεται από τους παραπάνω πίνακες η πλειονότητα των μεταβλητών ανά ομάδα δεν ακολουθεί την κανονική κατανομή ($p\text{-value} \geq 0.05$). Επομένως θα ακολουθήσουμε μη παραμετρικά τεστ για την σύγκριση των δειγμάτων.

ii. Περιγραφικά δεδομένα (διάμεσος, IQ – ενδοτεταρτομοριακό εύρος)

Παρακάτω αναφέρονται οι τιμές τόσο των διάμεσων (Median), όσο και των ενδοτεταρτομοριακών ευρών των παραμέτρων ROTEM ανά ομάδα. Στην ομάδα A αναφέρονται επιπλέον και οι τιμές του χρόνου προθρομβίνης, ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης και οι τιμές του ινωδογόνου, που μετρήθηκαν κατά την πρώτη αιμοληψία.

ΟΜΑΔΑ Α

	CT	CFT	MCF	α -ANGLE	A ₅	A ₁₀	A ₁₅	A ₂₀	MCE	LI60
MEDIAN	601	199	62	55	30	47	52	55	163	9
IQ	482.5-631.5	144-283	55.5-65	45-62	22-37	35.5-50	42.5-56.5	46-59.5	127-186	4.5-11

	PT	APTT	FIB
MEDIAN	0.76	45	185
IQ	0.7225-0.8475	44-47.6	161.5-199

ΟΜΑΔΑ Β

	CT	CFT	MCF	α -ANGLE	A ₅	A ₁₀	A ₁₅	A ₂₀	MCE	LI60
MEDIAN	623	201	59	56	28	41	48	52	144	11
IQ	420-636	158.5-211.5	55.5-60.5	53-60.5	26-30.5	36.5-42.5	43.5-50	49-54.5	125-153	7.5-13.5

ΟΜΑΔΑ C

	CT	CFT	MCF	α-ANGLE	A ₅	A ₁₀	A ₁₅	A ₂₀	MCE	LI60
MEDIAN	742,00	266,00	56,00	38,00	22,00	34,00	40,00	48,00	127	8,00
IQ	514-811.5	227.5-387	48.5-60	33-45	14.5-27.5	28.5-38.5	33.5-45.5	39.5-51	94-150	6.5-11

iii. Σύγκριση των διαμέσων των ομάδων με Mann-Whitney τεστ

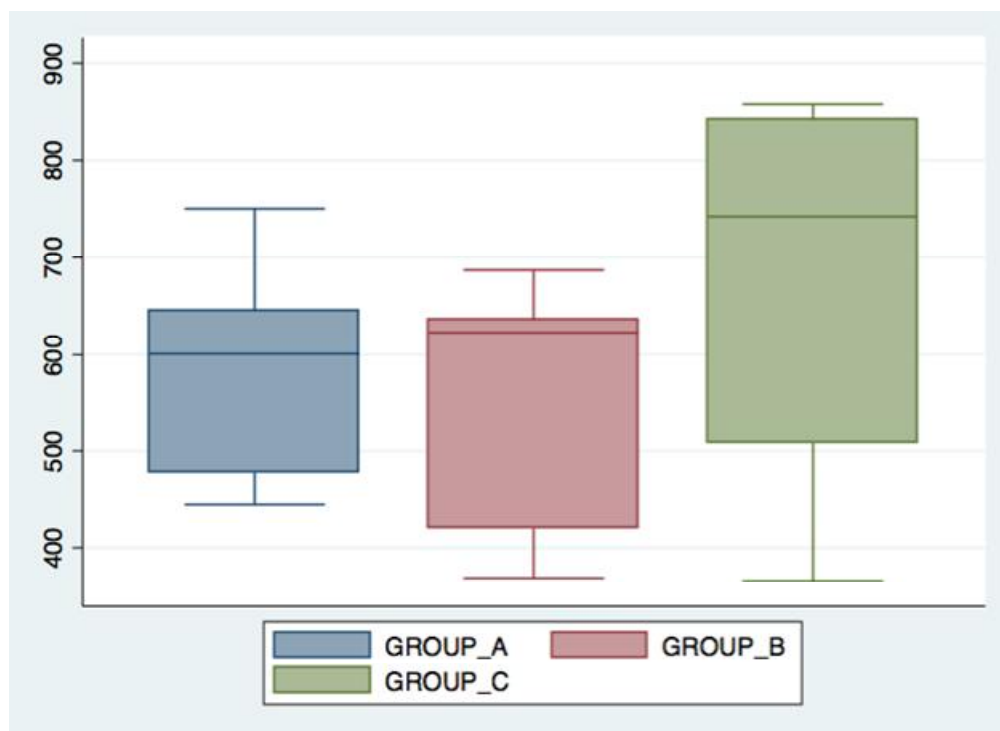
Ακολουθεί η σύγκριση των διαμέσων των τιμών των ομάδων για τις αντίστοιχες παραμέτρους ROTEM. Τα αποτελέσματα των συγκρίσεων παραθέτονται στον παρακάτω πίνακα:

	MedianA	MedianB	MedianC	p-value AB	p-value AC	p-value BC
CT	601	623	742	0.710	0.100	0.044
CFT	199	201	266	0.770	0.100	0.029
MCF	62	59	56	0.058	0.031	0.327
α-ANGLE	55	56	38	0.630	0.006	0.001
A ₅	30	28	22	0.260	0.056	0.074
A ₁₀	47	41	34	0.028	0.022	0.114
A ₁₅	52	48	40	0.051	0.022	0.064
A ₂₀	55	52	48	0.088	0.014	0.041
MCE	163	144	127	0.058	0.031	0.327
LI60	9	11	8	0.069	0.529	0.170

	Υψηλότερη τιμή		p-value {0.10-0.05}
	Υψηλή τιμή		p-value {0.05-0}

Όπως φαίνεται και από τον παραπάνω πίνακα όσον αφορά τη μεταβλητή CT (Χρόνος Πήξης) η ομάδα A και B των ζώων έχουν χαμηλότερη τιμή CT από την ομάδα C σε βαθμό στατιστικά σημαντικό (p-value=0.10 {A vs C} και =0.044 {B vs C}). Δηλαδή ο Χρόνος

Πήξης, που αφορά την αρχική δημιουργία του θρόμβου πριν και κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης είναι μικρότερος, στατιστικά σημαντικά, από τον Χρόνο Πήξης μια ώρα μετά το πέρας της επέμβασης (Διάγραμμα 1).



Διάγραμμα 1. Θηκόγραμμα των τιμών CT για κάθε ομάδα ξεχωριστά. Όπως φαίνεται η ομάδα C έχει την υψηλότερη τιμή σε σχέση με τις άλλες δύο.

Αντίστοιχα για τη μεταβλητή CFT (Χρόνος Σχηματισμού Θρόμβου) η ομάδα C εμφάνισε υψηλότερο CFT από τις ομάδες A και B, στις οποίες δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά. Δηλαδή, μια ώρα μετά το τέλος της επέμβασης, εμφανίζεται μεγαλύτερος Χρόνος Σχηματισμού Θρόμβου και συνεπώς είναι πιο αργός ο σχηματισμός του από ότι συμβαίνει πριν και κατά τη διάρκεια της επέμβασης, αλλά χωρίς αυτή η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική.

