

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

**КАТЕДРА ПО КЛИНИЧНА ЛАБОРАТОРИЯ И КЛИНИЧНА
ИМУНОЛОГИЯ**

**РОТАЦИОННА ТРОМБЕЛАСТОМЕТРИЯ -
ПРИЛОЖИМОСТ ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪС СЪРДЕЧНО-
СЪДОВИ ЗАБОЛЯВАНИЯ И СЛЕД СЪРДЕЧНИ ОПЕРАЦИИ ПОД
ЕКСТРАКОРПОРАЛНО КРЪВООБРАЩЕНИЕ**

Д-р Антоанета Иванова Димитрова-Карамфилова

АВТОРЕФЕРАТ

**НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА НАУЧНА И
ОБРАЗОВАТЕЛНА СТЕПЕН “ДОКТОР”**

Професионално направление – Медицина
Област на висше образование – Здравеопазване и спорт
Научна специалност – Клинична лаборатория

Научен ръководител:

Проф. д-р Иванка Паскалева д. м.

Научно жури:

Проф. д-р Камен Цачев д. м. н.

Проф. д-р Добрин Свиначков д. м. н.

Проф. д-р Тодорка Цветкова д. м. н.

Проф. д-р Марин Пенев д. м. н.

Проф. д-р Иванка Паскалева д. м.

София - 2013

Дисертационният труд съдържа 158 страници и 18 приложения, онагледена е с 71 фигури и 35 таблици. Цитираната литература включва 110 заглавия, от които 5 на кирилица и 105 на латиница.

Проучването е осъществено в СБАЛССЗ „Света Екатерина”, изпълнителен директор: Проф. Генчо Начев д.м.н.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от катедрен съвет на катедрата по Клинична лаборатория и Клинична имунология при Медицински университет – София.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 05.06.2013 г. от 14 часа в Катедра по Клинична лаборатория и Клинична имунология на открито заседание на научното жури.

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на МУ – София.

СЪДЪРЖАНИЕ

Въведение	5
Цел и задачи	7
Материали и методи	8
Материали.....	8
Методи.....	10
Резултати и Обсъждане	14
Сравнителен анализ на резултатите от параметрите на ROTEM® и конвенционалните хемостазни тестове.....	14
Корелационен анализ на общите хемостазни тестове с показателите на ротационната тромбеластометрия.....	17
Сравнителен анализ на резултатите при проследените пациенти преди и след хемотрансфузионна терапия.....	19
Определяне диагностичната надеждност на показателите на ROTEM® и конвенционалните хемостазни тестове.....	23
Диференциално–диагностичен алгоритъм на хемостазните нарушения и терапевтичен подход при пациенти следсърдечни операции под ЕКК	37
Изводи	43
Приноси	45
Публикации свързани с научния труд.....	46

СПИСЪК НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ СЪКРАЩЕНИЯ

АДФ – аденозин дифосфат
БТЕ – белодробен тромбемболизъм
ВТ- венозен тромбемболизъм
ДВТ – дълбока венозна тромбоза
ДИК – дисеминирана интраваскуларна коагулопатия
ЕКК- екстракорпорално кръвообращение.
ФДП – фибрин деградационни продукти
АСТ (Activated Cloting Time) - активирано време на съсирване
APrC - резистентност към активирания протеин С
АРТТ - активирано парциално тромбoplastиново време.
АТ III - антитромбин III
AUC (Area under the curve) – площ под кривата
СТ (Clotting Time) - време на съсирване
CFT (Clotting Formation Time) - време за образуване на съсирека
Ca²⁺ - йонизиран калций
НС II - хепарин кофактор II
INR (International ratio) – международно нормализирано отношение
LMWH – ниско молекулен хепарин
MCF (Maximum Clot Firmness) - максимална здравина на съсирека
ML (Maximum Lysis) - максимална лиза на съсирека
t-PA - тъканен плазминогенов активатор
РАI-1- инхибитор на плазминогеновия активатор тип 1
РАI-2- инхибитор на плазминогеновия активатор тип 2
РАI-3- инхибитор на плазминогеновия активатор тип 3
PT - протромбиново време.
Pr C - протеин С
Pr S - протеин S
R (Ratio) – отношение
rVIIa – рекомбинантен активиран фактор VII
SIRS – системен възпалителен отговор на организма
TFPI - инхибитор на пътя на тъканния фактор
ТАТ – тромбин-антитромбин комплекс
ТPI (Thrombodynamic potential index) - индекс на тромбодинамичния потенциал
ТТ - тромбиново време
UFH – стандартен нефракциониран хепарин
vWF – фактор на фон Вилебранд

ВЪВЕДЕНИЕ

В патогенезата на сърдечно-съдовите заболявания, както и при сърдечни операции важна роля имат нарушенията на хемостазата.

Сърдечната хирургия е свързана с висок риск както от тромботични усложнения, така и от масивно кървене. Това се дължи от една страна на самата хирургична интервенция, а от друга и на развиващата се коагулопатия, произтичаща от особеностите на екстракорпоралното кръвообращение (ЕКК), които са следствие от: хемодилуция, хипотермия, травматично увреждане на кръвта, непулсативна перфузионна техника, без фази в налягането. В ранния следоперативен период обсъждането на диференциалната диагноза на кървенето и терапевтичният подход за коригирането му, се основава на степента на кървене от торакалните дренажи и стойностите на конвенционалните хемостазни тестове (протромбиново време - РТ, активирано парциално тромбoplastиново време - АРТТ, концентрация на фибриногена, брой тромбоцити). Лечението на пациентите се насочва към възтановяване на хемостазата с биопродукти и фармакологични средства, при което състоянието на хипосъсирваемост може да премине в нормо- или хиперсъсирваемост. Хемотрансфузионната терапия е предимно емперична, без ясно очертан алгоритъм, често масивна. Това води до риск от развитието на редица нежелани посттрансфузионни реакции и усложнения, които удължават хоспитализацията, повишават смъртността и честотата на сърдечно-съдовите събития в постоперативния период. Това поставя големи изисквания към диагностиката, проследяването на хемостазните нарушения, антитромбозната и хемотрансфузионна терапия.

Хемостазата е сложна, динамична, саморегулираща се система, която обхваща поредица от физиологични процеси и механизми в определена последователност. Стабилността на тромба *in vivo* е функционален параметър, зависещ от интегралните процеси на компонентите на хемостазата. Затова и методите, с които се измерва хемостазата е необходимо да бъдат насочени към оценка на тези интегрални процеси.

Конвенционалните хемостазни тестове са широко използвани за диагностика и проследяване на нарушенията на хемостазата. РТ и АРТТ са лесен и достъпен метод за контрол на антикоагулантната терапия по отношение на нейната безопасност и ефективност. Чрез тях обаче може да се оцени само част от системата на кръвосъсирване. Тестове като РТ, АРТТ и концентрация на фибриногена се извършват на 37⁰ С в плазма, бедна на тромбоцити и клетъчни елементи, като не се отчита ефекта на кръвните клетки и хипотермията върху хемостазата. Посочените тестове са нечувствителни към дефицит на фактор XIII, фибринолиза и полимеризация на фибрин.

Ротационната тромбеластометрия с анализатора ROTEM® е метод, с който се проследява непрекъснато образуването и нарастването на съсирека в пълна кръв. По този начин интегралните процеси на хемостазата могат да се оценят по - детайлно по отношение на фибринолиза, дефицит на фактори, действие на антикоагуланти, фибриноген/фибрин и неговата полимеризация, обуславяща качеството и стабилността на съсирека. Полимеризацията зависи не само от качеството и количеството на молекулата на фибриногена, но и от действието на ф.ХІІа, фибрин/тромбоцитните взаимодействия и образуването на тромбин. Измерването протича по-бързо под влияние на различни активатори и инхибитори, в рамките на 10-20 min. Това извежда приложимостта на метода при диференциалната диагноза на нарушенията на хемостазата при пациенти особено в хирургичната практика с оглед бързина и адекватен терапевтичен подход.

От значение за практиката е проучването на диагностичната надеждност на показателите на ротационната тромбеластометрия при пациенти след сърдечни операции под ЕКК при кървене в ранния следоперативен период. Няма ясно очертан диагностично-лабораторен подход за разграничаване на нарушенията на хемостазата. Не са определени прагови стойности, диагностична чувствителност и специфичност на общите хемостазни показатели и параметрите на ротационната тромбеластограма, за необходимост от прилагане на биопродукти и фармакологични средства за овладяване на кървенето в ранния следоперативен период.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел

Да се проучи приложимостта на метода ротационна тромбеластометрия (ROTEM®) за диагностика на нарушенията на хемостазата и за избор на адекватен терапевтичен подход при пациенти след сърдечни операции под ЕКК.

Задачи

1. Да се проучат и сравнят резултатите от изследваните показатели на ротационната тромбеластометрия (СТ, CFT, α angle, MCF) и от конвенционалните хемостазни тестове (PT, АРТТ, фибриноген, брой тромбоцити) при пациенти след сърдечни операции под ЕКК.

2. Да се изследва корелацията между показателите на ротационната тромбеластометрия и конвенционалните хемостазни тестове.

3. Да се проучи диагностичната надеждност на показателите на ротационната тромбеластометрия при разграничаване нарушенията на хемостазата при пациенти след сърдечни операции под ЕКК в ранния следоперативен период.

4. Да се проучи диагностичната надеждност на индекса на тромбодинамичния потенциал (ТPI – Thrombodynamic potential index) при разграничаване нарушенията на хемостазата.

5. Да се разработи диференциално-диагностичен алгоритъм на кръвенето и нарушенията на хемостазата в ранния следоперативен период с оглед избор на адекватен терапевтичен подход при пациенти след сърдечни операции под ЕКК.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

А. Материали

І. Клиничен контингент

Проучването е направено при пациенти след сърдечни операции под ЕКК, хоспитализирани в СБАЛССЗ “Света Екатерина” за периода октомври 2009 – април 2012 година. Изследвани са 157 пациента, от които 105 (67.3%) мъже и 52 (37.7%) жени, със средна възраст 65.48 ± 11.96 години (от 27 до 87 години) и средно телесно тегло $76,85 \pm 21.96$ kg (от 47 до 105 kg). Клиничната характеристика на пациентите е показана на табл.1.

Пациентите са изследвани до трети следоперативен час. При всички след края на ЕКК е приложен протокол за неутрализация с протамин сулфат на хепарина (1 mg/100 UFN), при контрол на активирано време на съсирване (АСТ). При стойности на АСТ над 130 s е прилаган допълнително протамин сулфат. Всички пациенти са били с хемоглобин над 80 g/l, телесна температура над 36° C, нормализирано рН и йонизиран калций. При нито един пациент не са прилагани антифибринолитици периоперативно. При 107 пациенти, изследването на хемостазата е извършено по повод на *увеличено кървене* в ранния следоперативен период, 50 пациенти са имали *обичайно кървене* за същия период.

