



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ



ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

## Διαταραχές Αιμόστασης σε Ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη

GRADUATE THESIS

## Hemostatic Abnormalities in Patients with Diabetes Mellitus

Ντύλαν Χαραλάμπους

Dylan Charalambous

20678372

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Ευθυμία Παύλου

Efthymia Pavlou

Αθήνα, 2024



UNIVERSITY OF WEST ATTICA  
SCHOOL OF HEALTH AND WELFARE SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES  
DIVISION OF MEDICAL LABORATORY SCIENCES



GRADUATE THESIS

# Hemostatic Abnormalities in Patients with Diabetes Mellitus

---

**Dylan Charalambous**

20678372

[Dylancharalambous@outlook.com](mailto:Dylancharalambous@outlook.com)

First Supervisor:

**Pavlou Efthymia**

Second Supervisor:

**Anastasios Kriebardis**

Third Supervisor:

**Georgios Dryllis**

**Athens, 2024**





## ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

---

08/10/2024

	Όνομα εξεταστή	Υπογραφή εξεταστή
<b>1<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>	Ευθυμία Παύλου	
<b>2<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>	Αναστάσιος Κριεμπάρδης	
<b>3<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>	Γεώργιος Δρύλλης	

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

---

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος Χαραλάμπους Ντύλαν του Περικλή, με αριθμό μητρώου 20678372 φοιτητής 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 Φοιτητή**

Ντύλαν Χαραλάμπους

### **Υπογραφή Φοιτητή**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

---

Η παρούσα ερευνητική πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε την περίοδο Μάιος - Σεπτέμβριος 2024 στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο σε συνεργασία με το Εργαστήριο Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου στην Εργαστηριακή Αιματολογία του τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους συμμετείχαν στην επιτυχημένη εκπόνηση της πτυχιακής μου εργασίας.

Για αρχή θέλω να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου Αιμοδοσίας-Αιμόστασης του Γ.Ν.Α. Ιπποκράτειο και πιο συγκεκριμένα την Μαρία Σιουμάλα και την Αρετή Γιαννιώτη για την βοήθεια στο τρέξιμο των δειγμάτων της εργασίας αλλά και γενικότερα για την καθοδήγηση, υποστήριξη και υπομονή κατά την εκπαίδευση μου στο εργαστήριο.

Ιδιαίτερα θέλω να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές μου Σταυρός Φορμόζης, Κωνσταντίνα Πατάρη και Μαρία-Παναγιώτα Τερζή για την εξαιρετική συνεργασία, υποστήριξη και βοήθεια σε κάθε στάδιο της πτυχιακής εργασίας.

Ευχαριστώ ξεχωριστά την κυρία Ευθυμία Παύλου, επιβλέπουσα καθηγήτρια και Προϊστάμενη παραϊατρικού τμήματος του Γ.Ν.Α. για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και όλες τις εύκαιρες που μου έδωσε να εμπλουτίσω την γνώση και να αποκτήσω πολύτιμη εμπειρία. Ακόμη θέλω να την ευχαριστήσω για την υποστήριξη και τον συμβουλευτικό ρόλο που είχε κατά όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Στην συνέχεια, θέλω να ευχαριστήσω τον κύριο Αναστάσιο Κριεμπάρδη, Διευθυντή του Εργαστηρίου Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου στην Εργαστηριακή Αιματολογία, του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής και τον κύριο Γεώργιο Δρύλλη για την συμμετοχή στην Τριμελή επιτροπή.

Επίσης ευχαριστώ την αιμοδοσία και το διαβητολογικό τμήμα του Γ.Ν.Α. Ιπποκράτειου για την συνεργασία και την βοήθεια στην συλλογή των δειγμάτων, την κυρία Αναστασία Θανοπούλου διευθύντρια του διαβητολογικού και την κυρία Μαρία Τράπαλη καθηγήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής για την μέτρηση του δείκτη αντιοξειδωτικής ικανότητας (FRAP).

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου για την ανυπολόγιστη βοήθεια και υποστήριξη τους.

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μεταβολική νόσος που ταλαιπωρεί μεγάλο ποσοστό του πληθυσμού και χαρακτηρίζεται από διαταραχές μεταβολισμού υδατανθράκων και υπεργλυκαιμία είτε λόγω αντίστασης στην ινσουλίνη ή μειωμένης έκκρισης ή δράσης της ινσουλίνης.

Η αιμόσταση αποτελεί σύστημα περίπλοκων μηχανισμών όπου αλληλοεπιδρούν τα αιμοπετάλια, το ενδοθήλιο, οι παράγοντες πήξης και οι καταστολείς τους για να επικρατήσουν μια ισορροπία στο αίμα, κυρίως όταν υπάρχει βλάβη στο αγγειακό τοίχωμα. Η πληθώρα επιπλοκών που φέρει ο σακχαρώδης διαβήτης επηρεάζει την αιμόσταση, ενισχύοντας της προθρομβωτικές τάσεις. Οι διαταραχές που προκαλεί στο ενδοθήλιο, τα αιμοπετάλια και στον καταρράκτη πήξης μεταβάλλουν την ισορροπία αιμόστασης προς μια παθολογική θρομβωτική κατάσταση.

**Σκοπός:** Η παρούσα μελέτη έχει σκοπό να μελετήσει της διαταραχές που προκαλούνται στους παραμέτρους αιμόστασης σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη. Ιδιαίτερη σημασία θα δοθεί στους παραμέτρους θρομβοελαστογραφίας (TEG) εφόσον δεν έχει μελετηθεί αρκετά η συγκεκριμένη δοκιμασία στους διαβητικούς.

**Αποτελέσματα:** Η ανάλυση των αποτελεσμάτων δείχνει ότι υπάρχουν αρκετές αιμοστατικές διαταραχές στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των δύο πληθυσμών στις παραμέτρους PT.sec, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof, με τους διαβητικούς ασθενείς να παρουσιάζουν μείωση στον χρόνο PT.sec και αύξηση στα επίπεδα D-Dimers, ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof. Παρόλο που τα περισσότερα αποτελέσματα συμφωνούν με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, η αύξηση των D-dimers στους διαβητικούς δεν έχει μελετηθεί επαρκώς και δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα για σύγκριση. Οι αιμοστατικοί παράμετροι δεν επηρεάστηκαν από τα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης ή τον δείκτη αντιοξειδωτικής ικανότητας, αλλά οι ασθενείς που λάμβαναν ινσουλίνη παρουσίασαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα vWF Ag και RiCof σε σύγκριση με αυτούς που λάμβαναν μόνο αντιδιαβητικά δισκία.

Όσον αφορά τις δοκιμασίες θρομβοελαστογραφίας, υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαβητικών και της ομάδας ελέγχου, με 18 από τις 28 παραμέτρους να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Οι διαβητικοί ασθενείς παρουσίασαν προθρομβωτική κατάσταση, με ταχύτερο σχηματισμό θρόμβου (μειωμένο Ktime και αυξημένο Angle) και αυξημένο μέγιστο μήκος κυματομορφής (MA), λόγω των αυξημένων επιπέδων ινωδογόνου και vWF. Αντίθετα, οι παράμετροι Rtime και LY30 δεν έδειξαν σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο πληθυσμών, αν και η θεωρία υποδεικνύει ότι οι διαβητικοί θα έπρεπε να έχουν μειωμένο Rtime και αυξημένη LY30. Τέλος, καμία παράμετρος θρομβοελαστογραφίας επηρεάστηκε σημαντικά από τα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, τον δείκτη αντιοξειδωτικής ικανότητας ή το είδος θεραπείας που λάμβαναν οι διαβητικοί.



## ABSTRACT

---

Diabetes mellitus is a metabolic disease affecting a large percentage of the population and is characterized by disturbances in carbohydrate metabolism and hyperglycemia, either due to insulin resistance or reduced secretion or action of insulin.

Hemostasis is a complex system where platelets, the endothelium, coagulation factors, and their inhibitors interact to maintain balance in the blood, particularly when there is damage to the vascular wall. The numerous complications of diabetes affect hemostasis, promoting prothrombotic tendencies. The disruptions it causes in the endothelium, platelets, and the coagulation cascade shift the balance of hemostasis towards a pathological thrombotic state.

**Purpose:** The aim of this study is to investigate the disorders caused in hemostatic parameters in patients with diabetes mellitus. Emphasis will be placed on thromboelastography (TEG) parameters, as this test has not been extensively studied in diabetics.

**Results:** The analysis of the results shows that there are significant hemostatic abnormalities in diabetic patients. Specifically, differences were observed between the two populations in the parameters PT.sec, D-dimer, fibrinogen, vWF Ag, and RiCof, with diabetic patients showing a decrease in PT.sec time and an increase in D-Dimer, fibrinogen, vWF Ag, and RiCof levels. Although most results are consistent with the existing literature, the increase in D-dimers in diabetics has not been sufficiently studied, and there is little data for comparison. Hemostatic parameters were not affected by HbA1c levels or antioxidant capacity, but patients on insulin therapy showed significantly higher levels of vWF Ag and RiCof compared to those on oral antidiabetic drugs.

Regarding thromboelastography, there were significant differences between diabetics and the control group, with 18 out of 28 parameters showing statistically significant differences. Diabetic patients presented a prothrombotic state, with faster clot formation (reduced Ktime and increased Angle) and increased maximum amplitude (MA), due to elevated fibrinogen and vWF levels. In contrast, the parameters Rtime and LY30 showed no significant difference between the two groups, although theory suggests that diabetics should have reduced Rtime and increased LY30. Finally, none of the thromboelastography parameters were significantly affected by HbA1c levels, antioxidant capacity, or the type of treatment received by the diabetic patients.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

---

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	III
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	IV
ABSTRACT.....	V
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....	VI
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ .....	VIII
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΚΟΝΩΝ, ΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΣΤΑΣΕΩΝ ΚΑΙ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	IX
<b>1. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Ομοιόσταση της Γλυκόζης.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Ορμόνες Ρυθμιστές της Γλυκόζης .....	2
1.1.2 Τύποι Σακχαρώδη Διαβήτη .....	3
<b>2. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Πρωτογενής Αιμόσταση.....</b>	<b>5</b>
2.1.1. Ενδοθήλιο και Ενδοθηλιακά Κύτταρα .....	5
2.1.2. Αιμοπετάλια .....	6
<b>2.2 Δευτερογενής Αιμόσταση .....</b>	<b>8</b>
2.2.1 Πήξη .....	8
2.2.2 Ινωδόλυση.....	10
<b>3. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ .....</b>	<b>11</b>
<b>3.1. Διαταραχές στο Ενδοθήλιο.....</b>	<b>11</b>
<b>3.2. Το Διαβητικό Αιμοπετάλιο .....</b>	<b>12</b>
<b>3.3. Διαταραχές στην Πήξη .....</b>	<b>12</b>
<b>4. ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΗΜΑ (TEG) .....</b>	<b>13</b>
<b>4.1 Ιξωδοελαστικές Αιμοστατικές Δοκιμασίες (Viscoelastic Hemostatic Assays – VHAs) .....</b>	<b>13</b>
4.1.1 Global Hemostasis Cartridge (CM Citrated) .....	14
4.1.2 Platelet Mapping Cartridge .....	14
<b>4.2 Παράμετροι Δοκιμασιών .....</b>	<b>15</b>
<b>ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>	<b>16</b>
<b>5. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....</b>	<b>17</b>
<b>6. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>18</b>
<b>6.1 Αντιδραστήρια, Όργανα και Μέθοδοι.....</b>	<b>19</b>
<b>7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ .....</b>	<b>22</b>
<b>7.1 Πλήθος Μελέτης.....</b>	<b>22</b>
<b>7.2 Λήψη &amp; Προετοιμασία Δείγματος.....</b>	<b>22</b>