Για τις μεταβλητές α -angle και A_5 οι ομάδες A και B δεν φάνηκαν να διαφέρουν μεταξύ τους και μόνο στην ομάδα C φάνηκε στατιστικά σημαντική μείωση των δύο αυτών

μεταβλητών. Δηλαδή, μια ώρα μετά την επέμβαση, η εφαιπτομένη της κινητικής του Θρόμβου και το Πλάτος του Θρόμβου στα πέντε λεπτά, ήταν μικρότερα από ότι πριν και κατά τη διάρκεια της επέμβασης.



Διάγραμμα 2: Θηκόγραμμα των τιμών MCE (Μέγιστη Ελαστικότητα του Θρόμβου) για κάθε ομάδα ξεχωριστά. Όπως φαίνεται η ομάδα C έχει την χαμηλότερη τιμή σε σχέση με τις άλλες δύο.

Η Μέγιστη Ισχύς του Θρόμβου MCF τείνει να είναι υψηλότερη στην A ομάδα σε σχέση με την B αλλά και την C. Δηλαδή, η Μέγιστη Ισχύς του Θρόμβου ήταν μεγαλύτερη πριν την έναρξη της επέμβασης σε σύγκριση με αυτή κατά τη διάρκεια και μια ώρα μετά το πέρας της επέμβασης. Το ίδιο ισχύει και για τη Μέγιστη Ελαστικότητα του Θρόμβου MCE.

Οι μεταβλητές A_{10} , A_{15} και A_{20} , που εκφράζουν το πλάτος του θρόμβου σε χρόνους 10, 15 και 20 λεπτά, αντίστοιχα, μετά την έναρξη σχηματισμού του, εμφάνισαν παρόμοιες διαφορές όσον αφορά την ομάδα A και τις υπόλοιπες. Όπως φαίνεται από τον πίνακα οι

μεταβλητές A_{10} , A_{15} και A_{20} έχουν υψηλή τιμή στην Α ομάδα σε σχέση με τις άλλες δύο ενώ η ομάδα Β φαίνεται να είναι και αυτή υψηλότερη από την C στην A_{15} και A_{20} .

Τέλος η παράμετρος λύσης του Θρόμβου LI60 αποτελεί την μοναδική μεταβλητή όπου η ομάδα Β φαίνεται να τείνει να διαφέρει με την Α ομάδα.

iv. Ανάλυση συσχετίσεων των μεταβλητών με αιματολογικές παραμέτρους.

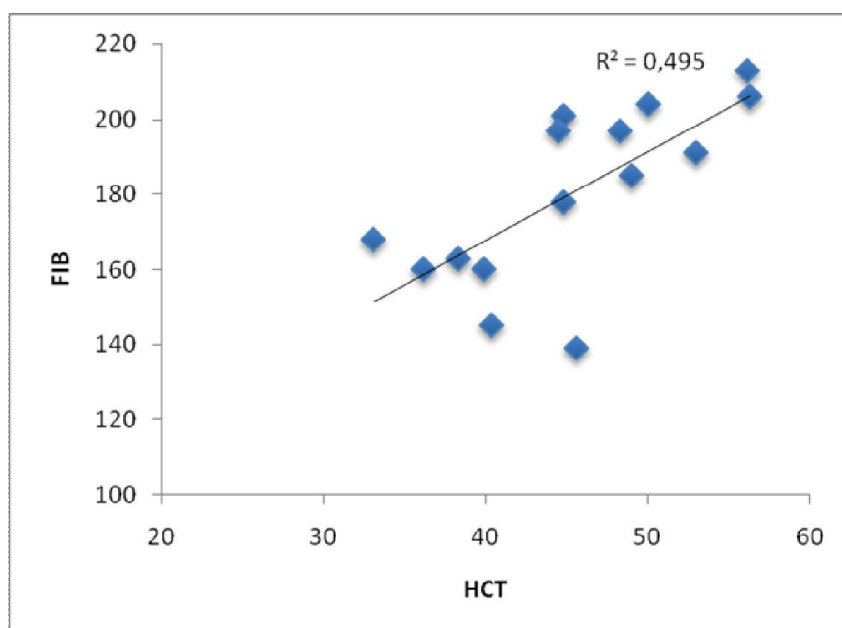
Πραγματοποιήθηκε ανάλυση συσχετίσεων μεταξύ του αιματοκρίτη (HCT), του αριθμού των αιμοπεταλίων (PLT) και του μέσου όγκου των αιμοπεταλίων (MPV) σε σχέση με τον Χρόνο Πήξης (CT), το Χρόνο Σχηματισμού του Θρόμβου (CFT), την εφαπτομένη της κινητικής του θρόμβου (α -γωνία), το πλάτος του θρόμβου (A) σε χρόνους 5, 10, 15 και 20 λεπτών αντίστοιχα, την παράμετρο λύσης (LI) στα 60 λεπτά, το χρόνο προθρομβίνης (PT) και ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) και τέλος με το Ινωδογόνο (FIB).

Όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα εντοπίστηκαν μικρές συσχετίσεις (θετικές και αρνητικές) οι οποίες λόγω του μικρού δείγματος δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

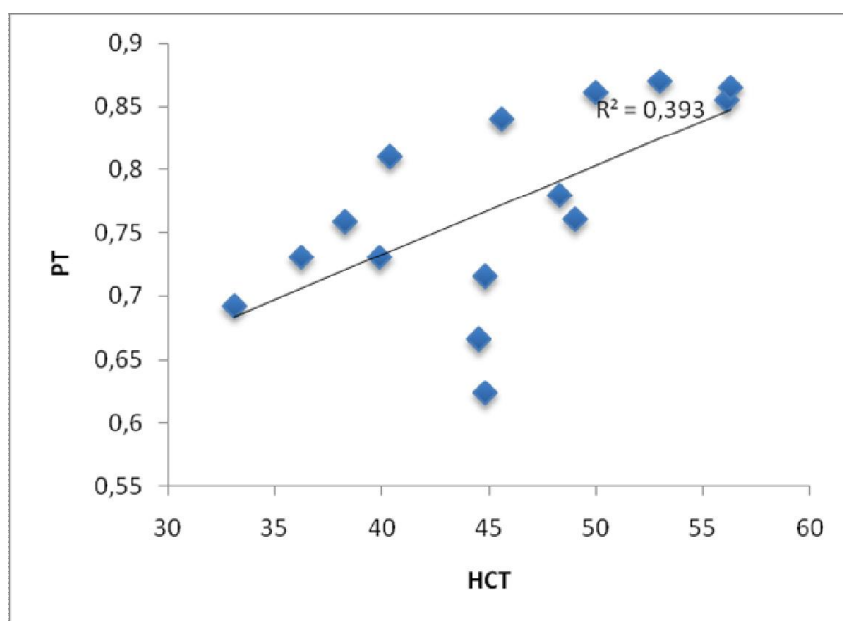
Correlation	HCT	PLT	MPV
CT	0.3130	0.0102	-0.4029
CFT	0.2784	-0.2214	0.3277
MCF	-0.3021	0.1996	-0.2088
α -ANGLE	-0.2773	0.1992	-0.1816
A ₅	-0.2391	0.1161	-0.0695
A ₁₀	-0.3020	0.2236	-0.2347
A ₁₅	-0.3101	0.2381	-0.2885
A ₂₀	-0.3016	0.2118	-0.1198
LI60	0.1352	-0.0797	0.0353
PT	0.6349	-0.3627	0.0600
APTT	-0.1636	-0.0612	-0.1051
FIB	0.7036	0.0330	-0.3061

	Correlation=[0.5-1]	$p\text{-value} \geq 0.05$
	Correlation=[0.2-0.5]	NS
	Correlation=[0.1-0.2]	NS
	Correlation=[(-0.1)-(-0.2)]	NS
	Correlation=[(-0.2)-(-0.5)]	NS

Μόνο μεταξύ του HCT και των PT, FIB παρατηρήθηκε ισχυρή θετική συσχέτιση, όπως φαίνεται και από τα παρακάτω διαγράμματα. Δηλαδή, υπήρξε ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του αιματοκρίτη, τόσο με το χρόνο προθρομβίνης, όσο και με το ινωδογόνο.