1. Критерии за включване на пациентите

1.1. Пациенти *с увеличено кървене* (n=107) - кървене от торакалните дренажи за един час над 200 ml (над 5 ml/kg/h) или над 8-10 ml/kg за първите три следоперативни часа (30, 38, 54, 96).

Всички пациенти, които са имали кървене за един час над 250-300 ml са били ревизирани хирургично, независимо от показателите на тромбеластометрията и конвенционалните хемостазни тестове (37).

1.2. Пациенти *с обичайно кървене* (n=50), при които в ранния следоперативен период за първи следоперативен час кървенето е било не повече от 200 ml/h или под 5-8 ml/kg за първите три следоперативни часа, като в следващите 3 до 5 часа намалява прогресивно до 60 ml/h.

2. Изключващи критерии

В проучването не са включвани пациенти:

2.1. при които с изследване на АРТТ, инхибиторен тест, АСТ и теста НЕРТЕМ е установено, че кървенето се дължи на излишък на хепарин (27);

2.2. пациенти с активирана фибринолиза, при които максималната лиза (ML) в ЕХТЕМ е била над 15%.

3. Разпределение на пациентите по групи:

- I-ва група **КЪРВЕНЕ БЕЗ ИЗТОЧНИК НА КЪРВЕНЕ (кървене без ИК)** – 73-ма пациенти *с увеличено кървене*, при които **не е установен хирургичен източник на кървене**;

- II-ра група КЪРВЕНЕ С ИЗТОЧНИК НА КЪРВЕНЕ (кървене с ИК) - 34 пациенти с *увеличено кървене*, при които е установен хирургичен източник на кървене;

- III-та група ОБИЧАЙНО КЪРВЕНЕ (ОБК) - 50 пациенти с *обичайно кървене*;

- Проследени след съответната хемотрансфузионна терапия 40 пациенти от I-ва група.

Таблица 1: Клинична характеристика на пациентите

Клинична характеристика	I-ва група (n= 73)	II-ра група (n= 34)	III -та група (n= 50)
Аорто- коронарен байпас (АСВ)	20.5% (n=15)	20.5% (n=7)	32% (n=16)
Протезиране на повече от една клапа	13.7% (n=10)	5.7% (n=2)	14% (n=7)
Едно - клапно протезиране	12.33% (n=9)	23.53% (n=8)	22% (n=11)
Комбинирана операция: Клапно протезиране и АСВ, резекции на аневризми и др.	37% (n=27)	41.17% (n=14)	33% (n=16)
Пластика на междупредсърден дефект	0% (n=0)	2.94% (n=1)	0% (n=0)
Операция по повод аневризми и дисекции на гръдната аорта	16.44% (n=12)	5.68%(n=2)	0% (n=0)
Продължителност на КПБ в минути	145.06 min (от 58 min до 256 min)	121.29 min (от 42 min до 305 min)	100.45 min (от 37 min до 190 min)
Хипотермия (⁰ С)	29.5 ⁰ (от 22 ⁰ до 34 ⁰)	30.8 ⁰ (от 28 ⁰ до 34 ⁰)	30.3 ⁰ (от 28 ⁰ до 32 ⁰)
Средна стойност хемоглобин g/l	98.36 ± 12.07	103.24 ± 11.77	101.06 ± 11.83

II. Кардиопулмонален байпас/Екстракорпорално кръвообращение/Екстракорпорална циркулация

Кардиопулмоналният байпас (КПБ) замества функцията на сърцето и белия дроб докато сърцето е спряно, осигурявайки безкръвно и устойчиво оперативно поле. Байпас машината се състои от редица елементи, включващи резервоар, оксигенатор и топлообменник, свързани чрез серия от ролер-помпи на статичната част на машината. При всички пациенти са използвани мембранни оксигенатори. Преди преминаване към байпас-машина, пациентът трябва бъде антикоагулиран с хепарин 300-400 U/kg, като АСТ е необходимо да се задържи над 400 s. Кръвта се дренира от v.cava inferior и v.cava superior към резервоара (пасивен ток),

където се филтрира. След това тя преминава през топлообменника, който променя температурата според изискванията и през оксигенатора се връща в пациента посредством тясна артериална канюла, поставена в аортния корен. Екстракорпоралният кръг (1500ml), се зарежда с кристалоид и нискомолекулен колоид (желатиново или скорбялно производно), 5000 UI хепарин и манитол. Машината обикновено осигурява непулсативен поток с дебит 2,4 l/min/m². Температурата на пациента се понижава активно до 28⁰ - 34⁰ C, в зависимост от типа на операцията, като в някои случаи може да достигне до дълбока хипотермия (16⁰ C) (1).

Б. Методи

I. Методи за изследване на хемостазата

При всички пациенти кръвта е взета до трети час след операцията по стандартна оперативна процедура със затворена система за вземане на кръв във вакутейнер 2.7 ml, съдържащ 0.109 mol/l буфериран (pH 5.5) натриев цитрат (BECTON DICKINSON) и за брой тромбоцити във вакутейнер 3 ml, съдържащ ЕДТА К2 (BECTON DICKINSON).

1. Методи за изследване на конвенционалните хемостазни тестове

1.1. Общите коагулационни тестове са изследвани на автоматичен коагулометър STA COMPACT (Diagnostika Stago) с принцип на измерване електромеханично отчитане на образувания съсирек.

1.1.1. Протромбиновото време (PT) е изследвано с течен рекомбинантен тромбoplastин с ISI 0.97 (DIAGON Ltd. Hungary), комбиниран с калциев двухлорид.

1.1.2 Активираното парциално тромбoplastиново време (APTT) е изследвано с течен реактив (DIAGON Ltd. Hungary), съдържащ заешки кефалин, като парциален тромбoplastин.

1.1.3. Фибриногенът е измерен по метода на Клаус с говежди тромбин, с концентрация 75 NIH U/ml (Trinity Biotech Plc, Ireland и DIAGON Ltd. Hungary) .

1.2. Броят на тромбоцитите е определен с автоматичен хематологичен анализатор Sysmex 3000 (SYSMEX CORPORATION KOBE JAPAN) с принцип на отчитане импедансен метод с хидродинамично фокусиране.

2. Ротационна тромбеластометрия

Тромбеластометрията е извършена с модифицирана ротационна тромбеластометрична система (ROTEM®; Pentapharm Co., Munich, Germany) с добавяне на специфични субстанции към пробата, които активират или инхибират процесите на хемостазата. Измерването при

всички пациенти е проследявано до 20 min (A20). Обработката на резултатите е извършена на 10 и 20 min (A10 и A20).

2.1. Измерени са следните параметри (фиг. 1):

2.1.1. Време на съсирване-**Clotting Time (CT)** е времето от стартиране на реакцията до нарастването на амплитудата на тромбеластограмата до 2 mm, измерено в секунди (s). Представява графичен израз на иницирането на коагулационната система, образуването на тромбин и първия фибринополимер.

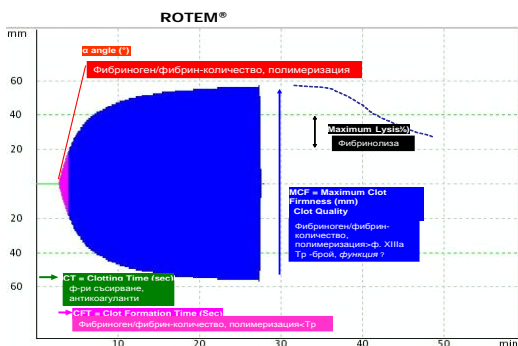
2.1.2. Време за образуване на съсирека-**Clotting Formation Time (CFT)** е времето на нарастване на амплитудата на тромбеластограмата от 2 до 20 mm. Измерва се в секунди и е графичен израз на разпространето на формирания съсирек.

2.1.3. Алфа ъгъл- **α angle** – тангентата към кривата, преминаваща през точката от 2 mm. Израз на скоростта, с която се образува съсирека и се измерва в градуси ($^{\circ}$).

2.1.4. Максимална здравина на съсирека- **Maximum Clot Firmness (MCF)** е максималната амплитуда измерена в милиметри, проследена до 20 min. Показател за здравината и качеството на съсирека.

2.1.5. Максимална лиза на съсирека-**Maximum Lysis (ML)** е отношението между най- малката амплитуда, която достига MCF и ширината на MCF. Зависи от състоянието и активността на фибринолитичната система.

Фигура 1: Графика на ротационната тромбеластометрия



2.1.6. Изчислен е индекс на тромбодинамичния потенциал - **Thrombodynamic potential index (TPI)**, като общ показател за динамиката на тромбообразуването и за малки промени в силата (здравината) на съсирека, по следната формула (83):

$$TPI = \frac{100 \times MCF}{CFT - MCF}$$

2.2.Тестове на ротационата тромбеластометрия

2.2.1. **EXTEM**: рекомбинантен тъканен фактор и фосфолипиди за активиране на външна система и общия път на кръвосъсирване.

2.2.2. **INTEM**: парциален тромбопластин от заешки мозък-каолин за активиране на вътрешна система и общия път на кръвосъсирване.

2.2.3. **FIBTEM**: рекомбинантен тъканен фактор и фосфолипиди и цитохалазин Д за подтискане на тромбоцитната функция.

2.2.4. **HEPTEM**: парциален тромбопластин от заешки мозък-каолин и хепариназа за разграждане на хепарин.

2.2.5. **APTEM**: рекомбинантен тъканен фактор и фосфолипиди и апротинин за инхибиране на фибринолизата.

II. Статистически методи

Данните са въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics 19.0. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе избрано $p < 0,05$.

Приложени са следните методи:

1. Дескриптивен анализ – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.
2. Вариационен анализ – изчисляване оценките на централната тенденция и разсейване.
3. Графичен анализ – за визуализация на получените резултати.
4. Непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Уилк – за проверка вида на разпределението.
5. Еднофакторен дисперсионен анализ (ANOVA) – параметричен метод за проверка на хипотези за различие между няколко независими извадки.
6. Т-тест на Стюдънт – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.
7. Непараметричен тест на Крускал-Уолис - за проверка на хипотези за различие между няколко независими извадки.
8. Непараметричен тест на Mann-Whitney – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.
9. Т-тест на Стюдънт – за проверка на хипотези за различие между две зависими извадки.
10. Непараметричен тест на Wilcoxon – за проверка на хипотези за различие между две зависими извадки.
11. Корелационен анализ – за търсене на линейна зависимост между два количествени признака.
12. Процедура ROC curve - за определяне праговите стойности на количествени показатели, използвани за класификация.