<b>8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b> .....	24
<b>8.1. Στατιστική Ανάλυση</b> .....	24
8.1.1. Παράμετροι Αιμόστασης .....	24
8.1.2. Παράμετροι Δοκιμασιών Θρομβοελαστογραφίας .....	28
<b>9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	35
<b>11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	37

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

AA	Αραχιδονικό Οξύ
ActF	Activator F
ADP	Διφωσφορική Αδενοσίνη
APC	Ενεργοποιημένη Πρωτεΐνη C
aPTT	Ενεργοποιημένος Χρόνος Πήξης Μερικής Θρομβοπλαστίνης
ATP	Τριφωσφορικής Αδενοσίνη
CFF	Teg Functional Fibrinogen
CK	Kaolin TEG
CKH	Kaolin TEG With Heparinase
D-dimer ή DDi.L	Δ-Διμερή
EDTA	Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό Οξύ
ET-1	Ενδοθηλίνη-1
Fib	Ινωδογόνο
FRAP	Ferric Reducing Ability Of Plasma
GDM	Διαβήτη Κήσης
HbA1c	Γλυκοζυλωμένη Αιμοσφαιρίνη
HKH	Heparinase Kaolin Teg
IDF	Διεθνές Ομοσπονδία Διαβήτη
IFG	Διαταραχής Της Γλυκόζης Νηστείας
IGT	Παθολογική Ανοχή Στη Γλυκόζη
INR	International Normalized Ratio
ISI	Internation Sensitivity Index
NO	Μονοξείδιο Του Αζώτου
PAI-1	Αναστολέας Της Ενεργοποίησης Του Πλασμινογόνο
PGI2	Προστακυκλίνη
PK	Προκαλλικρεΐνη
PPP	Πλάσμα Φτωχό Σε Αιμοπετάλια
PROCOAG-PPL	Χρόνου Πήξης Εξαρτώμενη Από Προπηκτικά Φωσφολιπίδια
PT	Χρόνος Προθρομβίνης
RiCof	Συμπαράγοντα Ριστοσεΐνης
ROS	Αντιδραστική Μορφή Οξυγόνου
RT	Rapid TEG
TEG	Θρομβοελαστογραφία
TF	Ιστικός Παράγοντας
THPO	Θρομβοποιητίνη
tPA	Ιστικός Ενεργοποιητής
TXA2	Θρομβοξάνη A2
uPA	Ουροκινάσης
VHA	Ιξωδοελαστική Αιμοστατική Δοκιμασία
vWF	Παράγοντας Von Willebrand
vWF Ac	Δραστηκότητας Του Παράγοντα Von Willebrand
vWF Ag	Αντιγόνου Του Παράγοντα Von Willebrand
HMWK	Κινογόνο Υψηλού Μοριακού Βάρους
ΠΣΔ	Πληθυσμός Σακχαρώδη Διαβήτη
ΣΔ	Σακχαρώδη Διαβήτη
ΣΔΤ1	Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 1
ΣΔΤ2	Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2

**Εικόνα 1.** “Diabetes around the world in 2021”

**Εικόνα 2.** Καταρράκτης πήξης

**Εικόνα 3.** Διαταραχές ενδοθηλίου στον σακχαρώδη διαβήτη

**Εικόνα 4.** **A.** Δομή Θρομβοελαστογραφίας **B.** Ανάλυση γραφικής παράστασης θρομβοελαστογραφίας

**Γραφική Παράσταση 1:** Εξίσωση Απορρόφησης – Συγκέντρωσης  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$

**Γραφική Παράσταση 2:** Μεσοί οροί παραμέτρων Fib (mg/dL), Δ-διμερη (ug/L), vWF Ag (%) και RiCof (%) στον πληθυσμό ΠΣΔ και στην ομάδα ελέγχου.

**Γραφική Παράσταση 3:** Μεσοί οροί παραμέτρων vWF Ag (%) και RiCof (%) στους 2 υποπληθυσμούς του ΠΣΔ.

**Γραφική Παράσταση 4:** Μεσοί οροί παραμέτρων CK-K, CK-ANGLE, CK-MA, CK-LY30, RT-K, RT-Ang, RT-A10, RT-MA, CKH-K, CKH-ANGLE, CKH-MA, CFF-A10, CFF-MA, HKH-R, HKH-K, HKH-ANGLE, HKH-MA και ActF στον πληθυσμό ΠΣΔ και στην ομάδα ελέγχου.

**Πίνακας 1.** Μέσος ορός και τυπική απόκλιση των παραμέτρων PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof στους 2 πληθυσμούς (σε μορφή  $\mu \pm \text{SD}$ )

**Πίνακας 2.** Έλεγχος κανονικότητας Shapiro-Wilk για τους παραμέτρους PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof στους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control)

**Πίνακας 3.** Έλεγχος κανονικότητας Shapiro-Wilk για τους παραμέτρους PROCOAG-PPL, οξειδωτικό στρες και HbA1c στους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control)

**Πίνακας 4.** Σύγκριση μέσων όρων: Mann-Whitney U μεταξύ τους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control) για τους παραμέτρους PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof

**Πίνακας 5.** Έλεγχος συσχέτισης Spearman’s rank correlation μεταξύ των επιπέδων γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και αντιοξειδωτικής ικανότητας για τους παραμέτρους PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, Procoag. PPL, vWF Ag και RiCof

**Πίνακας 6.** Έλεγχος συσχέτισης Kruskal Wallis & 1-way ANOVA μεταξύ το είδος θεραπείας του πληθυσμού ΠΣΔ και τους παραμέτρους PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, Procoag. PPL, vWF Ag, RiCof, FRAP και HbA1c

**Πίνακας 7.** Μέσος ορός και τυπική απόκλιση των παραμέτρων, vWF Ag και RiCof στους 2 ομάδες διαβητικών (σε μορφή  $\mu \pm \text{SD}$ )

**Πίνακας 8.** Μέσος ορός και τυπική απόκλιση των παραμέτρων της θρομβοελαστογραφίας στους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control). Για περισσότερες πληροφορίες για κάθε παράμετρο Βλ. Κεφάλαιο 4.

**Πίνακας 9.** Έλεγχος κανονικότητας Shapiro-Wilk των παραμέτρων της θρομβοελαστογραφίας στους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control) . Για περισσότερες πληροφορίες για κάθε παράμετρο Βλ. Κεφάλαιο 4.

**Πίνακας 10.** Σύγκριση μέσων όρων: Mann-Whitney U & Independent t-test μεταξύ τους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control) για τους παραμέτρους της θρομβοελαστογραφίας. Για περισσότερες πληροφορίες για κάθε παράμετρο Βλ. Κεφάλαιο 4.

**Πίνακας 11.** Έλεγχος συσχέτισης Spearman's rank correlation μεταξύ των επίπεδων γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και οξειδωτικού στρες για τους παραμέτρους της θρομβοελαστογραφίας

**Πίνακας 12.** Έλεγχος συσχέτισης Kruskal Wallis & 1-way ANOVA μεταξύ το είδος θεραπείας του πληθυσμού ΠΣΔ και τους παραμέτρους της θρομβοελαστογραφίας

# 1. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

---

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι συστηματική μεταβολική ανωμαλία που ταλαιπωρεί μεγάλο ποσοστό του πληθυσμού και έχει μεγάλο σύνολο επιπλοκών. Σύμφωνα με την διεθνές ομοσπονδία διαβήτη (IDF) χαρακτηρίζεται από χρόνια υπεργλυκαιμία, μειωμένη έκκριση και δράση της ινσουλίνης, αντίσταση στην ινσουλίνη, καταστροφή των β-κυττάρων των παγκρεατικών νησιδίων Langerhans και διαταραχές στον μεταβολισμό υδατανθράκων, λιπιδίων και πρωτεϊνών. (1) (2)

Ο σακχαρώδης διαβήτης έχει μακρά και πλούσια ιστορία, ωστόσο οι γιατροί και επιστήμονες του παρελθόν δεν είχαν την γνώση και την τεχνολογία για να μελετήσουν σωστά την νόσο. Έχει περιγράψει σε πολλά ιατρικά κείμενα, σε διάσπαρτα χρονικά διαστήματα από διάφορους λαούς. Σε κάθε περιγραφή χρησιμοποιείται διαφορετική ονομασία, αλλά τα κοινά και πολύ χαρακτηριστικά συμπτώματα της νόσου επιβεβαιώνουν ότι τα κείμενα αυτά περιγράφουν τον διαβήτη (3)

Η πρώτη αναφορά στην νόσο γίνεται στην Αίγυπτο το 1550π.Χ. στον πάπυρο Ebers, ένα από τα αρχαιότερα ιατρικά κείμενα. Στο κείμενο αυτό περιγράφονται ασθενείς με πολυουρία και πολυδιψία, οι οποίοι θεραπεύονται με διάφορα εκχυλίσματα φυτών, φρούτα και γλυκές μπίρες. (4)

Στον 5<sup>ο</sup> αιώνα π.Χ. περιγράφεται από τον Ινδό χειρουργό Sushruta ως νόσο με « Ουρά σαν μέλη» λόγω της γλυκιάς γεύσης, της κολλώδης υφής αλλά και της ικανότητας των ούρων να προσελκύει μυρμήγκια. (5) Στην αρχαία Κίνα, ο Zhang Zhongjing (150 μ.Χ. – 219 μ.Χ.) περιγράφει ασθένεια με πολυδιψία, πολυουρία, γλυκουρία και απώλεια βάρους (3)

Στην αρχαία Ελλάδα, υπάρχουν αναφορές στον διαβήτη από πολλούς κορυφαίους ιατρούς των εποχών όπως, ο Ρούφος Εφέσιος, ο Κλαύδιος Γαληνός και ο Αρεταίος Καππαδόκης. Συνεπώς, υπάρχει μια σύγχυση ως προς ποιος από τους ιατρούς της αρχαίας Ελλάδας ονόμασε την ασθένεια «διαβήτη», που προέρχεται από το ρήμα «διαβαίνω», αναφέροντας στο τρόπο με τον οποίο τα υγρά περνούσαν από τον οργανισμό του ασθενή. (6) (7)

## 1.1 Ομοίωση της Γλυκόζης

---

Η γλυκόζη είναι ο πιο άφθονος μονοσακχαρίτης, η πιο αξιοποιήσιμη πηγή ενέργειας για ορισμένους ιστούς και αποτελεί το μείζον ενεργειακό υπόστρωμα του οργανισμού μας. Η γλυκόζη μετατρέπεται σε ενέργεια μέσω της γλυκόλυσης και αργότερα τις αντιδράσεις του κύκλου του κιτρικού οξέος και τις οξειδωτικής φωσφορυλίωσης όπου η γλυκόζη οξειδώνεται για να σχηματίσει διοξείδιο του άνθρακα, νερό και ενέργεια σε μορφή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP).

Οι πηγές γλυκόζης μπορεί να είναι εξωγενής, όπως οι υδατάνθρακες των τροφίμων ή μπορεί να προέρχονται από ενδογενή παραγωγή όπως στην γλυκογονόλυση και στην γλυκονογένεση.

Η γλυκογονόλυση είναι η διαδικασία απελευθέρωσης γλυκόζης που είναι αποθηκευμένη ως γλυκογόνο. Όταν υπάρχει περίσσεια γλυκόζης, συνήθως μετά από γεύμα τα επίπεδα γλυκόζης αίματος αυξάνονται με αποτέλεσμα να αποθηκεύεται σε μορφή γλυκογόνου στο ήπαρ και στους σκελετικούς μυς. Ενώ όταν υπάρχει ελάττωση στα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα πραγματοποιείται η γλυκογονόλυση. Σε περίπτωση που συνεχίσουν τα χαμηλά επίπεδα γλυκόζης αίματος τότε ξεκινάει η γλυκονογένεση στο ήπαρ και στους νεφρούς, δηλαδή η σύνθεση γλυκόζης από διαφορετικές πηγές όπως την γλυκερίνη, το γαλακτικό οξύ και τα περισσότερα αμινοξέα.

