



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών



Εργαστήριο Αξιοπιστίας και Ποιοτικού ελέγχου
στην Εργαστηριακή Αιματολογία

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ ΤΣΑΝΤΕ

**Η ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΜΗΤΕΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗ
ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΜΙΑΣ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗΣ ΣΤΟ ΑΙΜΟΣΤΑΤΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ**

GRADUATE THESIS

Αναστάσιος Ε. Κριεμπάδης

Anastasios E. Kriebardis

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023

**The impact of maternal smoking during pregnancy on hemostatic profile
of neonates using thromboelastometry (ROTEM). A pilot observational
study**



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
GRADUATE THESIS



The impact of maternal smoking during pregnancy on hemostatic profile of neonates using thromboelastometry

Konstantina A. Tsante

19678318

ktsante@yahoo.com/bisc19678318@uniwa.gr

FIRST SUPERVISOR

Anastasios E. Kriebardis

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: *<Γράψτε την ημερομηνία εξέτασης που φαίνεται στο πρόγραμμα>*

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Κος Αναστάσιος Κριεμπάρδης	
2 ^{ος} Εξεταστής	Κος Βασίλειος Μπίρτσας	
3 ^{ος} Εξεταστής	Κα Ευθυμία Παύλου	

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Κωνσταντίνα Α. Τσαντέ του Αργυρίου, με αριθμό μητρώου 19678318 φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Όνομα(τα) φοιτητή(των)

Κωνσταντίνα Α. Τσαντέ

Υπογραφή φοιτητή/των

Ευχαριστίες	vii
Περίληψη:	viii
Abstract	ix
Συντομογραφίες	x
Κεφάλαιο 1. Γενικό μέρος	xi
1.1) Ο μηχανισμός της αιμόστασης – Εισαγωγή	xi
1.2)Κυτταρικός Μηχανισμός της Αιμόστασης	xii
1.2.α) Αιμοπετάλια	xii
1.2.β)Κοκκία αιμοπεταλίων	xiii
1.3) Ενδοθήλιο	xiv
1.4) Πηκτικοί παράγοντες	xv
1.5) Αντιπηκτικοί μηχανισμοί	xvii
1.6) Μηχανισμός Ινωδόλυσης	xvii
Κεφάλαιο 2. Πηκτικές Διαταραχές	xviii
2.1) Εισαγωγή	xviii
2.2) Τραυματισμός των ιστών	xix
2.3) Τραυματισμός του ενδοθηλίου	xix
2.4) Διαταραχές λειτουργικότητας αιμοπεταλίων	xx
2.5)Δυσλειτουργία στην παραγωγή θρομβίνης	xx
2.6)Κατανάλωση ινωδογόνου	xxi
2.7) Ινωδολυτικές διαταραχές	xxii
Κεφάλαιο 3. Οι Ιξωδοελαστικές Εξετάσεις	xxiii
3.1) Εισαγωγή	xxiii
3.2) Περιστροφική Θρομβοελαστομετρία	xxiv
3.3) Τεχνικές περιστροφικής θρομβοελαστομετρίας	xxv
3.4)Παράμετροι περιστροφικής θρομβοελαστομετρίας	xxvii
3.6)Παράμετροι ισχύος του θρόμβου	xxix
3.7)Παράμετροι διάλυσης του θρόμβου	xxix
3.8) Τα όρια των ιξωδοελαστικών εξετάσεων	xxx
Κεφάλαιο 4.Η επίδραση του καπνίσματος στην αιμόσταση	xxx
4.1)Γενικά	xxx
4.2) Παθοφυσιολογία του πηκτικού μηχανισμού στους καπνιστές	xxxii
4.3) Ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων στους καπνιστές	xxxii

4.4) Μελέτες «turnover» στα αιμοπετάλια	xxxiii
4.5) Σύγκριση των μεταβολών σχετιζόμενες με θρόμβωση σε καπνιστές και μη-καπνιστές	xxxiii
4.6) Η επιρροή του καπνίσματος στους αιμοστατικούς παράγοντες στις γυναίκες	xxxiv
4.7) Συμπεράσματα για τις επιπτώσεις του καπνίσματος στον πηκτικό μηχανισμό	xxxv
Κεφάλαιο 5. Το κάπνισμα κατά την εγκυμοσύνη και η επίδραση του στο αιμοστατικό προφίλ των νεογνών.	xxxv
5.1) Μέθοδοι	xxxv
5.2) Κριτήρια επιλογής συμμετεχόντων στην μελέτη	xxxv
5.3) Μεταβλητές και μετρήσεις της μελέτης	xxxvi
5.4) Στατιστική Ανάλυση	xxxvi
5.4) Αποτελέσματα	xxxvii
5.5) Παράμετροι ROTEM	xxxviii
5.6) Πειραματική μελέτη	xxxviii
5.7) Συμπεράσματα	xli
Βιβλιογραφία	xli

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ τους γονείς μου και την οικογένεια μου που με στήριξαν στην ακαδημαϊκή μου πορεία. Ευχαριστώ τους καθηγητές μου για την καθοδήγηση τους σε όλα μου τα χρόνια στο πανεπιστήμιο.

Περίληψη:

Εισαγωγή : Στους ενήλικες η αρνητική επίπτωση του καπνίσματος στον μηχανισμό της αιμόστασης είναι σαφώς καθιερωμένη. Παρόλα αυτά, τα στοιχεία συνδεδεμένα με το αιμοστατικό προφίλ νεογνών , τα οποία είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα κατά την κύηση, είναι περιορισμένα. Αυτή η μελέτη έχει ως στόχο να διερευνήσει την επιρροή της προγεννητικής έκθεσης στον καπνό, στο αιμοστατικό προφίλ των νεογνών με την χρήση της περιτροφικής θρομβοελαστομετρίας.

Μέθοδοι: Αυτή η μελέτη παρατήρησης περιελάμβανε 92 υγιή τελειόμηνα νεογνά, τα οποία γεννήθηκαν στο μαιευτήριο του Γενικού Κρατικού νοσοκομείου της Νίκαιας σε μία περίοδο πέντε (5) ετών. Τα νεογνά διαχωρίστηκαν σε δυο (2) ομάδες:σε νεογνά με μητέρες οι οποίες κάπνιζαν καθόλη την διάρκεια της κύησης τους και σε νεογνά με μητέρες οι οποίες δεν κάπνιζαν.Τα νεογνά είχαν αντιστοιχία 1:1 όσον αφορά την ηλικία κύησης , τον τρόπο τοκετού και το φύλο.Η Περιτροφική θρομβοελαστομετρία πραγματοποιήθηκε κατά την 2^η-3^η ημέρα ζωής.

Αποτελέσματα: Η πολυπαραγοντική παλινδρόμηση έδειξε ότι το κάπνισμα κατά την κύηση είναι συσχετισμένο με την επιταχυμένη ενεργοποίηση της πήξης στα νεογνά, η οποία εκφράζεται από μικρότερο EXTEM CT (συντελεστής -8.68, 95% ,CI: -13.51- -3,85 p=0.001) ενώ ταυτόχρονα καμία συσχέτιση δεν έχει βρεθεί με τις υπόλοιπες παραμέτρους της περιτροφικής θρομβοελαστομετρίας.

Συμπεράσματα: Το κάπνισμα κατά την εγκυμοσύνη οδηγεί σε υπερπηκτικό προφίλ των νεογνών το οποίο εκφράζεται με μικρότερο ROTEM CT. Η προγεννητική έκθεση στον καπνό φαίνεται να ένας επιβαρυντικός παράγοντας για το αιμοστατικό προφίλ των νεογνών.

Λέξεις κλειδιά: Νεογνά, Κάπνισμα , προγεννητική έκθεση στον καπνό , περιτροφική θρομβοελαστομετρία

Abstract

Introduction: In adults, the negative effect of smoking on hemostasis has been well established. Contrarily, data regarding the hemostatic status of neonates exposed to tobacco during pregnancy are limited. This study aimed to investigate the influence of antenatal tobacco exposure on the hemostatic profile of neonates using Thromboelastometry (ROTEM)

Method: This observational study included ninety-two (92) healthy full-term neonates born in the maternity wing of the General Hospital of Nikaia over five year period. The neonates were categorized in two groups: neonates born to mothers who reported smoking during the entire pregnancy and neonates born to non-smoking mothers. Neonates were matched 1:1 with regards to gestational age, delivery mode and gender. ROTEM EXTEM assay was performed on the 2nd-3rd day of life and clotting time (CT); clot formation time (CFT); clot amplitude recorded at 10 and 30 min (A10, A30); α angle (α°); maximum clot firmness (MCF, mm); lysis index at 30 and 60min (LI30, LI60 %) ; maximum clot elasticity (MCE), were measured.

Results: Neonates with antenatal exposure to tobacco had shorter CT ($p < 0,001$) and CFT ($p = 0,035$), higher A10 ($p = 0,043$), A30 ($p = 0,028$) and MCE ($p = 0,028$) compared to those not exposed to tobacco during pregnancy. The multivariable regression analysis adjusted for gestational age, gender, birth weight and delivery mode showed that maternal tobacco use during pregnancy is associated with an accelerated activation of coagulation in neonates expressed by shorter EXTEM CT values (coefficient: -8.68, 95%, CI: -13.51- -3.85, $p = 0,001$) while no association was found with the remaining ROTEM parameters.

Discussion: Smoking during pregnancy results in a hypercoagulable profile of neonates, expressed by shorter ROTEM CT. Antenatal exposure to tobacco appears to be an aggravating factor for the hemostatic status of neonates.

Key words: Neonates, tobacco, antenatal exposure to tobacco, ROTEM

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
ROTEM	Rotational Thromboelastometry	Περιστροφική Θρομβοελαστομετρία
CT	Clotting Time	Χρόνος Πήξης
CFT	Clotting Formation Time	Χρόνος Σχηματισμού Θρόμβων
MCF	Maximum Clot Firmness	Μέγιστη Ισχύς Θρόμβου
MCE	Maximum Clot Elasticity	Μέγιστη Ελαστικότητα Θρόμβου
LT	Lysis Time	Χρόνος Λύσης
GP	Glycoproteins	Γλυκοπρωτεΐνες
ΔΕΠ		Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη
ΕΠΤ		Ενδοθηλιοπάθεια του τραύματος
ΔΠΤ		Διαταραχή της πήξης λόγω τραύματος
TLR4	Toll like receptor 4	
VWD	Von Willebrand Disease	Νόσος Von Willebrand
VWF	Von Willebrand Factor	Παράγοντας Von Willebrand
A20	Amplitude at 20 minutes	Πλάτος στα 20 λεπτά
A10	Amplitude at 10 minutes	Πλάτος στα 10 λεπτά
A5	Amplitude at 5 minutes	Πλάτος στα 5 λεπτά

Κεφάλαιο 1. Γενικό μέρος

1.1) Ο μηχανισμός της αιμόστασης – Εισαγωγή

Ως αιμόσταση ορίζεται ένας φυσιολογικός ομοιοστατικός μηχανισμός, ο οποίος περιλαμβάνει ένα σύνολο αντιδράσεων σε επίπεδο βιοχημικό και κυτταρολογικό, με στόχο την αποκατάσταση της συνέχειας του αγγείου και την επίσχεση της αιμορραγίας. Στην δράση του μηχανισμού αυτού εμπλέκονται διάφορα διαφορετικά στοιχεία του αίματος όπως οι παράγοντες πήξης, τα αιμοπετάλια, τα κύτταρα των τοιχωμάτων των αγγείων, το σύστημα ινωδογόνου- ινικής και των αναστολέων πρωτεάσης σερίνης.

Διαταραχές στον αιμοστατικό μηχανισμό δύναται να οδηγήσει σε σοβαρές επιπλοκές. Αιμορραγίες και θρομβώσεις είναι αποτελέσματα της επίπτωσης διαταραχών στον πηκτικό μηχανισμό, όπου ανεπαρκούν ή δεν λειτουργούν σωστά ορισμένα στοιχεία του μηχανισμού. Αυτό είναι δυνατόν να συμβεί στο πλαίσιο παθήσεων ή σε καταστάσεις όπως τραυματισμοί ή χειρουργικές επεμβάσεις. Επιπρόσθετα η αιμόσταση ταξινομείται σε δύο (2) κύριες κατηγορίες: την πρωτογενή και την δευτερογενή αιμόσταση, ενώ διαθέτει τρία στοιχεία: το αγγειακό σύστημα, τα κυτταρικά στοιχεία και τα μη κυτταρικά στοιχεία.

- Το αγγειακό σύστημα περιλαμβάνει κύτταρα του ενδοθηλίου, λείες μυϊκές ίνες και συνδετικό ιστό.
- Τα κυτταρικά στοιχεία περιλαμβάνουν τα αιμοπετάλια, τα κοκκιοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα.
- Τα μη-κυτταρικά στοιχεία περιλαμβάνουν τους παράγοντες πήξης, το ινωδολυτικό σύστημα, τους αναστολείς πρωτεάσης σερίνης και το σύστημα του συμπληρώματος.

Κατά την λύση της επιφάνειας του αγγείου τα ανωτέρω στοιχεία συνεργάζονται και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους προκειμένου να σταματήσει η αιμορραγία και εν συνεχεία να αφαιρεθεί ο θρόμβος που σχηματίστηκε από την αιματική κυκλοφορία. Επιπλέον, όλα αυτά τα συστατικά έχουν ρόλο σε διεργασίες όπως η αγγειογένεση και η επούλωση τραυμάτων. Η διαδικασία αυτή ελέγχεται από αρκετούς παράγοντες. Για να διακοπεί μια αιμορραγία, έπειτα από αγγειακό τραυματισμό, συμβαίνουν τρεις διαδοχικές εργασίες:

- 1) Αγγειοσυστολή
- 2) Σχηματισμός αιμοπεταλιακού θρόμβου
- 3) Πήξη του αίματος

Η αγγειοσυστολή είναι η πρώτη διεργασία που συμβαίνει μετά την λύση της επιφάνειας του αγγείου. Λαμβάνει χώρα στα λεία μυϊκά κύτταρα του τοιχώματος του αγγείου, χάρις την διέγερση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Αυτό συνεπάγεται μειωμένη αιματική ροή με αποτέλεσμα την μείωση της απώλειας αίματος στην περιοχή του τραύματος. Εν συνεχεία τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στο υποενδοθήλιο του αγγείου στο σημείο του τραύματος. Εν μέσω αυτής της διεργασίας τα αιμοπετάλια αλλάζουν σχήμα και απελευθερώνονται κόκκινα αιμοπεταλίων. Μέσα από αυτή την διαδικασία τα αιμοπετάλια συνεχίζουν να ενεργοποιούνται και να προσκολλώνται στο αγγειακό τοίχωμα έως ότου να σχηματιστεί θρόμβος αιμοπεταλίων. Στην πραγματικότητα, σε έναν αγγειακό τραυματισμό το κολλαγόνο τύπου I και τύπου III εκτίθενται στην κυκλοφορία, έχοντας ως συνέπεια να προκαλούν προσκόλληση και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Το κολλαγόνο είναι το κύριο στοιχείο του υποενδοθηλίου το οποίο επιτρέπει τα αιμοπετάλια να προσκολληθούν. Τα αιμοπετάλια προσκολλούνται στο υποενδοθηλιακό κολλαγόνο μέσω δυο γλυκοπρωτεϊνών οι οποίες λειτουργούν ως οι δύο κύριοι υποδοχείς του κολλαγόνου των αιμοπεταλίων.

1.2) Κυτταρικός Μηχανισμός της Αιμόστασης

Με βάση το κυτταρικό μοντέλο του αιμοστατικού μηχανισμού, τα κύτταρα συμμετέχουν ενεργά στην ομαλή διεξαγωγή των πηκτικών διεργασιών. Σημαντική ρόλο επίσης κατέχουν σχηματισμοί όπως, λιπίδια και κυτταρικοί υποδοχείς. Τα κύτταρα του μοντέλου χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ρόλος των αιμοπεταλίων είναι η προσκόλληση στο σημείο λύσης της συνέχειας του αγγειακού τοιχώματος και ελέγχουν τον ρυθμό με τον οποίο παράγεται η θρομβίνη. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν αντιπηκτικό ρόλο με στόχο ο πηκτικός μηχανισμός να δράσει μόνο στο σημείο του τραυματισμού. Μία διαταραχή της αιμόστασης επομένως, μπορεί να οφείλεται και σε κυτταρικά αίτια, δηλαδή απορύθμιση της λειτουργίας των κυττάρων της αιμόστασης. Αυτό συμβαίνει γιατί οι μηχανισμοί της αιμορραγίας και της πήξης ελέγχονται και ρυθμίζονται και από κύτταρα και όχι μονάχα τα μοριακά στοιχεία του αίματος (πρωτεΐνες, λιπίδια).

1.2.α) Αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια είναι απύρηνα κύτταρα τα οποία συμμετέχουν σε πολλές κατεργασίες που λαμβάνουν χώρα στον οργανισμό, όπως η αγγειογένεση, η ανοσολογική απόκριση και

η δημιουργία φλεγμονής. Σε συνθήκες φυσιολογικές, δεν αλληλεπιδρούν με το αγγειακό τοίχωμα, ωστόσο κατά τον τραυματισμό του αγγειακού τοιχώματος έρχονται σε επαφή με την υποενδοθηλιακή εξωκυττάρια επιφάνεια του αγγείου. Μέσω της προσκόλλησης τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται και παράγουν κοκκία. Τα αιμοπετάλια αρχικά προσδένονται στην επιφάνεια του τραύματος, ενεργοποιούνται και σταθερά συνεχίζεται η προσκόλληση τους στην επιφάνεια του αγγειακού τοιχώματος.

Σημαντικό και ενεργό ρόλο στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων έχει το κολλαγόνο I και III. Η αρχική προσκόλληση συμβαίνει λόγω της αλληλεπίδρασης της γλυκοπρωτεΐνης GPIb/V/IX με τον παράγοντα Von Willebrand. Εν συνεχεία η γλυκοπρωτεΐνη GPIa/IIa έχει σημαντικό ρόλο στην διεργασία της προσκόλλησης. Επιπρόσθετα, συνδέεται με το κολλαγόνο και δίνει έναυσμα για την έναρξη ενδοκυτταρικών διαδικασιών, την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την σταθερή προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο υποενδοθήλιο. Η αλληλεπίδραση της γλυκοπρωτεΐνης GPIa/IIa με το κολλαγόνο ενεργοποιεί την γλυκοπρωτεΐνη GPIa/IIIa. Αυτή η γλυκοπρωτεΐνη σε αδρανή μορφή δεν αλληλεπιδρά με το ινωδογόνο, αλλά κατά την ενεργοποίησή της, υπόκεινται σε δομικές αλλαγές, οι οποίες την καθιστούν ικανή να δεσμεύει το ινωδογόνο. Το τελικό στάδιο των διεργασιών σύνδεσης είναι η σταθερή προσκόλληση των αιμοπεταλίων στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία των αγγείων. Έπειτα από την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, την ενεργοποίησή της GPIa/IIIa και την απελευθέρωση αγωνιστών των αιμοπεταλίων, τα αιμοπετάλια συγκεντρώνονται και τελικά σχηματίζεται ο αιμοστατικός αιμοπεταλιακός θρόμβος.

Επιπρόσθετα τα αιμοπετάλια έχουν άμεσο ρόλο στην καταστροφή παθογόνων μικροοργανισμών στο αίμα.

1.2.β) Κοκκία αιμοπεταλίων

Ταυτόχρονα με την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, ενεργοποιείται η απελευθέρωση διαμεσολαβητών όπως η διφωσφορική αδενοσίνη, η θρομβίνη και οι προσταγλανδίνες. Τα αιμοπετάλια διαθέτουν δύο τύπους ενδοκυττάρια κοκκίων, τα α-κοκκία και τα πυκνά κοκκία, τα οποία είναι οργανίδια που ανευρίσκονται μόνο στα αιμοπετάλια. Τα κοκκία των αιμοπεταλίων έχουν ενεργό ρόλο σε διάφορες λειτουργίες του οργανισμού, όπως η αιμόσταση, η φλεγμονή και της αγγειογένεσης. Οι περισσότερες από αυτές τις λειτουργίες σχετίζονται με τα α-κοκκία. Τα περισσότερα α-κοκκία συντίθενται στα μεγακαρυοκύτταρα. Στοιχεία όπως ινωδογόνο, παράγοντας V, αλβουμίνη και ανοσοσφαιρίνες συλλαμβάνο-

νται και ενδοκυτταρόνωνται από τα αιμοπετάλια της κυκλοφορίας του αίματος και μεταφέρονται στα νεοσύστατα α-κοκκία. Με αυτόν τον τρόπο τα αιμοπετάλια αποκτούν ρόλο αποθηκευτικού χώρου για αυτά τα στοιχεία, τα οποία μπορούν να απελευθερώσουν άμεσα μετά την ενεργοποίησή τους.