13. Критерии за валидиране на тестовете: диагностична чувствителност; диагностична специфичност; положителна предсказваща стойност на резултатите; отрицателна предсказваща стойност на резултатите; прецизност – диагностична ефективност (% на верните отговори).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

I. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ ПАРАМЕТРИТЕ НА ROTEM® И КОНВЕНЦИОНАЛНИТЕ ХЕМОСТАЗНИ ТЕСТОВЕ

1. ПАРАМЕТРИ НА ТЕСТА ЕХТЕМ (Фиг. 2):

- Времето на съсирване-СТ в теста ЕХТЕМ е значимо по-висока при пациентите от I-ва група **без източник на кървене** (66.37 s) от останалите две групи, които не се различават значимо помежду си;

- Статистически значимо удължено време за образуване на съсирека (CFT) – 171.97 s, бе установено в I-ва група **без източник на кървене** в сравнение с групите на пациентите **с обичайно кървене** и тези **с източник на кървене** (съотв. 83.74 и 90.23 s), при които не се наблюдават статистически различия в този показател.

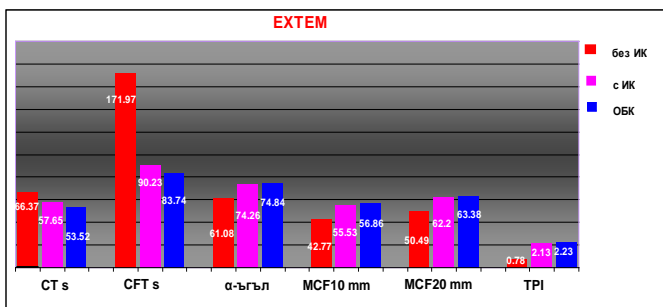
- При α ъгъл, израз на скоростта, с която се образува съсирека, бе намерена сигнификантно най-ниска средна стойност (61.08⁰) в групата **без източник на кървене**. При пациентите **с обичайно кървене** и тези **с източник на кървене**, средната стойност на α ъгъл е 74.84⁰ и 74.26⁰.

- Максималната здравина на съсирека (MCF) измерена до 20 min при пациентите **без източник на кървене**, показва сигнификантно по-ниска средна стойност (50.49 mm). Този показател не се различава сигнификантно в останалите групи.

- Измерването на MCF до 10 min показва същата зависимост, както и измерването до 20 min, като сигнификантно най-ниска стойност има при пациентите **без източник на кървене** (42.77 mm).

- Установихме сигнификантно по-нисък индекс на тромбодинамичния потенциал ТРІ (0,78) в I-ва група **без източник на кървене**. Този показател за пациентите **с обичайно кървене** и **с източник на кървене** е съответно 2.24 и 2.13.

Фигура 2: Сравнителен анализ на показателите СТ, CFT, α angle, MCF и TPI в EXTEM



2. ПАРАМЕТРИ НА ТЕСТА INTEM (Фиг. 3):

- Установихме значимо по-удължено СТ (198.26 s) в групата **без източник на кървене** от останалите две групи, които не се различават значимо помежду си;

- Статистически значимо удължено време за образуване на съсирека (CFT) се наблюдава при I-ва група **без източник на кървене** (163.45 s), докато пациентите от III-та група **с обичайно кървене** и от II-ра **с източник на кървене** не се различават помежду си (съответно: 74.98 и 85.09 s);

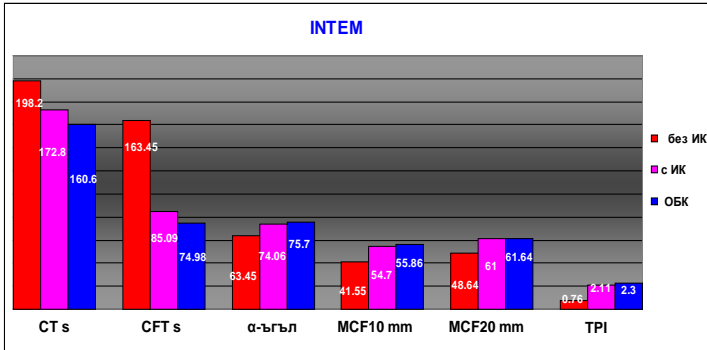
- При α ъгъла сигнификантно най-ниска средна стойност се установява в групата **без източник на кървене** (63.450), като останалите групи не се различават статистически помежду си;

- Статистически значимо намаление на максималната здравина на съсирека, израз на качеството на образувания съсирек (MCF 20), измерена до 20 min, се наблюдава при пациентите **без източник на кървене**, съответно 48.64 mm. Останалите групи не се различават статистически помежду си, като за групата **с източник на кървене** е 61 mm, а за групата **с обичайно кървене** е 61.64 mm.

- При измерване на MCF до 10 min най-ниска стойност (41.55 mm) наблюдаваме в групата **без източник на кървене**. При останалите групи не се наблюдава сигнификантна разлика.

- Сигнификантно най-ниска средна стойност (0.76) на TPI се установява в I групата **без източник на кървене**, а останалите две групи не се различават статистически помежду си със средни стойности от 2.11 и 2.26.

Фигура 3: Сравнителен анализ на показателите CT, CFT, α angle, MCF и TPI в канала за измерване INTEM

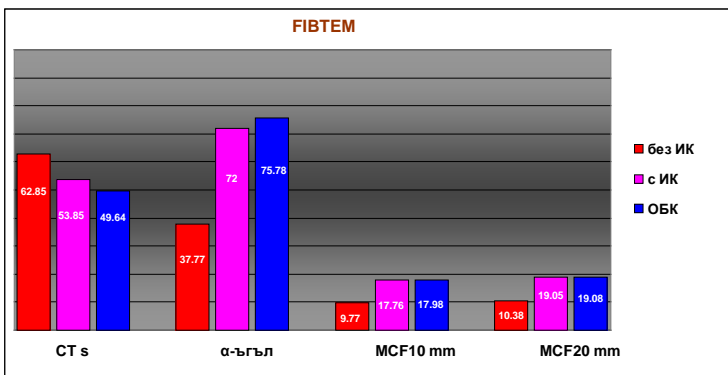


3. ПАРАМЕТРИ НА ТЕСТА FIBTEM (Фиг. 4):

- Групата на пациентите **без източник на кървене** е със сигнификантно по-удължено време на съсирване (CT-62.85 s) от останалите две групи, които не се различават значимо помежду си;

- Установихме статистически значима по-ниска средна стойност за α ъгъл (37.77^0), MCF20 (10.38 mm) и MCF10 (9.77 mm) в I-ва група **без източник на кървене**, като останалите групи не се различават статистически помежду си, съответно за α ъгъл - 72^0 и 75.78^0 , за MCF до 20 min -19.05 и 19.08 mm и за MCF измерена до 10 min – 17.76 и 17.98 mm.

Фигура 4: Сравнителен анализ на показателите CT, α angle и MCF в FIBTEM .



4. КОНВЕНЦИОНАЛНИ ХЕМОСТАЗНИ ТЕСТОВЕ - РТ, АРТТ, ФИБРИНОГЕН, БРОЙ ТРОМБОЦИТИ (Фиг. 5):

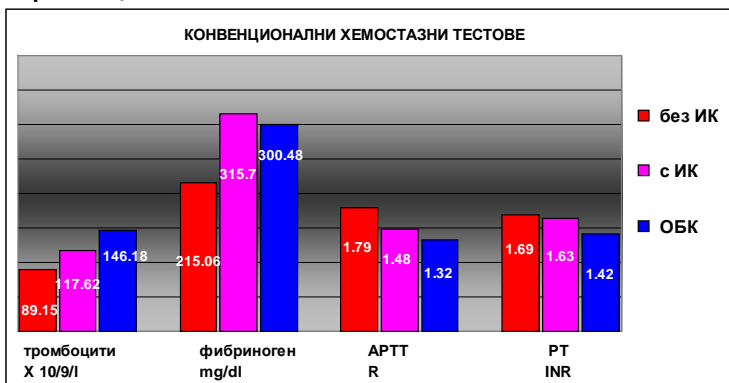
- Значимо удължаване на INR (РТ) наблюдавахме в групата **без източник на кървене** и групата **с източник на кървене** (съответно 1,69 и 1,63), които не се различават помежду си, но се различават от групата **с обичайно кървене**, където РТ е 1,42.

- Удължаването на АРТТ ratio (R-отношение) – 1,79 в групата **без източник на кървене** е значимо по-високо в сравнение с групите **с обичайно кървене**, където е 1,32 и пациентите **с източник на кървене**, съответно 1,48, които не се различават помежду си;

- Значимо най-ниски стойности на фибриногена се установи в групата **без източник на кървене**. Останалите групи не се различават по стойностите на фибриногена.

- *По стойностите на тромбоцитите и трите групи се различават значимо.*

Фигура 5: Сравнителен анализ на показателите РТ, АРТТ, фибриноген и тромбоцити



II. КОРЕЛАЦИОНЕН АНАЛИЗ НА ОБЩИТЕ ХЕМОСТАЗНИ С ПОКАЗАТЕЛИТЕ НА РОТАЦИОННАТА ТРОМБЕЛАСТОМЕТРИЯ (табл.2)

1. РТ и АРТТ корелират положително с времето на съсирване (СТ), като най-силна е корелацията на АРТТ с СТ INTEM ($r=0.691$).

2. Фибриногенът корелира с всички показатели на тромбеластограмата. Корелацията е положителна и висока с α ъгъл FIBTEM ($r=0.766$), с MCF FIBTEM ($r=0.696$), с α ъгъл EXTEM ($r=0.762$), с

α ъгъл INTEM ($r=0.609$), и отрицателна и значима с CFT EXTEM ($r= -0.588$).

3. Тромбоцитите корелират отрицателно и умерено с α ъгъл EXTEM ($r=0.463$), и значимо с α ъгъл FIBTEM ($r=0.568$) и MCF FIBTEM ($r=0.610$).

Таблица 2: Корелационни коефициенти на общите хемостазни тестове с показателите на тромбеластограмата в I-ва група на пациентите без източник на кръвене

Показатели	PT	APTT	Фибриноген	Тромбоцити
CT EXTEM	0,489*	0,567**	-0,396*	-0,032
CFT EXTEM	0,195	0,235	-0,588**	-0,224
α angle EXTEM	-0,411*	-0,381	0,762***	-0,463*
MCF EXTEM	-0,219	-0,219	0,521**	0,213
TPI EXTEM	-0,225	-0,246	0,580**	0,211
CT INTEM	0,657***	0,691***	-0,467*	0,152
CFT INTEM	0,301	0,310	-0,481*	-0,210
α angle INTEM	-0,520**	-0,374	0,609**	-0,245
MCF INTEM	-0,286	-0,272	0,474*	0,175
TPI INTEM	-0,315	-0,297	0,514**	0,204
CT FIBTEM	0,509**	0,370	-0,589**	0,216
α angle FIBTEM	-0,356	-0,203	0,766***	-0,568**
MCF FIBTEM	-0,310	-0,328	0,696***	-0,610**

* - $p<0.05$, ** - $p<0.01$, *** - $p<0.001$

III. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА РЕЗУЛТАТИ НА ПРОСЛЕДЕНИТЕ ПАЦИЕНТИ ПРЕДИ И СЛЕД ХЕМОТРАНСФУЗИОННА ТЕРАПИЯ

След прилагане на съответната хемотрансфузионна и медикаментозна терапия е извършено повторно измерване на общите хемостазни тестове и показателите на ROTEM[®], за да се оцени ефектът на заместителното лечение за компенсиране нарушенията в хемостазата (табл. 3, граф. 1-6).