Οι παραπάνω διαδικασίες ελέγχονται από ένα ομοιοστατικό μηχανισμό που συντονίζει την έκκριση και δράση πολλών ορμονών όπως την ινσουλίνη, την γλυκαγόνη, την αδρεναλίνη, την αυξητική ορμόνη και την κορτιζόλη. (8) (1)

### **1.1.1 Ορμόνες Ρυθμιστές της Γλυκόζης**

---

#### **Ινσουλίνη**

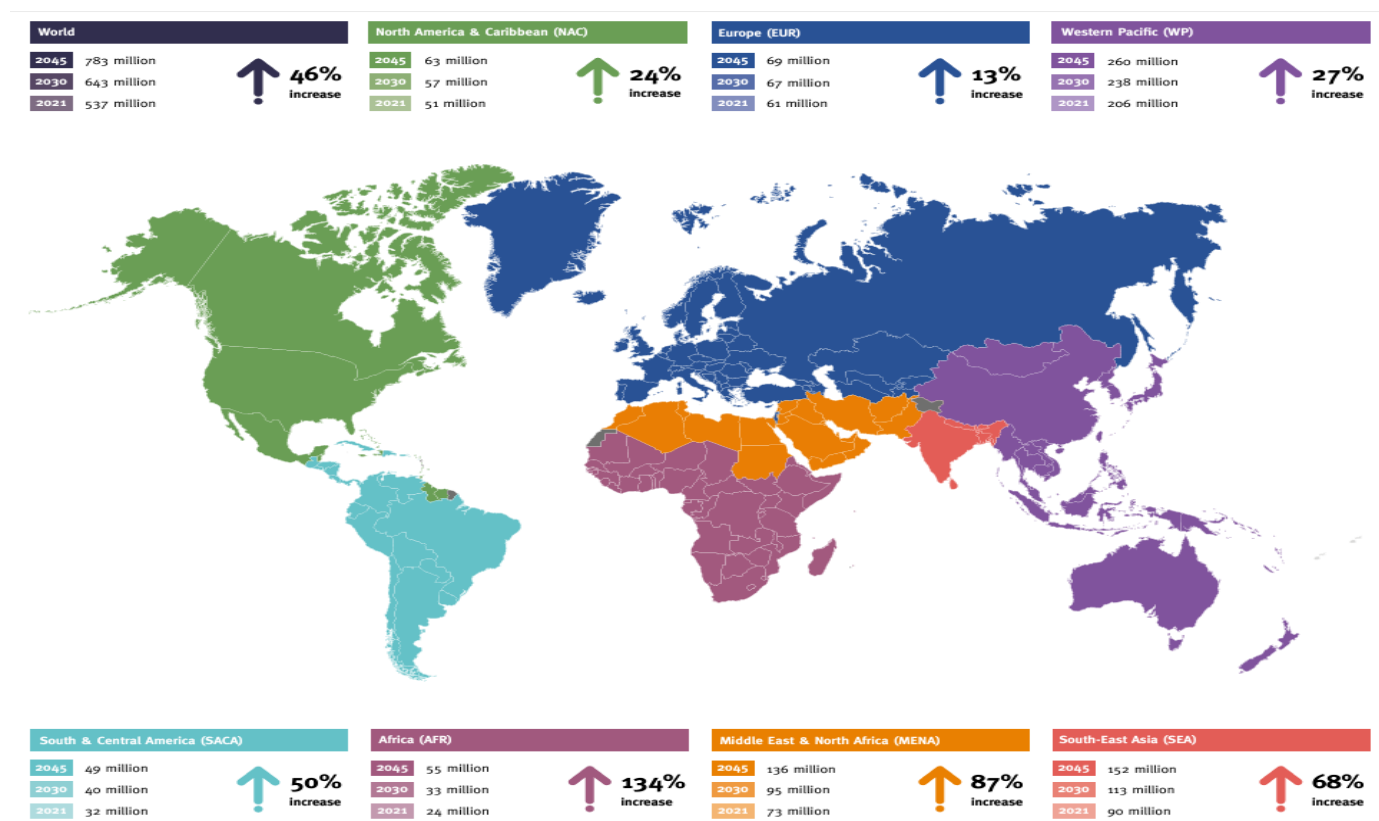
Η ινσουλίνη είναι ένα πολυπεπτίδιο που αποτελείται από 51 αμινοξέα και εκκρίνεται από τα β κύτταρα των παγκρεατικών νησιδίων του Langerhans με σκοπό να ρυθμίσει τον μεταβολισμό των υδατανθράκων, λιπιδίων και πρωτεϊνών, προωθώντας την απορρόφηση της γλυκόζης αίματος από τα κύτταρα του ήπατος και των σκελετικών μυών και με την καταστολή ενδογενής παραγωγής γλυκόζης (κυρίως από το ήπαρ). Η γλυκόζη που απορροφάτε από τα κύτταρα μπορεί είτε να χρησιμοποιηθεί άμεσα για ενέργεια, είτε να μετατραπεί σε γλυκογόνο μέσω της γλυκογένεσης, ή σε λίπος μέσω λιπογένεσης. Τα β κύτταρα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και εκκρίνουν ή αναστέλλουν την έκκριση ινσουλίνης όταν υπάρχει περίσσεια ή έλλειψη γλυκόζης στο αίμα, αντίστοιχα. (1) (8)

#### **Γλυκαγόνη**

Η γλυκαγόνη είναι ένα πολυπεπτίδιο που αποτελείται από 29 αμινοξέα, εκκρίνεται από τα α-κύτταρα των παγκρεατικών νησιδίων του Langerhans όταν υπάρχουν χαμηλά επίπεδα γλυκόζης αίματος και θεωρείται η κύρια καταβολική ορμόνη του σώματος. Δρα ανταγωνιστικά στην ινσουλίνη, δηλαδή αυξάνει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Η αύξηση επιτυγχάνεται με την διέγερση της ηπατικής γλυκογονόλυσης, της γλυκονογένεσης και της κετογένεσης. Ακόμη, μειώνει την σύνθεση λιπαρών οξέων και διεγείρει την λιπόλυση στον λιπώδη ιστό και στο ήπαρ με αποτέλεσμα να ελευθερώνονται λιπαρά οξέα στην κυκλοφορία και να καταβολίζονται για την παραγωγή ενέργειας. Η έκκριση της μειώνεται μετά από αύξηση στα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. (1) (8) (9)



## 1.1.2 Τύποι Σακχαρώδη Διαβήτη



Εικόνα 1. "Diabetes around the world in 2021" (2)

### Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 1

Ο ΣΔ τύπου 1 είναι λιγότερο σύνηθες (περίπου το 10% διαβητικών) και συνήθως εμφανίζεται σε οξεία μορφή σε παιδική ηλικία. (1) Οφείλεται σε μια αυτοάνοση διαδικασία όπου το ανοσολογικό σύστημά των ασθενών επιτίθεται στα β-κύτταρα των παγκρεατικών νησιδίων Langerhans, τα οποία παράγουν την ινσουλίνη. Η καταστροφή των β-κυττάρων συνεπάγουν την σχετική έως και πλήρη ανεπάρκεια της ινσουλίνης. (2)

Συχνά παρουσιάζεται με πολυδιψία, πολουρία, πολυφαγία, κόπωση, απώλεια βάρους και προβλήματα στην όρασή.

Η θεραπεία με ινσουλίνη είναι απαραίτητη στον ΣΔΤ1, αλλά η σωστή διατροφή, συχνή άσκηση και παρακολούθηση επιπέδων γλυκόζης βοηθάει στην διαχείριση της νόσου. Παρόλο που αυτά είναι απαιτητικά για την ηλικία που εμφανίζεται η νόσος. (10)

### Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2

Ο ΣΔ τύπου 2 είναι πολύ πιο σύνηθες (αποτελεί το 90% διαβητικών) και εμφανίζεται σε χρόνια κατάσταση σε μεσήλικες και υπερήλικες. Παρόλο που η ακριβής παθογένεια του ΣΔΤ2 είναι σαφές, συνήθως συνυπάρχουν αντίσταση στην ινσουλίνη και δυσλειτουργία των β-κυττάρων με ανεπάρκεια στην έκκριση ινσουλίνης. (1) Επιπλέον υπάρχει μεγάλη συσχέτιση ΣΔΤ2 με την παχυσαρκία, τον καθιστικό τρόπο ζωής και με τον οικογενειακό

ιστορικό. Αρκετές μελέτες αποδείξαν ότι ο κίνδυνος για ΣΔΤ2 είναι μέχρι 40% όταν ένας γονιός πάσχει από την ίδια νόσο και μέχρι 70% όταν πάσχουνε και οι 2 γονείς. (11) (12) Η αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων αυξάνει τα ποσοστά της νόσου παγκόσμιος.

Έχει παρόμοια συμπτωματολογία με τον ΣΔΤ1, αλλά σε πιο ήπια μορφή και τα συμπτώματα αναπτύσσονται κατά την διάρκεια πολλών μηνών. (1)

Αντίθετα με τον ΣΔΤ1, μπορεί να αντιμετωπιστεί αρχικά με την προώθηση ενός υγιεινού τρόπου ζωής, δηλαδή υγιεινή διατροφή, συχνή άσκηση και αποφυγή του καπνίσματος. Αν αυτό δεν είναι επαρκές για την διαχείριση της γλυκόζης στο αίμα τότε συστήνεται λήψη φαρμάκων από του στόματος και σε περιπτώσεις όπου ούτε αυτό δεν επαρκεί τότε προτείνεται η υποδόρια χορήγηση ινσουλίνης. (2)

Εκτός από αυτούς τους 2 κυρίους τύπους υπάρχουν και άλλες προσωρινές μορφές σακχαρώδη διαβήτη:

### **Παθολογικής ανοχής στη γλυκόζη (IGT) ή και διαταραχής της γλυκόζης νηστείας (IFG)**

Η περιστάσεις αυτές συχνά χαρακτηρίζονται ως “Προδιαβήτης”, στην ουσία υπάρχει συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα αυξημένα πέρα του φυσιολογικού αλλά χαμηλότερη από το κατωφλιού οροί που χρειάζεται για να θεωρηθεί ΣΔ. Υπάρχει μια λανθασμένη εντύπωση ότι αυτό είναι ένα μεταβατικό στάδιο, αλλά η μετάβαση δεν είναι αναπόφευκτη. Η διάγνωση σε αυτό το στάδιο είναι πολύ σημαντική διότι με την σωστή αντιμετώπιση μπορεί να οδηγήσει στην πρόληψη του ΣΔΤ2. (2) (10)

### **Διαβήτης κύησης (GDM)**

Μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε φάση της κύησης (πιο συχνά στο 1<sup>ο</sup> τρίμηνο) και όμοια με την IGT και IFG η συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα βρίσκεται μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού. Συνήθως δεν παρουσιάζει συμπτώματα και δεν αναμένεται να επιμείνει μετά την κύηση, αλλά υπάρχει αυξημένο κίνδυνο για επιπλοκές στην μητέρα και το νεογνό κατά τον τοκετό. (2)

## 2. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

---

Η αιμόσταση είναι ένα σύστημά περίπλοκων φυσιολογικών μηχανισμών στην οποία δημιουργείται ένας θρόμβος σε σημείο αγγειακής βλάβης μετά από τραυματισμό, με σκοπό να μειωθεί η απώλεια του αίματος. Δεν σταματάει όμως εκεί η διαδικασία, διότι αυτός ο θρόμβος που θεωρείται σωτήρας της υπόθεσης μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο για περαιτέρω επιπλοκές αν δεν λυθεί φυσιολογικά.