Τα α-κοκκία απελευθερώνονται αμέσως μετά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και έχουν ενισχυτικό ρόλο στους μηχανισμούς της αιμόστασης και της φλεγμονής. Επιπλέον περιέχουν εύλογη ποσότητα μορίων Ρ-σελεκτίνης. Μετά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων τα α-κοκκία μεταφέρονται στην Επιφάνεια τους όπου αλληλεπιδρούν με τα υπόλοιπα κύτταρα του αιμοστατικού μηχανισμού.

Τα πυκνά κοκκία περιέχουν σεροτονίνη και νουκλεοτίδια αδενίνης τα οποία συμμετέχουν σε πολλές διεργασίες όπως η παραγωγή κυτταρικών, η αγγειοσυστολή και η συσσώρευση αιμοπεταλίων. Περιέχουν λιγότερα λυσοσωμάτια σε σύγκριση με τα α κοκκία και έχουν ένζυμα που σχετίζονται με την αποικοδόμηση λιπιδίων, υδατανθράκων και πρωτεϊνών. Τα ένζυμα αυτά επιπλέον συμμετέχουν στην καταστροφή παθογόνων μικροοργανισμών, θρόμβων και στην αδρανοποίηση της ηπαρίνης.

Μετά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων φωσφολιπίδια ανέρχονται και είναι εκτεθειμένα στην επιφάνεια τους. Εν συνεχεία απελευθερώνεται παράγοντας V ο οποίος περιέχεται στα α-κοκκία και συνδέεται με τα φωσφολιπίδια της επιφάνειας του αιμοπεταλίου. Στο σημείο του τραύματος παράγεται ιστικός παράγοντας και παράγοντας VII οι οποίοι αλληλεπιδρούν μεταξύ τους για να παραχθεί θρομβίνη, η οποία με την σειρά της ενεργοποιεί τον παράγοντα V. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας V με την σειρά του σε συνδυασμό με τον ενεργοποιημένο παράγοντα X, ασβέστιο και φωσφολιπίδια σχηματίζουν το σύμπλεγμα προθρομβίνης το οποίο μετατρέπει την προθρομβίνη σε θρομβίνη. Αυτό συνεπάγεται την αυξημένη παραγωγή της στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, η οποία είναι περιορισμένη στο σημείο του τραύματος.

1.3) Ενδοθήλιο

Το ενδοθήλιο είναι συστατικό του αγγειακού συστήματος, έχει ρυθμιστικό ρόλο στην αιμόσταση και ανταποκρίνεται σε εξωτερικά ερεθίσματα. Το ενδοθήλιο περιέχει περίπου έξι χιλιάδες κύτταρα (6000) τα οποία επιτελούν διάφορες διεργασίες όπως η προσκόλληση των κυττάρων, η αγγειακή φλεγμονή, η ρύθμιση του αγγειακού τόνου και ο ομαλός πολ-

λαπλασιασμός των μυϊκών κυττάρων. Το ενδοθήλιο έχει την ικανότητα να απαντά σε αγγειοδραστικούς παράγοντες, αλλάζοντας την διάμετρο των αγγείων και ρυθμίζοντας με αυτόν τον τρόπο την αιματική ροή σε αυτά.

Τα κύτταρα του ενδοθηλίου συμμετέχουν ενεργά στην ανάπτυξη θρόμβων και είναι στενά συνυφασμένα με τον καταρράκτη της πήξης. Όσο τα ενδοθηλιακά κύτταρα παραμένουν ανεπηρέαστα εκφράζουν αναστολείς σύνθεσης και ενεργοποίησης της θρομβίνης. Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν ιστικό παράγοντα ως ανταπόκριση στον τραυματισμό του αγγείου και στην φλεγμονή, συμμετέχοντας με αυτόν τον τρόπο ενεργά στο εξωγενές μονοπάτι της πήξης. Επιπλέον συμμετέχει στην ρύθμιση σχηματισμού του θρόμβου ως απάντηση σε προπηκτικά ερεθίσματα.

Το ακέραιο ενδοθήλιο αποτρέπει την ενεργοποίηση και την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και με αυτόν τον τρόπο καταστέλλει την δημιουργία θρόμβου. Επιπρόσθετα εκφράζει αρκετές αντιπηκτικές πρωτεΐνες όπως τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI), την θρομβομοντουλίνη, τον ενδοθηλιακό υποδοχέα της πρωτεΐνης C και πρωτεογλυκανικά μόρια που μοιάζουν με την ηπαρίνη (ηπαρινοειδή). Ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα αναστέλλει άμεσα τον ενεργοποιημένο παράγοντα X και αναστέλλει με αυτόν τον τρόπο τον πηκτικό καταρράκτη. Ο ενδοθηλιακός υποδοχέας της πρωτεΐνης C και η θρομβομοντουλίνη είναι καταλυτικοί παράγοντες για την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C μέσω της θρομβίνης. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C με την σειρά της αδρανοποιεί τους ενεργοποιημένους παράγοντες V και VIII και συνεπάγεται σε ελαττωμένο σχηματισμό θρομβίνης.

Τέλος τα κύτταρα του ενδοθηλίου απελευθερώνουν πρωτεολυτικά μόρια όπως οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου και οι μεταλλοπρωτεάσες συμμετέχοντας ενεργά με αυτόν τον τρόπο στην διάλυση του θρόμβου.

1.4) Πηκτικοί παράγοντες

Ο πηκτικός μηχανισμός είναι ένας ακριβής και πολύπλοκος μηχανισμός ο οποίος ενεργοποιείται δίκην καταρράκτη και για αυτό είναι γνωστός ως ο καταρράκτης της πήξης. Ο καταρράκτης της πήξης έχει ως στόχο την δημιουργία θρόμβου ο οποίος θα αποτρέψει την απώλεια αίματος. Φυσιολογικά, ο καταρράκτης της πήξης αντισταθμίζεται από αντιπηκτικούς μηχανισμούς. Σε καταστάσεις κληρονομικών ή επίκτητων διαταραχών υπάρχει περίπτωση οι ρυθμιστικοί αυτοί μηχανισμοί να απορυθμιστούν, οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο σε παθολογικές καταστάσεις όπως η θρόμβωση. Ένας τραυματισμός στο αγγειακό τοίχωμα οδηγεί σε έκθεση του ιστικού παράγοντα στην αιματική κυκλοφορία, γεγονός που οδη-

γεί σε παραγωγή ορισμένης ποσότητας θρομβίνης και σε ενεργοποίηση του ιστικού καταρράκτη. Η θρομβίνη πλέον θεωρείται ως το σημαντικότερο ένζυμο του πηκτικού καταρράκτη καθώς επιτελεί δύο πολύ σημαντικές λειτουργίες, την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την μετατροπή του ινωδογόνου σε ινική.

Ο πηκτικός μηχανισμός μπορεί να χαρακτηριστεί από δύο ξεχωριστά αλλά ταυτόχρονα αλληλεπιδρώντα μονοπάτια, το εξωγενές και το ενδογενές μονοπάτι της πήξης. Το εξωγενές μονοπάτι φέρει αυτόν τον χαρακτηρισμό σε αυτό δρα ένα εξωτερικό στοιχείο, ο ιστικός παράγοντας. Το μονοπάτι αρχίζει μετά την δημιουργία ενός συμπλόκου ανάμεσα στον ενεργοποιημένο παράγοντα VII και στον ιστικό παράγοντα. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας VII συναντάται σε μικρή συγκέντρωση στην κυκλοφορία και κατά κύριο λόγο στο υποενδοθήλιο των αγγείων. Το σύμπλοκο που δημιουργεί με τον ιστικό παράγοντα ονομάζεται εξωγενές σύμπλοκο τενάσης το οποίο ενεργοποιεί τους παράγοντες X και IX (Xa και IXa). Εν συνεχεία οι ενεργοποιημένοι παράγοντες X και V δημιουργούν το σύμπλοκο της θρομβίνης το οποίο αναδιαμορφώνει την προθρομβίνη σε θρομβίνη. Η θρομβίνη με την σειρά της μετατρέπει το ινωδογόνο σε μονομερή ινώδους τα οποία δεν είναι σταθεροποιημένα και για να σταθεροποιηθούν πολυμερίζονται από τον ενεργοποιημένο παράγοντα XIII.

Στο ενδογενές μονοπάτι της πήξης όλα τα απαιτούμενα στοιχεία ανευρίσκονται στο αίμα γεγονός το οποίο συνεπάγεται την έναρξη του μονοπατιού μετά από επαφή του αίματος με επιφάνεια αρνητικά φορτισμένη. Στο μονοπάτι αυτό συμμετέχουν αρκετές πρωτεΐνες όπως ο παράγοντας XII ο οποίος ενεργοποιείται από επιφάνειες φορτισμένες αρνητικά. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας XII αναδιαμορφώνει την προκααλικρεΐνη σε καλλικρεΐνη της οποίας ρόλος είναι η μετατροπή μεγαλύτερης ποσότητας XII σε ενεργοποιημένο XII, ενώ ταυτόχρονα συμμετέχει στην ενεργοποίηση του πλασμινογόνου και του t-PA. Ο ενεργοποιημένος XII με την σειρά του μετατρέπει τον XI σε ενεργοποιημένο XI. Αποτέλεσμα των παραπάνω διεργασιών είναι η αποτροπή σχηματισμού θρόμβου σε υγιείς περιοχές με την δημιουργία πλασμίνης. Μετέπειτα ο ενεργοποιημένος παράγοντας XI σε συνδυασμό με ιόντα ασβεστίου (Ca^{+2}) ενεργοποιεί τον παράγοντα IX. Τελευταίο στάδιο είναι η ενεργοποίηση του παράγοντα X από το σύμπλοκο τενάσης. Η συνέχεια του μονοπατιού είναι κοινή και για το ενδογενές και για το εξωγενές μονοπάτι της πήξης και είναι γνωστή ως κοινή οδός.

Νεότερες έρευνες διαχωρίζουν τον πηκτικό μηχανισμό σε τρία στάδια:

- Το στάδιο της έναρξης το οποίο αρχίζει με την επαφή του ιστικού παράγοντα με τους πηκτικούς παράγοντες ύστερα από σχηματισμό τραύματος ή ενεργοποίησης του ενδοθηλίου. Τα κύτταρα του ενδοθηλίου έχουν την ικανότητα να ανταποκριθούν σε φλεγμονώδη ερεθίσματα με την έκκριση ιστικού παράγοντα. Ο χρόνος διάρκειας του σταδίου έναρξης είναι εξαρτημένος από την ποσότητα του συμπλέγματος του ιστικού παράγοντα και του ενεργοποιημένου παράγοντα VIII και του αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα.
- Το στάδιο της ενίσχυσης έχει αφετερία τον σχηματισμό του ενδογενούς συμπλόκου της τενάσης το οποίο αποτελείται από τους ενεργοποιημένους παράγοντες IX και VIII και ανευρίσκεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων παρουσία Ca^{+2} . Το ενδογενές σύμπλοκο εν συγκρίσει με το εξωγενές σύμπλοκο τενάσης ενεργοποιεί τον παράγοντα X έως και εκατό φορές περισσότερο. Η θρομβίνη που δημιουργείται στο αρχικό στάδιο ενεργοποιεί περισσότερη ποσότητα παραγόντων VIII και V οι οποί-

οι έχουν ενεργό ρόλο στο σύμπλοκο προθρομβίνης. Ο παράγοντας IX μετατρέπει τον παράγοντα X σε ενεργοποιημένο παράγοντα X ο οποίος επιταχύνει την μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη. Με αυτό τον τρόπο εξασφαλίζεται η παραγωγή αρκετής ποσότητας θρομβίνης για να δημιουργηθεί ένας σταθερός θρόμβος.

- Στο τρίτο στάδιο, αυτό της επέκτασης, αιμοπετάλια τα οποία έχουν ενεργοποιηθεί συγκεντρώνονται στην τραυματισμένη επιφάνεια και σχηματίζουν μια επιφάνεια φωσφολιπιδίων για τις πηκτικές διεργασίες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή θρομβίνης η οποία μετασχηματίζει το ινωδογόνο σε ινώδες. Το σταθερό πολυμερές του ινώδους δημιουργείται με τον σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών ανάμεσα στα μονομερή του, οι οποίοι σχηματίζονται από τον εμνεργοποιημένο παράγοντα XIII ο οποίος έχει ενεργοποιηθεί από την θρομβίνη.

1.5) Αντιπηκτικοί μηχανισμοί

Τελευταίο βήμα στο μονοπάτι της πήξης είναι η δημιουργία θρόμβου ινικής. Είναι πλέον σαφές ότι είναι αναγκαία η ύπαρξη φυσικών αντιπηκτικών μηχανισμών προκειμένου οι πηκτικές διεργασίες να εκτελούνται μόνο στην περιοχή του τραύματος.

Μια από τις κυριότερες αντιπηκτικές πρωτεΐνες είναι η αντιθρομβίνη (AT), η οποία ανήκει στην κατηγορία των πρωτεασών σερίνης και είναι ο κύριος αναστολέας της θρομβίνης. Επιπλέον έχει ανασταλτική δράση και στον ενεργοποιημένο X και VII. Η δράση της αυξάνεται με την ηπαρίνη καθώς η θρομβίνη αναστέλλεται ειδικά και από τον συμπάγοντα II της ηπαρίνης, ο οποίος ανήκει στην ίδια κατηγορία πρωτεασών με την αντιθρομβίνη. Επιπρόσθετα, η α_1 -αντιθρυψίνη και η β_2 -μικροσφαιρίνη δρουν ως αναστολείς της θρομβίνης ενώ ταυτόχρονα ελαττώνουν την δράση της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C. Στην ίδια κατηγορία πρωτεασών με την αντιθρομβίνη ανήκει επιπλέον και η πρωτεΐνη C, η οποία είναι εξαρτώμενη από την βιταμίνη K. Μετά την ενεργοποίηση της η πρωτεΐνη C δρα ως ισχυρό αντιπηκτικό αποδομώντας τους ενεργοποιημένους παράγοντες VIII και V σε συνδυασμό με την πρωτεΐνη S. Η θρομβομοντουλίνη κατατάσσεται στους διαμεμβρανικούς υποδοχείς στην Κυτταρική επιφάνεια του ενδοθηλίου και σχηματίζει δεσμό με την θρομβίνη. Μετά την δημιουργία του συμπλέγματος θρομβομοντουλίνης-θρομβίνης οδηγεί σε αυξημένη ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C.

Ο ενδοθηλιακός υποδοχέας της πρωτεΐνης C είναι ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας στην επιφάνεια των κυττάρων του ενδοθηλίου, ο οποίος συνδέεται με την πρωτεΐνη C έχοντας ως αποτέλεσμα την ενεργοποίησή της. Επιπλέον ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα συνδέεται πρώτα με την ενεργοποιημένο παράγοντα X και σχηματίζει σύμπλοκο το οποίο αναστέλλει την δράση των παραγόντων V και X. Κλείνοντας, το σύστημα ινωδολυσης είναι ένας ιδιαίτερης σημασίας αντιπηκτικός μηχανισμός και μηχανισμός αποδόμησης του διαμορφωμένου θρόμβου.

1.6) Μηχανισμός Ινωδόλυσης

Ο μηχανισμός ινωδόλυσης είναι απαραίτητος για την αποδόμηση του θρόμβου. Το κυριότερο ένζυμο αυτού του μηχανισμού είναι το πασμινογόνο, το οποίο είναι συγγενές και συνδέεται με την ινική. Ενεργοποιημένη του μορφή είναι η πλασμίνη, η οποία σχηματίζεται με την βοήθεια δύο ενεργοποιητών, το t-PA και το u-PA. Το t-PA απουσία ινικής έχει

μηδαμινή επιρροή στο πλασμινογόνο. Συνεπώς, μπορούμε να θεωρήσουμε ότι το η ινική έχει και ρόλο συμπαράγοντα και υποστρώματος ταυτόχρονα. Για τον σχηματισμό πλασμίνης επομένως είναι αναγκαία η δημιουργία του συμπλόκου t-PA/πλασμινογόνο/ινικής. Η πλασμίνη η οποία ανήκει στις πρωτεάσες σερίνης αποδομεί την διαμορφωμένη ινική και παράγει περισσότερους ενεργοποιητές πλασμινογόνου.

Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί οι οποίοι ασκούν περιοριστική δράση στην ινωδόλυση στους οποίους συμπεριλαμβάνονται οι αναστολείς των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου. Οι αναστολείς αυτοί παρεμποδίζουν τον μετασχηματισμό του πλασμινογόνου σε πλασμίνη αναστέλλοντας τους ενεργοποιητές του. Επιπλέον ανασταλτική δράση έχουν η α2-αντιπλασμίνη και η α2-μικροσφαιρίνη οι οποίες εμποδίζουν την δράση της πλασμίνης στην ινική. Ως αναστολέας της ινωδόλυσης δρα και ο αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου t-PA (TAFI) τον οποίο θέτει σε λειτουργία η θρομβίνη και το σύμπλεγμα θρομβίνης-θρομβομοντουλίνης. Ο TAFI αποσπά τμήματα λυσίνης και αργινίνης από το C τελικό άκρο της ινικής. Τα δύο αυτά αμινοξέα είναι αναγκαία για την δέσμευση του πλασμινογόνου από τον t-PA.

Κεφάλαιο 2. Πηκτικές Διαταραχές

2.1) Εισαγωγή

Το τραύμα θεωρείται ως μία από τις κυριότερες αιτίες θνησιμότητας στον κόσμο και αποτελεί το 9% των θανάτων ετησίως. Οι άμεσοι χρονικά θάνατοι λόγω τραύματος οι οποίοι ήταν δυνατό να αποτραπούν, είχαν ως αίτιο κατά κύριο λόγο μαζική αιμορραγία, ενώ οι πιο απομακρυσμένοι χρονικά θάνατοι οι οποίοι ήταν δυνατόν να αποτραπούν είχαν σχέση κυρίως με υπερπηκτικότητα. Ως αποτέλεσμα το ενδιαφέρον για την παθοφυσιολογία της Διαταραχής της Πήξης λόγω Τραύματος (ΔΠΤ) έχει αυξηθεί ιδιαίτερα.

Παρόλο που η πρώτη εργαστηριακή αιτιολόγηση θανάτου λόγω ΔΠΤ έγινε το 1960, εκτενής και συστηματική διερεύνηση ξεκίνησε το 1982 με μία σειρά ασθενών στην οποία το 89% των θανάτων είχε σχέση με αιμορραγία, παρά το γεγονός ότι στους μίσους ασθενείς η αιμορραγία είχε περιοριστεί με μηχανικά μέσα. Ωστόσο δεν έχει ξεκαθαρίσει ακόμα αν η ΔΠΤ έχει ρόλο αιτίου ή αποτελέσματος στην μαζική αιμορραγία.

Η ΔΠΤ δύναται να παρουσιαστεί με μια ποικιλία διαταραχών, από υπερπηκτικότητα έως υποπηκτικότητα. Σε περίπτωση που εμφανιστεί εντός έξι ωρών από τον τραυματισμό, ονομάζεται πρώιμη ΔΠΤ. Έχει ως χαρακτηριστικά την αδυναμία επιτεύξης αιμόστασης της οποίας αποτέλεσμα μπορεί να είναι η ακατάσχετη αιμορραγία και το παρατεταμένο σοκ. Αντίθετα η καθυστερημένη ΔΠΤ χαρακτηρίζεται από υοερπηκτικότητα η οποία μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μακροαγγειακή και μικροαγγειακή θρόμβωση, καθώς και θρομβοεμβολικά συμβάντα, σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας και ανεπάρκεια πολλαπλών οργάνων. Είναι ιδιαίτερα σημαντικό να κατανοηθεί ότι οι διαταραχές της πρώιμης και της καθυστερημένης ΔΠΤ δεν αλληλοαναιρούνται, οι πάσχοντες δηλαδή μπορεί να εμφανίσουν ΔΠΤ λόγω μαζικής αιμορραγίας αλλά να καταλήξουν από εκτεταμένη μικροαγγειακή θρόμβωση και η αναστρέψιμο σοκ. Επιπρόσθετα η μεταβολή από την υπερπηκτικότητα στην υποπηκτικά μπορεί είτε να συμβεί σε μερικά λεπτά ή και σε διάστημα ημερών.