Διάγραμμα 3. Διάγραμμα διασποράς (scatter-plot) του αιματοκρίτη HCT με το ινωδογόνο FIB, όπου φαίνεται η θετική συσχέτιση των μεταβλητών.



Διάγραμμα 4. Διάγραμμα διασποράς (scatter-plot) του αιματοκρίτη HCT με το χρόνο προθρομβίνης PT, όπου φαίνεται η θετική συσχέτιση των μεταβλητών.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εργασία μας περιελάμβανε τη μελέτη της αιμοστατικής κατάστασης σε 15 υγιείς θηλυκούς σκύλους, προ, κατά και μια ώρα μετά από ωθηκυστερεκτομή. Ο σκοπός της μελέτης μας είναι η ανάδειξη φυσιολογικού εύρους τιμών Θρομβοελαστομετρίας περιεγχειρητικά με σκοπό να εφαρμοστεί η μέθοδος στην κτηνιατρική ως διαγνωστικό εργαλείο αξιολόγησης του κινδύνου αιμορραγίας ή θρόμβωσης καθώς και η διερεύνηση της ανταπόκρισης των σκύλων στη χειρουργική επέμβαση και αναισθησία.

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία στην κτηνιατρική οι αναλυτές TEG και ROTEM έχουν χρησιμοποιηθεί ερευνητικά σε σκυλιά, άλογα και γάτες³. Υπάρχουν σποραδικές αναφορές εκτίμησης της πηκτικότητας σε βοοειδή, χοίρους, πρόβατα, ινδικά χοιρίδια, αρουραίους και διάφορα είδη ψαριών με χρήση TEG, αλλά τα στοιχεία τους δεν αποτελούν ευρέως αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές για άμεση κλινική χρήση των ευρημάτων της μεθόδου TEG για τα είδη αυτά.² Υπάρχει μόνο μια μελέτη που εξετάζει τις διαφορές του αιμοστατικού προφίλ μεταξύ των ειδών, με τη χρήση ROTEM, χρησιμοποιώντας αίμα από πέντε διαφορετικά είδη: ανθρώπου, αρουραίων, χοίρων, προβάτων και κόνικλων. Από αυτή προκύπτει ότι στο χοίρο υπάρχουν στοιχεία που επιτρέπουν τη χρήση της μεθόδου πειραματικά για τη μελέτη της ινωδόλυσης, ενώ για τον κόνικλο ενθαρρυντικά είναι τα στοιχεία που προκύπτουν για τη μελέτη των αιμοπεταλίων^{14,46}.

Στον άνθρωπο περίπου το 55% των περιγχειρητικών επιπλοκών σχετίζονται με αιμορραγικά ή θρομβωτικά επεισόδια. Η μετεγχειρητική θρομβοεμβολή είναι συχνότερη από την αιμορραγία και αυτό πιθανά σχετίζεται με μια παροδική υπερπηκτική κατάσταση κατά την μετεγχειρητική περίοδο⁴⁸. Αντίθετα στο σκύλο, οι περιγχειρητικές επιπλοκές περιορίζονται στις αιμορραγίες, που κυρίως είναι διεγχειρητικές ή αφορούν αυτοτραυματισμό στην χειρουργική τομή. Σε διάφορες φυλές σκύλων, η συχνότητα περιεγχειρητικής αιμορραγίας μετά από ωθηκυστερεκτομή (ΩΥΕ) κυμαίνεται από 0 έως 2 τοις εκατό.²⁷ Εξαιρέση αποτελούν σκύλοι της φυλής Greyhound που εμφανίζουν τελείως διαφορετικές θρομβοελαστογραφικές τιμές αναφοράς και μειωμένη πηκτικότητα που πιθανότατα να οφείλεται στις ιδιοστασιακές διαφορές στην αιμόσταση που παρουσιάζει η φυλή αυτή. Στην παρούσα μελέτη, δεν περιλαμβάνεται αυτή η φυλή σκύλων.

Μια πρόσφατη μελέτη απέδειξε ότι υπάρχει σημαντική αιμοστατική και ινωδολυτική ενεργοποίηση μετά από ωθηκυστερεκτομή σκύλων, που συνοδεύεται από

μια αξιόλογη αύξηση της σφαιρικής αντοχής του θρόμβου καθώς και από μια συνολικά υπερπηκτική κατάσταση, τέσσερις ώρες μετά το χειρουργείο. Παράλληλα παρατηρήθηκε μία μείωση στα επίπεδα του αντιγόνου του vWF και της δραστικότητας του παράγοντα VIII. Σε ότι αφορά τον κλασσικό έλεγχο της αιμόστασης, γενικά, παρατηρείται μία μείωση των χρόνων INR (PT) και aPTT. Επίσης παρατηρήθηκε περιεγχειρητική ενεργοποίηση του ινωδολυτικού συστήματος που συνοδεύονταν από μετεγχειρητική αύξηση των συγκεντρώσεων D-διμερών, του πλασμινογόνου και του αναστολέα της πλασμίνης.²⁸ Στη δική μας μελέτη δε διαπιστώθηκαν μεγάλες διαφορές στην αιμοστατική κατάσταση, αλλά πρέπει να αναφέρουμε κάποιες διαφορές στη χειρουργική τεχνική που πιθανά να οδηγούν σε μικρότερη ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης. Εμείς χρησιμοποιήσαμε την τεχνική με τις δύο αιμοστατικές λαβίδες για απολίνωση, σε αντίθεση με τη χρήση τριών λαβίδων της μελέτης. Η σύνθλιψη των αιμοφόρων αγγείων των ωοθηκών και του τραχήλου της μήτρας με την αιμοστατική λαβίδα, πριν την τοποθέτηση ράμματος, πιθανά να προκαλεί μεγαλύτερο τραυματισμό τους και σημαντικότερη ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης. Επίσης, η αρχική τομή προσπέλασης ήταν μικρότερη, κατά τρία έως οκτώ εκατοστά, και ο συνολικός χρόνος της επέμβασης μικρότερος κατά 40 περίπου λεπτά. Πιθανότατα και οι παράγοντες αυτοί να έπαιξαν ρόλο στο ότι δεν παρατηρήθηκαν μεγάλες διαταραχές της ηκτικότητας περιεγχειρητικά.