Το ενδοθήλιο, τα αιμοπετάλια, οι παράγοντες πήξης και οι καταστολείς των παραγόντων πήξεως αλληλοεπιδρούν στην ρύθμιση των πηκτικών και αντιπηκτικών μηχανισμών για να φέρουν μια ισορροπία στην αιμόσταση.

### 2.1. Πρωτογενής Αιμόσταση

---

#### 2.1.1. Ενδοθήλιο και Ενδοθηλιακά Κύτταρα

---

Το αγγειακό τοίχωμα των μεγάλων αγγείων αποτελούνται από τρεις στοιβάδες, τον έσω, τον μέσο και τον έξω. Η έσω στοιβάδα ονομάζεται ενδοθήλιο και αποτελείται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία είναι ο δομικός λίθος από τον οποίο σχηματίζεται η εσωτερική επιφάνεια όλων των αγγείων του οργανισμού. Όμως, η δομή και λειτουργία των κυττάρων αυτών αλλάζει ανάλογα με το είδος του αγγείου. (13)

Κάποτε θεωρούνταν ότι η μόνη λειτουργία του ενδοθηλίου ήταν ως απλός φραγμός μεταξύ του αίματος και των προθρομβωτικών παραγόντων του υπενδοθηλίου. Πλέον γνωρίζουμε ότι έχει καίρια σημασία στην ομοίσταση του οργανισμού. Σε φυσιολογικές καταστάσεις το ενδοθήλιο είναι μη-θρομβογόνο και παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση αγγειακού τόνου, θρόμβωσης, θρομβόλυσης, και προσκόλληση αιμοπεταλίων. (14)

Το ενδοθήλιο ρυθμίζει τον αγγειακό τόνο των αγγείων με την χρήση αγγειοδραστικών παραγόντων, οι οποίοι μπορούν να είναι αγγειοδιασταλτικοί ή αγγειοσυσταλτικοί.

Οι κύριοι αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες είναι το μονοξείδιο του αζώτου (NO) και η Προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>). Το NO εμπλέκεται επίσης στην αποτροπή ενεργοποίηση και προσκόλλησης αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων (15), ενώ η PGI<sub>2</sub> αναστέλλει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και κατά συνέπεια την απελευθέρωση των κοκκίων που θα ενεργοποιούσαν επιπλέον αιμοπετάλια και τον καταρράκτη της πήξης. (16)

Αντίστοιχα οι κύριοι αγγειοσυσταλτικοί παράγοντες είναι η θρομβοξάνη A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) και η ενδοθηλίνη-1 (ET-1). Σε αντίθεση με την PGI<sub>2</sub> η TXA<sub>2</sub> προκαλεί συσσωμάτωση αιμοπεταλίων. Η ισορροπημένη δράση αυτών των δυο προστανοειδών συμβάλει στην διατήρηση ομοίστασης σε υγιή αγγεία. (15)

## 2.1.2. Αιμοπετάλια

---

Τα αιμοπετάλια ή αλλιώς γνωστά ως θρομβοκύτταρα είναι μικρά, απύρρηνα θραύσματα μεγακαρυοκυττάρων που παίζουν σημαντικό ρόλο στους αιμοστατικούς μηχανισμούς. Έχουν σύντομη διάρκεια ζωής που συνήθως δεν υπερβαίνει της 7-10 μέρες στην κυκλοφορία αίματος του ανθρώπου.

Η παραγωγή των νέων θρομβοκυττάρων ονομάζεται θρομβοποίηση και πραγματοποιείται κυρίως στον μυελό τον οστών. Η διαδικασία ξεκινάει με την διαφοροποίηση των πολυδύναμων αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων σε μεγακαρυοκύτταρα. Τα μεγακαρυοκύτταρα στην συνέχεια επεκτείνουν πολλές κυτταροπλασματικές προεξοχές που ονομάζονται προπετάλια, και αποβάλλουν αιμοπετάλια στην κυκλοφορία του αίματος (17)· (18) Η παραγωγή των αιμοπεταλίων ρυθμίζεται από μια γλυκοπρωτεϊνική ορμόνη που παράγεται από το ήπαρ και τους νεφρούς, την θρομβοποιητίνη (THPO), η οποία διεγείρει την παραγωγή και διαφοροποίηση των μεγακαρυοκυττάρων. (19) Υπό φυσιολογικές συνθήκες η συγκέντρωση αιμοπεταλίων στο αίμα κυμαίνεται από 150,000-400,000 κύτταρα ανά mm<sup>3</sup>. Για να διατηρηθεί σταθερή αυτή η συγκέντρωση ο οργανισμός μας πρέπει να παράγει και να καταστρέφει 10<sup>11</sup> αιμοπετάλια καθημερινά. Η καταστροφή των αιμοπεταλίων γίνεται με φαγοκυττάρωση στο ήπαρ και στον σπλήνα. (17)· (18)

Η κυτταρική μεμβράνη του αιμοπεταλίου αποτελείται από διπλοστοιβάδα λιπιδίων ενσωματωμένη με πρωτεΐνες απαραίτητες για την λειτουργίες του κυττάρου. Για παράδειγμα κάποια λιπίδια της μεμβράνης, όπως είναι η Φωσφατιδυλοσερίνη παίζουν σημαντικό ρολό στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και αλλά λιπίδια όπως είναι η χοληστερόλη διατηρούν την ρευστότητα της μεμβράνης, επηρεάζοντας τους υποδοχείς στην επιφάνεια του κυττάρου. Εξίσου σημαντικό ρολό έχουν οι πρωτεΐνες της μεμβράνης, όπως είναι οι γλυκοπρωτεΐνες GPIIb/IX/V, GPVI και GPIIb/IIIa απαραίτητες για την προσκόλληση, ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων. (20)

Το κυτταρόπλασμα τους είναι πλούσιο σε κοκκιοκύτταρα, τα οποία απελευθερώνονται στο πλάσμα μέσω καναλιών στο κυτταρικό τους τοίχωμα.

Τα α-κοκκία περιέχουν παράγοντες που συμμετέχουν στην δευτερογενή αιμόσταση, όπως παράγοντες πήξης (vWF, Ινωδογόνο και παράγοντες V,XI,XII), μόρια προσκόλλησης (PXA2, GPIIb-IX-V, GPVI και αIIbβ3), μόρια συσσώρευσης (P-σελεκτίνη), μόρια που εμποδίζουν την ινωδογονόλυση (PAI-1), αλλά και μόρια που δρουν ενάντιας της πήξης (TFPI, Πρωτεΐνη-S και πλασμινογόνο).

Τα πυκνά κοκκία περιέχουν επαγωγούς συσσώρευσης των αιμοπεταλίων (Σεροτινίνη, ADP, ATP, Ca<sup>2+</sup>, κ.α.) (21)

## Προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο υπενδοθήλιο (Adhesion)

Μετά από τραυματισμό της αγγειακής επιφάνειας αποκαλύπτονται οι ίνες κολλαγόνου στο υπενδοθήλιο με αποτέλεσμα να προσκολλούνται τα αιμοπετάλια. Ο τρόπος που αλληλοεπιδρούν τα αιμοπετάλια με το κολλαγόνο εξαρτάται από τον διατμητικό ρυθμό. Σε περιβάλλον με χαμηλό διατμητικό ρυθμό, όπως υπάρχει στις φλέβες (100-1000 s<sup>-1</sup>) το αιμοπετάλιο μπορεί να προσκολληθεί μέσω τις γλυκοπρωτεΐνες επιφάνειας GPVI και την α2β1 ιντεγκρίνη στο κολλαγόνο. Ενώ στις αρτηρίες όπου υπάρχει αυξημένο διατμητικό ρυθμό (1000-4000 s<sup>-1</sup>) η προσκόλληση βασίζεται στην μεσολάβηση του παράγοντα Von Willebrand (vWF). Ο vWF βρίσκεται στην κυκλοφορία σε αδρανή μορφή, αλλά όταν συνδεθεί με το αποκαλυμμένο κολλαγόνο, υφίσταται δομικές αλλαγές που αποκαλύπτουν το πεδίο A1 που αποτελεί σημείο σύνδεσης με τον υποδοχέα GP Ib-IX-V της επιφάνειας του αιμοπεταλίου. (22) (23) (24) (25) (26)

## Ενεργοποίηση και ελευθέρωση κοκκίων (Activation and release reaction)

Η άκαιρη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων αποφεύγεται με το ενδοθήλιο που αποτρέπει την αλληλεπίδραση κολλαγόνου-αιμοπεταλίου και εκκρίνει ανασταλτικούς παράγοντες, όπως το NO και το PGI<sub>2</sub>. Όταν όμως πραγματοποιηθεί η αλληλεπίδραση αιμοπεταλίου με το κολλαγόνο ή το vWF προκαλούνται σήματα ενεργοποίησης. (27)

Όταν ενεργοποιηθούν τα αιμοπετάλια διογκώνονται, αλλάζουν σχήμα από δισκοειδές σε διαφορά ακανόνιστα σχήματα, αναπτύσσουν προεκβολές σαν ψευδοπόδια και αποκαλύπτονται αρκετοί επιφανειακοί υποδοχείς. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια έχουν την ικανότητα να ενσωματώσουν αλλά αιμοπετάλια της κυκλοφορίας μέσω του υποδοχέα ιντεγκρίνης αIIbβ3 (23) (28) (29) Παράλληλα, απελευθερώνονται τα κοκκία που περιέχουν μεγάλο αριθμό δραστικών παραγόντων. Κυριότερους από αυτούς είναι η ADP, η TXA<sub>2</sub>, η σεροτονίνη, το ινωδογόνο, ο vWF και τα ιόντα Ca<sup>2+</sup>. Η ADP, η σεροτονίνη και ο vWF δεσμεύεται σε υποδοχείς της επιφάνειας των αιμοπεταλίων με αποτέλεσμα να τους ενεργοποιεί και να ενισχύει την πρόσφυση με αλλά αιμοπετάλια. Η TXA<sub>2</sub> παράγεται και εκκρίνεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, προκαλώντας την αγγειοσύσπαση και αυξάνοντας την τάση των αιμοπεταλίων να συσσωρεύονται και να προσκολλώνται στο αγγείο. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι εφόσον το αραχιδονικό οξύ μετατρέπεται σε TXA<sub>2</sub> συνεπάγεται η μείωση της PGI<sub>2</sub>, μια από τους κυρίους αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες και αναστολής της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. (22) (27) Έτσι τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια με την σειρά τους ενεργοποιούν αλλά αιμοπετάλια, είτε μέσω πρόσδεσης μαζί τους ή μέσω τον δραστικών παραγόντων που παράγουν και εκκρίνουν με αποτέλεσμα να δημιουργείται κύκλος θετικής ανατροφοδότησης. (27)

## Συσσώρευση αιμοπεταλίων (Aggregation)

Λόγο του κύκλου θετικής ανατροφοδότησης που αναφέρθηκε προηγούμενος, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια συσσωρεύονται χρησιμοποιώντας τα ψευδοπόδια και τους επιφανειακούς υποδοχείς σχηματίζοντας το αρχικό βύσμα αιμοπεταλίων.