Όλα τα στάδια του φυσιολογικού αιμοστατικού μηχανισμού υφίστανται έλεγχο από ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί αυτοί δρουν στους πηκτικούς παράγοντες αποτελούνται από πρωτεΐνες με ρυθμιστικό ρόλο ή από αναστολείς πρωτεασών. Με αυτά τα «εργαλεία» έχουν την δυνατότητα του περιορισμού δράσης του πηκτικού μηχανισμού στο σημείο του τραύματος, εμποδίζοντας την εκτεταμένη δημιουργία θρόμβων. Η φυσιολογική

αιμόσταση έρχεται εις πέρας όταν το τραυματισμένο ενδοθήλιο περικυκλώνεται από τον θρόμβο ο οποίος βάζει τέλος στην αιμορραγία και έχει ρόλο φυσικού εμποδίου στον διασκορπισμό των ενεργοποιημένων πηκτικών παραγόντων στην κυκλοφορία του αίματος. Ανωμαλία στον πηκτικό μηχανισμό δεν δημιουργείται μόνο όταν τα στοιχεία του μηχανισμού μειώνονται ή αλλοιώνονται, αλλά και όταν διαταράσσονται ένας ή και περισσότεροι από τους μηχανισμούς ρύθμισης της πήξης. Καθώς η έννοια του τραύματος είναι αρκετά ευρεία είναι σχεδόν ανέφικτο να οριστεί ένας επικρατής μηχανισμός για την ΔΠΤ. Συν τοις άλλοις ο αιμοστατικός μηχανισμός μεταβάλλεται ανάλογα με την εξέλιξη της αιμορραγίας θέτοντας σε χρήση περαιτέρω μηχανισμούς αντιστάθμισης.

Η Διάχυτη Ενδαγγειακή Πήξη (ΔΕΠ) είναι σύνδρομο το οποίο αν και σχετίζεται με την ΔΠΤ διακρίνεται από αυτήν. Ορισμός της ΔΕΠ έχει ως εξής: « Η ΔΕΠ ορίζεται ως ένα επίκτητο σύνδρομο το οποίο χαρακτηρίζεται από την γενικευμένη ενδαγγειακή ενεργοποίηση της πήξης και οφείλεται σε διαφορετικές αιτίες». Η ΔΕΠ και η ΔΠΤ διακρίνονται στο ότι, στην ΔΠΤ ο ιστικός παράγοντας προωθεί την δημιουργία θρόμβου συγκεκριμένα στην περιοχή του ενδοθηλιακού τραύματος, ενώ αντίθετα στην ΔΕΠ διακρίνεται ανεξέλεγκτη διασκορπισμένη πήξη την οποία ενδυναμώνει η γενικευμένη έκφραση του ιστικού παράγοντα στις κυτταρικές επιφάνειες.

2.2) Τραυματισμός των ιστών

Η ιστική βλάβη έχει την δυνατότητα να προωθήσει τόσο την πρόωμη υποπηκτικότητα όσο και την καθυστερημένη υπερπηκτικότητα. Το τραύμα στους ιστούς η οποία συνοδεύεται από διαταραχή στο ενδοθήλιο θέτει σε λειτουργία τον αιμοστατικό μηχανισμό στην περιοχή της βλάβης χάρις τον ιστικό παράγοντα ο οποίος έρχεται σε επαφή με την κυκλοφορία. Ο ιστικός παράγοντας με την σειρά του ενεργοποιεί τον παράγοντα VII και τον καταρράκτη της πήξης οδηγώντας έτσι στην παραγωγή θρομβίνης και στην δημιουργία ινικής. Επιπρόσθετα, η ιστική βλάβη αποτελεί ερέθισμα για την απελευθέρωση μοριακών προϊόντων τα οποία διεγείρουν της διεργασίες της φλεγμονής και οδηγούν στην απελευθέρωση πολλών μεσολαβητών της φλεγμονής. Επομένως, η αιμόσταση και η φλεγμονή είναι διεργασίες άρρηκτα συνδεδεμένες μεταξύ τους.

Παρόλο που έχουν διερευνηθεί αρκετοί μηχανισμοί, η ανάπτυξη ή όχι ΔΠΤ είναι συνδεδεμένη με την σημαντικότητα και το μέγεθος της βλάβης στον ιστό. Έχει πιθανολογηθεί ότι ο ιστικός τραυματισμός σε ορισμένα όργανα έχει μεγαλύτερη συμβολή στην ανάπτυξη ΔΠΤ. Αυτό έχει παρατηρηθεί σε όργανα τα οποία περιέχουν μεγάλα ποσοστά ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου. Βέβαια, ο ακριβής τους ρόλος στην ανάπτυξη ΔΠΤ παραμένει προς διερεύνηση. Αξίζει να σημειωθεί ότι, η βλάβη στους ιστούς είναι αλληλένδετη με την απελευθέρωση κυτταρικών υποπροϊόντων τραυματισμού τα οποία καταστέλλουν τον μηχανισμό της ινωδόλυση.

2.3) Τραυματισμός του ενδοθηλίου

Ο βλάβη η οποία προκαλείται στο ενδοθήλιο εξαιτίας ενός τραυματισμού είναι γνωστή ως ενδοθηλιοπάθεια του τραύματος (ΕΠΤ). Χαρακτηριστικά της ΕΠΤ είναι η δυσλειτουργία του φραγμού, συσσώρευση λευκοκυττάρων, ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, διαταραχή της αιμόστασης, μακρο- και μικροαγγειακή θρόμβωση και ανωμαλίες στην λειτουργικότητα των οργάνων.

Ο ακριβής τρόπος με τον οποίο το ενδογενές μονοπάτι της πήξης αποτελεί αποτέλεσμα της επαφής του τραυματισμένου ενδοθηλίου με την κυκλοφορία παραμένει αδιευκρίνι-

στος. Στο ενδογενές μονοπάτι ο παράγοντας XII ενεργοποιείται από μία επιφάνεια φωσφολιπιδίων φορτισμένη αρνητικά. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας XII διεγείρει τον μετασχηματισμό της προκαλλικρεΐνης σε καλλικρεΐνη η οποία είναι απαραίτητη για την παραγωγή βραδυκινίνης. Η βραδυκινίνη διεγείρει την έκφραση του ιστικού παράγοντα και της παραγωγής t-PA.

Η ΕΠΤ διακρίνεται από την καταστροφή του γλυκοκάλυκα του ενδοθηλίου και απελευθέρωση στην αιματική κυκλοφορία των στοιχείων του, τα οποία είναι αλληλένδετα με την αιμόσταση, τις διεργασίες της φλεγμονής, την πολυοργανική ανεπάρκεια και τον θάνατο. Επιπρόσθετα, η εκτεταμένη εξωκυττάρωση μακρομορίων του παράγοντα Von Willebrand και η ελαττωμένη κάθαρση του έχει βρεθεί σε πάσχοντες με ΔΠΤ και είναι συνδεδεμένες προθρομβωτική και προφλεγμονώδη κατάσταση.

2.4) Διαταραχές λειτουργικότητας αιμοπεταλίων

Τα αιμοπετάλια είναι μικρού μεγέθους κύτταρα χωρίς πυρήνα και έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στον καταρράκτη της πήξης, στις ανοσολογικές διεργασίες και στην διατήρηση της ακεραιότητας του ενδοθηλίου.

Οι αιμοπεταλιακές δυσλειτουργίες διακρίνονται στην ΔΠΤ και δύνανται να παρατηρηθούν ακόμα και στο ήμισυ των περιστατικών, χωρίς να υπάρχει άμεση σχέση με την σοβαρότητα της βλάβης ή την παρουσία σοκ. Η θρομβοκυτταροπενία είτε είναι άμεση (ποσοτική) είτε είναι έμμεση (ποιοτική) είναι σχετιζόμενη με αιμορραγία. Συν τοις άλλοις, η πλειοψηφία των ασθενών με ΔΠΤ αν και εμφανίζουν φυσιολογικούς αριθμούς αιμοπεταλίων, ωστόσο παρουσιάζουν μειωμένη λειτουργικότητα δηλαδή ελαττωμένες ex vivo αποκρίσεις συγκέντρωσης αιμοπεταλίων. Αυτή η κατάσταση είναι γνωστή ως «εξάντληση των αιμοπεταλίων λόγω τραύματος» και αποτελεί αποτέλεσμα της απελευθέρωσης του ιστικού παράγοντα στο ενδοθήλιο, του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και παράγοντα Von Willebrand, οι οποίοι διεγείρουν την άνευ μέτρου ενεργοποίηση αιμοπεταλίων, σχηματίζοντας με αυτόν τον τρόπο μια πηγή ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων τα οποία έρχονται εις πέρας ύστερα από την απελευθέρωση των πηκτικών παραγόντων τους. Αυτό συνεπάγεται την κυκλοφορία αιμοπεταλίων χωρίς λειτουργικότητα τα οποία δεν δύνανται να συμμετέχουν στην πρωτογενή αιμόσταση. Επιπλέον οι τραυματίες με ελαττωμένη λειτουργικότητα αιμοπεταλίων εμφανίζουν υπερिनωδύλωση εξαιτίας της αυξημένης δράσης του t-PA. Είναι άξιο σημείωσης ότι δεν είναι δυνατόν να ανατραπούν με αιμοπεταλιακή μετάγγιση οι επίκτητες διαταραχές της λειτουργικότητας, κατά πάσα πιθανότητα εξαιτίας των ανασταλτικών στοιχείων των αιμοπεταλίων που εισέρχονται στην κυκλοφορία μετά από τον τραυματισμό του ιστού.

Επιπρόσθετα, η ενεργοποίηση του υποδοχέα TLR4 (Toll Like Rceptor 4) λόγω των αιμοπεταλίων, η προσκόλληση της ιστόνης H4 στα αιμοπετάλια, η σχηματική διαφοροποίηση των αιμοπεταλίων και η ενεργοποίηση μονοκυττάρων κατατάσσονται στους προφλεγμονώδεις μηχανισμούς οι οποίοι εμφανίζονται συνδυαστικά με πρώιμες αιμοστατικές διαταραχές.

2.5) Δυσλειτουργία στην παραγωγή θρομβίνης

Το ισοζύγιο μεταξύ παραγωγής και αναστολής της θρομβίνης είναι υψίστης σημασίας για την πηκτική λειτουργία. Παρόλο που η παραγωγή θρομβίνης δεν είναι αρκετή στα πρώτα στάδια της αιμορραγίας, στα μετέπειτα στάδια η υπέρμετρη παραγωγή της έχει ως αποτέλεσμα μη επιθυμητά θρομβωτικά επεισόδια. Η μικρή συγκέντρωση θρομβίνης έχει πρώτα ως αποτέλεσμα την δημιουργία ασταθών θρόμβων οι οποίοι είναι ευάλωτοι στην

ινωδόλυση.Επιπλέον, η εξαντλητική χρήση και απελευθέρωση των πηκτικών παραγόντων ύστερα από την δημιουργία του τραύματος μπορεί να λειτουργήσει ως αντίβαρο για την ελάττωση των προπηκτικών παραγόντων και αν αυξήσει το ρίσκο θρομβοεμβολικών επιπλοκών.

Υπάρχουν αρκετοί παράγοντες οι οποίοι μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα συγκέντρωσης της θρομβίνης όπως η χορήγηση υγρών, η εξαντλητική κατανάλωση παραγόντων πήξης αμέσως μετά την βλάβη, η μεταβολική οξέωση λόγω σοκ και η υποθερμία.Οι ασθενείς πολυτραυματίες είναι ευάλωτοι σε ελατωμένα επίπεδα παραγόντων V, VII,X και ινωδογόνου σε μικρό χρονικό διάστημα μετά την ιστική βλάβη, ενώ είναι απαραίτητο να αναφερθεί ότι τα στοιχεία σχετικά με την μεταβολή των επιπέδων των παραγόντων πήξης ύστερα από σοβαρό τραυματισμό εμφανίζουν μεγάλη ετερογένεια.Έρευνες για την ανεπάρκεια ενός μόνο παράγοντα έδειξαν ότι επίπεδα συγκέντρωσης παραγόντων πήξης >30% είναι γενικά αρκετά για την σωστή λειτουργία της πήξης.Επιπρόσθετα, στοιχεία από τον προνοσοκομειακή μελέτη COMBAT έδειξαν πως η επίδραση των πηκτικών παραγόντων σε πολυτραυματίες ασθενείς ήταν 64% μεγαλύτερη των φυσιολογικών τιμών την ώρα άφιξης στο νοσοκομείο, ποσοστό δηλαδή το οποίο επιτρέπει την δημιουργία θρόμβων.Συνεπώς, δεν δύναται να ξέρουμε το ιδανικό όριο για την λειτουργικότητα των παραγόντων πήξης από την στιγμή όπου υπάρχουν ταυτόχρονα πολλαπλά παθολογικά φαινόμενα.

Αξιοσημείωτο είναι ότι η ελαττωμένη παραγωγή θρομβίνης δεν είναι αναγκαία συνδεδεμένη με την ελάττωση των προπηκτικών παραγόντων.Παρά την ελάττωση των επιπέδων αρκετών πηκτικών παραγόντων ύστερα από την ιστική βλάβη ,τα επίπεδα παραγωγής της θρομβίνης παρέμειναν υψηλότερα σε σύγκριση με ασθενείς μη τραυματίες ή με ασθενείς οι οποίοι δεν έχουν αναπτύξει ΔΠΤ.Είναι αξιοσημείωτο ότι οι κοινές εξετάσεις για την πήξη δεν δύνανται να καταδείξουν την λειτουργία του αντιπηκτικού μηχανισμού.Με αυτόν τον τρόπο ένας μέτρια αυξημένος χρόνος προθρομβίνης ή ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης θα ήταν δυνατόν να αντικατοπτρίσει μια μέτρια ελάττωση των προπηκτικών παραγόντων,η οποία όμως δεν είναι αναγκαία συνδυασμένη με ελαττωμένη παραγωγή θρομβίνης και τάση αιμορραγίας in vivo , αφού η εξάντληση των αντιπηκτικών μηχανισμών λειτουργεί ως αντίβαρο.Επιπροσθέτως, είναι πιθανόν να υπάρχουν σημαντικές διαφοροποιήσεις ανάμεσα στην θρομβίνη του ολικού αίματος και του πλάσματος.Τελευταία στοιχεία από δοκιμασίες ολικού αίματος κατέδειξαν ότι σε σύγκριση με τον υγιή πληθυσμό, οι ασθενείς στους οποίους έπρεπε να πραγματοποιηθεί μαζική μετάγγιση είχαν ελαττωμένα επίπεδα παραγωγής θρομβίνης.

2.6)Κατανάλωση ινωδογόνου

Το ινωδογόνο είναι το στοιχείο του πηκτικού μηχανισμού με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο αίμα (2-4 g/L στον υγιή ενήλικα) και έχει χρόνο ημιζωής τέσσερις ημέρες. Η θρομβίνη πολυμερίζει και μετασχηματίζει το ινωδογόνο σε ινώδες. Το ινωδογόνο αποτελείται από μονομερή ινικής τα οποία συνδεόνται με τον ενεργοποιημένο παράγοντα XIII και το ένζυμο τρανσγλουταμινάση, έχοντας ως αποτέλεσμα την παροχή μηχανικής στήριξης και αντοχή σε ινωδολυτικές δράσεις.Επιπροσθέτως,η γλυκοπρωτεΐνη IIb/IIIa των αιμοπεταλίων έρχεται σε επαφή με το ινωδογόνο, παρέχοντας διάλυλο για την περαιτέρω συσσώρευση αιμοπεταλίων και τον σχηματισμό θρόμβου ινικής παρέχοντας του επιπλέον σταθερότητα.

Η συντριπτική πλειοψηφία του ινωδογόνου συντίθεται στο ήπαρ (98% του ινωδογόνου στην κυκλοφορία είναι ηπατικής προέλευσης). Στην οξεία φάση της φλεγμονής απελευθερώνεται η πρωτεΐνη IL-6 η οποία προκαλεί αύξηση των επιπέδων του κυκλοφορούντος ινωδογόνου έως και 20 φορές. Ωστόσο, σε κατάστασεις σοβαρής αιμορραγίας το ινωδογόνο είναι ο πρώτος πηκτικός παράγοντας ο οποίος εξαντλείται. Σε σοβαρούς τραυματισμούς η εξάντληση του ινωδογόνου οδηγεί σε υποϊνωδογοναιμία της οποίας χαρακτηριστικά είναι, η αιμοαραιώση, η απώλεια αίματος, η υποθερμία και η ινωδόλυση λόγω οξέωσης.

Έχει παρατηρηθεί ότι τα ελαττωμένα επίπεδα ινωδογόνου κατά την εισαγωγή του ασθενούς στο νοσοκομείο είναι μη εξαρτώμενα από την σοβαρότητα του τραύματος και του σοκ. Επίσης τα επίπεδα του ινωδογόνου κατά την εισαγωγή αποτελούν προγνωστικό δείκτη για την ανάγκη μετάγγισης και για την θνησιμότητα των 24 ωρών και των 28 ημερών.

2.7) Ινωδολυτικές διαταραχές

Στους ασθενείς με σοβαρούς ιστικούς τραυματισμούς ο ακριβής τρόπος με τον οποίο ενεργοποιείται η παθοφυσιολογία της ινωδόλυσης παραμένει προς διερεύνηση. Η υπερϊνωδόλυση είναι συνδυασμένη με αυξημένα επίπεδα tPA. Το tPA θεωρείται ότι απελευθερώνεται από τα κυστίδια Weibel-Palade του ενδοθηλίου τα οποία λειτουργούν ως απάντηση σε αρκετά ερεθίσματα. Επιπλέον τα Weibel-Palade κυστίδια αποτελούν πηγή αποθήκευσης παράγοντα Von Willebrand του οποίου τα επίπεδα αυξάνονται ύστερα από την ιστική βλάβη.

Η απώλεια της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και η ελάττωση των ινωδολυτικών αναστολέων όπως η α2-αντιπλασμίνη ενισχύουν την υπερϊνωδόλυση. Επιπρόσθετα, έχει διαπιστωθεί ότι ακόμα και δευτερογενείς αναστολές του tPA ή ρυθμιστές της λειτουργίας των ινωδολυτικών αναστολέων εξαντλούνται. Το PAI-1 απελευθερώνεται από τα α-κοκκία των αιμοπεταλίων ύστερα από διέγερση της επιφάνειας των ενεργοποιημένων κυττάρων. Ο PAI-1 επίσης δύναται να παραχθεί από κύτταρα του ενδοθηλίου. Άλλοι παράγοντες οι οποίοι διευκολύνουν την διάσπαση του θρόμβου όπως ο αναστολέας της ινωδόλυσης μέσω ενεργοποίησης της θρομβίνης και ο παράγοντας XIII ελαττώνονται δραματικά σε ασθενείς που φέρουν τραύματα. Ο παράγοντας XIII δρα αντι-ϊνωδολυτικά αφού έρθει σε επαφή με την α2-αντιπλασμίνη στο δημιουργούμενο ικρίωμα ινικής. Έχει πλέον διαπιστωθεί ότι πτώση των τιμών του παράγοντα XIII στο 50% του φυσιολογικού ενισχύει την αστάθεια του θρόμβου.

Για την αναστολή της ινωδόλυσης στην πλειοψηφία των ασθενών ένα κύμα παραγωγής PAI-1 αρχίζει 2 ώρες ύστερα από την βλάβη και συνεπάγεται την παύση της ινωδόλυσης για ένα διάστημα 12 ωρών. Παρόλο που είναι φυσιολογικό τα επίπεδα της PAI-1 να αυξηθούν εντός μερικών ωρών από την δημιουργία της βλάβης, η παύση λειτουργίας του ινωδολυτικού μηχανισμού μέσα σε μία ώρα από την σοβαρή βλάβη είναι αλλαλένδετη με πολλαπλάσια αύξηση της θνησιμότητας. Ωστόσο, η λεπτομερής διαδικασία με την οποία έρχεται σε άρση η ινωδόλυση είναι ακόμα αδιευκρίνιστη.

Οι ασθενείς οι οποίοι παρουσιάζουν άρση της λειτουργίας του ινωδολυτικού μηχανισμού έχουν την τάση να εμφανίζουν αργοπορημένη θνησιμότητα εξαιτίας εγκεφαλικού τραυματισμού και πολυοργανικής ανεπάρκειας, ενώ αντιθέτως οι ασθενείς με υπερϊνωδόλυση εμφανίζουν θνησιμότητα αρκετά νωρίτερα ύστερα από αιμορραγία. Βέβαια, μία μερίδα των ασθενών με τραυματισμό δεν εμφανίζουν υπερϊνωδόλυση αλλά ελαττωμένη δράση των πρώτων σταδίων του μηχανισμού ινωδόλυσης η οποία συνοδεύεται με αυξημένη θνησιμότητα.