Από τη στατιστική ανάλυση των παραμέτρων της Θρομβοελαστομετρίας για τα 15 ζώα προέκυψε ότι κανένας συνδυασμός μεταβλητών από κάθε ομάδα δεν ακολουθούσε την κανονική κατανομή ($p\text{-value} \geq 0.05$), προφανώς λόγω του μικρού δείγματος, που αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για τη συγκεκριμένη μελέτη. Εξάλλου, υπάρχει πιθανότητα η μη κανονική κατανομή να οφείλεται και στην ετερογένεια των φυλών των σκύλων που μελετήθηκαν. Σε ότι αφορά τις υπόλοιπες παραμέτρους, αρχικά ο Χρόνος Πήξης CT και ο Χρόνος Σχηματισμού του Θρόμβου CFT είναι μεγαλύτεροι μια ώρα μετά το πέρας της επέμβασης, με στατιστικά σημαντική αύξηση μόνο για τον CT. Συνεπώς απαιτείται μεγαλύτερος χρόνος για την ενεργοποίηση της αιμόστασης και για την ανάπτυξη του θρόμβου. Αυτό πιθανότατα να οφείλεται στη χορήγηση κρυσταλλοειδών ενδοφλεβίως και η κατάσταση πιθανά να επιδεινώνεται με τη μείωση θερμοκρασίας σώματος λόγω αναισθησίας. Η υποθερμία οδηγεί σε *in vivo* αλλαγές της ηκτικότητας του αίματος υγιών σκύλων οι οποίες όμως δεν μπορούν να εκτιμηθούν με τη μέθοδο TEG αφού η εξέταση πραγματοποιείται στους 37 βαθμούς Κελσίου *in vitro*. Επίσης, η ενδοφλέβια χορήγηση κρυσταλλοειδών μπορεί να οδηγήσει θρομβοελαστογραφικά σε μια παροδική υπερπηκτική

κατάσταση. Αυτή, η κατάσταση διαρκεί λίγο και επιλύεται 15 λεπτά μετά τη διακοπή της χορήγησης υγρών²⁷. Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώνεται αφού μια ώρα μετά την επέμβαση, η εφαιπτομένη της κινητικής του Θρόμβου α-γωνία και το Πλάτος του Θρόμβου A₅, στα πέντε λεπτά, ήταν μικρότερα από ότι πριν και κατά τη διάρκεια της επέμβασης. Η Μέγιστη Ισχύς του Θρόμβου MCF ήταν μεγαλύτερη πριν την έναρξη της επέμβασης σε σύγκριση με αυτή κατά τη διάρκεια και μια ώρα μετά το πέρας της επέμβασης. Αυτό πιθανά να σχετίζεται με την κατανάλωση των παραγόντων της πήξης λόγω χειρουργικού τραύματος. Σχετικά με το πλάτος του θρόμβου σε χρόνους 10, 15 και 20 λεπτά, αντίστοιχα, μετά την έναρξη σχηματισμού του, εμφανίστηκαν παρόμοιες διαφορές. Όπως φαίνεται από τον πίνακα, οι μεταβλητές A₁₀, A₁₅ και A₂₀ έχουν υψηλή τιμή στην Α ομάδα σε σχέση με τις άλλες δύο ενώ η ομάδα Β φαίνεται να είναι και αυτή υψηλότερη από την ομάδα C στην A₁₅ και A₂₀. Τέλος, η παράμετρος λύσης του Θρόμβου LI60 αποτελεί την μοναδική μεταβλητή όπου η ομάδα Β φαίνεται να τείνει να διαφέρει με την Α ομάδα, και αυτό οφείλεται στην ενεργοποίηση της ινωδολύσης περιεγχειρητικά.

Από την ανάλυση συσχετίσεων των μεταβλητών της Θρομβοελαστομετρίας με τις αιματολογικές παραμέτρους, μόνο μεταξύ του HCT και των PT, FIB παρατηρήθηκε ισχυρή θετική συσχέτιση. Παρατηρείται ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του αιματοκρίτη, τόσο με το χρόνο προθρομβίνης (INR), όσο και με το ινωδογόνο, αλλά δεν προκύπτει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τις θρομβοελαστομετρικές παραμέτρους. Αυτό είναι σύμφωνο με κάποιες μελέτες⁴⁷. Αυξημένη συγκέντρωση ινωδογόνου και μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα (ενεργοποιητής πλασμινογόνου ιστικού τύπου, tPA) είναι συχνά μετεγχειρητικά ευρήματα στον άνθρωπο. Το ινωδογόνο εκτός από κεντρικό μόριο στο μηχανισμό της αιμόστασης είναι και μια πρωτεΐνη οξείας φάσης. Η υπερινωδογοναιμία μπορεί να συσχετίζεται με τη φλεγμονή ή την καταπόνηση (stress) που προκαλούνται από τη χειρουργική επέμβαση²⁷.

Από τα παραπάνω ευρήματα προκύπτει ότι στη μελέτη μας δεν παρατηρείται σοβαρή διαταραχή του μηχανισμού της αιμόστασης περιεγχειρητικά σε υγιείς σκύλους, όπως μελετήθηκε με τη μέθοδο της Θρομβοελαστομετρίας. Αυτό όμως δεν είναι σε απόλυτη συμφωνία με τις βιβλιογραφικές αναφορές²⁸ που αφορούν υγιή σκυλιά, και που αναφέρουν ότι μετά από εκλεκτικές χειρουργικές επεμβάσεις με ελάχιστο τραύμα, υπάρχει αιμοστατική ενεργοποίηση που οδηγεί σε αύξηση της πήκτικότητας μετεγχειρητικά. Για το λόγο αυτό, απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός ζώων και περισσότερες μετρήσεις σε μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα μετά τη χειρουργική επέμβαση. Τέλος, για τη θέσπιση

φυσιολογικών ορίων προτείνεται τα δείγματα να προέρχονται από τουλάχιστον σαράντα ζώα με ομοειδή χαρακτηριστικά.

Η θρομβοελαστογραφία έχει εφαρμοστεί για πολλά χρόνια στην Κτηνιατρική, κυρίως για τη μελέτη πειραματικών μοντέλων. Κατά την τελευταία δεκαετία, όμως, αυξήθηκε σημαντικά η κλινική εφαρμογή της στα ίδια πεδία που χρησιμοποιείται και στην ιατρική. Η χρήση της μεθόδου στην καθημερινή κλινική πρακτική έχει να προσφέρει πολλά κυρίως στη σωστή καθοδήγηση σε παρεμβατικές θεραπείες όπως μεταγγίσεις και αντιθρομβωτικές αγωγές σε αντίστοιχες ομάδες ασθενών ζώων.

«ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΣΚΥΛΟΥ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑΣ (ROTEM)»

Περίληψη:

Η ωθηκυστερεκτομή στο θηλυκό σκύλο αποτελεί μια από τις συχνότερες χειρουργικές επεμβάσεις, στην κτηνιατρική κλινική πράξη.

Η Θρομβοελαστομετρία είναι μια σφαιρική δοκιμασία η οποία αναπαριστά την συνολική διαδικασία της αιμόστασης στον οργανισμό. Τα τελευταία χρόνια, χρησιμοποιείται όλο και πιο συχνά στην κτηνιατρική προκειμένου να αξιολογηθεί η αιμοστατική κατάσταση ασθενών ζώων, τόσο για την ανάλυση κινδύνου αιμορραγίας ή θρόμβωσης όσο και για την παρακολούθηση αντιπηκτικής αγωγής.

Η μελέτη μας περιελάμβανε 15 υγιείς θηλυκούς σκύλους, προ, κατά και μια ώρα μετά από ωθηκυστερεκτομή. Ο σκοπός της διπλωματικής αυτής εργασίας είναι η ανάδειξη φυσιολογικού εύρους τιμών Θρομβοελαστομετρίας περιεγχειρητικά καθώς και η διερεύνηση της αιμοστατικής ανταπόκρισης των σκύλων στη χειρουργική επέμβαση και αναισθησία.