Εδώ έχει σημαντικό ρολό το ινωδογόνο, η αλλιώς ο παράγοντας πήξης F1. Το ινωδογόνο έχει 2 σημεία σύνδεσης για τον υποδοχέα επιφάνειας GPIIb/IIIa των αιμοπεταλίων που εκτίθεται όταν ενεργοποιηθεί. Αυτό σημαίνει ότι το ινωδογόνο μπορεί να συνδεθεί με 2 αιμοπετάλια ταυτόχρονα, λειτουργώντας με αυτό τον τρόπο ως συνδετικός κρίκος μεταξύ τα αιμοπετάλια. (30) Η φμπρονεκτίνη και η βιτρονεκτίνη λειτουργούν με παρόμοιο τρόπο με το ινωδογόνο, ενισχύοντας την σταθερότητα του αιμοπεταλιακού θρόμβου και της σύνδεσης των αιμοπεταλίων με το αγγειακό τοίχωμα. (31) (32) (33) Παρ'όλα αυτά το αιμοπεταλιακό βύσμα είναι αρκετά ασταθές. Για να σταθεροποιηθεί χρειάζεται να ενεργοποιηθεί ο καταρράκτης πήξης ώστε η θρομβίνη να μετατρέψει το ινωδογόνο σε ινώδες και να σχηματιστεί ένα πλέγμα ινώδους γύρω από τον θρόμβο. (34)

## 2.2 Δευτερογενής Αιμόσταση

---

Ο στόχος της δευτερογενή αιμόστασης είναι η μετατροπή του αιμοπεταλιακού βύσματος που σχηματίστηκε στην πρωτογενή φάση σε σταθερό και ανθεκτικό θρόμβο. Βασικό ρολό σε αυτή την φάση έχουν οι παράγοντες πήξης και οι καταστολείς τους. Οι περισσότεροι παράγοντες πήξης

### 2.2.1 Πήξη

---

Η πήξη είναι μια συνθέτη διαδικασία όπου το ρέον αίμα μετατρέπει το αιμοπεταλιακό βύσμα σε θρόμβο. Συχνά αναφέρεται ως "καταρράκτης" της πήξης λόγω του τρόπου με τον οποίο ο ένας παράγοντας ενεργοποιείται και με την σειρά του, είτε από μόνο του είτε με την αλληλεπίδραση με άλλο παράγοντα ενεργοποιούν τον επόμενο στην σειρά. Η διαδικασία αυτή χωρίζεται σε 2 οδούς, την ενδογενή και την εξωγενή που καταλήγουν σε μια κοινή οδό για τον σχηματισμό της θρομβίνης.

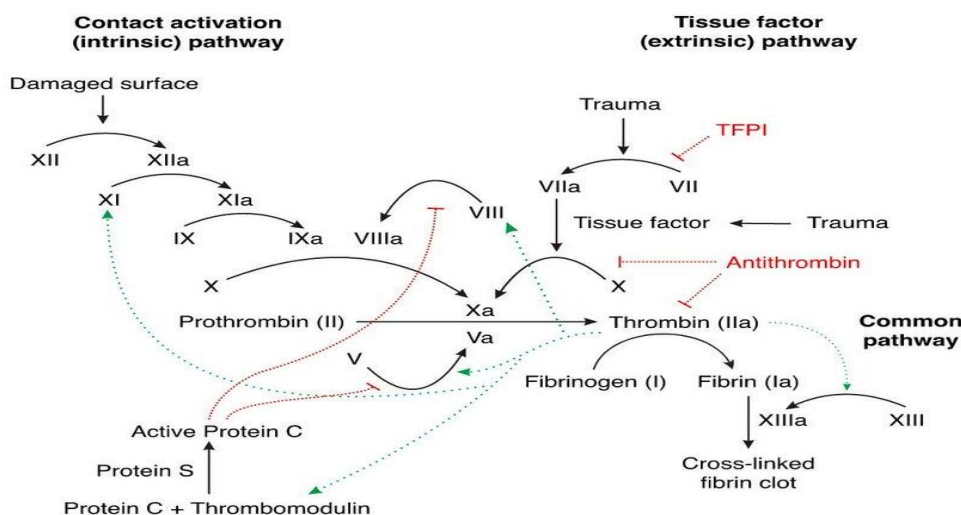
Επίσης σχηματίζονται 3 συμπλέγματα κρίσιμης σημασίας, η εξωγενής δεκάση μεταξύ FVII και TF, η ενδογενής δεκάση μεταξύ FIXa και FVIIIa και η προθρομβινάση μεταξύ FXa και FVa. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα ιόντα  $Ca^{2+}$  είναι απαραίτητα για την δημιουργία των συμπλεγμάτων αυτών.

## Εξωγενή Οδός

Βασικός εκκινητής της εξωγενή οδού είναι ο ιστικός παράγοντας (TF) που βρίσκεται στο τοίχωμα των αγγείων και εκτίθεται όταν υποστεί βλάβη. Συνεπώς, τα αιμοπετάλια και οι παράγοντες πήξης της κυκλοφορίας έρχονται σε επαφή με τον TF στην μεμβράνη του υπενδοθήλιου. Συγκεκριμένα ο παράγοντας FVII συνδέεται με το TF, ενεργοποιείται σε FVIIa και σχηματίζεται το σύμπλεγμα εξωγενής δεκάσης. Το σύμπλεγμα αυτό σε θέση να καταλύει την πρωτεολυτική ενεργοποίηση των FIX και FX σε FIXa και FXa αντίστοιχα.

Ο FXa μπορεί να ενεργοποιήσει τον FVII, επιταχύνοντας την έναρξη της πήξης ή να μετατρέψει μικρές ποσότητες προθρομβίνης σε θρομβίνη. Αυτές η μικρές ποσότητες θρομβίνης δεν είναι αρκετές να σταθεροποιήσουν το βύσμα, αλλά μπορούν να ενεργοποιήσουν τους FV και FVIII, να ενεργοποιήσει τον FXI που ενεργοποιεί τον FIX ή να ενεργοποιήσει αιμοπετάλια.

Παρόλο που δεν παράγονται απευθείας μεγάλες ποσότητες θρομβίνης, η ικανότητα να ενεργοποιήσει τον FVIII σημαίνει ότι μπορεί να σχηματιστεί το σύμπλεγμα ενδογενής δεκάσης που ενισχύει την παραγωγή FXa περισσότερο από το σύμπλεγμα εξωγενής δεκάσης και είναι ανεξάρτητη του TF. Εξίσου σημαντική είναι η ικανότητα να ενεργοποιήσει τον FVa (συνήθως ενεργοποιείται στην ενδογενή οδό), ώστε να σχηματιστεί το σύμπλεγμα προθρομβινάσης που μετατρέπει την προθρομβίνη σε θρομβίνη με πολύ γρηγορότερους ρυθμούς. (22) (23) (35)



Εικόνα 2. Καταρράκτης πήξης (36)

## Ενδογενής Οδός

Η ενδογενής οδό ξεκινάει με την ενεργοποίηση επαφής, όπου ο παράγοντας FXII ενεργοποιείται αυτόματα όταν έρθει σε επαφή με αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια ή μόριο (RNA, DNA, θειική δεξτράνη, πυρίτιο, κ.α. (22) (35)

Η ενεργοποίηση της οδού μπορεί να ενισχυθεί με το κινινογόνο υψηλού μοριακού βάρους (HMWK) και προκαλλικρεΐνη (PK). Το FXIIa από την αρχική ενεργοποίηση μπορεί να ενεργοποιήσει την προκαλλικρεΐνη, η οποία με την σειρά της ενεργοποιεί την FXII, δημιουργώντας έτσι ένα κύκλο θετικής ανατροφοδότησης. Ο κύκλος αυτός ενισχύεται ακόμη περισσότερο από το HMWK μέσω της δράσης του ως συμπαράγοντας. (37)

Στην συνέχεια ο FXIIa ενεργοποιεί τον FXI που με την σειρά του ενεργοποιεί τον FIX. Το ενεργοποιημένο FIXa μαζί με το FVIIIa (που σχηματίστηκε στην εξωγενή οδό) σχηματίζουν το σύμπλεγμα ενδογενής δεκάσης που ενεργοποιεί τον FX σε FXa. (22) (35)

## Κοινή Οδός

Οι ενεργοποιημένοι παράγοντες FXa και FVa, σχηματίζουν το σύμπλεγμα προθρομβινάσης που όπως αναφέρθηκε προηγούμενος μετατρέπει την προθρομβίνη σε θρομβίνη με γρήγορους ρυθμούς. Η θρομβίνη προκαλεί τον πολυμερισμό του ινωδογόνου σε ινώδες. Οπότε το ινωδογόνο που λειτουργούσε σαν συνδετικός κρίκος μεταξύ αιμοπεταλίων βύσματος μετατρέπεται σε ινώδες με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένας σταθερός και ανθεκτικός θρόμβος.

## 2.2.2 Ινωδόλυση

---

Η ινωδόλυση είναι το τελευταίο στάδιο στην φυσιολογική αιμόσταση και έχει σκοπό την λύση του θρόμβου οδηγώντας στην επαναφορά της φυσιολογικής κυκλοφορίας του αίματος και την αναστολή του παθολογικού σχηματισμού θρόμβου.

Ο πρωταγωνιστής της ινωδόλυσης είναι το πλασμινογόνο ένα προένζυμο που κυκλοφορεί στο αίμα, προσδεμένο στο ινωδογόνο. Το πλασμινογόνο ενεργοποιείται μέσω του ιστικού ενεργοποιητή (tPA) ή της ουροκινάσης (uPA) σε πλασμίνη, η οποία είναι μια πρωτεάση που διασπά το ινώδες. Ο tPA ρυθμίζεται από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC) και τον αναστολέα της ενεργοποίησης του πλασμινογόνου (PAI-1). Η APC αυξάνει την δράση του tPA, ενώ η PAI-1 που βρίσκεται στα αιμοπετάλια και στο ενδοθήλιο αναστέλλει την δράση του. (38) (39) (40)

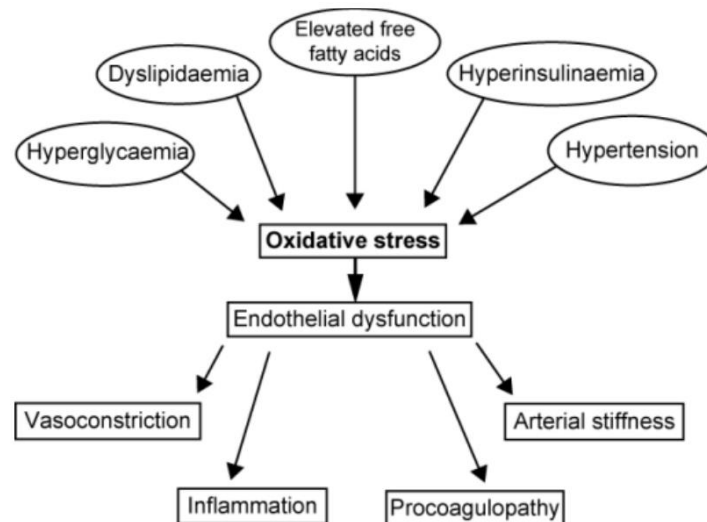


### 3. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

Ο σακχαρώδης διαβήτης ενισχύει τις προθρομβωτικές διαδικασίες και αποδυναμώνει τις αντιθρομβωτικές τάσεις με αποτέλεσμα να μεταβάλει την αιμοστατική ισορροπία προς μια παθολογική θρομβωτική κατεύθυνση.