Κεφάλαιο 3. Οι Ιξωδοελαστικές Εξετάσεις

3.1) Εισαγωγή

Οι ιξωδοελαστικές ιδιότητες του αίματος είχαν αρχίσει να μελετώνται για την αξιολόγηση της αιμόστασης από την δεκαετία του 1940. Ωστόσο οι ιξωδοελαστικές εξετάσεις και οι εφαρμογές τους στην κλίνη του ασθενούς άρχισαν να μελετώνται εις βάθος και να αναπτύσσονται μετά την δεκαετία του 1980, ενώ ταυτόχρονα πραγματοποιούνταν εντατική χρήση των συμβατικών μεθόδων μελέτης της αιμόστασης (π.χ. Χρόνος ενεργοποιημένης ατελούς θρομβοπλαστίνης, χρόνος προθρομβίνης). Παρά την διαδεδομένη χρήση τους οι κοινές εξετάσεις της πήξης αντικατοπτρίζουν μόνο ένα μέρος της λειτουργίας του αιμοστατικού μηχανισμού. Με την τεχνολογική ανάπτυξη των μηχανημάτων τα οποία χρησιμοποιούνται για την διενέργεια ιξωδοελαστικών εξετάσεων, η ευχρηστία τους και η συχνότητα χρήσης τους έχει σημειώσει ιδιαίτερη αύξηση τα τελευταία χρόνια. Πλέον οι ιξωδοελαστικές εξετάσεις αποτελούν ένα ταχύτατα αναπτυσσόμενο τομέα της εργαστηριακής ιατρικής, ο οποίος θεωρείται πόλος επενδύσεων. Αυτό έχει συνοδευτεί από την τεχνολογική άνθιση για την βελτιστοποίηση της ευαισθησίας και της ευκολίας στην χρήση αυτών των εξετάσεων.

Ως ιξωδοελαστικότητα χαρακτηρίζεται η ιδιότητα ενός υλικού να εμφανίζει χαρακτηριστικά ιξώδη (συνεχής παραμόρφωση) και χαρακτηριστικά ελαστικά (εφήμερη παραμόρφωση). Το ολικό αίμα είναι ένα αποκλειστικά ιξώδες υλικό έως ότου τεθεί σε λειτουργία ο αιμοστατικός μηχανισμός, όπου δυνάμεις διάτμησης οδηγούν στην μόνιμη παραμόρφωση του. Δηλαδή μετά την παύση των δυνάμεων διάτμησης, το δείγμα αίματος θα παραμείνει παραμορφωμένο. Κατά την διάρκεια της πήξης ελαττώνονται τα ιξώδη χαρακτηριστικά του υγρού και το δείγμα αποκτά μεγαλύτερη ελαστικότητα. Η σημαντικότερη μέτρηση στην παρατήρηση των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων της αιμόστασης αφορά την καταγραφή της μετάβασης από την ιξώδη στην ελαστική φάση. Επίσης ο υπολογισμός του επονομαζόμενου ελαστικού συντελεστή δείχνει την απαιτούμενη δύναμη για την διάτμηση ενός υλικού.

Η παρατήρηση των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων του αίματος μελετήθηκαν αρχικά το 1948 από τον Γερμανό Dr. Hellmut Hartert. Ο Dr. Hartert είχε ως στόχο την δημιουργία ενός μηχανισμού ο οποίος θα ποσοτικοποιήσει την δυναμική του δημιουργούμενου θρόμβου αίματος. Δημιούργησε ένα σύστημα το οποίο αποτελούνταν από μια κυψελίδα σε σχήμα κυλίνδρου και από έναν αιωρούμενο μέσα στην κυψελίδα κάθετο άξονα. Στο άξονα υπήρχε συνδεδεμένο ένα λεπτό σύρμα με διάμετρο 2 χιλιοστά το οποίο είχε τον ρόλο στροφικού ελατηρίου. Για την ολοκλήρωση μιας δοκιμασίας το δείγμα ολικού αίματος τοποθετούνταν εντός της κυλινδρικής κλεψύδρας και η κυψελίδα περιστρεφόνταν προς μια φορά κατά 1/12 μιας ολικής περιστροφής και εν συνεχεία προς την αντίθετη φορά κατά 1/12 μιας ολικής περιστροφής. Η περιστροφή πραγματοποιούνταν με αργό ρυθμό, έχοντας διάρκεια 3,5 δευτερόλεπτα προς την κάθε κατεύθυνση. Έπειτα από την πρώτη περιστροφή η κυλινδρική κυψελίδα πραγματοποιεί παύση για 1 δευτερόλεπτο και συνεχίζει προς την αντίθετη φορά. Η δοκιμασία είχε συνολική διάρκεια 9 δευτερόλεπτα. Εφόσον η κυψελίδα πραγματοποιούσε περιστροφές με ένα ιξώδες υλικό. Οι δυνάμεις διάτμησης ανάμεσα στην περιστρεφόμενη κυλινδρική κυψελίδα και του ακίνητου άξονα συνεπάγονται την μη αναστρέψιμη παραμόρφωση του αίματος. Ωστόσο, κατά την δημιουργία του θρόμβου το υγρό εντός της κυψελίδας μεταβαλόνταν από μια ιξώδη σε μία ελαστική κατάσταση και ο θρόμβος επιχειρούσε να επανέλθει στην αρχική του μορφή, ασκώντας δύναμη στον κάθετο άξονα, οδηγώντας έτσι στην περιστροφή του. Οι κινήσεις του άξονα καταγράφονταν σε

film με την βοήθεια ενός φωτιζόμενου καθρέφτη ο οποίος είχε συνδεθεί στον άξονα. Κατά αυτόν τον τρόπο οι αλλαγές στην κινητική κατάσταση του άξονα κατά την διαδικασία της αιμόστασης, καταγραφόντουσαν σε ένα γράφημα γνωστό πλέον ως θρομβοελαστογράφημα.

Παρά τις μελέτες του Dr. Hartert η θρομβοελαστογραφία άρχισε να γίνεται αποδεκτή κατά την δεκαετία του 1980, πιο συγκεκριμένα σε χειρουργεία συνοδευόμενα από μεγάλη απώλεια αίματος. Με την πάροδο του χρόνου αναπτύχθηκαν δύο όμοιες τεχνικές, η θρομβοελαστογραφία (Thromboelastography – TEG) και η περιστροφική θρομβοελαστομετρία (Rotational thromboelastometry -ROTEM), επιπλέον έχουν μελετηθεί πολλές διαφορετικές τεχνικές για την διεξαγωγή αυτών των δοκιμασιών για την στοχοποιημένη μελέτη των μονοπατιών της πήξης και του ρόλου των αιμοπεταλίων και του ινωδογόνου στην δημιουργία και την διάλυση του θρόμβου.

3.2) Περιστροφική Θρομβοελαστομετρία

Η περιστροφική θρομβοελαστομετρία αποτελεί τεχνική εξέτασης των ιξοδοελαστικών χαρακτηριστικών του ολικού αίματος και είναι η εξελιγμένη μορφή της θρομβοελαστογραφίας που είχε αναπτύξει ο Dr. Hartert την δεκαετία του 1940. Παρόλο που είναι όμοιες σε αρκετά σημεία, εμφανίζουν ταυτόχρονα διακριτές τεχνικές διαφορές.

Ο αναλυτής Delta ROTEM αναπτύχθηκε ύστερα από το σύστημα TEG 5000 και βασίζεται στον ίδιο αρχικό μηχανισμό με την κυψελίδα σε σχήμα κυλίνδρου και τον κάθετο άξονα. Σε αυτήν την μέθοδο η κυψελίδα παραμένει στάσιμη και είναι θερμαινόμενη, ενώ οι δυνάμεις διάτμησης εφαρμόζονται στον άξονα. Ο Delta ROTEM είναι αναλυτική μονάδα αποτελούμενη από τέσσερα κανάλια μέτρησης στα οποία η θερμοκρασία είναι ελεγχόμενη, επίσης διαθέτει προθερμασμένη πλάκα, δίσκο αντιδραστηρίων, μία αυτόματη πιπέτα και έναν υπολογιστή ο οποίος δύναται να συνδεθεί σε πληροφοριακό σύστημα έχοντας ως αποτέλεσμα την αποθήκευση και επαναπροβολή αποτελεσμάτων. Ο χειρισμός του συστήματος γίνεται μέσω μιας ενσωματωμένης οθόνης αφής και του λογισμικού ROTEM. Αυτές οι παράμετροι δίνουν την δυνατότητα να υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί χρήστες του μηχανήματος. Το σύστημα του ROTEM καθοδηγεί τον χρήστη για το πως θα τρέξει την εξέταση μέσω οδηγιών και εικονογραμμάτων αναδυόμενα στην οθόνη αφής, ενώ επιπλέον υπάρχει μενού βοήθειας το οποίο αναδύεται εφόσον το επιλέγει ο χειριστής και παρέχει βοήθεια στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Βεβαία, πρέπει να αναφερθεί ότι αυτό δεν αποτελεί υποκατάστατο της απαραίτητης απαιτούμενης εκπαίδευσης του χειριστή όσον αφορά την πήξη του αίματος και την λήψη αποφάσεων στην κλινική πράξη.

Τα τέσσερα μη αλληλοεξαρτώμενα κανάλια μέτρησης δίνουν την δυνατότητα χρήσης διαφορετικών μεθόδων θρομβοελαστομετρίας με διαφορετικά αντιδραστήρια. Με αυτόν τον τρόπο η διαγνωστική απόδοση της συσκευής αυξάνεται σημαντικά εν συγκρίσει με ένα μηχανισμό ο οποίος ανταποκρίνεται σε μία μόνο μέθοδο. Συνεπώς, η τεχνική ROTEM δύναται όχι μόνο να εντοπίσει πηκτικές διαταραχές αλλά και να διαφοροδιαγνώσει ανάμεσα σε διαφορετικές διαταραχές και ταυτόχρονα μπορεί να ιχνηλατήσει την πορεία ασθενών με αιμοστατικές διαταραχές κατά την θεραπεία τους. Κάθε κανάλι μέτρησης διαθέτει μια κυλινδρική κυψελίδα η οποία είναι αναλώσιμη και τοποθετείται στην θερμαινόμενη μεταλλική θήκη και ένα επίσης αναλώσιμο κυλινδρικό πλαστικό περίβλημα το οποίο πραγματοποιεί περιστροφές εναλλάξ κατά 4.75 μοίρες, δώδεκα φορές το λεπτό. Έπειτα τοποθετείται το δείγμα ολικού αίματος στην κυψελίδα και χάρις την προσθήκη ειδικού αντιδραστηρίου επανασβεστοποιείται. Μετά γίνεται προσθήκη δεύτερου ειδικού αντιδραστηρίου το οποίο διαθέτει ενεργοποιητή της αιμόστασης. Με αυτόν τον τρόπο ο θρόμβος που δη-

μιουργείται ανάμεσα στην κυψελίδα και τον άξονα εμποδίζει την περιστροφή του δευτέρου. Οι κινητικές μεταβολές καταγράφονται από έναν μηχανισμό με φωτοανιχνευτή LED και το αποτέλεσμα που προκύπτει υπόκειται επεξεργασία και μεταποιείται από τον υπολογιστή σε μία καμπύλη γνωστή ως θρομβοελαστογράφημα. Επιπροσθέτως, οι υπογιζόμενες από τον υπολογιστή παράμετροι του θρομβοελαστογραφήματος, εμφανίζονται στην οθόνη σε πραγματικό χρόνο. Η συσκευή δύναται επιπλέον να μετακινείται και να έχει χρήση ως παρακλίνια εξέταση για τον οποιοδήποτε ασθενή. Αντίθετα με το σύστημα TEG, ολόκληρη η διαδικασία της διενέργειας της εξέτασης καθοδηγείται από το λογισμικό ROTEM και για την εκτέλεση της χρησιμοποιείται μια ηλεκτρονική αυτοματοποιημένη πιπέτα. Έτσι λοιπόν, η συσκευή είναι εύκολη στην χρήση και η διάφορες των αποτελεσμάτων ανάμεσα στις μετρήσεις ελαττώνεται σημαντικά.

Το σύστημα Sigma ROTEM είναι η εξέλιξη του αναλυτή Delta ROTEM, όπου αν και παραμένει ο αρχικός σχεδιασμός της κυλινδρικής κυψελίδας-άξονα, διαθέτει δύο ξεχωριστές «κασέτες» οι οποίες έχουν δύο ανεξάρτητους άξονες περιστροφής. Η μία κασέτα είναι η Sigma Complete η οποία διαθέτει τις εξής μεθόδους: FIBTEM, EXTEM, INTEM, APTEM και η δεύτερη κασέτα Sigma Complete με ηπαρίναση στην οποία δύναται να γίνει η εξουδετέρωση της ηπαρίνης. Σε αυτόν τον αναλυτή, το δείγμα ολικού αίματος αναρρόφεται από το σωληνάριο της αιμοληψίας και τοποθετείται αυτόματα στα κανάλια της κασέτας ταυτοχρόνως. Η μεταφορά του δείγματος πραγματοποιείται ελεγχόμενα και η τοποθέτηση των αντιδραστηρίων στο σύστημα είναι αυτόματη. Μετά την τοποθέτηση κατάλληλου όγκου δείγματος σε κάθε κυψελίδα ξεκινούν οι δοκιμασίες στα διαφορετικά κανάλια.

3.3) Τεχνικές περιστροφικής θρομβοελαστομετρίας

Το χρησιμοποιούμενο δείγμα στην θρομβοελαστομετρία είναι ολικό αίμα σε αντιπηκτικό κίτρινων αλάτων στο οποίο πραγματοποιείται επανασβεστοποίηση προκειμένου ο αιμοστατικός μηχανισμός να ενεργοποιηθεί από διάφορους ενεργοποιητές (π.χ. Ιστικός παράγοντας -> εξωγενής οδός , ελλαγικό οξύ -> ενδογενής οδός, εκαρίνη -> άμεση ενεργοποίηση προθρομβίνης κ.α.). Με αυτόν τον τρόπο ο μηχανισμός ROTEM διαθέτει αρκετές διαφορετικές μεθόδους ενεργοποίησης της αιμόστασης, οι οποίες συνδυάζονται και μεγιστοποιούν την διαγνωστική ικανότητα της θρομβοελαστομετρίας. Οι μέθοδοι ενεργοποίησης του αιμοστατικού μηχανισμού χωρίζονται σε μεθόδους ενεργοποίησης του εξωγενούς μονοπατιού της πήξης (FIBTEM, EXTEM, APTEM) , σε μεθόδους ενεργοποίησης του ενδογενούς μονοπατιού της πήξης (INTEM, HEPTEM), σε μέθοδο ενεργοποίησης της αιμόστασης με εκαρίνη (ECATEM-διατίθεται μόνο στην Ευρώπη) και σε μία μέθοδο χωρίς ενεργοποίηση της αιμόστασης (NATEM) (Πίνακας 1).

Όμοια με τον χρόνο προθρομβίνης, στην δοκιμασία EXTEM ο μηχανισμός της αιμόστασης ενεργοποιείται αφού επανασβεστοποιηθεί το δείγμα ολικού αίματος και με την προσθήκη ιστικής θρομβοπλαστίνης . Συνεπώς, εφόσον η αιμόσταση ξεκινάει με το εξωγενές μονοπάτι στην δοκιμασία EXTEM , η πρώτη παραγωγή θρομβίνης και κατά συνέπεια η έναρξη του αιμοστατικού μηχανισμού είναι εξαρτώμενη κατά κύριο λόγο από την δράση των πηκτικών παραγόντων VII, X, V, II και του ινωδογόνου.

Η δοκιμασία FIBTEM είναι μία παραλλαγή της μεθόδου EXTEM με διαφορά την εισαγωγή ενός ισχυρού αναστολέα των αιμοπεταλίων, ο οποίος δυσχαιρένει την ενεργοποίηση τους , την σχηματική μεταβολή τους και την έκφραση των υποδοχέων γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa . Έτσι λοιπόν, αναστέλλεται η συμμετοχή των αιμοπεταλίων στην δημιουργία του θρόμβου και συνεπώς η σταθερότητα και η δυναμική του θρόμβου είναι εξαρτώμενες

από την δραστικότητα του ινωδογόνου και τον πολυμερισμό της ινδικής. Στην μέθοδο EXTEM η δυναμική του θρόμβου είναι εξαρτώμενη από την δραστικότητα και την συγκέντρωση των αιμοπεταλίων, την δραστικότητα του ινωδογόνου και τον πολυμερισμό της ινδικής. Ως αποτέλεσμα του συνδυασμού αυτών των τεχνικών, δύναται να γίνει διαφοροδιάγνωση ανάμεσα στην θροβοκυτταροπενία και την υποινωδογοναιμία αξιολογώντας την δραστικότητα των αιμοπεταλίων κατά την δημιουργία του θρόμβου.

Η δοκιμασία APTEM αποτελεί μια ακόμη τεχνική ενεργοποίησης του εξωγενούς μονοπατιού, στην οποία συμμετέχει το τρανεξαμικό οξύ, ένας αντινωδολυτικός παράγοντας. Αυτή η τεχνική δίνει την δυνατότητα της *in vitro* εκτίμησης της θεραπείας αντινωδολύσης αξιολογώντας ταυτόχρονα άλλες τεχνικές όπως οι EXTEM και INTEM.

Στο σύνολο των μεθόδων που ενεργοποιούν το εξωγενές μονοπάτι της αιμόστασης χρησιμοποιείται πολυβρένιο, ένας αναστολέας της ηπαρίνης ο οποίος καταστέλλει άμεσα την δραστικότητα της. Έτσι, παρέχεται η δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν αυτές οι τεχνικές και σε ασθενείς στους οποίους χορηγείται ηπαρίνη.

Στην δοκιμασία INTEM ο αιμοστατικός μηχανισμός τίθεται σε λειτουργία μέσω της επανασβεστοποίησης του δείγματος ολικού αίματος και την εισαγωγή ελλαγικού οξέως και φωσφολιπιδίων. Κατά την ενεργοποίηση του ενδογενούς μονοπατιού της πήξης, η πρώτη παραγωγή θρομβίνης και η δημιουργία του θρόμβου είναι εξαρτημένα από τους πηκτικούς παράγοντες XII, XI, IX, VIII, X, V, II και το ινωδογόνο. Είναι άξιο αναφοράς ότι στην δοκιμασία INTEM δεν διαθέτει αναστολέα της ηπαρίνης. Παρόλα αυτά, υπάρχει δυνατότητα χρήσης μιας παραλλαγμένης τεχνικής η οποία διαθέτει ηπαρινάση και είναι γνωστή ως δοκιμασία HEPTEM.

Στην δοκιμασία ECATEM γίνεται χρήση εκαρίνης για την ενεργοποίηση του αιμοστατικού μηχανισμού, η οποία ανευρίσκεται στο δηλητήριο της οχιάς. Η εκαρίνη μεταβάλλει την προθρομβίνη σε μειζοθρομβίνη η οποία περιέχει ελαττωμένη ποσότητα θρομβίνης. Η δράση της μειζοθρομβίνης αναστέλλεται από τους άμεσους αναστολείς της θρομβίνης όπως η ιρουδίνη. Ο χρόνος πήξης σε αυτήν την δοκιμασία παραμένει ανεπηρέαστος από την δυσλειτουργία των πηκτικών παραγόντων (με εξαίρεση την προθρομβίνη), από κουμαρινικά αντιπηκτικά, από άμεσους αναστολείς του ενεργοποιημένου παράγοντα X και από αντιπηκτικά εξαρτώμενα από φωσφολιπίδια. Το αντιδραστήριο αυτής της δοκιμασίας είναι εγκεκριμένο μόνο στην Ευρώπη.

Κλείνοντας, στην δοκιμασία NATEM ο αιμοστατικός μηχανισμός ενεργοποιείται αποκλειστικά μετά την επανασβεστοποίηση του δείγματος του ολικού αίματος. Συνεπώς, πρόκειται για μία δοκιμασία εξαιρετικά ευαίσθητη σε κάθε ενεργοποιητή του ενδογενούς μονοπατιού της πήξης.