Μελετήθηκαν δείγματα αίματος από κάθε σκύλο πριν, κατά τη διάρκεια και μια ώρα μετά την επέμβαση. Έγινε καταγραφή των αποτελεσμάτων για τον Χρόνο Πήξης (CT), τον Χρόνο Σχηματισμού Θρόμβου (CFT), την α-γωνία, το πλάτος του θρόμβου A στα 5, 10, 15 και 20 λεπτά, την παράμετρο λύσης LI60, το χρόνο θρομβίνης (PT) και ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) και τέλος για το Ινωδογόνο (FIB). Επίσης, πραγματοποιήθηκαν γενικές εξετάσεις αίματος (ΓΕΑ) και έλεγχος των λοιμωδών νοσημάτων *Ehrlichia canis* και *Leishmania infantum*.

Από τη στατιστική ανάλυση των παραμέτρων προέκυψε ότι κανένας συνδυασμός μεταβλητών από κάθε ομάδα δεν ακολουθούσε την κανονική κατανομή. Ο Χρόνος Πήξης CT και ο Χρόνος Σχηματισμού του Θρόμβου CFT είναι μεγαλύτεροι μια ώρα μετά το πέρας της επέμβασης, με στατιστικά σημαντική αύξηση μόνο για τον CT. Επίσης, υπήρξε ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του αιματοκρίτη, τόσο με το χρόνο θρομβίνης, όσο και με το ινωδογόνο.

Από τα στοιχεία της μελέτης προκύπτει ότι δεν υπάρχει σοβαρή διαταραχή του μηχανισμού της αιμόστασης περιεγχειρητικά σε υγιείς σκύλους.

**“ASSESSMENT OF CANINE BLOOD COAGULATION WITH THE METHOD OF
THROMBOELASTOMETRY (ROTEM)”**

Summary:

Ovariohysterectomy in female dogs is one of the most common surgical procedures in veterinary medicine.

Thromboelastometry is a global assay that reflects the overall coagulation status. Recently, Rotem has been validated for use in veterinary medicine and it is used more often to assess the risk of hemorrhage or thrombosis and to monitor the anticoagulant medications therapy.

Our study included 15 healthy female dogs before, during and one hour after ovariohysterectomy. The purpose of this thesis is to define the normal range of thromboelastometry values perioperatively, and to investigate the haemostatic response to surgery and anesthesia.

Results were recorded of the Clot Time, the Clot Formation Time, the Alpha angle, the Maximum Clot Firmness, the Amplitude at 5, 10, 15, and 20 minutes, the Clot Lysis Index LI60, the Prothrombine Time, the activated Partial Thromboplastin Time, and finally Fibrinogen concentration. Complete blood counts were performed and serological assays for infectious diseases (*Ehrlichia canis* and *Leishmania infantum*).

The statistical analysis of the data did not demonstrate the multivariate normal distribution. Clot Time and Clot Formation Time were higher one hour post operationally, but only for the CT there was a statistically significant elevation. Furthermore, there is a strong positive correlation between hematocrit and both prothrombine time and fibrinogen.

The data from our study revealed that there were no significant alterations in the coagulation status of healthy dogs, perioperatively.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie; einem neuen Untersuchungsverfahren [Coagulation analysis with thrombelastography, a new method]. *Klin Wochenschr.* 1948. Vol 26:577–583.
2. Kol A., Borjesson D.L. Invited Review: Application of thromboelastography/thromboelastometry to veterinary medicine. *Vet Clin Pathol.* 2010. Vol 39/4 405-416.
3. Hartert H. Die thrombelastographie. Eine methode zur physikalischen analyse des blutgerinnungsvorganges [Thrombelastography, a method for physical analysis of blood coagulation]. *Z Gesamte Exp Med.* 1951. Vol 117:189–203.
4. ROTEM Marketing Approval by FDA. Available at: http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf8/K083842.pdf. Accessed July 27, 2010.
5. McMichael MA, Smith SA. Viscoelastic coagulation testing: technology, applications, and limitations. 2011, *Vet Clin Pathol* 40/2 (2011) 140–153c
6. Bauer N., Eralp O., Moritz A. Establishment of reference intervals for kaolin-activated thromboelastography in dogs including an assessment of the effects of sex and anticoagulant use. *J Vet Diagn Invest.* 2009. Vol 21: 641-648.
7. Hoffman M, Monroe DM. A cell based model of haemostasis. *Thrombosis and Haemostasis.* 2001. Vol 85(6): 958-965
8. Hoffman M, Monroe DM. Coagulation 2006: A Modern View of Hemostasis. *Hematol Oncol Clin N Am.* 2007. Vol 21: 211-11.
9. Pittman JR, Koenig A, Brainard BM. The effect of unfractionated heparin on thrombelastographic analysis in healthy dogs. *J Vet Emerg Crit Care (SanAntonio).* 2010. Vol 20: 216–223.
10. Liebenberg CE. Thromboelastographic evaluation of haemostatic abnormalities in uncomplicated canine babesiosis. Thesis of MSc (Veterinary Medicine). University of Pretoria. 2011.
11. Wiinberg B, Jensen AL, Rozanski E. Tissue factor activated thromboelastography correlates to clinical signs of bleeding in dogs. *Vet J.* 2009. Vol 179: 121-129.
12. Wagg CR, Boysen SR, Bedard C. Thrombelastography in dogs admitted to an Intensive Care Unit. *Vet Clin Pathol.* 2009. Vol 38 :453-461.
13. Wiinberg B., Jensen A.L., Johansson P.I., Rozanski E., Tranholm M., Kristensen A.T. Thromboelastographic evaluation of hemostatic function in dogs with disseminated intravascular coagulation. *J Vet Intern Med.* 2008. Vol 22 :357-365.
14. Wiinberg B, Kristensen AT. Thromboelastography in Veterinary Medicine. *Semin Thromb Hemost.* 2010. Vol 36:747–756.
15. Τραυλού Ωρ., Γιαλεράκη Α., Μερκούρη Ε., Πολίτου Μ., Τσαντές Α. Σημειώσεις αιμόστασης. Μεταπτυχιακό ΕΚΠΑ, Ιατρική Σχολή. 2007.
16. Γεωργούλης Ι.Επ. Αιματολογία. 2010. ISBN: 960-91294-1-4
17. Mayhew PD, Savigny MR, Otto CM, Brown DC, Brooks MB, Bentley AM, Runge JJ, Callan MB. Evaluation of coagulation in dogs with partial or complete extrahepatic biliary tract obstruction by means of thromboelastography. *J Am Vet Med Assoc.* 2013. Vol 242(6): 778-785.
18. Falco S., Zanatta R., Bruno B., Maurella C., Scalone A., Tarducci A., Borrelli A. Thromboelastometry used for evaluation of blood coagulability in dogs with kidney disease. *ACTA Vet BRNO.* 2013. Vol 82: 209-214.