1. В теста **EXTEM** CT, CFT, α ъгъл, MCF и TPI показат сигнификантни разлики. Относително, при TPI наблюдаваме най-висока промяна над 100%, като глобален параметър, отразяващ силата на образувания съсирек.

2. В теста **INTEM** също се наблюдава сигнификантна разлика между първо и второ измерване при всички показатели: CT, CFT, α ъгъл, MCF и TPI. В абсолютен план най-голяма разлика се наблюдава при CFT и TPI, но в относителен при TPI над 100%.

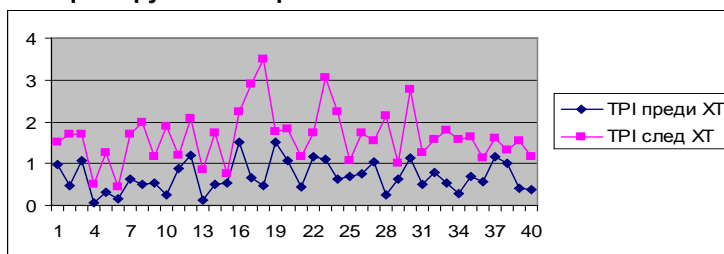
3. В теста **FIVTEM** сравнителният анализ показва същата закономерност. В абсолютен план най-голяма разлика се наблюдава при α ъгъл и MCF, но в относителен при MCF с 89%.

4. **Общите хемостазни тестове** показва сигнификантна разлика между първо и второ измерване при PT, APTT и фибриноген. В относителен план най-голяма разлика се наблюдава при фибриноген с 43%.

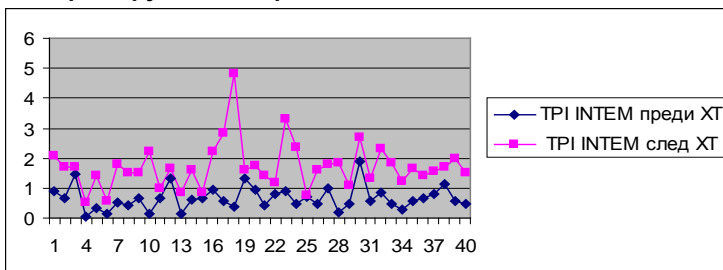
Таблица 3: Сравнителен анализ на показателите на ROTEM® и общите хемостазни тестове преди и след хемотрансфузионна терапия

Показател	n	Първо измерване преди терапия		Второ измерване след терапия		p
		\bar{X}	$\pm SD$	\bar{X}	$\pm SD$	
EXCT s	40	68.8	48.98	51.35	7.11	0.05
EXCFT s	40	182.6	128.58	98.98	35.15	0.002
EX α angle⁰	40	60.1	10.71	75.5	4.26	<0.000001
EXMCF mm	40	49.3	9.53	59.12	5.31	0.00037
EXTPI	40	0.69	0.40	1.64	0.65	0.00003
INCT s	40	213.88	56.44	172.93	33.91	0.04
INCFT s	40	177.95	128.62	90.8	28.41	0.001
IN α angle⁰	40	62.3	11.45	74.17	4.31	0.00008
INMCF mm	40	47.12	9.09	57.92	5.17	0.00012
INTPI	40	0.66	0.40	1.72	0.62	0.00001
FIBCT s	40	63	39.89	47	6.03	0.035
FIB α angle⁰	40	36	32.46	76	8.72	< 0.00001
FIBMCF mm	40	10.3	3.46	19.5	4.29	< 0.00001
PT	40	1.84	0.61	1.43	0.41	0.0008
APTT	40	1.94	0.61	1.56	0.58	0.005
Фибриноген	40	199	49.31	286	49.61	0.00001
Тромбоцити	40	87	32.87	96	25.53	n.s.

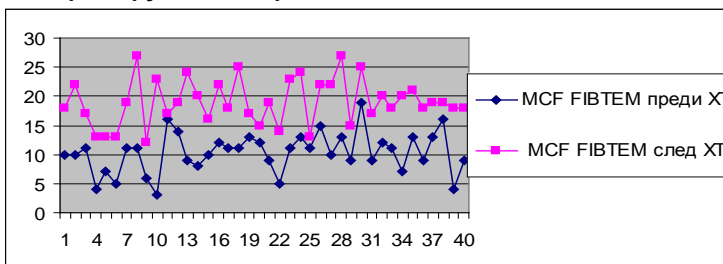
Графика 1: TPI EXTEM при 40-те проследени пациента преди и след хемотрансфузионна терапия.



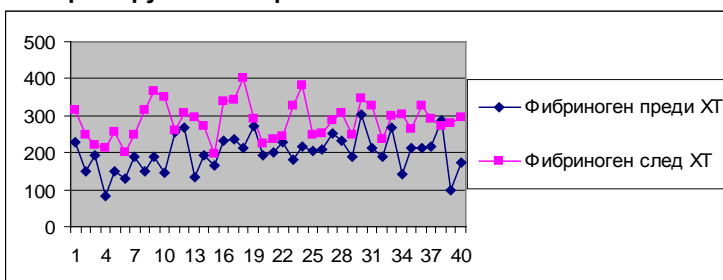
Графика 2: TPI INTEM при 40-те проследени пациента преди и след хемотрансфузионна терапия.



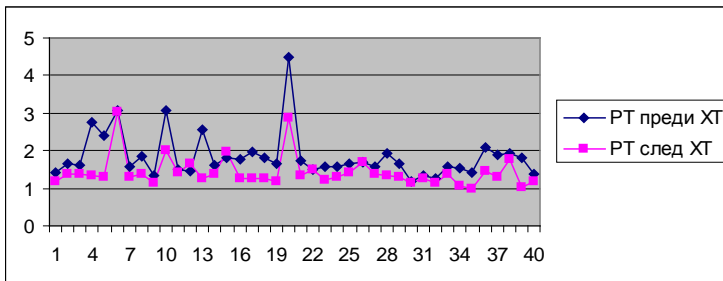
Графика 3: MCF FIBTEM при 40-те проследени пациента преди и след хемотрансфузионна терапия.



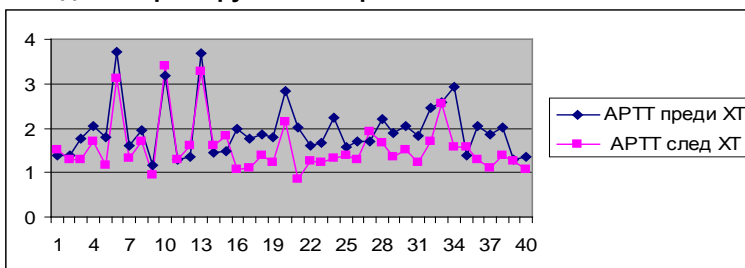
Графика 4: Фибриноген при 40-те проследени пациента преди и след хемотрансфузионна терапия.



Графика 5: Протромбиново време (INR) при 40-те проследени пациента преди и след хемотрансфузионна терапия.



Графика 6: АРТТ (R отношение) при 40-те проследени пациента преди и след хемотрансфузионна терапия.



IV. ОПРЕДЕЛЯНЕ ДИАГНОСТИЧНА НАДЕЖДНОСТ НА ПОКАЗАТЕЛИТЕ НА ROTEM® И ОБЩИТЕ ХЕМОСТАЗНИ ТЕСТОВЕ ЗА ОТДИФЕРЕНЦИРАНЕ НА ТРИТЕ ГРУПИ

За определяне на диагностичната надеждност с помощта на процедурата ROC curve са определени праговите стойности на показателите CT, CFT, α -ъгъл и MCF20 и MCF10 в EXTEM, INTEM и MCF20, MCF10 в FIBTEM и общите хемостазни тестове. След това са изчислени стойностите на критериите за валидиране и диагностичната ефективност за съответната група.

1. Показателят **време на съсирване (CT- Clotting time)**, отразяващ иницирането на съсирването показва ниска диагностична надеждност (56% - 69%) поради което считаме, че този показател самостоятелно не може да служи за разграничаване на причината за кървене при съответните групи пациенти. CT корелира значително с АРТТ, РТ и фибриноген до $r=0.691$ с $p<0.001$, но не и с брой тромбоцити. Това ни дава основание да приемем, че намерените *прагови стойности на CT INTEM над 181,5 s и CT EXTEM над 63,5 s са индикатор за дефицит на фактори на съсирване и съответно изискват прилагане на прясно замразена плазма (ПЗП) и/или фактори на протромбиновия комплекс (ФПК)*. (фиг. 6 и табл. 3; фиг. 7 и табл. 4)

Фигура 6: ROC крива на CT EXTEM

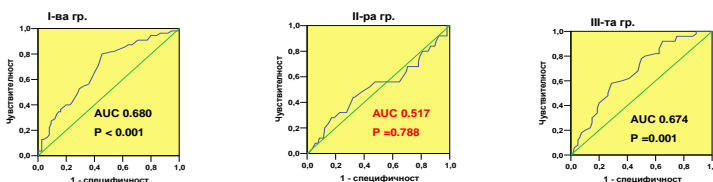


Таблица 3: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговите стойности на CT EXTEM

Група	Прагови стойности на CT EXTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група - кървене без източник	≥ 60.50	82	48	54	78	62
II-ра група - кървене с източник	-	-	-	-	-	-
III-та група - обичайно кървене	≤ 63.50	86	38	46	81	56

Фигура 7: ROC крива на CT INTEM

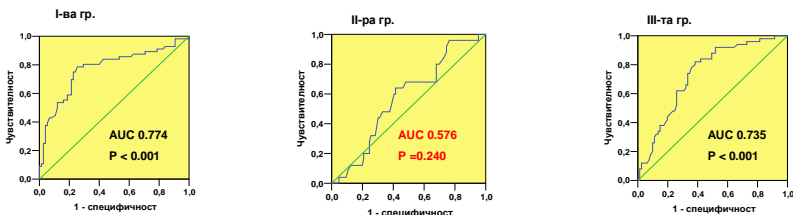


Таблица 4: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговите стойности на CT INTEM