Πίνακας 1. Μέθοδοι ROTEM

Εξέταση	Ενεργοποιητές και άλλες προσθήκες	Κλινική Εφαρμογή
EXTEM	Ανασυνδυασμένος Ιστικός Παράγοντας + Πολυβρένιο+ CaCl ₂	Ανεπάρκεια πηκτικών παραγόντων εξωγενούς οδού. Ανταγωνιστές βιταμίνης K. Ένδειξη χορήγησης συμπλέγματος προθρομβίνης

FIBTEM	Ανασυνδυσασμένος ιστικός Παράγοντας + κυτοχλασίνη D + πολυβρένιο + CaCl ₂	Πολυμερισμός ινώδους. Υπολογισμός δοσολογίας συμπηκνωμένου ιωδογό-
APTEM	Ανασυνδυσασμένος ιστικός παράγοντας+ τρανεξαμικό Οξύ + πολυβρένιο + CaCl ₂	Επιβεβαίωση της ύπαρξης αντινωδολυτικών φαρμάκων. Διαφοροδιάγνωση για ανεπάρκεια XIII (συνδυστι-
INTEM	Ελλαγικό οξύ + CaCl ₂	Ανεπάρκεια παραγόντων του ενδογενούς μονοπατιού-. Διάγνωση παρουσίας ηπαρίνης ή πρωταμίνης (συνδυαστικά με HEPTEM)
HEPTEM	Ελλαγικό οξύ+ηπαρινάση + CaCl ₂	Διάγνωση παρουσίας ηπαρίνης ή πρωταμίνης (Συνδυαστικά με INTEM)
ECATEM	Εκαρίνη + CaCl ₂	Άμεσοι αναστολείς θρομβίνης. Δεν έχει ευαισθησία στην ηπαρίνη. Είναι διαθέσιμο μόνο στην
NATEM	CaCl ₂	Παραγωγή ιστικού παράγοντα από τα μονοκύτταρα

3.4) Παράμετροι περιστροφικής θρομβοελαστομετρίας

Τα εργαστηριακά ευρήματα της θρομβοελαστομετρίας αντανακλώνονται από πολλές διαφορετικές παραμέτρους. Πέραν των κλασικών παραμέτρων ROTEM δύναται να χρησιμοποιηθούν και άλλες παράμετροι για ακαδημαϊκούς ή ερευνητικούς σκοπούς (Πίνακας 2).

Το εύρος των φυσιολογικών τιμών για τις κλασσικές παραμέτρους ROTEM φαίνεται στον πίνακα 3. Ωστόσο, οι τιμές αυτές υπάρχει περίπτωση να είναι διαφορετικές από χώρα σε χώρα ή και από νοσοκομείο σε νοσοκομείο. Επιπρόσθετα, έχει δημοσιοποιηθεί εύρος φυσιολογικών τιμών ανάλογα με την ηλικία για παιδιά/νεογνά και ανάλογα με την ηλικία κύησης στις γυναίκες. Ο πλυθησμός αναφοράς, η ηλικία, ο τρόπος δειγματοληψίας και η μεταφορά των δειγμάτων δύναται να επιδράσουν στις φυσιολογικές τιμές. Κατά συνέπεια, τα ήδη υπάρχοντα ευρήματα στα εύρη φυσιολογικών τιμών, αποτελούν μέσο καθοδήγησης και προτείνεται η χρήση εύρους τιμών συγκεκριμένα για το έκαστο νοσοκομείο και εργαστήριο.

Πίνακας 2-Παράμετροι ROTEM

Παράμετροι ενεργοποίησης της πήξης και της δημιουργίας του θρόμβου

Όνομα	Παράμετρος	Μονάδα μέτρησης	Επεξήγηση
-------	------------	-----------------	-----------

CT	Χρόνος πήξης	Δευτερόλεπτα	Έναρξη Δοκιμασίας -> θρόμβος πλάτους 2 χιλιοστών
CFT	Χρόνος σχηματισμού θρόμβου	Δευτερόλεπτα	Θρόμβος 2 χιλιοστών -> Θρόμβος 20 χιλιοστών
α	Άλφα γωνία	Μοίρες	Γωνία ανάμεσα στην οριζόντια γραμμή και την εφαπτόμενη στην καμπύλη της πήξης στο σημείο πλάτους θρόμβου 2 χιλιοστά
	Παρά μετροι ισχύος του	Θρόμβου	
A5	Πλάτος στα 5 λεπτά	Χιλιοστά	Πλάτος θρόμβου στα 5 λεπτά μετά το CT
A10	Πλάτος στα 10 λεπτά	Χιλιοστά	Πλάτος θρόμβου στα 10 λεπτά μετά το CT
A20	Πλάτος στα 20 λεπτά	Χιλιοστά	Πλάτος θρόμβου στα 20 λεπτά μετά το CT
MCF	Μέγιστη ισχύς θρόμβου	Χιλιοστά	Μέγιστη ισχύς θρόμβου κατά την δοκιμασία
	Παράμετροι λύσης θρόμβου		
ML	Μέγιστη Λύση	%	Μέγιστη λύση του θρόμβου κατά την δοκιμασία ως % του MCF
LI30	Δείκτης λύσης στα 30 λεπτά	%	Εναπομείναντας θρόμβος στα 30 λεπτά μετά το CT Ως % του MCF
LI60	Δείκτης λύσης στο 60 λεπτά	%	Εναπομείναντας θρόμβος στα 60 λεπτά μετά το CT Ως % του MCF
LOT	Χρόνος έναρξης λύσης	Δευτερόλεπτα	Ο χρόνος από το CT έως την Μείωση του θρόμβου κατά 15% εν συγκρίσει με το MCF.
	Ερευνητικές παράμετροι		
MCE	Μέγιστη ελαστικότητα θρόμβου	-	$MCE = 100 * MCF / (100 - MCF)$
G	Ισχύς Ελαστικού διατμητικού δυναμικού	-	$G = 5000 * MCF / (100 - MCF)$
TPI	Θρομβοδυναμικός Δείκτης	Δευτερόλεπτα	$TPI = MCE / CFT$
LT	Χρόνος λύσης	Δευτερόλεπτα	Χρόνος από το CT έως την ελάττωση της ισχύος του θρόμβου στο 10% εν συγκρίσει με το MCF

3.5) Παράμετροι ενεργοποίησης της αιμόστασης και δημιουργίας του θρόμβου

Ο χρόνος πήξης σε δευτερόλεπτα (Clotting time-CT) είναι αντίστοιχος με τον χρόνο αντίδρασης (Reaction time-R) της δοκιμασίας TEG. Στην ανάλυση ROTEM, ο χρόνος πήξης είναι το χρονικό διάστημα από την αρχή της δοκιμασίας μέχρι να σχηματισθεί θρόμβος πλάτους 2 χιλιοστών. Στις τεχνικές ενεργοποίησης της αιμόστασης μέσω ιστικού παράγοντα, ο χρόνος πήξης στην πλειονότητα των περιπτώσεων επιτυγχάνεται μέσα σε ένα λεπτό. Ο χρόνος αυτός αντικατοπτρίζει τον ρυθμό παραγωγής θρομβίνης και επιδρά σε αυτόν η δράση των ενζύμων των πηκτικών παραγόντων, την ποσότητα των αντιπηκτικών παραγόντων, την ποσότητα των παραγόντων υπεύθυνων για την διάλυση της ινικής και την έκφραση του ιστικού παράγοντα στα κύτταρα της κυκλοφορίας.

Ο χρόνος σχηματισμού του θρόμβου (Clotting Firmness Time-CFT) σε δευτερόλεπτα αντανάκλα τον χρόνο ανάμεσα στην δημιουργία θρόμβου 2 mm και 20 mm. Το CFT είναι αντίστοιχο με τον χρόνο κινητικότητας (Kinetic Time-K) του TEG και εκπροσωπεί την κινητική της δημιουργίας του θρόμβου. Το CFT είναι εξαρτώμενο από την παραγωγή θρομβίνης, την συγκέντρωση και την λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, την συγκέντρωση του ινωδογόνου και τον πολυμερισμό της ινικής.

Η γωνία άλφα (α) σε μοίρες αντικατοπτρίζει την κινητική του σχηματισμού του θρόμβου και περιγράφεται ως η γωνία ανάμεσα στην οριζόντια γραμμή στην βάση του θρομβοβελαστογραφήματος και της εφαπτόμενος στην καμπύλη του θρομβοβελαστογραφήματος στο σημείο σχηματισμού θρόμβου πλάτους 2 mm.

3.6) Παράμετροι ισχύος του θρόμβου

Μία από τις παραμέτρους ROTEM υψίστης σημασίας είναι η μέγιστη ισχύς του θρόμβου σε χιλιοστά (Maximum clot Firmness-MCF), η οποία είναι ανάλογη με το μέγιστο πλάτος του (MA) TEG. Το MCF είναι το μεγαλύτερο πλάτος το οποίο μπορεί να αποκτήσει ο θρόμβος κατά την διάρκεια της δοκιμασίας. Το πλάτος θρόμβου αντανάκλα την μηχανική ισχύ του θρόμβου και είναι εξαρτημένο από το πλήθος και την λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, την συγκέντρωση του ινωδογόνου, τον πολυμερισμό ινικής, την λειτουργικότητα του παράγοντα XIII και τα κολλοειδή.

Για να αυξηθεί η ταχύτητα της λήψης αποφάσεων σε καταστάσεις σημαντικής αιμορραγίας γίνεται όλο και πιο αυξημένη χρήση του πλάτους του θρόμβου στα 5 ή 10 λεπτά μετά το CT. Κατά τις μετρήσεις του ποιοτικού ελέγχου πραγματοποιείται χρήση της παραμέτρου A20. Επιπρόσθετα οι παράμετροι A5 και A10 είναι στενά συνδεδεμένες με την παράμετρο MCF και δύνανται να βοηθήσουν στον καθορισμό αποφάσεων μέσα σε 15 λεπτά από την αρχή της δοκιμασίας. Είναι προφανές ότι οι παράμετροι A5 και A10 των μεθόδων EXTEM και INTEM έχουν δυνατή συνδεσιμότητα με την συγκέντρωση ινωδογόνου, ενώ στην μέθοδο FIBTEM οι μέθοδοι A10 και A5 είναι συσχετισμένες με την συγκέντρωση ινωδογόνου στο πλάσμα. Οι παράμετροι A5 και A10 της μεθόδου PLTEM είναι συνδεδεμένες με τον αριθμό των αιμοπεταλίων. Επιπρόσθετα, έχει αποκαλυφθεί ότι ελαττωμένες τιμές της ισχύος θρόμβου είναι συνδεδεμένες με την υψηλή συχνότητα εμφάνισης υπερिनωδότησης.

3.7) Παράμετροι διάλυσης του θρόμβου

Ως παράμετροι διάλυσης του θρόμβου ορίζονται η μέγιστη λύση του θρόμβου (Maximum Lysis/ ML) και οι δείκτες λύσης στα 30 και στα 60 (Lysis intex/LI30& LI60)

λεπτά και μας δίνουν στοιχεία για την δράση των ενζύμων της ινωδόλυσης, των αναστολέων της ινωδόλυσης και του παράγοντα XIII.Ο δείκτης ML αντικατοπτρίζει την απόσταση ανάμεσα στην μέγιστη ισχύ του θρόμβου-MCF και του μικρότερου πλάτους ύστερα από αυτή. Οι παράμετροι LI30& LI60 υπογραμμίζουν το ποσοστό του MCF το οποίο παραμένει στην μισή και στην μία ώρα μετά το CT. Από την άλλη οι δείκτες διάλυσης του TEG LY30 & LY60 δείχνουν το υπόλοιπο του θρόμβου στην μισή και την μία ώρα σε ποσοστό επί του μεγαλύτερου πλάτους του.Ο χρόνος έναρξης του test ROTEM σε δευτερόλεπτα αντανakλά το χρονικό διάστημα από τον χρόνο πήξης σε δευτερόλεπτα μέχρι να διαλυθεί το 15% του θρόμβου, συγκριτικά με το MCF.

3.8)Τα όρια των ιξωδοελαστικών εξετάσεων

Είναι άξιο να αναφερθεί ότι οι ιξωδοελαστικές εξετάσεις έχουν ελαττωμένη ευαισθησία έναντι στην αντιαιμοπεταλιακή αγωγή και των αναστολέων των υποδοχέων ADP.Αυτο έχει ως αίτιο την παραγωγή αυξημένων ποσοστών θρομβίνης κατά την διάρκεια των ιξωδοελαστικών εξετάσεων η οποία σκεπάζει τις δράσεις των αντιαιμοπεταλιακών σκευασμάτων διαμέσου της οδού θρομβίνης υποδοχέα PAR1 & PAR4. Επιπρόσθετα, λαμβάνοντας υπόψιν ότι η θρομβίνη είναι ο αιμοπεταλιακός ενεργοποιητής με την μεγαλύτερη δραστηκότητα, η παρεμπόδιση άλλων μονοπατιών δεν έχει δράση στα αποτελέσματα των ιξωδοελαστικών εξετάσεων συνδυαστικά με αυξημένα επίπεδα θρομβίνης.

Κεφάλαιο 4.Η επίδραση του καπνίσματος στην αιμόσταση

4.1)Γενικά

Το κάπνισμα θεωρείται μία από τις μεγαλύτερες και παλαιότερες απειλές για την δημόσια υγεία.Αποτελεί πλέον κύριο αίτιο νοσηρότητας, αναπηρίας και θανάτου παγκοσμίως.Κάθε έξι δευτερόλεπτα ένας άνθρωπος πεθαίνει από το κάπνισμα και τα επακόλουθα του, το οποίο προσμετράται ως ένας στους πέντε θανάτους παγκοσμίως.Ωστόσο, η διάφορες που έχουν να κάνουν με το φύλο στην παθοφυσιολογία του καπνίσματος παραμένουν προς διερεύνηση.

Υπάρχει μια ισχυρή σχέση ανάμεσα στο κάπνισμα και στις αιμοστατικές παραμέτρους, η οποία οδηγεί σε αύξηση κινδύνου καρδιαγγειακών επεισοδίων. Το κάπνισμα επηρεάζει αρνητικά τον πηκτικό μηχανισμό σε όλα τα επίπεδα, αν και έχει παρατηρηθεί ότι περισσότερο επηρεάζονται το ενδοθήλιο, τα αιμοπετάλια και το ινοδογόνο.Έρευνες έχουν συσχετίσει το κάπνισμα σε πολλές ανωμαλίες των μηχανισμών της πήξης και της φλεγμονής. Έχει υπολογισθεί ότι το κάπνισμα αντιπροσωπεύει το 30 έως και 40% από τους 565.000 θανάτους από στεφανιαία νόσο.

Πιο συγκεκριμένα, ένα ευρύ φάσμα στοιχείων υποδεικνύει ότι το κάπνισμα επηρεάζει το ενδοθήλιο ελαττώνοντας την την βιοδιαθεσιμότητα του αγγειακού μονοξειδίου του αζώτου (NO), κυρίως μέσα από την δημιουργία οξειδωτικού στρες και την πρόκληση φλεγμονώδων διεργασιών. Αυτή παθολογική κατάσταση οδηγεί στην δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και της αθηροσκληρωτικής πλάκας, με τελικό στάδιο την αλλαγή της δομής του αρτηριακού τοιχώματος και την απώλεια της ελαστικότητας του.Επιπρόσθετα, το κάπνισμα σε μικρή ένταση κατά την εφηβεία ατομικά αλλά και συνδυαστικά με το αλκοόλ μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη αρτηριακή σκλήρυνση. Αξίζει να σημειωθεί ότι το κάπνισμα επιπλέον επηρεάζει το φλεβικό σύστημα διαμορφώνοντας ένα αυξημένο κίνδυνο

για φλεβική θρομβοεμβολή. Επίσης άλλες μελέτες προτείνουν ότι αιματολογικές αλλαγές από το κάπνισμα τείνουν να οφείλονται και στην νικοτίνη.

4.2) Παθοφυσιολογία του πηκτικού μηχανισμού στους καπνιστές

Ο καπνός του τσιγάρου έχει αποδειχθεί ότι διαθέτει περίπου τέσσερις χιλιάδες (4000) συστατικά τα οποία διαθέτουν ενεργό ρόλο στην παρεμπόδιση του πηκτικού μηχανισμού και η πλειοψηφία αυτών των συστατικών έχει καρκινογόνο δράση ή/και αρνητικές επιπτώσεις στο καρδιαγγειακό μηχανισμό ανθρώπων και ζώων. Η νικοτίνη έχει παρατηρηθεί ότι επηρεάζει το χρόνο θρομβίνης και την αντίδραση των αιμοπεταλίων σε μια ποικιλία συγκεντρωτικών αγωνιστών *in vitro*. Στοιχεία της διαταραχής του πηκτικού μηχανισμού σε καπνιστές έχουν προσφάτως αναδυθεί: υψηλότερα επίπεδα ινοδωγόνου έχουν βρεθεί στο πλάσμα καπνιστών σε σύγκριση με μη-καπνιστές. Οι διαφορές αυτές ήταν εντονότερες σε περιπτώσεις έκδηλης ισχαιμικής καρδιοπάθειας. Τα προηγούμενα συνδυαστικά με το κάπνισμα, έχουν συνδεθεί με συμπαθοεπινεφριδικούς ενεργοποιητές. Είναι άξιο αναφοράς ότι αλλαγές στον πηκτικό μηχανισμό σε οποιοδήποτε επίπεδο μπορούν να προκαλέσουν αιμορραγικό ή θρομβωτικό επεισόδιο. Θρομβωτικά επεισόδια είναι συσχετισμένα με το κάπνισμα σε αναδυόμενες καρδιαγγειακές νόσους εκτός από την θρομβοπενική πορφύρα και την πρωτοπαθή θρομβοκυττάρωση.

Το κάπνισμα δύναται να προκαλέσει βλάβες στο αγγειακό σύστημα άμεσα ή έμμεσα προκαλώντας διαφοροποιήσεις στους πηκτικούς παράγοντες. Αναμφίβολα, σοβαρές αλλαγές στον πηκτικό μηχανισμό επηρεάζουν τις στεφανιαίες αρτηρίες των καπνιστών σε σύγκριση με τους μη-καπνιστές. Πιο συγκεκριμένα, η θρόμβωση αποτελεί πάντα συνέπεια της αλληλεπίδρασης τριών στοιχείων-η τριάδα του Virchow-οι οποίοι δρουν σε κάθε διαφορετικό τύπο θρόμβωσης: διαφοροποιημένο τοίχωμα αγγείου, κακή αιματική ροή, και αλλαγμένη σύσταση αιμοστατικών παραγόντων.

Όταν επηρεαστούν οι κύριοι παράγοντες της δημιουργίας ενός θρόμβου, η σύσταση του θα διαφοροποιηθεί. Παραδείγματος χάριν, το φυσιολογικό ενδοθήλιο δεν αλληλεπιδρά με τα συστατικά της κυκλοφορίας, αντιθέτως, το ενδοθήλιο το οποίο έχει υποστεί βλάβες και διαφοροποιήσεις δύναται να ενεργοποιήσει τους παράγοντες σχηματισμού θρόμβου. Μετά τον τραυματισμό της δομής του ενδοθηλίου από έναν φλεγμονώδη ή χημικό παράγοντα, ο πηκτικός μηχανισμός ενεργοποιείται και ξεκινά με την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την αλληλεπίδραση τους με το αγγειακό τοίχωμα και τις πρωτεΐνες του πλάσματος.

Αρκετές μελέτες έχουν ενοχοποιήσει την νικοτίνη και το μονοξείδιο του άνθρακα για την αρνητική τους επίδραση κυρίως στο ενδοθήλιο, τα αιμοπετάλια και στην αλληλουχία του καταρράκτη της πήξης γενικότερα. Πιο συγκεκριμένα, το μονοξείδιο του άνθρακα παρεμποδίζει την καρδιακή λειτουργία και αυξάνει τον κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου, ενώ ταυτόχρονα προκαλεί μυοκαρδιοπάθεια, στηθάγχη και δύναται να οδηγήσει σε νέκρωση του μυοκαρδίου. Στοχοποιεί τα συστατικά του αγγείου σε διαφορετικά επίπεδα και μακροχρόνια προκαλεί αλλαγές στην ανατομία του, οι οποίες αποτελούν αίτιο θρομβώσεων, αθηροσκλήρωσης και πάχυνσης του ενδοθηλίου. Η νικοτίνη και τα προϊόντα του μεταβολισμού της είναι επιβλαβή για την καρδιά και τα αγγεία προκαλώντας βιοχημικές και ανατομικές μεταβολές. Κάποιες από αυτές περιλαμβάνουν αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης, χαμηλής συχνότητας λιποπρωτεϊνών, τριγλυκεριδίων, αυξημένο αιματοκρίτη, χρο-

νο προθρομβίνης , χρόνο ατελούς θρομβοπλαστίνης και ινωδογόνου.Δομικές αλλαγές του μυοκαρδίου και των αρτηριακών τοιχωμάτων λόγω της νικοτίνης έχουν επίσης καταγραφεί. Στις παραπάνω μεταβολές οι πηκτικοί παράγοντες εμπλέκονται σε διαφορετικά στάδια.Ο ακριβής ρόλος και αλληλεπίδραση των παραγόντων σε αυτά τα διαφορετικά επίπεδα παραμένει προς διερεύνηση.Όσον αφορά το κάπνισμα και την υπέρταση, έρευνες έχουν καταδείξει την εμπλοκή του μεταβολισμού των λιπιδίων και του ινωδογόνου.Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι αρνητικές επιδράσεις του καπνίσματος σε κάθε κυτταρικό τύπο.