19. Goggs R., Wiinberg B., Kjølgaard-Hansen M., Chan D.L. Serial assessment of the coagulation status of dogs with immune-mediated haemolytic anaemia using thromboelastography. *The Veterinary Journal*. 2012. Vol 191: 347–353
20. Jandrey K., Brainard B. Thromboelastography. In: Bonagura JD., Twedt DC. *Kirk's Current Veterinary Therapy XV*. 2014. (15):74-77.
21. Fitzridge R., Matthews T.. *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*. 2011. Barr Smith Press.
22. Taggart R., Austin B., Hans E., Hogan D. In vitro evaluation of the effect of hypothermia on coagulation in dogs via thromboelastography. *J Vet Emerg Crit Care*. 22/2(2012) 219-224.
23. Chan D.L. Hemostasis and Disseminated Intravascular Coagulation. In: Bojrab M.J., Monnet E., *Mechanisms of Disease In Small Animal Surgery*, 3rd ed., TetonNewMedia, 2010, pp 15-16.
24. Τραυλού Ωρ., Γρουζή Ελ. Μηχανισμός Αιμόστασης. *Καρδιολογία (Τόμος 1) Κρεμαστινός Δ. Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης*, 2008.
25. Seymour C., Duke-Novakovski T. *Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia*. BSAVA. Second Edition. 2007, pp 9-11.
26. Laforcade A., Goggs R., Wiinberg B. Systematic evaluation of evidence on veterinary viscoelastic testing Part3: Assay activation and test protocol. *J Vet Emerg Crit Care*. 24/1(2014) pp 37-46.
27. Saavendra P.V., Stingle N., Iazbik C., Marin L., McLoughlin M.A., Xie Y., Couto G. Thromboelastographic changes after gonadectomy in retired racing greyhounds *Vet Rec*. 2011; 169(4) pp 1-14.
28. Moldal E. R., Kristensen A. T., Peeters M. E., Nødtvedt A., Kirpensteijn J. Hemostatic response to surgical neutering ovariectomy and ovariohysterectomy in dogs. *Am J Vet Research*. 2012. Vol. 73(9) 1469-1476.
29. Bauer N., Erlep O., Moritz A. Effect of hemolysis on canine kaolin-activated thromboelastography values and ADVIA 2120 platelet activation indices. *Vet Clin Pathol* 39/2. 2010. pp 180-189.
30. Smith S.A., McMichael M.A., Gilor S., Galligan A. J., Hoh C.M. Correlation of hematocrit, platelet concentration, and plasma coagulation factors with results of thromboelastometry in canine whole blood samples. *Am J Vet Research*. 2012. Vol. 73(6) 789-798
31. Nagler M., Kathriner S., Bachmann L.M., Wuillemin W. Impact of changes in hematocrit level and platelet count on thromboelastometry parameters. *Thrombosis Research*. 2013. 131(3) pp 249-253.
32. McMichael M.A., Smith S.A., Galligan A., Swanson K.S. In vitro hypercoagulability on whole blood thromboelastometry associated with in vivo reduction of circulating red cell mass in dogs. *Vet Clin Path*. 2014. 43(2) pp 154-163.
33. Bischof D., Dalbert S., Zollinger A., Gantner M.T., Hofer C.K. Thromboelastography in the surgical patient. *Minerva Anesthesiol* 2010. Vol 76(2) pp 131-7.
34. Jandrey K.E. Assessment of platelet function. *J Vet Emerg Crit Care*. 2012. Vol 22(1) pp 81-98.
35. Wiinberg B., Jensen A.L., Johansson P.I., Rozanski E., Tranholm M., Kristensen A.T. Thromboelastographic evaluation of haemostatic function in dogs with disseminated intravascular coagulation. *J Vet Intern Med*. 2008. Vol 22 pp357-365.
36. Koeningshof A. The effect of sample collection method on thromboelastography in dogs. A Thesis submitted to Michigan State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of MSc (Small Animal Clinical Sciences). 2011.

37. Boudreaux MK. Acquired platelet dysfunction. In: Douglas JW, Wardrop KJ, eds. Schalm`s Veterinary Hematology. 6th ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell. 2010:626-633
38. Brooks MB, Catalfamo JL, Brown A, Ivanova P, Lovaglio J. A hereditary bleeding disorder of dogs caused by a lack of platelet procoagulant activity. *Blood*. 2002. Vol 99(7): 2434-2440.
39. Brooks MB, Randolph J, Warner K, Center S. Evaluation of platelet function screening tests to detect platelet procoagulant deficiency in dogs with Scott syndrome. *Vet Clin Pathol*. 2009. Vol.38: 306-315.
40. Day M.J., Kohn B. BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Trasfusion Medicine. 2nd Edition. 2012.
41. Mann F.A., Constantinescu G.M., Yoon H.Y. Fundamentals of Small Animal Surgery. Blackwell Publishing. 2011.
42. Kazakos G.M., Papazoglou L.G., Rallis T., Tsimopoulos G., Adamama-Moraitou K., Tea A. Effects of meloxicam on the haemostatic profile of dogs undergoing orthopaedic surgery. *The Veterinary Record*. 2005. Vol 157: 444-446.
43. Spangler E. Thrombelastography for Evaluation of Coagulation Status: A Description of the Method and Discussion of Case Examples. 62nd Annual Meeeting of the American College of Veterinary Pathologists and 46th Annual Meeting of the American Society for Veterinary Clinical Pathology. 2011.
- 44 Mischke R. Laboratory evaluation and interpretation of hemostasis in small animals. *J HELLENIC VET MED* 2014. Vol 65(3):165-180.
- 45 Smith SA, McMichael M, Galligan A, Gilor S, Hoh CM. Clot formation in canine whole blood as measured by rotational thromboelastometry is influenced by sample handling and coagulation activator. *Blood Coag Fibrinolysis*. 2010. Vol (7):692-702.
- 46 Siller-Matula J.M., Plasenzotti R., Spiel A., Quehenberger P., Jilma B. Interspecies differences in coagulation profile. *Thromb Haemost*. 2008. Vol 100(3):397-404.
- 47 Liebenberg C., Goddard A., Wiinberg M., Kjelgaard-Hansen M., van der Merwe L.L., Thompson P.N., Matjilla P.T., Shoeman J.P. Hemostatic Abnormalities in uncomplicated Babesiosis (*Babesia rossi*) in dogs. *J Vet Intern Med*. 2012.
- 48 Innerhofer P. Perioperative management of coagulation. *Hamostaseologie*. 2007.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Συνοπτικά τα στοιχεία των ζώων από την κλινική και αιματολογική εξέταση.

α/α	ΦΥΛΗ	ΗΛΙΚΙΑ	Σ.Β.	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ	Κ. Π.	ΑΝΑΠΝΟΕΣ	Χ.Ε.Τ.	ΗΣΤ	PLTS (x10 ³ /μl)
1	Cocker sp	5	13	38,4	80	30	<2	33,1	661
2	Epagneul br	1,5	16	39	90	20	<2	39,9	782
3	Rottweiler	6	35	38	120	panting	<2	44,5	412
4	Ημίαιμο	1,5	26	38,2	100	30	<2	53	395
5	Cocker sp	1,5	13	39	90	30	<2	49	287
6	Ημίαιμο	1	15,8	38,7	80	30	<2	40,4	425
7	Beagle	3	16	38,6	80	30	<2	44,8	294
8	Ημίαιμο	4	21,4	39,1	100	30	<2	48,3	378
9	Husky	5	39	39	90	30	<2	45,6	278
10	Chow-chow	1	24	39,2	120	panting	<2	44,8	635
11	Dobermann	4	30	38,8	80	20	<2	56,1	410
12	Weimaraner	2	32	38,6	85	20	<2	36,2	180
13	Visla	8	23,4	38,2	90	30	<2	56,3	398
14	Ημίαιμο	7,5	22	38,4	100	panting	<2	38,3	469
15	Cane Corso	1	32	38,9	80	30	<2	50	429
M.O.		3,466	23,9	38,69	92,33	27,5		45,35	428,86