Група	Прагови стойности на CT INTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≥ 170.0	84	57	59	83	69
II-ра група-кървене с източник	-	-	-	-	-	-
III-та група-обичайно кървене	< 181.5	82	60	56	84	69

2. Показателят време или скоростта за образуване на съсирека (CFT-Clot formation time) показва висока диагностична ефективност до 87% с AUC 0.945-0.933 в I-ва група. Това заедно с високата чувствителност (84-96%) и отрицателна предсказваща стойност (90-97%) при трите групи, ни дава основание да определим CFT като отличен диагностичен критерий за разграничаване на типа кървене в групите. Значителната обратна корелация на CFT с нивото на фибриногена ($r = -0.6$, $p < 0.01$) и липсваща с тромбоцитите ни дава основание да считаме, че CFT се влияе предимно от количеството и качеството на фибриногена. Това заедно с високата диагностична надеждност определят, че при намерените прагови стойности за CFT EXTEM над 110 s и CFT INTEM над 100 s е необходимо предимно да се прилага прясно замразена плазма и/или фибриногенови концентрати. (фиг. 8, табл. 5; фиг. 9, табл. 6)

Фигура 8: ROC крива на CFT EXTEM

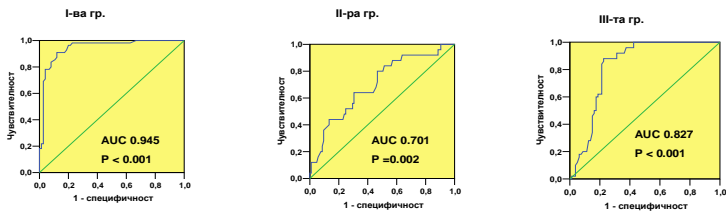


Таблица 5: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на CFT EXTEM

Група	Прагови стойности на CFT EXTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група - кървене без източник	≥ 110.50	96	80	78	97	87
II-ра група - кървене с източник	≤ 109.50	84	49	28	93	55
III-та група - обичайно кървене	≤ 99.50	88	78	71	91	82

Фигура 9: ROC крива на CFT INTEM

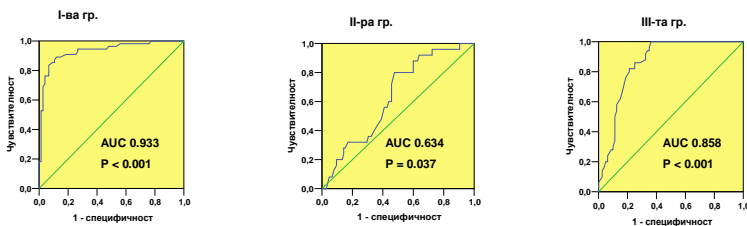


Таблица 6: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на CFT INTEM

Група	Прагови стойности на CFT INTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група - кървене без източник	≥ 100.50	91	80	77	92	85
II-ра група - кървене с източник	≤ 110.00	88	40	26	93	49
III-та група - обичайно кървене	≤ 90.00	86	75	68	90	79

3. α -ЪГЪЛ (израз на скоростта, с която се образува съсирека) показва висока диагностичната ефективност в групата **без източник на кръвене** (α -EXTEM-84% с AUC 0.922, α -INTEM-84% с AUC 0.920), което ни дава основание да определим този показател, *като много добър диагностичен критерий за разграничаване на групите*. α -ЪГЪЛ EXTEM показва **висока положителна корелация с фибриногена** ($r=0.762$) и умерена отрицателна с PT ($r= -0.411$). С **тромбоцитите** този показател **корелира отрицателно** ($r= -0.463$). Това предполага, че **намалените стойности на α -ЪГЪЛ**, говорят предимно за **ниско ниво на фибриноген и дефицит на коагулационни фактори**, докато **по-високите стойности** са индикатор за **ниски тромбоцити**. (фиг. 10, табл. 7; фиг. 11, табл. 8)

Фигура 10: ROC крива на α angle EXTEM

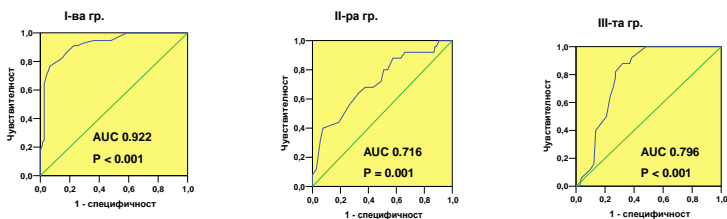


Таблица 7: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговите стойности на α angle EXTEM

Група	Прагови стойности на α angle EXTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 68.50	86	83	79	89	84
II-ра група-кървене с източник	≥ 67.50	88	42	27	94	51
III-та група-обичайно кървене	≥ 67.50	88	68	63	90	76

Фигура 11: ROC крива на α angle INTEM

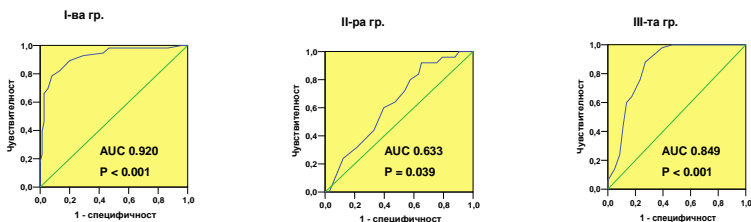


Таблица 8: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговите стойности на α angle INTEM

Група	Прагови стойности на α angle INTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 69.50	89	80	77	91	84
II-ра група-кървене с източник	≥ 68.50	92	35	25	95	46
III-та група-обичайно кървене	≥ 71.50	94	65	63	95	76

4. **MCF (Maximum Clot Firmness)** предоставя информация за максималната здравина и стабилност на съсирека. MCF нараства непрекъснато и може да бъде проследявано до 10, 15, 20, 30 min. При пациенти след сърдечни операции под ЕКК с масивно кървене е от изключително значение бързата и адекватна диагностика на причините за кървенето с оглед терапевтичното поведение. Поради това проследихме MCF до 10 и 20 min.

Определените прагови стойности за MCF 20 под 57 и 56 mm за EXTEM и INTEM имат много добра диагностична ефективност (92-86% с AUC 0.949 и 0.939) за разграничаване на групите. Много високата чувствителност (до 96%) и отрицателна предсказваща стойност (до 97%), гарантират високата диагностична надеждност на MCF. (Фиг.12-13; Табл.9-10)

Фигура 12: ROC крива на MCF 20 EXTEM

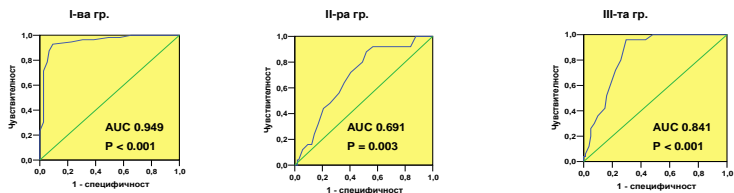


Таблица 9: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на MCF 20 EXTEM

Група	Прагови стойности на MCF20 EXTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 57.50	93	91	88	94	92
II-ра група-кървене с източник	≥ 57.50	88	48	29	94	56
III-та група-обичайно кървене	≥ 58.50	96	70	67	97	80

Фигура 13: ROC крива на MCF 20 INTEM

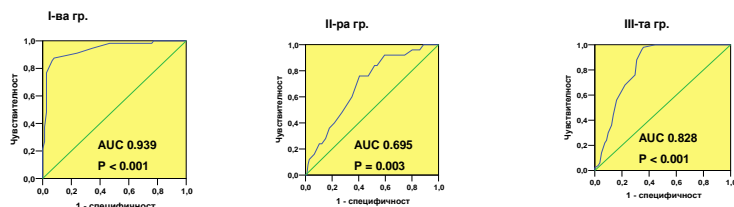


Таблица 10: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на MCF 20 INTEM

Група	Прагови стойности на MCF20 INTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 56.50	89	84	81	91	86
II-ра група-кървене с източник	≥ 56.50	84	48	28	93	55
III-та група-обичайно кървене	≥ 57.50	88	69	64	90	76

Определените прагови стойности за MCF 10 под 48-49 mm също имат много добра диагностична ефективност (87-85% с AUC 0.948 и 0.839). Макар и по-ниски от MCF20, стойностите на чувствителността (до 91%) и отрицателната предсказваща (до 93%), остават много високи, което гарантира високата диагностична надеждност на MCF10. Поради това считаме, че проследяването на тромбеластограмата до 10 минута е допустимо с оглед бързината на изследването, което е изключително важно за клиничната практика.

MCF EXTEM и α -ъгъл EXTEM корелират положително със стойността на фибриногена, докато *тромбоцитите не корелират с MCF EXTEM*. Така едновременното намаляване на α -ъгъла и MCF EXTEM (\downarrow) говори за нисък фибриноген(\downarrow). Нормални или по-високи стойности на α -ъгъла(N, \uparrow) с ниски стойности на MCF EXTEM(\downarrow), определят дефицит на тромбоцити(\downarrow). (Фиг.14-15; Табл.11-12)

Фигура 14: ROC крива на MCF 10 EXTEM

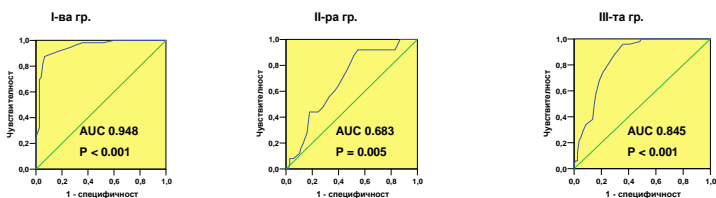


Таблица 11: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на MCF 10 EXTEM

Група	Прагови стойности на MCF10 EXTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 49.50	91	84	81	93	87
II-ра група-кървене с източник	≥ 50.50	88	48	29	94	56
III-та група-обичайно кървене	≥ 51.50	88	70	65	90	77

Фигура 15: ROC крива на **MCF 10 INTEM**

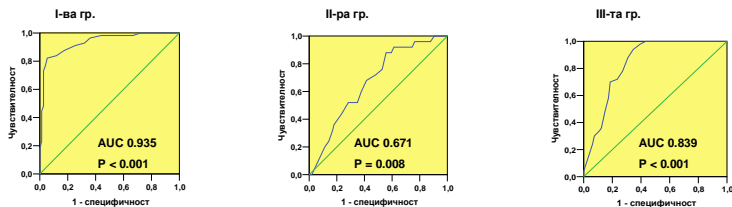


Таблица 12: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговите стойности на **MCF 10 INTEM**

Група	Прагови стойности на MCF10 INTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 47.50	88	83	79	90	85
II-ра група-кървене с източник	≥ 48.50	88	44	27	94	53
III-та група-обичайно кървене	≥ 50.50	88	69	64	90	76

5. MCF FIBTEM и α-ъгъл корелират **обратно** с тромбоцитите (при намаляване на броя им, стойността на тези показатели се покачва и обратно), но **не корелират** с MCF на EXTEM и INTEM, докато **корелацията на фибриногена с MCF на FIBTEM е права и висока**($r=0.7$). Ето защо едновременното определяне на MCF в EXTEM и FIBTEM може много бързо да ориентира за наличие на дефицит на фибриноген или тромбоцити. **Увеличена** или **нормална** стойност на α-ъгъл EXTEM(↑) и **намалена** MCF EXTEM(↓), заедно с α-ъгъл и MCF FIBTEM(↑) в норма или увеличени, насочва към **нисък брой тромбоцити**(↓), което определя **трансфузия предимно на тромбоцитни концентрати**. При **намаление** на α-ъгъл(↓) и MCF EXTEM(↓) и **намален MCF FIBTEM**(↓), причината за кървенето е **нисък фибриноген**(↓) или **нарушена полимеризация на фибриногена/ фибрина**, което налага **прилагане на фибриноген предимно или прясно-замразена плазма във високи дози**.