Πίνακας 3-Επιβλαβείς επιδράσεις του καπνίσματος σε κάθε κυτταρικό τύπο

Κυτταρική δομή	Τύπος βλάβης
Μιτοχόνδρια	Οίδημα, Ρήξη κυτταρικής μεμβράνης
Λυσοσώματα	Αυτοφαγοκυττάρωση
Ενδοκυτταρικά κοκκία	Απόθεση λιποφουσίνης
Ριβοσώματα	Διάτμηση
	Κυτταρική νέκρωση
	Εσωτερική αιμορραγία
	Διάμεση ίνωση

4.3) Ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων στους καπνιστές

Το κάπνισμα ενισχύει την ικανότητα των αιμοπεταλίων να πραγματοποιούν συγκολλήσεις και να δημιουργούν συσσωματώματα. Επιπροσθέτως, δύναται να προκαλέσει τραυματισμούς στο αγγειακό τοίχωμα των στεφανιαίων αρτηριών και να οδηγήσει στην δημιουργία αθηροσκληρωτικής πλάκας. Έχοντας ως βάση την βιοχημεία, μελέτες της επίπτωσης του καπνίσματος στην λειτουργία των αιμοπεταλίων, έδειξαν ότι το κάπνισμα επηρεάζει την δράση του ενζύμου ακετυλουδρολάση. Ένα ένζυμο το οποίο αποτελεί παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και ελαττώνει την δραστηριότητα των αιμοπεταλίων εξουδετερώνοντας τους ενεργοποιητές των αιμοπεταλίων. Μετά την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, αυτά παραμορφώνονται και τότε δημιουργούν συσσωματώματα με εντονότερο ρυθμό, εκθέτοντας τους επιφανειακούς παράγοντες για να δεσμεύσουν και να ενεργοποιήσουν το ινωδογόνο.

Ένας κοινός τρόπος μελέτης, της επίπτωσης του καπνίσματος στην αιμοπεταλιακή λειτουργικότητα είναι να μετρηθεί η απόκριση συσσώρευσης αιμοπεταλίων ως απάντηση σε αγωνιστές ex vivo. Αν και αυτός ο τρόπος μελέτης είναι ευαίσθητος δείκτης για ορισμένες μορφές της αιμοπεταλιακής αναχαίτισης, έχει φτωχή ευαισθησία όσο αφορά την εντόπιση της αύξησης της αιμοπεταλιακής ανταπόκρισης.

Η ελαττωμένη ευαισθησία θα ήταν δυνατό να δικαιολογήσει τα συγκρουόμενα αποτελέσματα με αύξηση, ελάττωση ή στεθερότητα στις απαντήσεις και στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Επιπρόσθετα, είναι άξιο αναφοράς ότι οι συνθήκες υπό τις οποίες διεξάγο-

νται οι μελέτες δύνανται να επηρεάσουν τα ληφθέντα αποτελέσματα. Παραδείγματος χάριν, η άμεση επίπτωση του καπνίσματος υπάρχει περίπτωση να είναι πιο εμφανής κατά την διάρκεια μιας περιόδου έντονου καπνίσματος από την οποία έχει προηγηθεί μια περίοδος αποχής από το κάπνισμα, εν συγκρίσει με μία μελέτη στην οποία μελετούνται χρόνιοι καπνιστές και συγκρίνονται με μη καπνιστές. Επιπλέον υπάρχουν αρκετοί διαφορετικοί τρόποι ερμηνείας των αποτελεσμάτων. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η μεγαλύτερη μελέτη της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων πραγματοποιήθηκε συγκρίνοντας χρόνιους καπνιστές με μη-καπνιστές. Η μελέτη ανέδειξε ότι οι χρόνιοι καπνιστές έχουν μικρότερη ανταπόκριση στις απαντήσεις διφωσφορικής αδενοσίνης ex Vivo σε σύγκριση με τους μη καπνιστές. Στους χρόνιους καπνιστές η υπερπαραγωγή αιμοπεταλιακών αγωνιστών δύναται να έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση των αιμοπεταλιακών υποδοχέων και σε μια μειωμένη ανταπόκριση σε αυτούς ex vivo. Με παρόμοιο τρόπο, εάν ένας αιμοπεταλιακός υποπληθυσμός ενεργοποιούνταν από το κάπνισμα in Vivo, ένας αιμοπεταλιακός υποπληθυσμός με ελαττωμένη ανταπόκριση μπορεί να επιλεγεί για μελέτες ύστερα από αιμοληψία και επιλεκτική φυγοκέντριση ex Vivo. Καταλήγουμε λοιπόν, στο συμπέρασμα ότι οι μελέτες οι οποίες αφορούν την ενεργοποίηση αιμοπεταλίων ex Vivo μπορούν να παράξουν περιορισμένα αποτελέσματα όσον αφορά την συγκεκριμένη παράμετρο.

4.4) Μελέτες «turnover» στα αιμοπετάλια

Ένας εναλλακτικός τρόπος προσέγγισης στην μελέτη της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων είναι οι μελέτες οι οποίες χρησιμοποιούν ραδιοσημασμένα αιμοπετάλια. Αυτού του είδους οι μελέτες μπορούν να παράξουν απτές αποδείξεις της ανώμαλης λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων στους χρόνιους καπνιστές και δεν διαφοροποιούνται ανάλογα με το αν η βλάβη είναι άμεση επίπτωση του καπνίσματος ή αν είναι αποτέλεσμα αγγειακής φθοράς η οποία έχει προκληθεί από το κάπνισμα. Συν τοις άλλοις, η ταχεία ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων δεν συνεπάγεται θρόμβωση. Στον αντίποδα, ο χρόνος ημιζωής του αιμοπεταλίου φαίνεται να αντικατοπτρίζει μια αλλαγή στις αιμοπεταλιακές μεμβράνες η οποία οφείλεται στην επαφή των αιμοπεταλίων με τραυματισμένους ιστούς μετατρέποντας τα αιμοπετάλια με αυτόν τον τρόπο επιρρεπή σε επιταχυσμένη αποβολή από την αιματική κυκλοφορία. Με έναν παρόμοιο μηχανισμό, η ενδοθηλιακή βλάβη προκληθείσα από το κάπνισμα, όπως φαίνεται in vitro προκαλεί μια όμοια ακολουθία γεγονότων στο αιμοπετάλιο.

Παρόλο λοιπόν, που αυτού του τύπου οι μελέτες δύνανται να μελετήσουν την κινητική των αιμοπεταλίων in Vivo, έχουν επίσης πολλούς περιορισμούς. Αυτό συμβαίνει καθώς τα αποτελέσματα τους είναι εξαρτώμενα από το μοντέλο της μελέτης και δεν επιτρέπουν την επαλειμμένη εφαρμοστή τους σε πολλούς ασθενείς.

4.5) Σύγκριση των μεταβολών σχετιζόμενες με θρόμβωση σε καπνιστές και μη-καπνιστές

Η σύγκριση της αθηρο-θρομβωγενετικής παθολογίας η οποία επηρεάζει τα αγγεία σε καπνιστές και σε μη-καπνιστές είναι δύσκολο να εγκαθιδρυθεί καθώς το κάπνισμα είναι συνυφασμένο και με άλλους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου. Ωστόσο, μελέτες έχουν καταφέρει να καταγράψουν αρκετά σοβαρές βλάβες σε καπνιστές. Τα αποθέματα ασβεστίου στο αρτηριακό τοίχωμα και μια επέκταση θρόμβου η οποία θεωρείται άμεσο αποτέλεσμα των μεταβολών των πηκτικών παραμέτρων, έχουν επηρεάσει το καρδιαγγεια-

κό σύστημα των καπνιστών.Επιπλέον , αυτές οι μεταβολές είναι υπεύθυνες και για την χειροτέρευση της πρόγνωσης και της κλινικής εικόνας των ασθενών.

Επίσης, οι δομικές μεταβολές οι οποίες πατηρήθηκαν συγκρίθηκαν με παρόμοιες αλλαγές σε μη-καπνιστές οι ήταν η ομάδα «μάρτυρας ελέγχου».Επειτα βαρύτερες και σεφώς μεγαλύτερες σε έκταση βλάβες χαρακτήριζαν τους καπνιστές και αυτές οι βλάβες ήταν συσχετισμένες με την δυσλειτουργία του αιμοποιητικού συστήματος, με κυριότερη εμπλοκή αυτή των αιμοπεταλίων και του ενδοθηλίου.Συν τοις άλλοις, εντοπίστηκε μεγαλύτερη στένωση των στεφανιαίων αγγείων σε καπνιστές, ιδιαίτερα σε βαριά καπνιστές, σε σύγκριση με μη-καπνιστές.Το κάπνισμα έθετε θεμέλια για την δημιουργία λιπαρών πλακών στην επιφάνεια των αγγείων και για την πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος.

Καπνιστές οι οποίοι επιβίωσαν από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, παρουσίασαν καρδιαγγειακή βλάβη εξαιτίας των συστατικών του τσιγάρου. Επικρατέστερη βλάβη ήταν οι αθηροσκλήρυνση στον καρδιακό μυ και στα στεφανιαία αγγεία.Επομένως, το κάπνισμα εμφανίζει μια δυνατή συσχέτιση με την αύξηση αθηροσκληρωτικών επεισοδίων και φαίνεται να είναι σημαντικός παράγοντας στο αυξημένο κίνδυνο ασθένειας. Αυτό συμβαίνει συχνά συνδυαστικά και με άλλους παράγοντες κινδύνου, των οποίων η πλειοψηφία οδηγεί σε αλλαγές στον κατάρακτη της πήξης.Να σημειωθεί πως και η περιφερική αρτηριακή νόσος είναι συνυφασμένη με το κάπνισμα και την εμφάνιση θρομβωτικών και εμβολικών επεισοδίων ιδιαίτερα σε βαριά καπνιστές.

4.6) Η επιρροή του καπνίσματος στους αιμοστατικούς παράγοντες στις γυναίκες

Εκτεταμένη προσοχή είναι ανάγκη να δώσουμε στην σχέση ανάμεσα στο κάπνισμα και τους αιμοστατικούς παράγοντες στις γυναίκες, λόγω της ενδοκρινικής διαμόρφωσης τους.Ο καρδιαγγειακός κίνδυνος που ενέχεται είναι πιο αυξημένος σε σύγκριση με τους άντρες για ορισμένες ηλικίες.Σύμφωνα με την φυσιολογία, οι σεξουαλικές ορμόνες προστατεύουν τις γυναίκες από καρδιαγγειακά επεισόδια πριν της εμηνόπαυση , με εξαίρεση έναν περιορισμένο αριθμό περιπτώσεων.Στον αντίποδα, μετά την εμηνόπαυση ο κίνδυνος για κάποιο καρδιαγγειακό επεισόδιο σχεδόν τριπλασιάζεται σε σύγκριση με πριν την εμηνόπαυση.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι αντισυλληπτικά δια στόματος χάπια τα οποία περιέχουν οιστρογόνα και προγεστερόνη και δημιουργούν έναν ορμονικό σχηματισμό όμοιο με αυτόν κατά την ωχρινική φάση του κύκλου της έμμηνου ρήσης,θεωρούνται παράγοντας κινδύνου για το καρδιαγγειακό σύστημα και την αιμόσταση. Η πιο σοβαρή επιπλοκή δύναται να είναι η αύξηση θρομβοεμβολικών φαινομένων, η οποία παρατηρείται και σε φλέβες και σε αρτηρίες.Αρχικά, θεωρήθηκε ότι οι βλάβες οι οποίες προκαλούνται είναι αποτέλεσμα των οιστρογόνων, αλλά πλέον έχει αποδειχθεί ότι προέρχονται από την προγεστερόνη.Κίνδυνοι Ο κίνδυνος για φλεβίτιδα, πνευμονική εμβολή και θρόμβωση των ηπατικών φλεβών ένεχεται επίσης να αυξηθεί.Επιπροσθέτως η στεφανιαία αρτηριακή νόσος είναι στενά συνυφασμένη με τα αντισυλληπτικά φάρμακα.Στηθάγχη, έμφραγμα του μυοκαρδίου και καρδιακή ανακοπή ανήκουν στα συμπτώματα που επηρεάζουν τις γυναίκες χρηστές αυτών των φαρμάκων.

Τα αντισυλληπτικά με οιστρογόνα τείνουν να αυξάνουν τα επίπεδα των λιπιδίων στον ορό και οι αλλαγές που συνεπάγονται σακχαρώδη διαβήτη, παχυσαρκεία, ειδικότερα αν συνδυάζονται με κάπνισμα.Επομένως, οι χρήστριες αυτών των φαρμάκων οι οποίες καπνί-

ζουν είναι εκτεθειμένες σε μεγαλύτερο κίνδυνο θρομβοεμβολικού επεισοδίου εν συγκρίσει με τις μη-καπνίστριες χρήστριες. Αν και υπάρχουν διάφορες γνώμες σε πολλές διαφορετικές μελέτες οι οποίες αφορούν την σχέση ανάμεσα στην λήψη αντισυλληπτικών φαρμάκων και του καπνίσματος στις γυναίκες, σε όλες δίνεται έμφαση στον κίνδυνο καρδιακά και θρομβοεμβολικά επεισόδια. Παρά το πλήθος των διαθέσιμων ερευνών και μελετών, είμαστε μακριά από το να υπάρξει μια κοινή θεραπεία πρώτης γραμμής για όλα αυτά τα περιστατικά.

4.7) Συμπεράσματα για τις επιπτώσεις του καπνίσματος στον πηκτικό μηχανισμό

Είναι σαφώς κατανοητό ότι το κάπνισμα είναι αρνητικά συνυφασμένο με τους αιμοστατικούς παράγοντες, καθώς κατάτασσεται στις αιτίες θρομβοεμβολικών επεισοδίων στα αγγεία του σώματος εν γένει. Αυτό είναι αποτέλεσμα των ανατομικών αλλαγών που προκαλεί είτε στα ίδια τα αγγεία, είτε στους πηκτικούς παράγοντες λόγω των τοξικών συστατικών του.

Ανάλογα με το περιστατικό διαφορετικοί παράγοντες επηρεάζονται από το κάπνισμα. Συμπαράγοντας σε αυτό είναι και η ταυτόχρονη παρουσία άλλων συνοσηροτήτων του καρδιαγγειακού συστήματος, οι οποίοι μπορούν να οδηγήσουν σε σοβαρότερη βλάβη των αγγειακών συστατικών.

Άξιο σημείωσης είναι ότι υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις για την θεραπευτική πορεία που θα πρέπει να ακολουθήσουν γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση για να προστατευθούν από τους παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακών επεισοδίων. Ωστόσο, όσον αφορά τις σοβαρότερες καρδιαγγειακές βλάβες, αυτές είναι έντονα συνδεδεμένες με το κάπνισμα και τα δια στόματος αντισυλληπτικά φάρμακα τα οποία έχουν αρνητική δράση στους αιμοστατικούς μηχανισμούς.

Κεφάλαιο 5. Το κάπνισμα κατά την εγκυμοσύνη και η επίδραση του στο αιμοστατικό προφίλ των νεογνών.

5.1) Μέθοδοι

Αυτή η μελέτη παρατήρησης διεξείχθει στην Μονάδα Μητρότητας του Κρατικού Νοσοκομείου της Νίκαιας σε μια περίοδο 5 ετών. Η μελέτη είναι σύμφωνη με την Διακήρυξη του Χελσίνκι. Το επιστημονικό συμβούλιο του νοσοκομείου ενέκρινε το πρωτόκολλο της μελέτης και συγκατάθεσε ύστερα από την ανάλογη πληροφόρηση Λήφθηκε από τους γονείς πριν την συλλογή στοιχείων.

5.2) Κριτήρια επιλογής συμμετεχόντων στην μελέτη

Υγιή, τελειόμηνα νεογνά, τα οποία είχαν φυσιολογική περίοδο κύησης, τα οποία γεννήθηκαν στο μαιευτήριο του νοσοκομείου αποτέλεσαν τον πληθυσμό της μελέτης. Τα νεογνά κατηγοριοποιήθηκαν σε 2 ομάδες: τα νεογνά των οποίων η μητέρες ανέφεραν ότι κάπνιζαν κατά την εγκυμοσύνη τους και τα νεογνά των οποίων η μητέρες ανέφεραν ότι δεν κάπνιζαν κατά την εγκυμοσύνη, η οποία αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου. Για να θεωρηθεί η μητέρα καπνίστρια θεωρήθηκε ως κατώτατο όριο τα 10 τσιγάρα ημερησίως. Το όριο αυτό θεσπίστηκε με βάση προηγούμενες μελέτες οι οποίες έδειξαν ότι τα 10 τσιγάρα ημερησίως είναι το κατώτατο όριο για να είναι εμφανής η νικοτίνη στα νεογνά των οποίων οι μητέρες

είναι καπνίστριες. Τα νεογνά είχαν αντιστοιχία 1:1 όσον αφορά την ηλικία κύησης, την μέθοδο γέννησης και το φύλο. Όλα τα νεογνά που συμμετείχαν παρακολούθηθηκαν μέχρι να λάβουν εξειτήριο από το μαιευτήριο. Στην μελέτη δεν συμπεριλήφθηκαν νεογνά τα οποία γεννήθηκαν με επείγουσα καισαρική μέθοδο, έχουν οικογενειακό ιστορικό αιμορραγικών διαταραχών, υπάρχει υποψία χρωμοσωμικής ανωμαλίας, υπήρξε αιμορραγία κατά την γέννα, ή υπήρξε ανάγκη εισαγωγής στην Μ.Ε.Ν.Ν.. Τα στοιχεία ένταξης στην μελέτη φαίνονται στον Πίνακα 4.

5.3) Μεταβλητές και μετρήσεις της μελέτης

Τα δημογραφικά στοιχεία και τα κλινικά δεδομένα όπως η ηλικία κύησης, το φύλο, η μέθοδος γέννησης και το ιατρικό ιστορικό της μητέρας καταγράφηκαν πριν την μελέτη. Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν από τα νεογνά της μελέτης την 2η και την 3η ημέρα ζωής. Γενικοί έλεγχοι πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τον αναλυτή Sysmex XE 2100 της εταιρίας Roche και έλεγχος ROTEM χρησιμοποιώντας τον ROTEM analyzer (Tem Innovations GmbH, Munich, Germany). Το αίμα πάρθηκε από την περιφερική αρτηρία του άνω άκρου με βελόνα 23G, 0,6 mm και αποθηκεύτηκε σε φιαλίδια με 3,2% κιτρικό άλας και εξετάστηκε εντός μιας ώρας από την λήψη. Η εξέταση EXTEM του ROTEM πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η δημιουργία θρόμβου ξεκίνησε με την ενεργοποίηση της εξωτερικής οδού της πήξης με την χρήση 20 μ L χλωριούχου ασβεστίου συγκέντρωσης 0.2M και 20 μ L εξωτερικού ενεργοποιητή (ex-TEM αντιδραστήριο) Ύστερα από κατάλληλη ανάδευση των δειγμάτων και των αντιδραστηρίων, 300 μ L ολικού αίματος τοποθετήθηκαν στην κατάλληλη θήκη και ξεκίνησε η εξέταση, η οποία έτρεχε για τουλάχιστον 60 λεπτά μετά την ολοκλήρωση διάλυσης του θρόμβου στα 30 λεπτά. Με τακτικούς ελέγχους όλα τα δείγματα ελέγχθηκαν για ταινίες ινώδους και σε περίπτωση επιμόλυνσης αυτόματα απορρίπτονταν. Οι μεταβλητές του EXTEM όπου υπολογίστηκαν ήταν οι έξι: Χρόνος πήξης, Χρόνος σχηματισμού θρόμβων, το πλάτος του θρόμβου στα 10 και στα 30 λεπτά, η μέγιστη ισχύς του θρόμβου, δείκτης λύσης του θρόμβου στα 30 και 60 λεπτά και η μέγιστη ελαστικότητα του θρόμβου.