Panting: Ταχύπνοια άνευ κλινικής σημασίας

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των γενικών εξετάσεων αίματος των 15 σκύλων.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Τιμές Αναφοράς
HCT	33,1	39,9	44,5	53	49	40,4	44,8	48,3	45,6	44,8	56,1	36,2	56,3	38,3	50	37,0-55,0%
RBC	5,13	5,92	6,92	8,82	7,17	6,34	7,03	7,14	6,5	6,45	9	5,5	8,37	5,5	7,13	5,50-8,5x10 ⁶ /μL
HGB	10,6	13,5	14,5	17,8	16,4	13,3	14,5	15,6	14,4	13,9	18,9	12	18,6	12,2	16,8	12,00-18,00 g/dL
MCV	65	67	64	60	68	64	64	68	70	69	62	66	67	70	70	60-77 fl
MCH	20,7	22,8	20,9	20,2	22,9	21	20,6	21,9	22,2	21,6	2,9	21,7	22,3	22,2	23,6	18,5-30,0 pg
MCHC	32	33,9	32,5	33,5	33,5	32,9	32,4	32,4	31,7	31	33,6	33	33,1	31,8	33,6	30,0-37,5 g/dL
WBC	11	15,5	13,9	7,8	10,6	11,9	16,8	12,6	12,4	18,1	10,6	12,6	10,1	8,5	9	5,5-16,9 x10 ³ /μL
NE	8,23	12,1	10,7	5,82	7,28	10,3	10,3	10,4	10,1	13,8	7,26	9,3	7,05	6,33	6,27	2,0-12,00 x10 ³ /μL
LY	2,08	2,57	6,69	1,54	2,9	1,35	5,75	1,66	2	3,91	2,66	2,96	2,55	1,84	2,41	0,50-4,90 x10 ³ /μL
MO	0,63	0,65	0,36	0,37	0,31	0,2	0,47	0,35	0,21	0,69	0,54	0,32	0,45	0,22	0,2	0,3-2,00 x10 ³ /μL
EO	0,06	0,14	0,17	0,05	0,08	0,1	0,27	0,16	0,15	0,28	0,1	0,06	0,07	0,12	0,08	0,10-1,49 x10 ³ /μL
BA	0,01	0,02	0	0	0,01	0	0	0	0	0	0,01	0	0	0,01	0	0,00-0,10 x10 ³ /μL
PLT	661	782	412	395	287	425	294	378	278	635	410	180	398	469	429	175-500 x10 ³ /μL
MPV	8,6	10,4	9,5	8,6	10,9	9,5	8,4	11,5	11,5	8,3	8,2	7,6	9,3	9	7,4	7,6-10,8 fl

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Συνολική παράθεση μετρήσεων θρομβοελαστομετρίας και ελέγχου πήκτικότητας των 15 σκύλων.

SAMPLE	CT	CFT	MCF	α angle	A ₅	A ₁₀	A ₁₅	A ₂₀	LI60	PT	APTT	FIB
	ΧΡΟΝΟΣ ΠΗΞΗΣ SEC	ΧΡΟΝΟΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΘΡΟΜΒΟΥ SEC	ΜΕΓΙΣΤΗ ΑΝΤΟΧΗ ΘΡΟΜΒΟΥ MM	α -ΓΩΝΙΑ ΜΟΙΡΕΣ					ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ ΛΥΣΗΣ ΣΤΑ 60 ΛΕΠΤΑ %	ΧΡΟΝΟΣ ΠΡΟΘΡΟΜΒΙΝΗΣ INR	ΧΡΟΝΟΣ ΜΕΡΙΚΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΛΑΣΤΙΝΗΣ 8,6-12,9 SEC	ΙΝΩΔΟΓΟΝΟ 150-300mg/dL
DOG1A	646	236	65	53	28	49	56	59	5	0,692	46,2	168
DOG1B	677	186	61	56	30	41	51	55	4			
DOG1C	680	227	64	53	28	47	53	57	7			
DOG2A	452	199	61	55	30	45	50	54	12	0,730	43,3	160
DOG2B	420	106	60	69	35	45	51	55	14			
DOG2C	398	145	60	33	32	38	40	48	11			
DOG3A	603	123	65	66	39	52	58	61	3	0,666	44	197
DOG3B	636	208	61	55	27	43	50	54	5			
DOG3C	782	275	56	46	22	38	46	49	5			
DOG4A	547	169	67	61	37	53	59	62	7	0,870	46	191
DOG4B	654	204	63	56	28	37	42	50	8			
DOG4C	508	385	62	40	14	34	47	54	5			
DOG5A	487	563	45	26	7	21	24	38	12	0,760	42	185
DOG5B	533	604	49	27	6	19	32	38	12			
DOG5C	857	444	48	32	13	25	31	36	11			

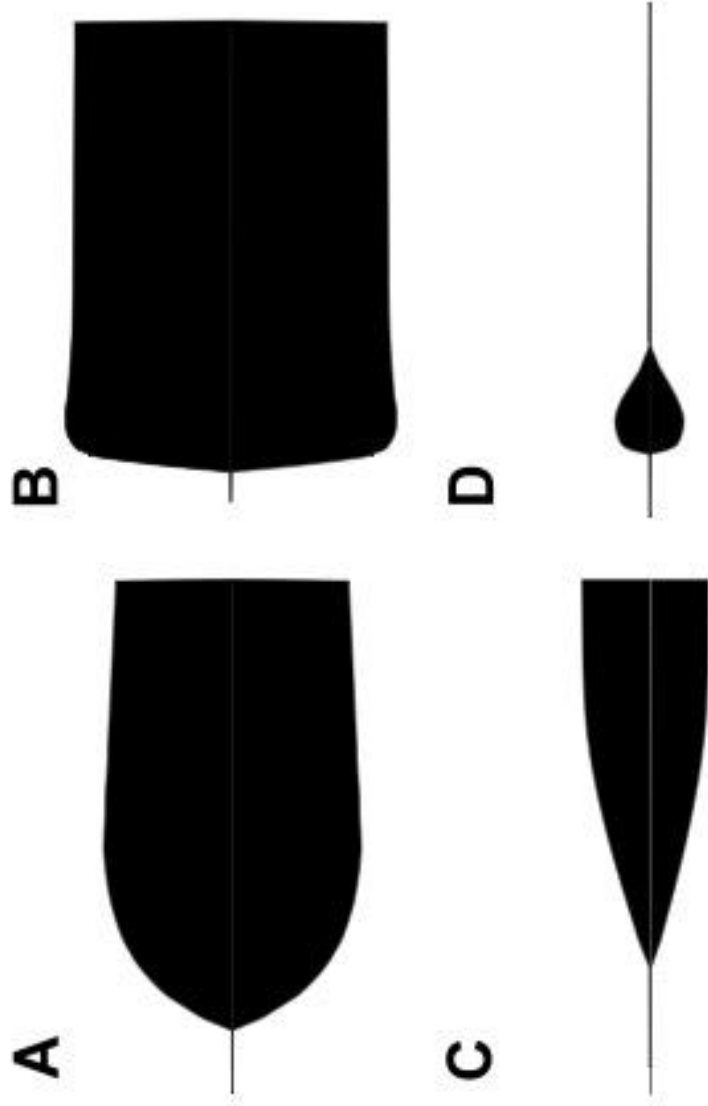
ΠΙΝΑΚΑΣ 3: (Συνέχεια)