Определените прагови стойности за MCF 20 под 11 tt и за MCF 10 под 10 tt имат **висока диагностична ефективност** (84-85% с AUC 0.924-0.929) и **определят прилагането на фибриногенови концентрати**, като първа линия за овладяване на масивно кървене при пациенти след сърдечни операции под ЕКК. Така се избягва преливането на високи дози

ПЗП, което може да доведе до нежелани посттрансузионни реакции. (Фиг.16, Табл.13; Фиг.17, Табл.14)

Фигура 16: ROC крива на MCF 20 FIBTEM

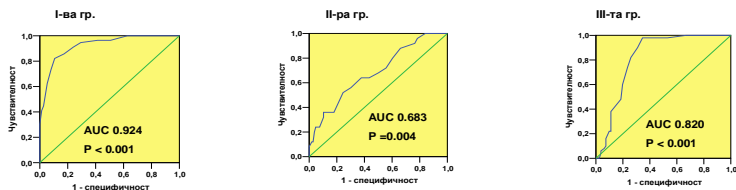


Таблица 13: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на MCF 20 FIBTEM

Група	Прагови стойности на MCF20 FIBTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 11.00	86	83	79	89	84
II-ра група-кървене с източник	≥ 12.50	80	40	24	89	47
III-та група-обичайно кървене	≥ 15.50	82	74	66	87	77

Фигура 17: ROC крива на MCF 10 FIBTEM

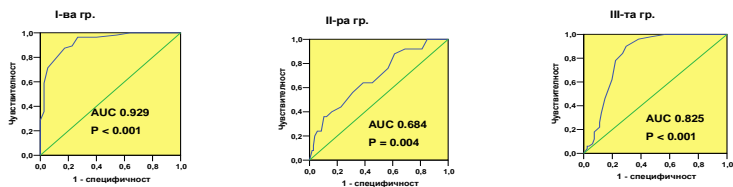


Таблица 14: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на MCF 10 FIBTEM

Група	Прагови стойности на MCF10 FIBTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 10.00	88	83	79	90	85
II-ра група-кървене с източник	≥ 11.50	88	39	25	93	48
III-та група-обичайно кървене	≥ 13.50	90	70	65	92	78

6. TPI (Thrombodynamic potential index)- индекс на тромбодинамичния потенциал измерва силата (здравината) на съсирека в динове на квадратен сънтиметър (dyn/cm^2). “Дин” е единица за измерването на **сила в система от единици (сантиметър-грам-секунди)** или показва **силата необходима за ускоряването на масата на един грам в размер от един сантиметър в секунда на квадрат**. Така този параметър е много по-показателен за малки промени в силата (здравината) на съсирека или нарушенията му от амплитудата и дава глобална представа за кинетиката и динамиката на тромбообразуването. Поради измерването на силата (здравината) на съсирека в dyn/cm^2 , като динамична величина, този показател е по - чувствителен към малки промени в образуването и стабилността на съсирека.

Приложимостта на TPI е демонстрирана от Szefer et al. и Copeland et al. при проследяването на хемостазата на пациенти с механична поддръжка на сърцето (18, 100).

Диагностичната ефективност на TPI в EXTEM и INTEM е много висока – 90-89% с AUC 0.954-0.943 при пациентите без източник на кървене. TPI показва много високи стойности за чувствителност и отрицателна предсказваща стойност (96%), което гарантира високата диагностична надеждност на този показател. Поради това считаме, че определените прагови стойности под 1.4 за TPI EXTEM и TPI INTEM са надежден показател за нарушения на хемостазата. (Фиг.18-19, табл. 15-16)

Фигура 18: ROC крива на TPI EXTEM

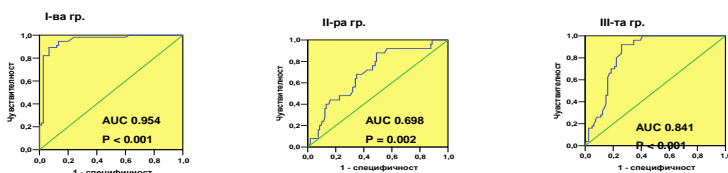


Таблица 15: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на TPI EXTEM

Група	Прагови стойности на TPI EXTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 1,42	95	87	84	96	90
II-ра група-кървене с източник	> 1,3	92	43	28	96	53
III-та група-обичайно кървене	> 1.34	96	65	63	96	77

Фигура 19: ROC крива на TPI INTEM

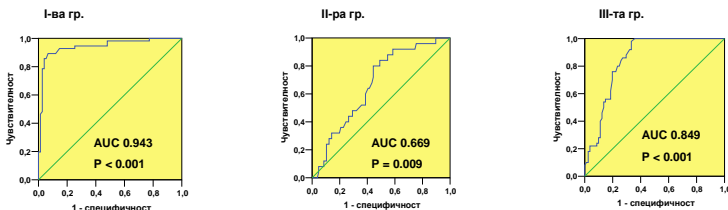


Таблица 16: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговите стойности на TPI INTEM

Група	Прагови стойности на TPI INTEM	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 1.41	93	85	83	94	89
II-ра група-кървене с източник	> 1.52	92	42	27	96	51
III-та група-обичайно кървене	> 1.45	92	68	64	93	77

7. Конвенционални (общи) хемостазни тестове

Диагностичната надеждност на общите хемостазни тестове е сравнително ниска при всички групи (60-74% с AUC 0.5-0.8), като в някои случаи критериите за валидиране са толкова ниски, че не могат да бъдат определени. Поради това считаме, че не са надежден метод за разграничаване на типа кървене в групите. (Фиг.19-22, табл. 17-20)

Определените прагови стойности за фибриноген под 2.2 g/l и за брой тромбоцити под $100 \times 10^9/l$ са по-високи от тези съобщавани в литературата за прилагане на биопродукти. Това вероятно се дължи на нарушените функции на плазмените и клетъчни компоненти на хемостазата по време на екстракорпоралната циркулация, които са една от причините за масивно кървене след сърдечни операции.

Определените прагови стойности за PT и APTT не се различават съществено в отделните групи, като варират между 1.36 и 1.54. Заедно с ниската диагностична надеждност тези тестове не са надежден метод за разграничаване на групите, както и за провеждането на компонентна хемотрансфузионна терапия.

Фигура 19: ROC крива на фибриноген

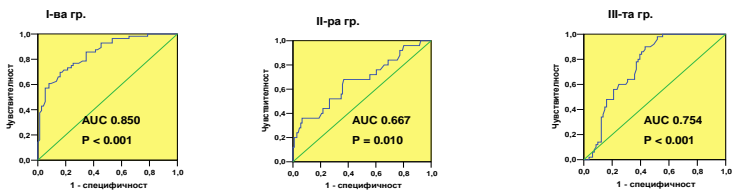


Таблица 17: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговите стойности на фибриноген

Група	Прагови стойности на фибриноген	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група - кървене без източник	≤ 222.5	86	65	65	86	74
II-ра група - кървене с източник	≥ 228.5	80	34	22	88	43
III-та група - обичайно кървене	≥ 252.0	84	60	57	86	69

Фигура 20: ROC крива на АРТТ

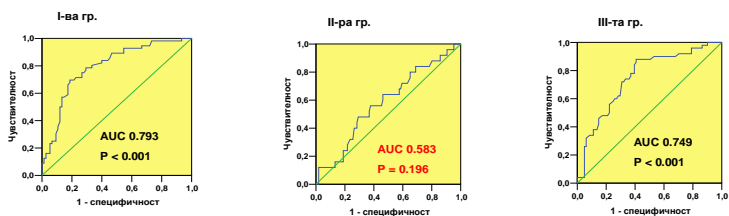


Таблица 18: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговите стойности на АРТТ

Група	Прагови стойности на АРТТ	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група - кървене без източник	≥ 1.36	84	57	59	83	69
II-ра група - кървене с източник	-	-	-	-	-	-
III-та група - обичайно кървене	≤ 1.52	84	60	57	86	69

Фигура 21: ROC крива на PT

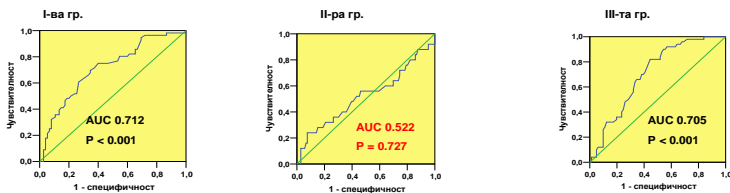


Таблица 19: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на PT

Група	Прагови стойности на PT	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≥ 1.43	80	45	52	76	60
II-ра група-кървене с източник	-	-	-	-	-	-
III-та група-обичайно кървене	≤ 1.54	82	56	53	83	66

Фигура 22: ROC крива на тромбоцити

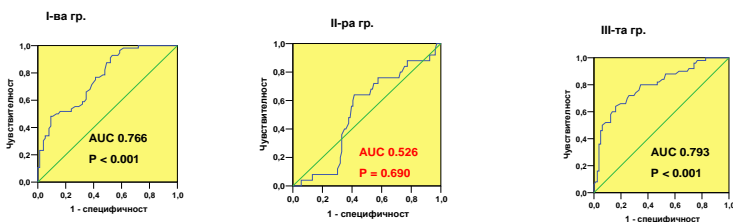


Таблица 20: Прагови стойности и критерии за валидиране на праговете стойности на тромбоцити