5.4) Στατιστική Ανάλυση

Όσον αφορά την διαδικασία ζευγοποίησης, κάθε νεογνό της ομάδας ελέγχου επιλέχθηκε μέσα από μια ομάδα κατάλληλων συμμετεχόντων. Πρώτη ενέργεια ήταν να υπάρχει αντιστοιχία για κάθε νεογνό το οποίο είχε εκτεθεί στο κάπνισμα με νεογνό της ομάδας ελέγχου του ίδιου φύλου 1:1. Η ίδια αντιστοιχία τηρήθηκε (1:1) για την ηλικία κύησης, και την ακολουθία του τοκετού. Η στατική ανάλυση συμπεριελάμβανε περιγραφική στατιστική του πληθυσμού μελέτης, για την μελέτη των δημογραφικών τους στοιχείων, των κλινικών παραμέτρων και των κλασικών εργαστηριακών ευρημάτων, χρησιμοποιώντας το μη-παραμετροποιημένο Man-Whitney έλεγχο. Επιπλέον, οι παράμετροι ROTEM αναμεσα στις 2 ομάδες συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας το μη παραμετροποιημένο Wilcoxon rank-sum test. Προκειμένου να διερευνηθεί η ανεξάρτητη επίπτωση του καπνίσματος της μητέρας στο αιμοστατικό προφίλ του νεογνού, όπως αυτή αντανακλάται από τις παραμέτρους του ROTEM, χρησιμοποιήθηκε πολυπαραγοντική γραμμική παλινδρόμηση. Για να προσαρμοστεί αυτό και σε άλλους παράγοντες όπως η ηλικία κύησης, το φύλο και το βάρος γέννησης, η πολυπαραγοντική γραμμική παλινδρόμηση έτρεξε με τις παραμέτρους ROTEM ως οι εξαρτημένες μεταβλητές και ως ανεξάρτητες μεταβλητές ορίστηκαν το βάρος

γέννησης, η ηλικία κύησης, ο τρόπος γέννησης, το φύλο και η έκθεση στο κάπνισμα. Κάθε παράμετρος ROTEM διερευνήθηκε ξεχωριστά για κάθε μοντέλο παλινδρόμησης και με αυτόν τον τρόπο πολυπαραγοντική γραμμική παλινδρόμηση έτρεξε για κάθε μια από τις παραμετρους του ROTEM. Το πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για την στατιστική ανάλυση ήταν το Stata 15.0 (Stata corp., College Station, TX, USA), ενώ ταυτόχρονα ορίστηκε ότι p-value μικρότερο του 0,05 έδειχνε στατιστική σημασία για όλες τις μετρήσεις

5.4) Αποτελέσματα

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελούνταν από 92 νεογνά εκ των οποίων, 46 (50%) είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα κατά την εγκυμοσύνη και 46 (50%) δεν είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα κατά την εγκυμοσύνη. Συνολικά και για τα 92 νεογνά, η μέση ηλικία κύησης ήταν οι 39 εβδομάδες και το μέσο βάρος κατά την γέννησης ήταν τα 3200 γραμμάρια. Στην μελέτη συμμετείχαν 39 αρσενικά (42,3%) και 53 (57,7%) θηλυκά νεογνά, ενώ υπήρχαν 7 (7,6%) νεογνά μικρά για την ηλικία κύησης στο πληθυσμό της μελέτης. Το βάρος γέννησης ήταν παρόμοιο ανάμεσα στα νεογνά που είχαν εκτεθεί και σε αυτά που δεν είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα (μέσοι όροι : 3175,0g VS 3330,0 gr, p=0,16). Τέλος, τα νεογνά τα οποία είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα κατά την εγκυμοσύνη είχαν συγκρίσιμους αριθμούς αιμοπεταλίων (μέσοι όροι : 310.000/ml VS 291.000/ml , p=0,71) και συγκρίσιμα επίπεδα αιμοσφαιρίνης (μέσοι όροι: 15,6 g/dl VS 16,0 g/dl, p=0,20) με τα νεογνά τα οποία δεν είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα. Όλα τα νεογνά, συμπεριλαμβανομένου του πληθυσμού μελέτης παρέμειναν σταθερά χωρίς να εμφανίσουν αιμορραγία ή θρόμβωση. Οι κλινικές και οι εργαστηριακές παράμετροι όπου μελετήθηκαν είναι εμφανείς στον πίνακα 4.

Μεταβλητές	Σύνολο (n=92)	Έκθεση στο κάπνισμα (n=46)	Μη έκθεση στο κάπνισμα (n=46)	p-value
Ηλικία κύησης	38,6 +- 0,8 39,0 (38,0-39,0)	38,6+- 0,9 38,5 (38,0-39,0)	38,6+-0,8 39,0 (38,0-39,0)	0,96
Βάρος γέννησης	3 2 0 5 , 4 +-395,8	3 1 5 5 , 6 +- 4 0 2 , 9 (2800,0-3380,0)	3 2 5 5 , 2 +- 3 8 6 , 6 (2950,0-3550,0)	0,16
Τρόπος γέννησης (καισαρική)	38 (41,3)	19 (41,3)	19 (41,3)	0,92
Φύλο (αρσενικό)	39 (42,3)	19 (41,3)	20 (43,4)	0,83
Μικρό για την ηλικία κύησης	7 (7,6)	5 (10,8)	2 (4,3)	0,23
Φαρμακευτική αγωγή κατά την κύηση (T4)	4 (4,3)	2 (4,3)	2 (4,3)	0,99
Αιμοπετάλια	2 9 3 , 5 +- 6 3 , 4 2 9 7 , 5 (253,0-340,0)	2 8 8 , 5 +- 7 8 , 6 3 1 0 , 0 (253,0-340,0)	2 9 9 , 5 +- 3 9 , 2 2 9 1 , 0 (272,0+-345,0)	0,7

Αιμοσφαιρίνη	15,9+- 1,5	15,6 +- 1,6	16,3+-1,3	0,2
	16,0 (15,0-16,8)	15,6 (14,8-16,8)	16,0 (15,0-17,4)	

5.5) Παράμετροι ROTEM

Η άμεση σύγκριση των παραμέτρων ROTEM αναμεσα στις δύο ομάδες αποκάλυψε πως πολλές παράμετροι διαφέρουν στα νεογνά τα οποία είχαν εκτεθεί και σε αυτά που δεν είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα, δείχνοντας ότι το κάπνισμα κατά την κύηση οδηγεί σε ταχύτερο σχηματισμό θρόμβου και σε θρόμβους με μεγαλύτερη ισχύ. Πιο συγκεκριμένα, τα νεογνά τα οποία είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα είχαν μικρότερο χρόνο πήξης (medians 40s vs 50s , $p=0,001$) μικρότερο χρόνο σχηματισμού θρόμβου (medians 57mm vs 54 mm, $p=0,043$) και μικρότερο δείκτη A30 (medians 63,5 mm vs 61mm, $p=0,028$) εν συγκρίσει με τα νεογνά τα οποία δεν είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα. Επιπροσθέτως, η μέγιστη ελαστικότητα του θρόμβου, μια ακόμη παράμετρος η οποία αντικατοπτρίζει την δυναμική του θρόμβου, ήταν αυξημένη στα νεογνά τα οποία είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα σε σύγκριση με τα νεογνά τα οποία δεν είχαν εκτεθεί (MCE medians 63,5 mm vs 61 mm, $p=0,028$).

Η έντονη συσχέτιση ανάμεσα σε μια υπερθρομβική κατάσταση, όπως αυτή αντανακλάται από έναν ταχύτερο χρόνο πήξης, και το κάπνισμα κατά την κύηση, έχει επίσης υποστηριχθεί από τα αποτελέσματα των πολυπαραγοντικών γραμμικών παλινδρομήσεων. Η γραμμική παλινδρόμηση προσαρμόστηκε για την ηλικία κύησης, το φύλο, το βάρος γέννησης, το βάρος κατά την γέννηση και τον τρόπο γέννησης και κατέδειξε ότι το κάπνισμα κατά την γέννηση είναι συνυφασμένο με την ταχύτερη ενεργοποίηση της αιμόστασης στα νεογνά από την στιγμή που συσχετίστηκε με μικρότερο EXTEM CT (coefficient: -8,68, 95% διάστημα εμπιστοσύνης : -13,51-3,85, $p=0,001$). Παρόλα αυτά, η πολυπαραγοντική παλινδρόμηση έδειξε ότι το κάπνισμα κατά την κύηση είναι δεν είναι συνδεδεμένο με τον χρόνο σχηματισμού θρόμβου ($p=0,041$), το πλάτος του θρόμβου στα 10 λεπτά ($p=0,16$) και στα 30 λεπτά ($p=0,14$) ή την μέγιστη ελαστικότητα θρόμβου ($p=0,50$). Αυτό το εύρημα υποδεικνύει τις σημαντικές διαφορές αυτών των παραμέτρων ROTEM μέσα από την άμεση σύγκριση των δύο ομάδων της μελέτης, οι οποίες προκύπτουν από έναν κοινό παράγοντα και δεν είναι αποτέλεσμα της ανεξάρτητης συσχέτισης ανάμεσα στο κάπνισμα κατά την κύηση και στην αυξημένη δυναμική του θρόμβου στα νεογνά.

5.6) Πειραματική μελέτη

Αυτή είναι η πρώτη μελέτη η οποία επικεντρώνεται στις επιπτώσεις της προγεννητικής έκθεσης στο κάπνισμα, στο αιμοστατικό προφίλ των νεογνών χρησιμοποιώντας ROTEM. Μια υπερθρομβική κατάσταση, όπως αυτή αντανακλάται από έναν ελαττωμένο χρόνος πήξης, οποίος σημειώθηκε στα νεογνά τα οποία είχαν εκτεθεί στο κάπνισμα προγεννητικά.

Στους ενήλικες, οι επιπλοκές του καπνίσματος στους αιμοστατικούς μηχανισμούς είναι αδιάσειστες. Το κάπνισμα φαίνεται είναι ο κύριος αναμεσα σε άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, ο οποίος προκαλεί αύξηση στις συγκεντρώσεις του ινωδογόνου στο πλάσμα, το οποίο με την σειρά του επηρεάζει το ιξώδες του αίματος, την ικανότητα των αιμοπεταλίων να δημιουργούν συσσωματώματα, και την παραγωγή ινώδους. Μελέτες έδειξαν μια εξάρτηση ανάμεσα στο πλήθος τσιγάρων ημερησίως και στην συγκέντρωση ινωδογόνου στο πλάσμα. Τα αιμοπετάλια των καπνιστών παρουσιάζουν αυξημένη ικανότητα δημιουργίας συσσωματωμάτων σε σύγκριση με τους μη-καπνιστές. Το κάπνισμα τείνει να ενεργο-

ποιεί πολλούς μηχανισμούς, όπως η απελευθέρωση ενδογενών επινεφριδίων οι οποίες επάγονται από την νικοτίνη, οι οποίοι έχουν ως αποτελέσματα την συχνότερη δημιουργία αιμοπεταλιακών θρόμβων. Επιπλέον, στους καπνιστές έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα ιστικού παράγοντα και ενεργοποιημένου παράγοντα XIII, τα οποία ενισχύουν την δυναμική του σχηματισμένου θρόμβου. Επιπροσθέτως, το κάπνισμα οδηγεί σε ελαττωμένη παραγωγή του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου από το ενδοθήλιο, έχοντας ως αποτέλεσμα την δυσλειτουργία της ενδογενούς ινωδόλυσης. Το κάπνισμα είναι επίσης συνυφασμένο με την φλεγμονή, όπως έχει αποδειχθεί από την αύξηση των κυτοκινών και την ενισχυμένη έκφραση γονιδίων συνδεδεμένων με την φλεγμονή στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων. Συνέπεια των παραπάνω είναι η γενικευμένη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και η διαταραχή του καταρράκτη της πήξης.

Η διαπερότητα του πλακούντα στα συστατικά του τσιγάρου είναι ευρέως γνωστή και καλά διερευνημένη. Οι συνέπειες του καπνίσματος κατά την κύηση στους απογόνους έχει μελετηθεί ενδελεχώς. Ωστόσο η προγεννητική έκθεση στο κάπνισμα στο αιμοστατικό προφίλ των νεογνών δεν έχει διερευνηθεί πλήρως.

Το 1994 σε μελέτη του A. Spinillo et al. αναδείχθηκε ότι το κάπνισμα κατά το δεύτερο και τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου ενδοκράνιακης αιμορραγίας στα πρόωρα νεογνά. Τέθηκε η υπόθεση πως η αιμοδυναμική αστάθεια του ανώριμου αιματοεγκεφαλικού φραγμού μπορεί να αποδοθεί στο κάπνισμα της μητέρας. Παρόλα αυτά σε αυτή την μελέτη δεν πραγματοποιήθηκαν αιμοστατικές μετρήσεις και αυτό μπορεί να θεωρηθεί ως ένας περιορισμός της.

Η Mercelina Roumans et al. πραγματοποίησε μια αξιολόγηση των πλεγμάτων θρομβίνης-αντιθρομβίνης, πλασμίνης-αντιπλασμίνης και μετρήσεις των δ-διμερών. Οι μετρήσεις έγιναν με δείγματα από τον ομφάλιο λώρο, και κατέδειξαν ότι αν και οι τιμές στα νεογνά με μητέρες καπνίστριες ήταν αυξημένες, η ισορροπία ανάμεσα στην πήξη και την ινωδόλυση δεν είχε διαταραχθεί.

Παρομοίως, ο Mitsiakos et al. δεν ανέφερε καμία διαταραχή ανάμεσα στην πήξη και την ινωδόλυση παρά της αλλαγές οι οποίες παρατηρήθηκαν στον παράγοντα II, στην πρωτεΐνη S, στο t-PA, και στον παράγοντα VIII στα νεογνά μετά την προγεννητική τους έκθεση στο κάπνισμα. Δυστυχώς, η επιρροή του καπνίσματος κατά την κύηση στους μηχανισμούς πήξης και ινωδόλυσης δεν δύναται να αντικατοπτριστεί από τα κλασσικές εξετάσεις της πήξης.

Η περίπλοκη φύση του πηκτικού μηχανισμού σε συνδυασμό με την αδυναμία των κλασικών πηκτικών εξετάσεων να προσδιορίσουν τους μηχανισμούς της *in vivo* αιμόστασης, έχουν καταστήσει τις ιξωδοελαστικές εξετάσεις χρήσιμες και πιο πρακτικές για την αξιολόγηση τους στην κλινική πράξη. Η χρήση των ιξωδοελαστικών εξετάσεων και ειδικότερος του ROTEM στην αξιολόγηση και την και διαχείριση των αιμοστατικών διαταραχών, θεωρείται πλέον ένα καινούργιο πεδίο ερευνών.

Στην παρούσα μελέτη η παράμετρος ROTEM EXTEM αξιοποιήθηκε για πρώτη φορά, για να αξιολογηθεί το αιμοστατικό προφίλ των νεογνών που εκτέθηκαν στο κάπνισμα ενδομητρίως. Το κάπνισμα της μητέρας κατά την κύηση αποκαλύφθηκε πως είναι ανεξάρτητα συνδεδεμένο με την επιταχυσμένη ενεργοποίηση των πηκτικών μηχανισμών στα νεογνά, το οποίο εκφράζεται μέσα από μικρότερο EXTEM ct. Η παράμετρος EXTEM αξιολογεί το εξωτερικό μονοπάτι της πήξης, το οποίο αντανακλά τον ρυθμό αναγέννησης της θρομβίνης και είναι εξαρτημένο από την δραστηριότητα των παραγόντων πήξης II, VII, V, X, των προϊόντων αποδόμησης του ινώδους και της έκφρασης του ιστικού παράγοντα από τα κύτ-

ταρα της κυκλοφορίας. Συνεπώς, υποθέτουμε ότι ο ελαττωμένος χρόνος πήξης ο οποίος παρατηρήθηκε στα νεογνά εκτεθειμένα στο κάπνισμα, μπορεί να αποδοθεί στα αυξημένα επίπεδα πηκτικού παράγοντα, συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων II, X, V, αυξημένα επίπεδα ιστικού παράγοντα και επίπεδα ινωδογόνου, τα οποία είναι παρόμοια με αυτά των ενηλίκων καπνιστών. Συμφωνώντας με τα ευρήματα αυτής της έρευνας Rajat S. Barua et al. ανέφερε ότι στους ενήλικες η άμεση έκθεση σε δύο τσιγάρα είναι συσχετισμένη με την ελάττωση του χρόνου πήξης. Οι παράμετροι ROTEM EXTEM, A10, A20, A30, MCF και MCE αντικατοπτρίζουν την δύναμη του θρόμβου και είναι εκτενώς εξαρτημένοι από τον αριθμό των αιμοπεταλίων και την λειτουργία τους, από την συγκέντρωση ινωδογόνου και τον πολυμερισμό του, την δραστηριότητα του παράγοντα XIII. Η άμεση σύγκριση αυτών των παραμέτρων στις δύο ομάδες νεογνών παρουσίασε μια ενισχυμένη δυναμική του θρόμβου στα νεογνά εκτεθειμένα στο κάπνισμα κατά την εγκυμοσύνη. Παρόλα αυτά, η πολυπαραγοντική γραμμική παλινδρόμηση, προσαρμοσμένη για την ηλικία κύησης, το βάρος γεννήσεως και την μέθοδο γέννησης, έδειξε καμία ανεξάρτητη συσχέτιση ανάμεσα στην αυξημένη ισχύ του θρόμβου στα νεογνά και το κάπνισμα κατά την κύηση. Το αποτέλεσμα αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στο ότι ο αριθμός των νεογνών τα οποία συμμετείχαν στην μελέτη δεν ήταν αρκετά μεγάλος για να αναδείξει ανεπαίσθητες διαφορές στην πήξη των δύο ομάδων. Επιπροσθέτως, το κάπνισμα αξιολογήθηκε ως μια ποιοτική παράμετρος παρά ως ποσοτική, έτσι μια πιθανή σύνδεση με την δοσολογία και τις μεταβλητές του ROTEM μπορεί να έχει παραληφθεί. Συν τοις άλλοις, πολλές μελέτες έχουν προτείνει ότι η χρόνια ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω του καπνίσματος συνεπάγεται την ελαττωμένη επιβίωση και την δυσλειτουργία τους. Το παραπάνω δύναται να αποτρέψει το κάπνισμα από το αναδειχθεί ως ένας ανεξάρτητος παράγοντας διαφοροποιήσεων στις παραμέτρους μεγέθους και ισχύος του θρόμβου. Με αυτόν τον τρόπο, οι σημαντικές διαφορές στο ROTEM οι οποίες παρατηρήθηκαν μέσα από την άμεση σύγκριση των δύο ομάδων, μπορούν να αποδοθούν σε συνδυασμό παραγόντων. Στους ενήλικες οι επιπτώσεις του καπνίσματος στα αιμοπετάλια φαίνεται να είναι φυλοεξαρτώμενες. Αν και τα νεογνά της μελέτης είχαν αντιστοιχία 1:1 όσον αφορά το φύλο, η πιθανή εξάρτηση αυτή ήταν περιορισμένη αλλά όχι ανύπαρκτη. Είναι αξιοσημείωτο ότι παρά τα εργαστηριακά ευρήματα, κανένα νεογνό δεν εμφάνισε συμπτώματα όπως θρόμβωση ή αιμορραγία στην κλινική πράξη μέχρι και να λάβουν εξειτήριο. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι στην μελέτη συμπεριλήφθηκαν μόνο υγιή νεογνά. Τα αποτελέσματα και η κλινική πορεία θα μπορούσαν να είναι διαφορετικά για ασθενή νεογνα σε κρίσιμη κατάσταση, τα οποία έχουν τάση προς αιμοστατικές ανωμαλίες και δεν αξιολογήθηκαν σε αυτή την μελέτη.