#### 3.1. Διαταραχές στο Ενδοθήλιο

Στον ΣΔ υπάρχουν συστηματικές αλλαγές που επηρεάζουν το ενδοθήλιο, οφείλονται στην υπεργλυκαιμία, δυσλιπιδαιμία, υπέρταση και υπερινσουλιναιμία. Οι αλλαγές αυτές επιταχύνουν την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων, αυξάνουν το οξειδωτικό στρες και ενισχύουν την διαπερατότητα των αγγείων με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο αγγειακός τόνος, να μειώνεται η αγγειοδιασταλτική ικανότητα και να αναπτύσσεται μια επιμονή φλεγμονώδης κατάσταση. (41) (42)



Εικόνα 3. Διαταραχές ενδοθηλίου στον σακχαρώδη διαβήτη (43)

Είναι γνωστό ότι το αυξημένο οξειδωτικό στρες σε ασθενείς με ΣΔ οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή και λειτουργικότητα του μονοξειδίου του αζώτου (NO), που είναι σημαντικός αγγειοδιασταλτικός παράγοντας και αναστολέας της προσκόλλησης και ενεργοποίησης αιμοπεταλίων. (13) (42) Επίσης, ως αποτέλεσμα της φλεγμονώδης κατάστασης που προκαλείται από τον ΣΔ κάποιοι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες μπορούν να προκαλέσουν την έκφραση του TF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. (44) (45)

### 3.2. Το Διαβητικό Αιμοπετάλιο

---

Τα αιμοπετάλια των διαβητικών ασθενών παρουσιάζονται μεγαλύτερα σε μέγεθος, με αυξημένη δραστηριότητα, προσκόλληση και συσσώρευση. Επίσης μειώνεται κατά πολύ ο χρόνος ζωής τους αλλά αναγεννούνται γρήγορα, αυξάνοντας το ποσοστό των νεαρών αιμοπεταλίων. Οι μεταβολές αυτές οφείλονται στην διαταραχή του ενδοθηλίου και των μορίων που περιέχουν τα αιμοπετάλια.

Η αύξηση στις λειτουργίες των αιμοπεταλίων οφείλεται στην υπεργλυκαιμία μέσω της αύξησης που προκαλεί στην παραγωγή αντιδραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Η αυξημένη ROS προκαλεί βλάβη στην μεμβράνη του αιμοπεταλίου, συγκεκριμένα προκαλεί αλλαγές στην φωσφολιπιδική μεμβράνη και αυξάνει την έκφραση γλυκοπρωτεϊνικών υποδοχέων οδηγώντας σε περαιτέρω ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων (46)

Η προσκόλληση αυξάνεται λόγω της αυξημένης έκφρασης του παράγοντα Von Willebrand (vWF) που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες. Η συγκέντρωση vWF στο πλάσμα αυξάνεται κατά 1.4 του φυσιολογικού και είναι ακόμη πιο αυξημένο στα κοκκία των αιμοπεταλίων.

Η συσσώρευση ενισχύεται επειδή η γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών της μεμβράνης των αιμοπεταλίων αυξάνει την έκφραση της P-σελεκτίνης και άλλων υποδοχέων γλυκοπρωτεϊνικών. Ακόμη ένας παράγοντας που συμβάλει στην συσσώρευση είναι η αυξημένη απελευθέρωση TxA<sub>2</sub>. Ταυτόχρονα αυξάνονται οι συγκεντρώσεις ινωδογόνου και θρομβοσπονδίνης στο αιμα. (47) (48)

### 3.3. Διαταραχές στην Πήξη

---

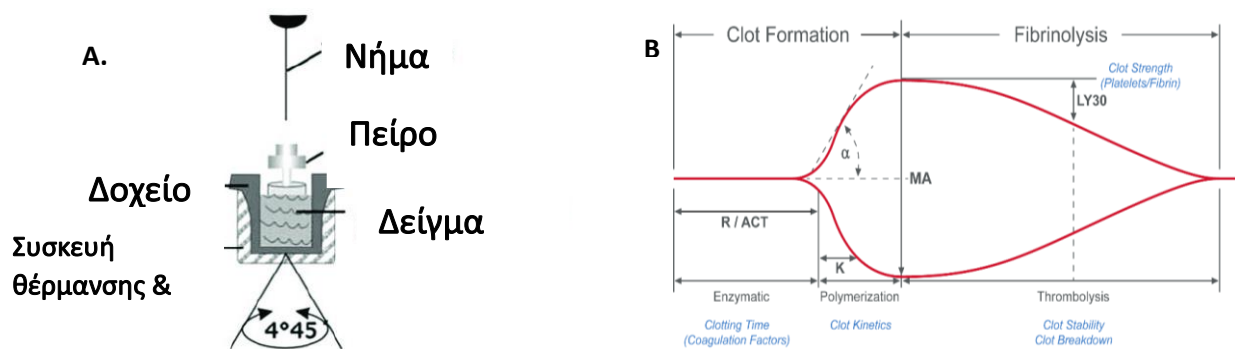
Εκτός από την αύξηση στην συγκέντρωση που αναφέρθηκε προηγούμενος, το ινωδογόνο υφίσταται και δομικές αλλαγές λόγω οξείδωσης και γλυκοζυλίωσης. Το αποτέλεσμα των αλλαγών αυτών είναι ότι η δομή του θρόμβου γίνεται πιο πυκνή και αντιστέκεται στην αποικοδόμηση από t-PA και πλασμίνη με αποτέλεσμα να μειώνεται η ινωδόλυση.

Κάτι που οδηγεί σε περαιτέρω αποδυνάμωση της ινωδόλυσης είναι η αύξηση των επιπέδων του αναστολέα ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1 (PAI-1) που ρυθμίζει τον tPA για την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου. (49) Υπό κανονικές συνθήκες δεν υπάρχει ιστικός παράγοντας (TF) στο αίμα, αλλά στον ΣΔ το οξειδωτικό στρες και η επίμονη φλεγμονώδης κατάσταση οδηγεί σε αύξηση του TF. Επίσης, υπάρχει αύξηση των συγκεντρώσεων παραγόντων πήξης II, V, VII, VIII και X στο πλάσμα. (41)

## 4. ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΗΜΑ (TEG)

Το TEG εφευρέθηκε το 1948 από τον Dr. Hellmut Hartert στον πανεπιστήμιο Χαϊδελβέργη στην Γερμανία. Είναι μια ιξωδοελαστική αιμοστατική δοκιμασία (VHA) που πραγματοποιείται στο ολικό αίμα. Το δείγμα τοποθετείται σε δοχείο και περιστρέφεται ομαλά με 4° 45' έξι φορές το λεπτό, προσομοιάζοντας τη φλεβική ροή. Διότι όμως το δείγμα συλλέγεται σε σωληνάριο με αντιπηκτικές ουσίες, χρειάζεται κάποιο ενεργοποιητικό παράγοντα για την έναρξη της πήξης. Συνήθως χρησιμοποιείται το ασβέστιο για να εξουδετερώσει το κιτρικό νάτριο στα σωληνάρια συλλογής.

Όσο σχηματίζεται ο θρόμβος, αρχίζει να προσκολλάται στο δοχείο, καθώς και στον πείρο με αποτέλεσμα αυξημένες περιστροφικές δυνάμεις να μεταφέρονται στον πείρο και να μετατρέπονται σε ηλεκτρικά σήματα που χρησιμοποιεί ένας ηλεκτρονικός υπολογιστής για την δημιουργία του θρομβοελαστογραφήματος.



Εικόνα 4. Α. Δομή θρομβοελαστογραφίας Β. Ανάλυση γραφικής παράστασης θρομβοελαστογραφίας (50)

Πλέον η μέθοδος του περιστρεφόμενου δοχείου έχει αντικατασταθεί με μια καινούργια μέθοδος όπου μετριέται η συχνότητα που οδηγεί σε συντονισμό υπό φωτισμό LED καθώς το αίμα υπόκειται σε δόνηση. (51) (52)

### 4.1 Ιξωδοελαστικές Αιμοστατικές Δοκιμασίες (Viscoelastic Hemostatic Assays – VHAs)

Μια από της κυρίες συσκευές που χρησιμοποιεί αυτή την μέθοδο είναι ο POCT αναλυτής TEG 6S της Haemonetics. Η συσκευή αυτή χρησιμοποιεί προδιασκευασμένες κασέτες, οι οποίες μπορούν να πραγματοποιήσουν μέχρι 4 ιξωδοελαστικές αιμοστατικές δοκιμασίες ταυτόχρονα.

Συγκεκριμένα υπάρχουν 2 κασέτες, το Global Hemostasis Cartridge που χρησιμοποιεί μη-φυγοκεντρημένο αίμα σε σωληνάριο με κιτρικό νάτριο και το Platelet Mapping Cartridge που χρησιμοποιεί μη-φυγοκεντρημένο αίμα σε σωληνάριο με ηπαρίνη λιθίου. Ο χρόνος εξέτασης ποικίλει ανάλογα με τον ασθενή, αλλά συνήθως χρειάζεται περίπου 1 ώρα ανά κασέτα.

#### *4.1.1 Global Hemostasis Cartridge (CM Citrated)*

---

Η κασέτα αυτή παρέχει πληροφορίες για τους παράγοντες πήξης, τα αιμοπετάλια, το ινωδογόνο και την ινωδόλυση με την χρήση 4 διαφορετικών δοκιμασιών.

Η δοκιμασία **Kaolin TEG (CK)** είναι η βασικότερη δοκιμασία TEG και χρησιμοποιεί την καολίνη ως ενεργοποιητής της πήξης. Παρέχει μια ολική αξιολόγηση για την λειτουργία της πήξης.

Η βασική διαφορά μεταξύ της δοκιμασίας **Kaolin TEG with Heparinase (CKH)** και την **Kaolin TEG** είναι ότι η προσθήκη της ηπαρινάσης εξαλείφει την δράση της ηπαρίνης. Σύγκριση των 2 δοκιμασιών παρέχει πληροφορίες για την επίδραση της ηπαρίνης στην αιμόσταση.

Το **RapidTEG (CRT)** είναι μια επιταχυνόμενη μορφή του κλασσικού TEG οπού προστίθεται ιστικός παράγοντας και καολίνη για ταχεία αξιολόγηση της λειτουργίας της πήξης. Χρησιμοποιείται κυρίως σε χειρουργεία, οπού ο χρόνος είναι κρίσιμος.

Στην δοκιμασία **TEG Functional Fibrinogen (CFF)** προστίθεται ιστικός παράγοντας για ενεργοποίηση της πήξης και αναστολής των GPIIb/IIIa ώστε να ανασταθεί η λειτουργία των αιμοπεταλίων και να απομονωθεί η συνεισφορά του ινωδογόνου στον σχηματισμό και στη ισχύ του θρόμβου. Σύγκριση της δοκιμασίας **CFF** με την **CK** μας επιτρέπει να υπολογίσουμε ξεχωριστά την συνεισφορά του ινωδογόνου και των αιμοπεταλίων στον θρόμβο.

#### *4.1.2 Platelet Mapping Cartridge*

---

Η κασέτα αυτή παρέχει πληροφορίες για τα αιμοπετάλια με την χρήση 4 διαφορετικών δοκιμασιών.

Η δοκιμασία **Heparinase Kaolin (HKH)** ομοιάζει με την δοκιμασία CKH στην κασέτα Global Hemostasis. Η ηπαρινάση εξαλείφει την δράση της ηπαρίνης με αποτέλεσμα να μετρείται η ισχύς του θρόμβου που παράγεται μόνο από την θρομβίνη και το ινωδογόνο. Αποτελεί ένδειξη της μέγιστη συμβολής αιμοπεταλίων στην ολική ισχύ θρόμβου (χωρίς καμία αναστολή).

Στην δοκιμασία **Activator F (ActF)** χρησιμοποιείται η Ρεπτιλάση και ο παράγοντας XIII για την παραγωγή θρόμβου χωρίς καμία συνεισφορά από τα αιμοπετάλια, εφόσον η ηπαρίνη αναστέλλει την λειτουργία της θρομβίνης.

Η δοκιμασίες **ADP & AA** χρησιμοποιούν τα ίδια αντιδραστήρια με την δοκιμασία ActF, διότι η έλλειψη θρομβίνης δημιουργεί ιδανικές συνθήκες για να μελετηθεί η αναστολή στον σχηματισμό θρόμβου που προκαλείται από την διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) ή το αραχιδονικό οξύ (AA). (50)

## 4.2 Παράμετροι Δοκιμασιών

---

**Rtime:** Ο χρόνος από την αρχή τις μέτρησης μέχρι την στιγμή που ξεκινάει να σχηματίζεται ο θρόμβος δηλαδή το πλάτος της κυματομορφής να έχει διαφορά 2mm από τη γραμμή βάσης.