Група	Прагови стойности на тромбоцити	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична ефективност (%)
I-ва група-кървене без източник	≤ 121.50	88	51	57	84	66
II-ра група-кървене с източник	-	-	-	-	-	-
III-та група-обичайно кървене	≥ 96.00	82	53	52	83	64

Заклучение:

Показателите на ротационната тромбеластометрия *се различават значимо при пациентите от I-ва група, при които не е открит хирургичен източник на кървене. При пациентите от останалите групи на обичайно кървене и при тези, при които кървенето се е дължало на хирургичен източник, показателите на ROTEM[®] не се различават.*

Резултатите от конвенционалните хемостазни тестове са разнопосочни за трите групи, като само фибриногенът показва значимо пониски стойности при пациентите без източник на кървене. Това заедно с ниската им диагностична надеждност ги определя, като не *надежден метод за разграничаване на групите и причините за кървенето в ранния следоперативен период при пациенти със сърдечни операции под ЕКК.*

Повечето от показателите на *ротационната тромбеластометрия* имат прагови стойности за отдиференциране на разглежданите групи с много висока (до 97%) чувствителност и отрицателна предсказваща стойност, което гарантира високата им диагностична надеждност. *Високата отрицателна предсказваща стойност определя, че пациенти с нормални стойности на показателите на ротационната тромбеластометрия, които имат увеличено кървене в ранния постоперативен период не кървят поради нарушения на хемостазата и е указание за насочване на лечението към хирургична ревизия.*

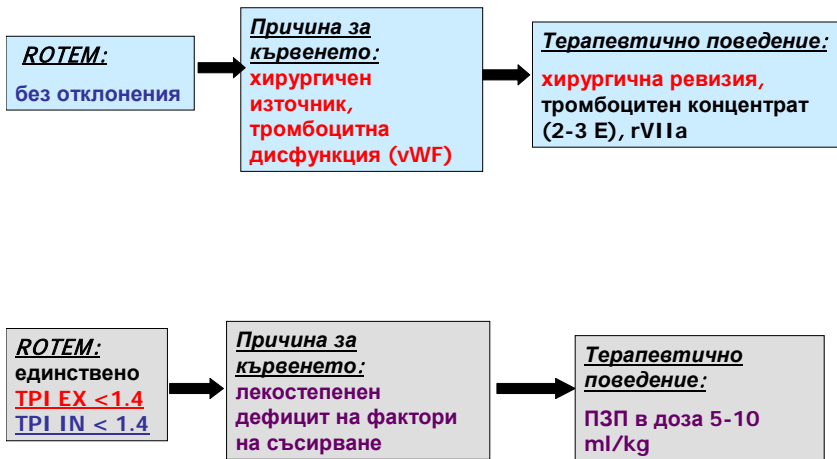
От друга страна определените *прагови стойности* на времето на съсирване (СТ), времето за образуване на съсирека (CFT, α -ъгъл) и неговата здравина (MCF) и *едновременната им интерпретация в тестовете EXTEM, INTEM и FIBTEM, определят с голяма вероятност вида на кръвните компоненти, които са необходими за коригиране на нарушенията на хемостазата* при пациенти със сърдечни операции под ЕКК. Това спомага за избягване на масивно кръвопреливане и до намаляване на нежелани посттрансфузионни реакции.

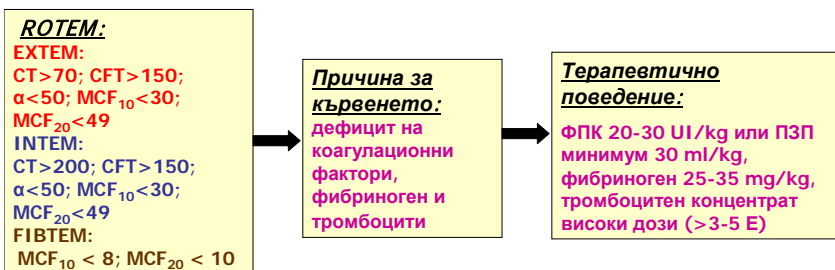
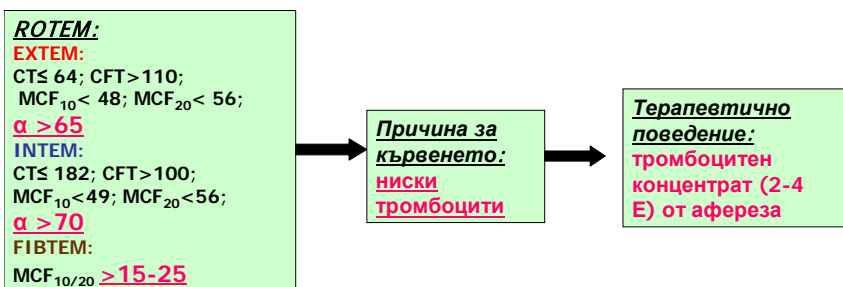
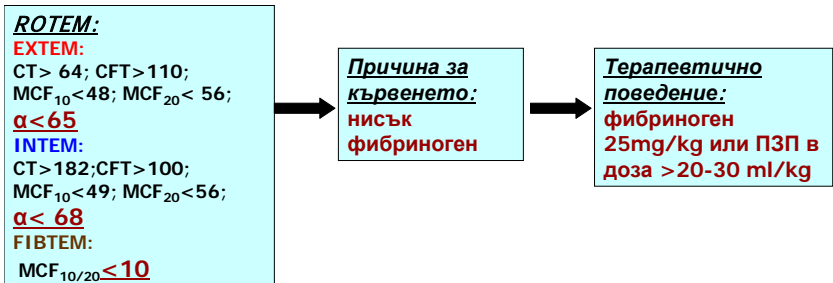
Съпоставимата диагностична стойност на измерването на показателите до 10 минута е от изключително значение за клиничната практика, относно бързината на диагностиката на масивното кървене и адекватно терапевтично поведение.

ДИФЕРЕНЦИАЛНО-ДИАГНОСТИЧЕН АЛГОРИТЪМ НА ХЕМОСТАЗНИТЕ НАРУШЕНИЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕН ПОДХОД ПРИ ПАЦИЕНТИ СЛЕД СЪРДЕЧНИ ОПЕРАЦИИ ПОД ЕКК.

Диференциалната диагноза на хемостазните нарушения и хемотрансфузионния алгоритъм са разработени на база установените от нас диагностична надеждност и прагови стойности на показателите на ротационната тромбеластометрия.

При наличие на клинично значимо кървене и изключени хиперфибринолиза и излишък на хепарин ($ML\ EXTEM < 15\%$; $CT\ HEPTEM/CT\ INTEM < 0.8$) при съответните данни от тромбеластометрията, предлагаме следния диференциално-диагностичен и терапевтичен алгоритъм:

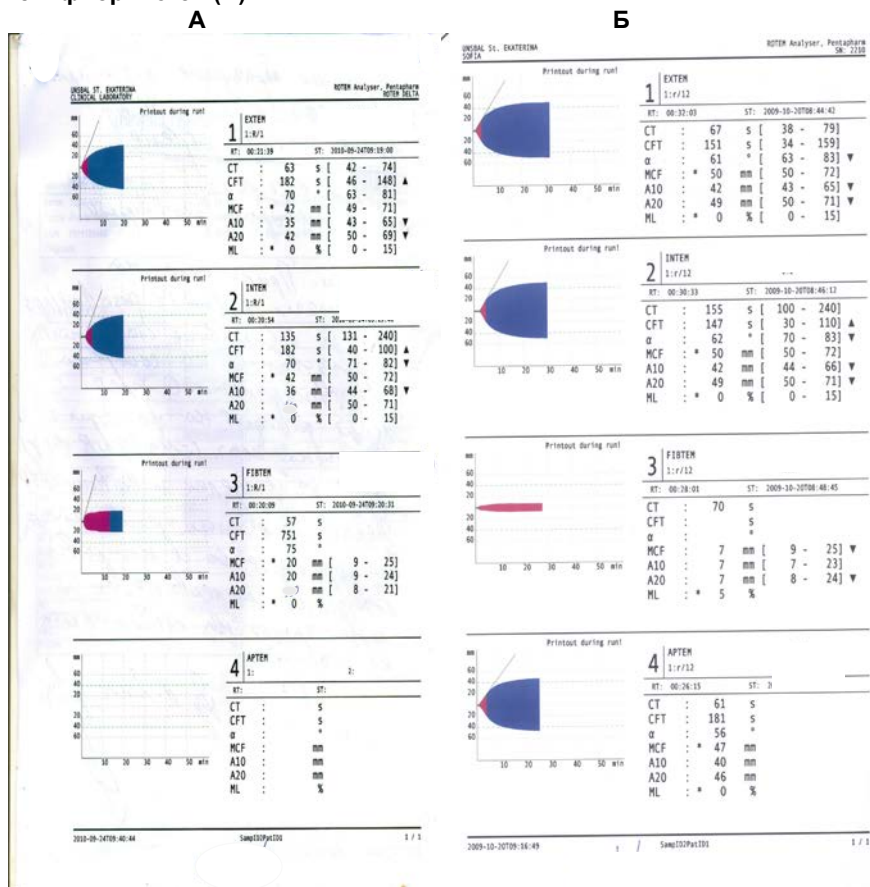




Диагностично-терапевтичния алгоритъм е съобразен с Международните препоръки от 2004-2007 г. на Експертната група по ротационна тромбеластометрия, Международната асоциация по кръвопреливане (International Society of Blood Transfusion - ISBT) и преработените препоръки от международната асоциация на гръдните хирурзи и сърдечно-съдови анестезиолози (25, 37).

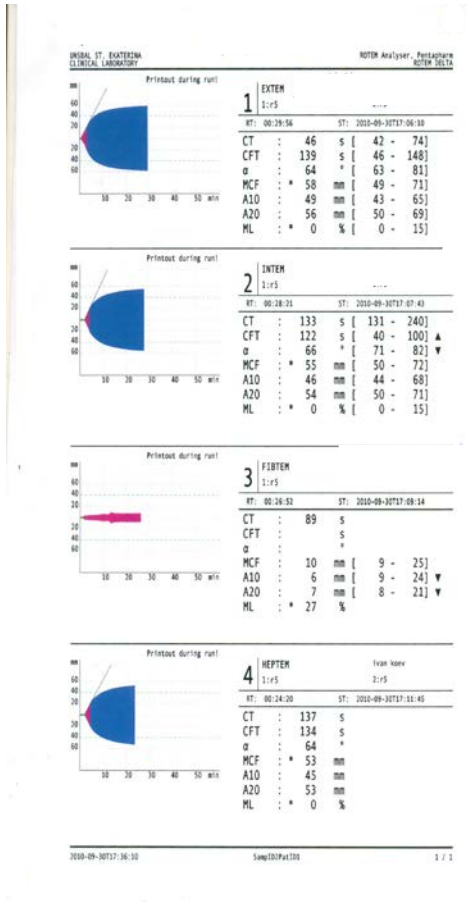
На фигури 23-26 са представени примери за диагностично-терапевтичния алгоритъм.