Η παρούσα μελέτη έχει ορισμένους περιορισμούς οι οποίοι πρέπει να ληφθούν υπόψη. Επίσημος υπολογισμός για το μέγεθος δείγματος δεν πραγματοποιήθηκε καθώς αυτή είναι μια πιλοτική μελέτη με έλλειψη προηγούμενων δημοσιευμένων δεδομένων με δείκτες ROTEM σε νεογνά με και χωρίς προγεννητική έκθεση στο κάπνισμα. Παρά λοιπόν τις πρακτικές οριοθετήσεις όπως ο χρόνος, η διαθεσιμότητα των πιθανών συμμετεχόντων και το οικονομικό κόστος, οι οποίες καθόρισαν το μέγεθος του δείγματος, ο πληθυσμός αυτής της μελέτης είναι ο μεγαλύτερος ο οποίος αναφερθεί σε σχετικές δημοσιευμένες μελέτες. Εξαιτίας της πιλοτικής φύσης της μελέτης, και της έλλειψης προηγούμενων δεδομένων και ενός προϋπολογισμένου δείγματος η πιθανότητα του να απαιτούνταν μεγαλύτερο δείγμα δεν δύναται να αποκλειστεί, καθώς και η συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και άλλων αιμοστατικών παραμέτρων. Το κάπνισμα αξιολογήθηκε ως μια ποιοτική παρά ποσοτική παράμετρος και είναι πιθανό μια συσχέτιση με την δοσολογία και τις αιμοστατικές πα-

ραμετρους να έχει παραληφθεί. Στον πληθυσμό της μελέτης για να κατηγοριοποιηθεί μια μητέρα ως καπνίστρια, έπρεπε να αναφερθεί το κάπνιζε περισσότερο από δέκα τσιγάρα ημερησίως. Συνεπώς, τα αποτελέσματα της μελέτης μπορούν να εφαρμοστούν μόνο για αυτή τη συγκεκριμένη ομάδα νεογνών. Επιπλέον, οι κλασσικές εξετάσεις της πήξης και η μέτρηση συγκεκριμένων πηκτικών και ινωδολυτικών παραγόντων δεν διεξάχθηκαν ταυτόχρονα προκειμένου να αξιολογηθούν σε παλινδρόμηση με τις παραμέτρους του ROTEM. Αντιθέτως, ένα από τα πλεονεκτήματα αυτής της μελέτης είναι ότι τα νεογνά που συμμετείχαν είχαν αντιστοιχία 1:1 όσον αφορά το φύλο, την ηλικία κύησης, και την μέθοδο γέννησης προκειμένου να ελαττωθούν πιθανές επιπτώσεις στο αιμοστατικό προφίλ.

5.7) Συμπεράσματα

Το κάπνισμα κατά την κύηση είναι ένας ερεθιστικός παράγοντας για την κατάσταση της αιμοστασης στα νεογνά, έχοντας ως αποτέλεσμα την υπερπηκτικότητα εκφραζόμενη από μικρότερο χρόνο πήξης ROTEM. Αυτή η διαταραχή μπορεί να παραμείνει σιωπηλή έως ότου συμβεί κάποιο κλινικό συμβάν, για αυτό η εγρήγορση από τους κλινικούς ιατρούς είναι αναγκαία. Μεγαλύτερες μελέτες είναι απαραίτητες για να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα μας.

Βιβλιογραφία

1. Osaki T, Ichinose A. Current views of activating and regulatory mechanisms of blood coagulation. *Nihon rinsho Japanese. J Clin Med.* 2014;72(7):1206–11.
2. Davie EW. A brief historical review of the waterfall/cascade of blood coagulation. *J Biol Chem.* 2003;278(51):50819–32.
3. Butenas S, Mann K. Blood coagulation. *Biochem Mosc.* 2002;67(1):3–12.
4. Kasirer-Friede A, Shattil SJ. Regulation of platelet adhesion receptors. In: *Platelets in thrombotic and non-thrombotic disorders.* Cham: Springer; 2017. p. 69–84.
5. Feghhi S, Munday AD, Tooley WW, Rajsekar S, Fura AM, Kulman JD, et al. Glycoprotein Ib-IX-V complex transmits cytoskeletal forces that enhance platelet adhesion. *Biophys J.* 2016;111(3):601–8.
6. Bennett JS. Regulation of integrins in platelets. *Peptide Sci.* 2015;104(4):323–33.
7. Versteeg HH, Heemskerk JW, Levi M, Reitsma PH. New fundamentals in hemostasis. *Physiol Rev.* 2013;93(1):327–58.
8. Gremmel T, Frelinger AL III, Michelson AD. Platelet physiology. *Semin Thromb Hemost.*

- 2016;42(3):191–204.
9. Sorrentino S, Studt J-D, Medalia O, Sapra KT. Roll, adhere, spread and contract: structural mechanics of platelet function. *Eur J Cell Biol.* 2015;94(3):129–38.
 10. Goto S, Hasebe T, Takagi S. Platelets: small in size but essential in the regulation of vascular homeostasis—translation from basic science to clinical medicine. *Circ J.* 2015;79(9):1871–81.
 11. Coller B. α IIb β 3: structure and function. *J Thromb Haemost.* 2015;13(Suppl 1):S17–25.
 12. Bledzka K, Smyth SS, Plow EF. Integrin α IIb β 3. *Circ Res.* 2013;112(8):1189–200.
 13. López JA. The platelet glycoprotein Ib-IX-V complex. In: Gresele P, Kleiman N, Lopez J,
 14. Page C, editors. Platelets in thrombotic and non-thrombotic disorders. Cham: Springer; 2017. p. 85–97.
 15. Li R, Emsley J. The organizing principle of the platelet glycoprotein Ib–IX–V complex. *J Thromb Haemost.* 2013;11(4):605–14.
 16. Madamanchi A, Santoro SA, Zutter MM. α 2 β 1 integrin. In: I domain integrins. Cham: Springer; 2014. p. 41–60.
 17. Arman M, Krauel K. Human platelet IgG Fc receptor Fc γ RIIA in immunity and thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2015;13(6):893–908.
 18. Gawaz M, Vogel S, Pfannenbergl C, Pichler B, Langer H, Bigalke B. Implications of glycoprotein VI for theranostics. *Thromb Haemost.* 2014;112(1):1–6.
 19. Kunicki TJ. Platelet membrane glycoproteins and their function: an overview. *Ann Hematol.* 1989;59(1):30–4.
 20. Nurden AT. Platelet membrane glycoproteins: a historical review. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40:577–84.
 21. George JN. Platelet membrane glycoproteins. Cham: Springer; 2013.
 22. Koseoglu S, Flaumenhaft R. Advances in platelet granule biology. *Curr Opin Hematol.*

- 2013;20(5):464–71.
23. Heijnen H, Sluijs P. Platelet secretory behaviour: as diverse as the granules... or not? *J Thromb Haemost.* 2015;13(12):2141–51.
 24. Sadeghian MH, Keramati MR, Badieli Z, Ravarian M, Ayatollahi H, Rafatpanah H, et al.
Alloimmunization among transfusion-dependent thalassemia patients. *Asian J Transfusion Sci.* 2009;3(2):95.
 25. Yadav S, Storrie B. The cellular basis of platelet secretion: emerging structure/function relationships. *Platelets.* 2017;28(2):108–18.
 26. Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: from haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 2015;29(3):153–62.
 27. Yau JW, Teoh H, Verma S. Endothelial cell control of thrombosis. *BMC Cardiovasc Disord.* 2015;15(1):130.
 28. van Hinsbergh VW. Endothelium—role in regulation of coagulation and inflammation. *Semin Immunopathol.* 2012;34:93–106.
 29. Monahan-Earley R, Dvorak AM, Aird WC. Evolutionary origins of the blood vascular system and endothelium. *J Thromb Haemost.* 2013;11(s1):46–66.
 30. Dekker RJ, van Thienen JV, Rohlena J, de Jager SC, Elderkamp YW, Seppen J, et al. Endothelial KLF2 links local arterial shear stress levels to the expression of vascular tone-regulating genes. *Am J Pathol.* 2005;167(2):609–18.
 31. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: II. Representative vascular beds. *Circ Res.* 2007;100(2):174–90.
 32. Bode M, Mackman N. Protective and pathological roles of tissue factor in the heart. *Hamostaseologie.* 2015;35(1):37–46.
 33. Borissoff JI, Spronk HM, ten Cate H. The hemostatic system as a modulator of atherosclerosis. *N Engl J Med.* 2011;364(18):1746–60.
 34. Schousboe I. Binding of activated Factor XII to endothelial cells affects its inactivation by the C1-esterase inhibitor. *FEBS J.* 2003;270(1):111–8.

35. Do H, Healey JF, Waller EK, Lollar P. Expression of factor VIII by murine liver sinusoidal endothelial cells. *J Biol Chem.* 1999;274(28):19587–92.
36. Dubois C, Panicot-Dubois L, Gainor JF, Furie BC, Furie B. Thrombin-initiated platelet activation in vivo is vWF independent during thrombus formation in a laser injury model. *J Clin Investig.* 2007;117(4):953.
37. Esmon CT, Esmon NL. The link between vascular features and thrombosis. *Annu Rev Physiol.* 2011;73:503–14.
38. Wood JP, Ellery PE, Maroney SA, Mast AE. Biology of tissue factor pathway inhibitor. *Blood.* 2014;123(19):2934–43.
39. Dahm A, van Hylckama Vlieg A, Bendz B, Rosendaal F, Bertina RM, Sandset PM. Low levels of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) increase the risk of venous thrombosis. *Blood.* 2003;101(11):4387–92.
40. Collen D, Lijnen HR. The tissue-type plasminogen activator story. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(8):1151–5.
41. Chung DW, Fujikawa K. Processing of von Willebrand factor by ADAMTS-13. *Biochemistry.* 2002;41(37):11065–70.
42. Petraglia AL, Marky AH, Walker C, Thiyagarajan M, Zlokovic BV. Activated protein C is neuroprotective and mediates new blood vessel formation and neurogenesis after controlled cortical impact. *Neurosurgery.* 2010;66(1):165–72.
43. Adams RL, Bird RJ. coagulation cascade and therapeutics update: relevance to nephrology.
Part 1: overview of coagulation, thrombophilias and history of anticoagulants.
Nephrology.
2009;14(5):462–70.
44. Palta S, Saroa R, Palta A. Overview of the coagulation system. *Indian J Anaesth.* 2014;58(5):515.
45. Mann KG, Brummel-Ziedins K, Orfeo T, Butenas S. Models of blood coagulation. *Blood Cell Mol Dis.* 2006;36(2):108–17.
46. Grignani G, Maiolo A. Cytokines and hemostasis. *Haematologica.* 2000;85(9):967–72.

46. Mann KG, Butenas S, Brummel K. The dynamics of thrombin formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(1):17–25.
47. Lasne D, Jude B, Susen S. From normal to pathological hemostasis. *Can J Anesth.* 2006; 53(2):S2–S11.
48. Pike RN, Buckle AM, Le Bonniec BF, Church FC. Control of the coagulation system by serpins. *FEBS J.* 2005;272(19):4842–51.
49. Rigby AC, Grant MA. Protein S: a conduit between anticoagulation and inflammation. *Crit Care Med.* 2004;32(5):S336–41.
50. Dahm A, Sandset P, Rosendaal F. The association between protein S levels and anticoagulant activity of tissue factor pathway inhibitor type 1. *J Thromb Haemost.* 2008;6(2):393–5.
51. Corral J, González-Conejero R, Hernández-Espinosa D, Vicente V. Protein Z/Z-dependent protease inhibitor (PZ/ZPI) anticoagulant system and thrombosis. *Br J Haematol.* 2007;137(2):99–108.
52. Rijken D, Lijnen H. New insights into the molecular mechanisms of the fibrinolytic system. *J Thromb Haemost.* 2009;7(1):4–13.
53. Dellas C, Loskutoff DJ. Historical analysis of PAI-1 from its discovery to its potential role in cell motility and disease. *Thromb Haemost.* 2005;93(4):631–40.
54. Ezihe-Ejiofor JA, Hutchinson N. Anticlotting mechanisms 1: physiology and pathology. *Contin Edu Anaesth Crit Care Pain.* 2013;13(3):87–92.
55. Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev.* 2015;29(1):17–24.
56. Tisherman, S. A. et al. Detailed description of all deaths in both the shock and traumatic brain injury hypertonic saline trials of the Resuscitation Outcomes Consortium. *Ann. Surg.* 261, 586–590 (2015).
57. Eastridge, B. J. et al. Death on the battlefield (2001-2011): implications for the future of combat casualty care. *J. Trauma Acute Care Surg.* 73, S431–S437 (2012).

58. Fox, E. E. et al. Earlier endpoints are required for hemorrhagic shock trials among severely injured patients. *Shock*. 47, 567–573 (2017).
59. Moore, H. B. et al. Plasma-first resuscitation to treat haemorrhagic shock during emergency ground transportation in an urban area: a randomised trial. *Lancet* 392, 283–291 (2018).
60. Sperry, J. L. et al. Prehospital plasma during air medical transport in trauma patients at risk for hemorrhagic shock. *N. Engl. J. Med.* 379, 315–326 (2018).
61. Sauaia A., Moore E. E., Wade C., Holcomb J. B. in *Trauma Induced Coagulopathy* 2nd edn (eds Moore H. B., Neal M. D. & Moore E. E.) 13-27 (Springer, 2021).
62. Kalkwarf, K. J. et al. Bleeding to death in a big city: an analysis of all trauma deaths from hemorrhage in a metropolitan area over one year. *J. Trauma Acute Care Surg.* 89, 716–722 (2020).
63. Moore, H. B. et al. Hyperfibrinolysis, physiologic fibrinolysis, and fibrinolysis shutdown: the spectrum of postinjury fibrinolysis and relevance to antifibrinolytic therapy. *J. Trauma Acute Care Surg.* 77, 811–817 (2014).
64. Macfarlane, R. G. & Biggs, R. Fibrinolysis; its mechanism and significance. *Blood* 3, 1167–1187 (1948).
65. Innes, D. & Sevitt, S. Coagulation and fibrinolysis in injured patients. *J. Clin. Pathol.* 17, 1–13 (1964).
66. Kashuk, J. L., Moore, E. E., Millikan, J. S. & Moore, J. B. Major abdominal vascular trauma—a unified approach. *J. Trauma* 22, 672–679 (1982).
67. Morton, A. P. et al. Revisiting early postinjury mortality: are they bleeding because they are dying or dying because they are bleeding? *J. Surg. Res.* 179, 5–9 (2013).
68. Chang, R. et al. Abnormalities of laboratory coagulation tests versus clinically evident coagulopathic bleeding: results from the prehospital resuscitation on helicopters study (PROHS). *Surgery*. 163, 819–826 (2018).

69. Moore E. & Moore H. in Trauma Induced Coagulopathy 2nd edn (ed. Moore H. B. Moore, E. E. & Neal M. D.) 3-11(Springer 2020).
70. Gando, S., Levi, M. & Toh, C. H. Disseminated intravascular coagulation. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2, 16037 (2016).
71. Saz-Lara A, Martinez-Vizcaino V, Sequi-Dominguez I, Alvarez-Bueno C, Notario-Pacheco B, Cavero-Redondo I. The effect of smoking and smoking cessation on arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cardiovasc Nurs.* 2021 doi: 10.1093/eurjcn/zvab102. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
72. Doonan RJ, Hausvater A, Scallan C, Mikhailidis DP, Pilote L, Daskalopoulou SS. The effect of smoking on arterial stiffness. *Hypertension Res.* 2010;33(5):398–410. doi: 10.1038/hr.2010.25. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
73. Coutinho T, Yam Y, Chow BJW, Dwivedi G, Inacio J. Sex differences in associations of arterial compliance with coronary artery plaque and calcification burden. *J Am Heart Assoc.* 2017 doi: 10.1161/JAHA.117.006079. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
74. Gdowski MA, Murthy VL, Doering M, Monroy-Gonzalez AG, Slart R, Brown DL. Association of isolated coronary microvascular dysfunction with mortality and major adverse cardiac events: a systematic review and meta-analysis of aggregate data. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(9):e014954. doi: 10.1161/JAHA.119.014954. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
75. Trap-Jensen J. Effects of smoking on the heart and peripheral circulation. *Am Heart J* 1988; 115: 263-6.
76. Folts JD, Bonebrake FC. The effects of cigarette smoke and nicotine on platelet thrombus formation in stenosed dog coronary arteries; inhibition with phentolamine. *Circulation* 1982; 65: 465-9.
77. Meade T, Imeson J, Sterling Y. Effects of changes in smoking and other characteristics in clotting factors and the risk of ischaemic heart disease *Lancet* 1987; ii: 986-8.

78. FitzGerald GA, Smith B, Pederson AK, Brash AR. Increased prostacyclin biosynthesis in patients with severe atherosclerosis and platelet activation. *N Engl J Med* 1984; 310: 1065-8.
79. Spach MS, Howell DA, Harris JS. Myocardial infarction and multiple thrombosis in a child with primary thrombocytosis. *Pediatrics* 1963; 31: 268- 76.
80. Zhu B, Parmley WW. Hemodynamic and vascular effects of active and passive smoking. *Am Heart J* 1995; 130: 1270-75.
81. Klein LW, Pichard AD, Holt J, Smith H, Gorlin R, Teichholz LE. Effects of chronic tobacco smoking on coronary circulation. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1: 421-6.
82. Wilson PW, Garrison RJ, Castelli WP. Postmenopausal estrogen use, cigarette smoking, and cardiovascular morbidity in women over 50. The Framingham Study. *N Engl J Med* 1985; 313(17): 1038-43.
83. Mueck AO, Seeger H. Smoking, estradiol metabolism, and hormone replacement therapy. *Arzneimittelforschung* 2003; 53: 1-11.
84. Rexrode KM, Manson JE, Lee IM, Ridker PM, Sluss PM, Cook NR, et al. Sex hormone levels and risk of cardiovascular events in postmenopausal women. *Circulation* 2003; 108: 1688-93.
85. G.Banderali,etal.,Shortandlongtermhealtheffectsofparentaltobaccosmoking during pregnancy and lactation: a descriptive review, *J. Transl. Med.* 13 (1) (2015) 327.
86. M.C. Kataoka, et al., Smoking during pregnancy and harm reduction in birth weight: a cross-sectional study, *BMC Pregnancy Childbirth* 18 (1) (2018) 67.
87. H. Votavova, et al., Deregulation of gene expression induced by environmental tobacco smoke exposure in pregnancy, *Nicotine Tob. Res.* 14 (9) (2012) 1073–1082.
88. M.Ekblad,J.Korkeila,L.Lehtonen,Smoking during pregnancy affects foetal brain development, *Acta Paediatr.* 104 (1) (2015) 12–18.

89. D.E.Newby,etal.,Endothelial dysfunction,impaired endogenous fibrinolysis, and cigarette smoking, *Circulation* 99 (11) (1999) 1411–1415.
90. J. Nowak, et al., Biochemical evidence of a chronic abnormality in platelet and vascular function in healthy individuals who smoke cigarettes, *Circulation* 76 (1) (1987) 6–14.
91. A. Sambola, et al., Role of risk factors in the modulation of tissue factor activity and blood thrombogenicity, *Circulation* 107 (7) (2003) 973–977.
92. A. Spinillo, et al., Epidemiologic association between maternal smoking during pregnancy and intracranial hemorrhage in preterm infants, *J. Pediatr.* 127 (3) (1995) 472–478.
93. S. Parastatidou, R. Sokou, A.G. Tsantes, A. Konstantinidi, M. Lampridou, G. Ioakeimidis, P. Panagiotounakou, E. Kyriakou, S. Kokoris, A. Gialeraki, P. Douramani, N. Iacovidou, D. Piovani, S. Bonovas, G. Nikolopoulos, A.E. Tsantes, The role of ROTEM variables based on clot elasticity and platelet component in predicting bleeding risk in thrombocytopenic critically ill neonates, *Eur. J. Haematol.* 106 (2) (2021) 175–183.
94. A.G. Tsantes, et al., Rotational thromboelastometry findings are associated with symptomatic venous thromboembolic complications after hip fracture surgery, *Clin. Orthop. Relat. Res.* 479 (11) (2021) 2457–2467.
95. A. Konstantinidi, et al., Clinical application of thromboelastography/ thromboelastometry (TEG/TEM) in the neonatal population: a narrative review, *Semin. Thromb. Hemost.* 45 (2019) 449–457, 05.
96. R.Sokou,etal.,Rotational thromboelastometry in neonates admitted to a neonatal intensive care unit: a large cross-sectional study, *Semin. Thromb. Hemost.* 47 (7) (2021) 875–884
97. P.E. Mercelina-Roumans, et al., Cotinine concentrations in plasma of smoking pregnant women and their infants, *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 34 (7) (1996) 525–528.