- Εξαρτάται από παράγοντες πήξης

**Ktime:** Ο χρόνος από την έναρξη σχηματισμού θρόμβου (δηλαδή το R) μέχρι πλάτος της κυματομορφής να φτάσει 20mm.

- Εξαρτάται από το ινωδογόνο
- Αντιπροσωπεύει τη ταχύτητα σχηματισμού θρόμβου

**Angle:** Η γωνιά που σχηματίζεται μεταξύ τη γραμμή βάσης στο σημείο R και την εφαπτομένη της καμπύλης θρομβοελαστογραφήματος.

- Εξαρτάται από το ινωδογόνο
- Αξιολογεί ρυθμό σχηματισμού θρόμβου, μετρώντας τη ταχύτητα με την οποία συσσωρεύεται το ινωδογόνο και πραγματοποιείται το Cross-linking.

**MA:** Μέγιστο πλάτος κυματομορφής (Παρέκκλιση από τη γραμμή βάσης)

- Εξαρτάται από αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων (80%) και ινωδογόνου (20%) μέσω GPIIb/IIIa.
- Αντιπροσωπεύει τελική ισχύ θρόμβου ινωδογόνου

**A10:** Το πλάτος κυματομορφής 10 λεπτά μετά τον χρόνο Rtime

**LY30:** Μείωση (%) πλάτους κυματομορφής 30 λεπτά μετά το MA.

- Ελέγχει την ινωδόλυση (50) (53)

## **ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

---

## 5. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

---

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να ερευνηθούν οι διαταραχές στο αιμοστατικό προφίλ των ασθενών που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη. Συγκεκριμένα να μελετηθούν οι παράμετροι του βασικού ελέγχου πήξης (PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer & Ινωδογόνο), του αντιγόνου του παράγοντα von Willebrand (vWF Ag), του συμπαράγοντα ριπτοσετίνης (RiCof), του χρόνου πήξης εξαρτώμενη από προπηκτικά φωσφολιπίδια (PROCOAG-PPL) και της θρομβοελαστογραφίας. Ιδιαίτερη σημασία είχαν οι παράμετροι της θρομβοελαστογραφίας διότι είναι μια σχετική καινούργια δοκιμασία που δεν έχει μελετηθεί αρκετά μέχρι στιγμής, ιδίως στους διαβητικούς.

Ο πρώτος στόχος ήταν να εξεταστούν οι διαφορές των επιπέδων των παραμέτρων που αναφέρθηκαν προηγούμενος μεταξύ τον πληθυσμό ασθενών και την ομάδα ελέγχου.

Δεύτερος στόχος ήταν να μελετηθεί η συσχέτιση διάφορων μεταβλητών του σακχαρώδη διαβήτη, όπως είναι η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c), η αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP) και το είδος θεραπευτικής αγωγής με τους παραμέτρους της αιμόστασης.

## 6. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

---

Σε αυτό το κεφάλαιο ακολουθεί αναλυτική περιγραφή των υλικών και μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση της ερευνητικής πτυχιακής εργασίας στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο και Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής.

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε μεταξύ Μαΐου και Σεπτεμβρίου 2024 με την συνεργασία 3 τμημάτων του νοσοκομείου : Το Διαβητολογικό τμήμα, όπου έγινε η συλλογή των δειγμάτων από ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (ΠΣΔ) και η μέτρηση γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c), το τμήμα αιμοδοσίας όπου έγινε συλλογή δειγμάτων για την ομάδα ελέγχου (Control) και το εργαστήριο Αιμοδοσίας-Αιμόστασης όπου έγινε αρχικά ο βασικό έλεγχος πήξης (PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer & Fibrinogen) και η εξέταση θρομβοελαστογραφίας. Στην συνέχεια αποθηκευτήκαν τα δείγματα για επιπρόσθετες εξετάσεις, που περιλαμβάνουν μέτρηση του αντιγόνου του παράγοντα von Willebrand (vWF Ag), του συμπαράγοντα ριστοσετίνης (RiCof) και την μέτρηση χρόνου πήξης εξαρτώμενη από προπηκτικά φωσφολιπίδια (PROCOAG-PPL)

Τέλος στάλθηκαν τα δείγματα ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη στο εργαστήριο Πανεπιστήμιου Δυτικής Αττικής όπου έγινε η μέτρηση του δείκτη αντιοξειδωτικής ικανότητας (FRAP).



## 6.1 Αντιδραστήρια, Όργανα και Μέθοδοι

---

Ο **βασικό έλεγχο πήξης (PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer & Fibrinogen)** έγινε στον αναλυτή εξετάσεων πήξεως **Siemens BCS-XP** και χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- INNOVANCE Tromborel S Reagent (Έλεγχος PT)
- INNOVANCE Pathromtin SL Reagent (Έλεγχος APTT)
- INNOVANCE Multifibren U Reagent (Έλεγχος Ινωδογόνου)
- INNOVANCE D-Dimer Reagent (Έλεγχος D-Dimer)
- INNOVANCE Control Plasma N (Αρνητικό Control)
- INNOVANCE Control Plasma P (Θετικό Control)

Ο χρόνος προθρομβίνης (PT) είναι ο χρόνος από την στιγμή που στον υπό εξέταση πλάσμα προστεθεί θρομβοπλαστίνη και ασβέστιο έως την εμφάνιση θρόμβου. Ο Χρόνος PT ελέγχει την εξωγενή και την κοινή οδό πήξης, συγκεκριμένα τους παράγοντες FII, FV, FVII, FX και το ινωδογόνο. Όμως διότι υπάρχουν θρομβοβλαστίνες με μεγάλες διαφορές στην δραστικότητα τους, έχει καθιερωθεί από τον ΠΟΥ η χρήση του δείκτη Διεθνής κανονικοποιημένος λόγος INR (International Normalized Ratio ) ο οποίος εμπεριέχει τον δείκτη ευαισθησίας του χρησιμοποιημένου αντιδραστηρίου ISI (Internation Sensitivity Index). Με την έκφραση του PT σε INR εξαλείφονται οι ενδοεργαστηριακές διαφορές.

$$INR = \left( \frac{\text{Χρόνος ασθενή (PT.SEC)}}{\text{Χρόνος μάρτυρα (MNPT)}} \right)^{ISI}$$

Ο ενεργοποιημένος χρόνος πήξης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) είναι μια βασική εξέταση πήξεως που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της ενδογενούς οδού πήξης. Η παράταση του aPTT μπορεί να οφείλεται σε έλλειψη παραγόντων FVIII, FIX, FXI, FXII, HMWK ή PK, στην νόσο Von Willebrand, στην ηπαρίνη ή στους αναστολείς παραγόντων πήξης.

Το Ινωδογόνο είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που έχει σημαντικό ρολό στην συσσώρευση αιμοπεταλιών και σε συνεργασία με την θρομβίνη και τον FXIIIa σταθεροποιεί τον θρόμβο. Χαμηλά επίπεδα ινωδογόνου προκαλούν αυξημένο κίνδυνο για αιμορραγία, ενώ υψηλά επίπεδα που παρατηρούνται συχνά σε οξεία και χρόνια φλεγμονή προκαλούν ανεπιθύμητους θρόμβους.

Τα Δ-διμερή (D-dimer) είναι ειδικό προϊόν αποικοδόμησης του ινώδους. Στην πήξη, η θρομβίνη μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες και ενεργοποιεί τον FXIIIa ο οποίος συνδέει τις D περιοχές των γειτονικών μονομερών ινώδους. Κατά την Ινωδόλυση, η πλασμίνη διασπά το υπόστρωμα ινώδους με αποτέλεσμα το ινώδες διασυνδεδεμένο με FXIIIa να δημιουργεί τα Δ-διμερή.

Για την **θρομβοελαστογραφία** στον αναλυτή **Haemonetics TEG 6S** χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω κασέτες:

- Global Hemostasis Cartridge (Citratad)
- Platelet Mapping Cartridge (Heparinized)

Περισσότερες πληροφορίες για την μέθοδο που χρησιμοποιείται στην θρομβοελαστογραφία υπάρχουν στο Κεφάλαιο 4.

Για την μέτρηση του **συμπαράγοντα ριστοσετίνης (RiCof)** στον αναλυτή εξετάσεων πήξεως **Siemens BCS-XP** χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- INNOVANCE VWF: Ac Reagent 1
- INNOVANCE VWF: Ac Reagent 2
- INNOVANCE VWF: Ac Reagent 3
- INNOVANCE Control Plasma N (Αρνητικό Control)
- INNOVANCE Control Plasma P (Θετικό Control)

Η μέτρηση του συμπαράγοντα ριστοσετίνης (RiCof) αναφέρεται από πολλούς ως δοκιμασία δραστηριότητας του παράγοντα Von Willebrand (vWF Ac). Η δοκιμασία αυτή χρησιμοποιεί την δέσμευση της γλυκοπρωτεΐνης GPIb των αιμοπεταλιών στον υποδοχέα του παράγοντα Von Willebrand για τον ποσοτικό προσδιορισμό της δραστηριότητας του vWF. Σωματίδια πολυστυρενίου είναι επικαλυμμένα με αντίσωμα έναντι της GPIb. Προστίθεται ανασυνδυσασμένη GPIb και δεσμεύεται στο αντίσωμα, καθώς και στον VWF του δείγματος. Η δέσμευση αυτή του VWF προκαλεί συγκόλληση σωματιδίων που μπορεί να μετρηθεί με νεφελομετρικές μετρήσεις ως αύξηση της εξάλειψης. Τα αποτελέσματα αναφέρονται ως % του κανόνα, όπου 100 % του κανόνα αντιστοιχεί 1 IU/mL.

Για την μέτρηση **αντιγόνου παράγοντα Von Willebrand (vWF Ag)** στον αναλυτή **Stago STA R MAX3** χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- LIATEST VWF: Ag Reagent 1-Buffer (Ρυθμιστικό διάλυμα)
- LIATEST VWF: Ag Reagent 2-Latex (Αντιδραστήριο λατέξ)
- LIATEST VWF: Ag Reagent 3-Latex Diluent (Αραιωτικό για αντιδραστήριο λατέξ)
- STA-VWF: Ag Calibrator
- STA-LIATEST Control N (Αρνητικό Control)
- STA-LIATEST Control P (Θετικό Control)

Η μέθοδος αυτή προσδιορίζει τα επίπεδα του παράγοντα Von Willebrand vWF με ποσοτική αξιολόγηση της πρωτεΐνης VWF μέσω ανοσολογικών μεθόδων. Στην μέθοδο αυτή μικρά σωματίδια πολυστυρενίου, στα οποία έχουν προσκολληθεί ειδικά αντισώματα συγκολλούνται όταν αναμειγνύονται με δείγματα που περιέχουν το αντίγονο Von Willebrand (vWF Ag). Στη συνέχεια, η συγκόλληση αυτή ανιχνεύεται θολοσιμετρικά μέσω της αύξησης της θολερότητας, η οποία είναι ανάλογη προς το επίπεδο του αντιγόνου που υπάρχει στο δείγμα της εξέτασης. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό του φυσιολογικού εύρους αναφοράς ή της τυπικής συγκέντρωσης που βρίσκεται σε έναν υγιή πληθυσμό.