Фигура 23: Кървене поради нарушено образуване и намалена здравина на съсирека, поради ниски тромбоцити (А) или фибриноген (Б)

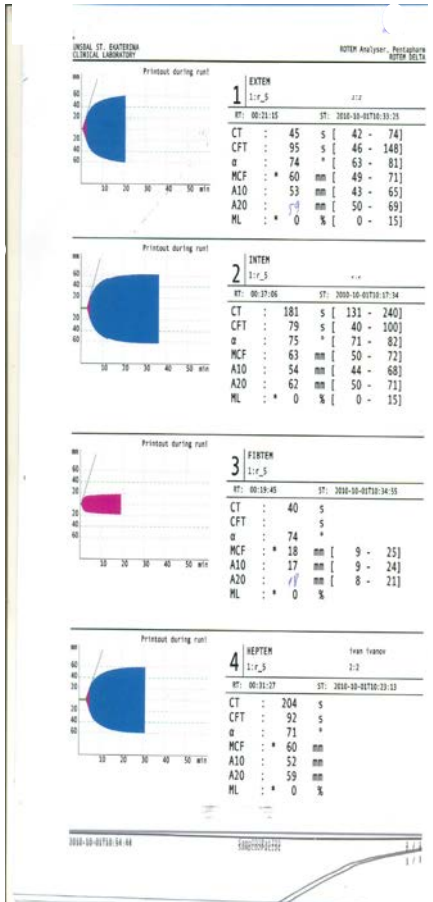


Фигура 24: Кървене поради нисък фибриноген (А). След субституираща терапия с 2 г фибриноген (Haemoscompletan; P CSL Behring GmbH, Germany) и 250 ml ПЗП (5 ml/kg), кървенето е овладяно (Б).

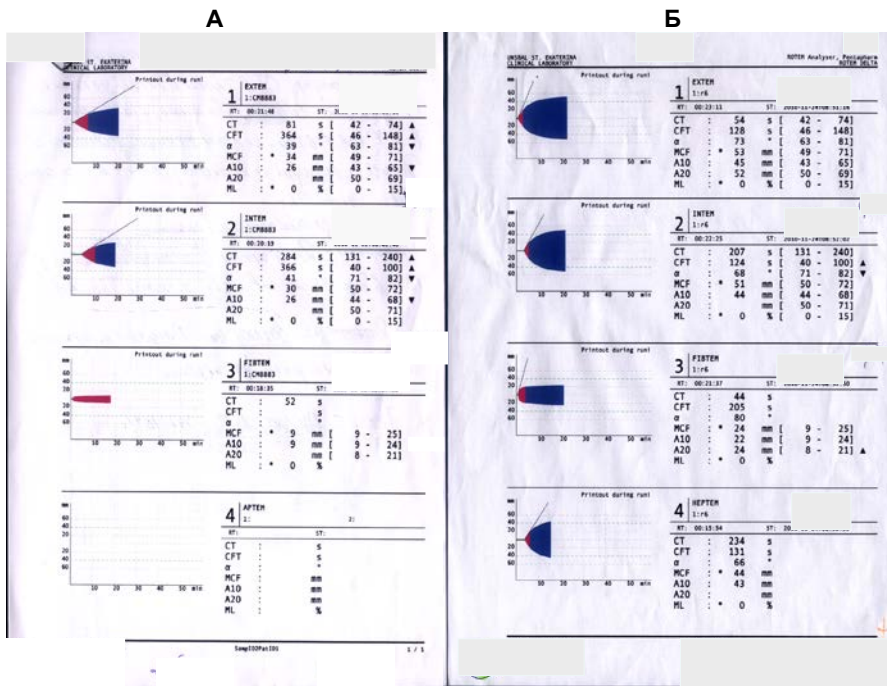
А



Б



**Фигура 25: Масивно кървене (А).
След 1 г фибриноген; 5 единици тромбоцитен концентрат; ПЗП 640 ml
(10 ml/kg): кървенето е намаляло (Б).**



ИЗВОДИ:

1. Показателите на ротационната тромбеластометрия показват значими отклонения при пациенти с масивно кървене вследствие на нарушена хемостаза и определят метода, като подходящ за разграничаване и проследяване на хемостазните нарушения при пациенти след сърдечно-съдови операции под ЕКК.

2. Установените корелации между конвенционалните хемостазни тестове и отделните параметри на ротационната тромбеластометрия ни дават основание да приемем, че ROTEM[®] е подходящ и бърз метод за предприемане на хемотрансфузионна терапия:

2.1. Понижените стойности на MCF и α -ъгъл в EXTEM и в FIBTEM и положителната корелация на тези показатели с фибриногена определят фибриногенов дефицит;

2.2. Повишените стойности на α -ъгъл EXTEM, α -ъгъл FIBTEM и MCF FIBTEM и отрицателната корелация с тромбоцитите при намален MCF EXTEM, определят дефицит на тромбоцити.

3. При пациенти след сърдечно-съдови операции под ЕКК методът ротационна тромбеластометрия показва висока диагностична надеждност за разграничаване нарушенията на хемостазата:

3.1. Високата отрицателна предсказваща стойност на показателите на ROTEM[®] няма връзка с кървене от нарушена хемостаза и е указание за насочване на лечението към хирургична ревизия;

3.2. Изведените прагови стойности и високата диагностична надеждност на времето на съсирване (СТ), времето за образуване на съсирека (CFT, α -ъгъл) и неговата здравина (MCF) и едновременната им интерпретация в тестовете EXTEM, INTEM и FIBTEM, определят с голяма вероятност вида на кръвните компоненти за коригиране на хемостазните нарушения;

3.3. FIBTEM е особено полезен за оценка на количеството, качеството и полимеризацията на фибриноген/ фибрин и има по-висока диагностична надеждност спрямо нивото на фибриногена. Прагови стойности за MCF20 под 11 mm и MCF10 под 10 mm показват висока диагностична надеждност и определят прилагането на фибриногенови концентрати като първа линия за овладяване на масивно кървене при пациенти след сърдечни операции под ЕКК;

4. Стойности на TPI под 1.4 за EXTEM за INTEM с измерване до 20 минута, са с висока диагностична надеждност за нарушена хемостаза, водеща до хеморагична диатеза след ЕКК;

5. Високата диагностична надеждност на измерването на показателите до 10 минута е съпоставима с тази на измерването до 20 минута, което позволява извършване на тромбеластометрията в рамките

на 10 минути. Това е важно за клиничната практика, за бързината на диагностиката и адекватно терапевтично поведение.

6. При проследяването на хемотрансфузионната терапия, показателите на ротационната тромбеластометрия показват по-голяма разлика в абсолютен и относителен план спрямо конвенционалните хемостазни тестове. Това очертава по-добрата диагностична и прогностична стойност на тромбеластометрията при проследяване на хемотрансфузионната терапия в динамика.

7. Високата диагностична надеждност на ротационната тромбеластометрия и бързината на изследването до 10 минута ни дава основание да приемем методът като подходящ за изработването на диагностично-терапевтичен алгоритъм при пациенти след сърдечни операции под ЕКК.

ПРИНОСИ СПОРЕД АВТОРА

1. За първи път у нас е проведено сравнително проучване за приложимостта на метода ротационна тромбеластометрия за оценка на нарушенията на хемостазата при пациенти след сърдечни операции под ЕКК.

2. Направен е сравнителен анализ на групите с кървене по показателите на ротационната тромбеластометрия и конвенционалните хемостазни тестове.

3. Установени са праговите стойности за отдиференциране на типа на кървене и нарушенията на хемостазата.

4. Изчислени и анализирани са критериите за валидиране на тези стойности.

5. За първи път е определена диагностичната надеждност на показателя индекс на тромбодинамичния потенциал (ТPI) на ротационна тромбеластометрия с измерване до 20 минута за откриване на пациенти с нарушения на хемостазата.

6. За първи път у нас са разработени критерии за диференциална диагноза на кървенето и хемостазните нарушения, както и терапевтичен алгоритъм при пациенти след сърдечни операции под ЕКК на база показателите на ротационната тромбеластометрия.

ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ СВЪРЗАНИ С
ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Димитрова А.** Тромбоза-венозна и артериална. Диагностика и поведение., III Национална конференция по трансфузионна терапия, БААТА, 6-7 ноември 2009 г. , Хисаря, Сборник с резюмета, стр.55,
2. **Dimitrova-Karamfilova A.**, Trombelastometry for assessment of hypercoagulation in critically ill cardiac patients. TATM, 11(2), 2010, p-76.
3. **Димитрова-Карамфилова А.**, Царянки Г., Петков Д., Баев Б., Начев Г., Тромбеластография-обзор, Анестезиология и интензивно лечение, год. XL, 2011, кн.1, 27-30.
4. **Димитрова-Карамфилова А.**, Патокова Ю., Соларова-Мутафчиева Т., Петрова И., Начев Г., Мониторинг нарушенията и терапията на хемостазата при пациенти със сърдечно-съдови заболявания и сърдечни операции с ротационна тромбеластография”, IV Национален конгрес по гръдна, сърдечна и съдова хирургия, Правец, 13-15. 05.2011, Сборник с резюмета, стр. 40.
5. **Dimitrova-Karamfilova A.**, Patokova Y., Solarova T., Petrova I., Nachev G., Rotation thromboelastography for assesement of hypercoagulation in patients with cardiovascular diseases” International Congress of Clinical Chemistry an Laboratory Medicine, IFCC-WorldLab and EuroMedLab, 15-19 May 2011, Abstracts book, Special Suppl, pp S1 – S874.
6. **Димитрова-Карамфилова А.**, Патокова Ю., Петрова И., Соларова-Мутафчиева Т., Царянки Г., Петков Д., Баев Б., Начев Г., Ротационна тромбеластография за оценка на нарушенията на хемостазата при пациенти след сърдечни операции”, Анестезиология и интензивно лечение, год. XL, 2011, кн.3, 3-8.
7. **Dimitrova-Karamfilova A.** , Patokova Y., Solarova T., Petrova I., Nachev G., Rotation thromboelastography for assesement of hypercoagulation and thrombosis in patients with cardiovascular diseases, Journal of Life Sciences, 2012, Vol. 6 Issue 1, p. 28-35.
8. **Dimitrova-Karamfilova A.**, Tsaryanski G., Petkov D., Baev B., Nachev G. Rotation Thromboelastometry for the assessment of antithrombotic prevention in patients with Cardiac Assist Device Support. TATM, 12(2), 2012, p-34.