SAMPLE	CT	CFT	MCF	α angle	A ₅	A ₁₀	A ₁₅	A ₂₀	LI60	PT	APTT	FIB
DOG6A	612	121	65	66	44	49	52	59	3	0,810	49	145
DOG6B	623	218	53	53	26	38	45	49	14			
DOG6C	856	266	46	49	21	31	37	41	11			
DOG7A	654	245	62	51	27	47	55	55	5	0,715	47,2	178
DOG7B	687	198	59	53	29	39	49	53	5			
DOG7C	697	228	61	51	27	45	51	54	6			
DOG8A	478	569	44	28	8	22	26	39	11	0,780	44	197
DOG8B	541	599	45	29	7	21	31	37	13			
DOG8C	847	435	47	33	14	27	30	36	10			
DOG9A	617	122	66	63	45	48	53	58	4	0,840	50	139
DOG9B	629	215	59	53	27	36	44	49	13			
DOG9C	841	254	48	44	22	30	31	41	11			
DOG10A	601	121	64	64	37	51	57	60	4	0,624	45	201
DOG10B	625	204	59	53	26	42	49	53	7			
DOG10C	777	254	55	44	23	39	45	47	8			
DOG11A	750	339	51	39	17	28	35	40	10	0,855	44	213
DOG11B	418	161	60	61	31	42	48	52	9			
DOG11C	752	391	51	35	15	26	34	38	7			

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: (Συνέχεια)

SAMPLE	CT	CFT	MCF	α angle	A ₅	A ₁₀	A ₁₅	A ₂₀	LI60	PT	APTT	FIB
DOG12A	452	199	61	55	30	45	50	54	12	0,730	43,3	160
DOG12B	420	106	60	69	35	45	51	55	14			
DOG12C	398	145	60	33	32	38	40	48	11			
DOG13A	544	165	66	61	36	52	57	61	9	0,865	44	206
DOG13B	636	201	61	59	25	36	43	49	11			
DOG13C	520	381	59	38	13	31	45	53	6			
DOG14A	444	186	60	54	29	42	51	52	11	0,758	48	163
DOG14B	416	101	56	68	34	44	50	56	14			
DOG14C	366	139	59	31	33	39	42	49	13			
DOG15A	712	321	50	38	16	29	34	39	10	0,861	49	204
DOG15B	369	156	55	60	30	41	45	50	9			
DOG15C	742	389	49	34	17	27	33	34	7			

ΣΧΗΜΑ 1: Σχηματική απεικόνιση των γραφημάτων των TEG/ROTEM σε τέσσερις διαφορετικές καταστάσεις πήκτικότητας: **(A)** Φυσιολογικό, **(B)** Υπερπηκτικότητα, **(C)** Υποπηκτικότητα, **(D)** Πρωτογενής Υπερινωδύλυση.⁴⁴



ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Συνοπτική παράθεση αποτελεσμάτων εξετάσεων πληκτικότητας ρουτίνας και συνιστώμενες περαιτέρω εξετάσεις για επιβεβαίωση της διαφορικής διάγνωσης.⁴⁴

Αριθμός PLTs	↓-↓ ↓ ↓ ↓ ↓	→	→/↓	↓ ↓	→	→/↓
BT	→/↑-↑↑	↑-↑↑↑	→	→	→	→
PT	→	→	↑↑↑	↑↑	↑	→/↑
APTT	→	→	↑↑	↑↑↑	↑	↑-↑↑
Χρόνος Θρομβίνης	→/↓	→	↓/→	↑↑	→/↓	→/↓
ΔΙΑΓΝΩΣΗ/ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ	ΘΡΟΜΒΟΚΥΤΤΟΠΕΝΙΑ	-vWD -Δυσλειτουργία PLTs	Τοξίκωση από τρωκτικοκτόνο αντιπηκτικό	ΔΕΠ (τελικό στάδιο)/ Υπερινωδύλωση	-ΔΕΠ -Ηπατοπάθεια -Εξαρτώμενη της Βιταμίνης Κ	-Αιμοφιλία -Ανεπάρκειες παραγόντων επαφής -ΔΕΠ, κα
ΠΡΟΤΙΝΟΜΕΝΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗΣ	-	-vWF -Κολλαγόνο Λειτουργικές δοκιμές PLTs	Έλεγχος θεραπευτικού αποτελέσματος μετά από βιτ. Κ ₁	-	-Παράγοντες πήξης μεμονωμένα (Δείκτες ενεργοποίησης)	Παράγοντες πήξης μεμονωμένα

PLTs: Αιμοπετάλια, **BT:** Χρόνος Ροής, **PT:** Χρόνος Θρομβίνης, **APTT:** Χρόνος Ενεργοποιημένης Μερικής Θρομβοπλαστικής

↑: Αύξηση

↓: Μείωση

→: Φυσιολογικό

↓: Αντιδραστική μείωση

/: Εναλλακτικό εύρημα

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: Συνοπτική παράθεση τιμών θερμοελαστογραφίας σε διάφορα επιλεγμένα και υγιή είδη ζώων¹⁴.

	R (min)	K (min)	α Angle (degrees)	MA (mm)
Canine				
Native ¹⁶ (n = 15)	1.7–8.2	1.3–4.5	46.3–71.4	43.5–61.0
Kaolin ¹⁵ (n = 56) [†]	1.8–8.6	1.3–5.7	36.9–74.6	42.9–67.9
TF ¹⁷ (n = 18)*	2.8–8.7	2.3–7.7	27.5–58.7	39.0–59.0
Feline				
Native ⁵² (n = 25)*	1.5–4.4	1.0–2.8	59.2–79.8	46.0–69.2
Kaolin ⁵ (n = 15)*	2.4–9.5	1.2–3.9	45.5–73.5	46.8–66.1
TF ⁵ (n = 15)*	3.2–12.5	1.9–5.8	34.1–64.3	40.3–62.8
Rat				
Native ⁴⁶ (n = 6) [†]	1.37–5.49	NA	NA	69.7–78.5
Kaolin ⁶² (n = 3) [†]	1.0–3.4	0.3–1.1	77.8–86.2	NA
TF	NA	NA	NA	NA
Mouse				
Native ⁶³ (n = 7) [†]	4.8–7.2	1.3–1.7	ND	64.4–69.2
Kaolin ⁶² (n = 3) [†]	0.9–2.1	0.6–1.0	80.2–84.2	NA
TF	NA	NA	NA	NA
Rabbit				
Native ²⁹ (n = 6) [†]	3.0–25.0	0.8–4.2	40.1–80.1	44.0–82.4
Kaolin ⁶² (n = 3) [†]	3.7–4.6	1.2–1.6	65.5–75.1	NA
TF	NA	NA	NA	NA
Equine				
Native ¹⁸ (n = 26) [†]	11.0–23.0	3.2–8.4	14–70	48.9–71.7
Kaolin	ND	ND	ND	NA
TF ¹⁸ (n = 26) [†]	3.8–9.4	1.1–5.1	32.9–68.9	52.1–72.4
Pig				
Native ⁶⁴ (n = 18) [†]	2.5–6.5	0.8–1.6	69.1–81.1	65.6–74.0
Kaolin ⁶² (n = 3) [†]	2.2–3.0	0.8–0.8	64.8–81.6	NA
TF	NA	NA	NA	NA

* Range.

[†] Mean \pm 2 standard deviations.

[‡] Mean \pm 2 standard errors.

[§] Previously unpublished data from author.

R, reaction time; K, clotting rate; α , angle, rate of clot formation; MA, maximum amplitude; TF, tissue factor; NA, not available; ND, no data.