Για την μέτρηση **χρόνου πήξης εξαρτώμενη από προπηκτικά φωσφολιπίδια (PROCOAG-PPL)** στον αναλυτή **Stago STA R MAX3** χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- STA-PROCOAG-PPL Reagent 1 (P-PPL Depleted Plasma)
- STA-PROCOAG-PPL Reagent 2 (Factor Xa)
- STA-PROCOAG-PPL Reagent 3 (P-PPL Αρνητικό Control)
- STA-PROCOAG-PPL Reagent 4 (P-PPL Θετικό Control)

Οι ιδιότητες των προπηκτικών φωσφολιπιδίων εξαρτώνται από την εξωτερίκευση φωσφατιδυλοσερίνης και την αλληλεπίδραση με την διπλοστοιβάδα μεμβράνης μετά από ερεθίσματα (ενεργοποίηση, απόπτωση, κ.α.), τα οποία τους επιτρέπουν να προάγουν το σχηματισμό και ενεργοποίηση συμπλεγμάτων ενζύμων της πήξης. Η μέθοδος μετράει τον χρόνο πήξης, παρουσία ασβεστίου ενός δείγματος στον οποίο προστίθεται πλάσμα φτωχό σε φωσφολιπίδια ώστε η μέτρηση να εξαρτάται μόνο από τα προπηκτικά φωσφολιπίδια δείγματος. Ακόμη, προστίθεται FXa ώστε να μην ενεργοποιηθούν τα προηγούμενα στάδια του καταρράκτη πήξης. Μειωμένο χρόνο πήξης συνεπάγει αύξηση στα προπηκτικά φωσφολιπίδια.

Για την **λήψη, προετοιμασία και αποθήκευση δειγμάτων** χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω:

- BD Vacutainer Push Button Collection set με διάμετρο βελόνας 21G.
- BD Vacutainer Holder
- Σωληνάριο κενού αέρος, PET με αντιπηκτικό Buffered Sodium Citrate (0.109M, 3.2%) χωρητικότητας 2.7 mL.
- Σωληνάριο κενού αέρος, PET με αντιπηκτικό Ηπαρίνη λιθίου (17 IU/mL) χωρητικότητας 4.0mL
- Σωληνάριο κενού αέρος, πλαστικό με αντιπηκτικό K3EDTA (7,2mg) χωρητικότητας 4.0 mL.
- Eppendorf (2 mL)
- Push Cap tubes non coded U-bottom (1.4mL)
- Πλαστικές πιπέττες Pasteur (3mL)
- Αυτόματες πιπέττες
  - 20-200 μL
  - 100-1000 μL
- Πλαστικά ρύγχη αυτομάτων πιπέττων
  - 2 – 200 μL
  - 100-1000 μL
- Υδατόλουτρο
- Φυγόκεντρος **Heraeus MegaFuge 1.0- Gemini BV**

## 7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

---

### 7.1 Πλήθος Μελέτης

---

Το χρονικό διάστημα Μάιος – Σεπτέμβριος 2024 μελετήθηκαν 10 υγιή άτομα και 20 χρόνιοι ασθενείς Σακχαρώδη διαβήτη του Διαβητολογικού τμήματος του Γ.Ν.Α. Ιπποκράτειο.

Ο πληθυσμός των ασθενών περιλάμβανε 10 άντρες και 10 γυναίκες με μέσο ορό ηλικίας τα 66 έτη, με μεγαλύτερο στα 85 έτη και μικρότερο στα 40 έτη . Το είδος θεραπείας και τα επίπεδα HbA1C ήταν σημαντικό κριτήριο στην επιλογή των ασθενών αφού ο σκοπός της ερευνάς ήταν να μελετηθεί η συσχέτιση των 2 παραμέτρων αυτών με την αιμόσταση. Γι' αυτό τον λόγο επιλέχθηκαν ασθενείς που είχαν ιστορικό στο νοσοκομείο και ήταν τυπική στην θεραπευτική τους αγωγή. Ο τύπος ΣΔ δεν ήταν κριτήριο στην επιλογή των ασθενών διότι δεν βρέθηκαν αρκετοί ασθενείς με ΣΔΤ1 ώστε να γίνει ολοκληρωμένη μελέτη.

Στην συνέχεια ο πληθυσμός των ασθενών διαχωρίστηκε σε 2 ομάδες με βάση την θεραπευτική αγωγή. Η μια ομάδα αποτελείται από ασθενείς που λαμβάνουν ινσουλινοθεραπεία και αντιδιαβητικά δισκία, ενώ η άλλη ομάδα από ασθενείς που λαμβάνουν μόνο αντιδιαβητικά δισκία.

### 7.2 Λήψη & Προετοιμασία Δείγματος

---

Όλα τα δείγματα ασθενών συλλέχθηκαν στο διαβητολογικό τμήμα του Γ.Ν.Α. Ιπποκράτειο καθημερινά μεταξύ τις 08:00-11:00, μετά από τουλάχιστο 10ωρη νηστεία. Αρχικά πραγματοποιήθηκε έλεγχος ιστορικού, αν ο ασθενής κρινόταν κατάλληλος για την μελέτη και τυπικός στην θεραπευτική αγωγή τότε προχωρούσε στο στάδιο της αιμοληψία.

Η αιμοληψία έγινε από εκπαιδευμένο προσωπικό με σύστημα πεταλούδας αιμοληψίας 21G ή 23G και Vacutainer Holder. Κατά την αιμοληψία συλλέχθηκαν 2 σωληνάρια με κιτρικό νάτριο, 1 σωληνάριο με ηπαρίνη λιθίου και 1 σωληνάριο με EDTA, με την αντίστοιχη σειρά. Πριν την αιμοληψία σημειωνόταν το όνομα και επίθετο του ασθενούς σε κάθε σωληνάριο και αμέσως μετά την αιμοληψία σημειωνόταν ο αύξοντας αριθμός των ασθενών για την παρούσα μελέτη στα σωληνάρια αλλά και στο έγγραφο με το ιστορικό του ασθενούς για να αποφευχθούν πιθανά προ-αναλυτικά σφάλματα. Η αρίθμηση των ασθενών ξεκίνησε με τον αριθμό 3001 και συνέχισε μέχρι και το 3020 Ταυτόχρονα γινόταν συλλογή δειγμάτων για την ομάδα ελέγχου στο τμήμα αιμοδοσία του νοσοκομείου με το ίδιο τρόπο. Η μονή διαφορά στην ομάδα ελέγχου είναι ότι δεν συλλεγόταν σωληνάριο EDTA.

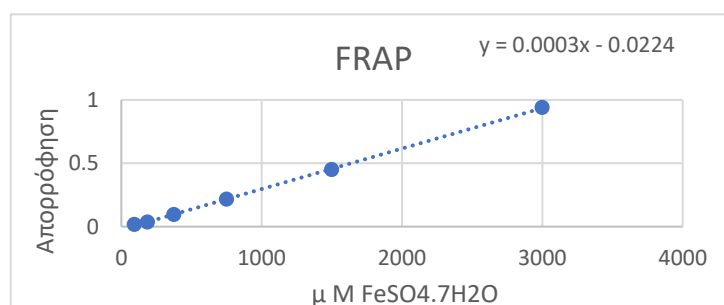
Το σωληνάριο με αντιπηκτικό EDTA των ασθενών παρέμενε στο διαβητολογικό τμήμα όπου γινόταν η μέτρηση γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης.

Τα 3 σωληνάρια (2 με κιτρικό νάτριο και 1 με ηπαρίνη λιθίου) των ασθενών και της ομάδας ελέγχου μεταφέρονταν εντός της ώρας στο εργαστήριο Αιμοδοσία-Αιμόστασης του νοσοκομείου όπου 1 σωληνάριο με κιτρικό νάτριο και 1 με ηπαρίνη λιθίου χρησιμοποιούνταν για τις εξετάσεις Global Hemostasis και Platelet Mapping της θρομβοελαστογραφίας στο Haemonetics TEG 6S αντίστοιχα. Το 1 σωληνάριο που παρέμενε φυγοκεντρήθηκε στις 3500 στροφές για 15 λεπτά 2 φορές ώστε να απομονωθεί το πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια (PPP).

Στο σωληνάριο διπλής φυγοκέντρησης γινότανε ο βασικό έλεγχο πήξης (PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer & Ινωδογόνο) στον αναλυτή εξετάσεων πήξεως Siemens BCS-XP και χωριζότανε το υπόλοιπο πλάσμα σε 4 σωληνάρια Push Cap tubes για να αποθηκευτούν στην κατάψυξη στους  $-80^{\circ}\text{C}$  μέχρι να μαζευτούν όλα τα δείγματα και να εκτελεστούν οι υπόλοιπες εξετάσεις.

Όταν συλλέχθηκαν όλα τα δείγματα, 2 από τα 4 σωληνάρια Push Cap tubes μεταφέρθηκαν από την κατάψυξη σε υδατόλουτρο στο εργαστήριο Αιμοδοσία-Αιμόστασης όπου εκτελέστηκαν οι μετρήσεις του συμπαραγόνα ριστοσεΐνης (RiCof) στον αναλυτή εξετάσεων πήξεως Siemens BCS-XP, του αντιγόνου του παράγοντα von Willebrand (vWF Ag) και την μέτρηση χρόνου πήξης εξαρτώμενη από προπηκτικά φωσφολιπίδια (PROCOAG-PPL) στον αναλυτή Stago STA R MAX3. Να σημειωθεί ότι ο έλεγχος PROCOAG-PPL δεν έγινε στην ομάδα ελέγχου αλλά μόνο στα δείγματα των ασθενών.

Το τρίτο σωληνάριο Push Cap tube μεταφέρθηκε στα εργαστήρια του τμήματος Βιοϊατρικών επιστήμων στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής όπου έγινε η μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας (FRAP). Η αντίδραση FRAP πραγματοποιείται σε παρουσία αντιοξειδωτικών σε χαμηλό pH με αποτέλεσμα την αναγωγή του ηλεκτρικού φορτίου,  $\text{Fe(III)} \rightarrow \text{Fe(II)}$ . Η αναγωγή αυτή, με την σειρά της οδηγεί την αντίδραση σε παραγωγή  $\text{Fe(III)-TPTZ}$  (2,4,6-tripyridyl-s-thiazine) και τελικά στη μετατροπή του σε  $\text{Fe(II)-TPTZ}$ . Αποτέλεσμα της αντίδρασης αυτής είναι μια χρωματική αλλαγή, όπου η ένταση είναι ανάλογη με την ποσότητα των αντιοξειδωτικών του δείγματος. Οπότε όταν φωτομετρηθεί το δείγμα (συγκεκριμένα σε μήκος κύματος  $\lambda=593\text{nm}$ ) μπορεί να φτιαχτεί καμπύλη Απορρόφησης-Συγκέντρωσης και να υπολογιστεί η συγκέντρωση σε κάθε δείγμα.



**Γραφική Παράσταση 1:** Εξίσωση Απορρόφησης - Συγκέντρωσης  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$

Το τέταρτο σωληνάριο περίσσευε και αποθηκεύτηκε σε περίπτωση που χρειαστεί επανεξέταση κάποιου δείγματος.

## 8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρακάτω αναγράφονται όλα τα αποτελέσματα των δοκιμασιών που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Για την ευκολία του αναγνώστη οι παράμετροι των δοκιμασιών θρομβοελαστογραφίας διατυπώθηκαν σε 2 χρώματα ανάλογα με την κασέτα που χρησιμοποιήθηκε. Με μπλε χρώμα είναι οι παράμετροι των δοκιμασιών της κασέτας Global Hemostasis, ενώ με πράσινο είναι της κασέτας Platelet Mapping.

### 8.1. Στατιστική Ανάλυση

Το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκε για την εκπόνηση την ερευνητικής πτυχιακής εργασίας ήταν το IBM SPSS Statistics 29.0.1.0.

#### 8.1.1. Παράμετροι Αιμόστασης

Αρχικά έγινε υπολογισμός του μέσου ορού και της τυπικής απόκλισης των παραμέτρων PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof στον πληθυσμό διαβητικών (ΠΣΔ) και στην ομάδα ελέγχου (Control).

Μέσος ορός και Τυπική απόκλιση ( $\mu \pm SD$ )							
	PT.sec.TS (sec)	PT.INR.TS	aPTT.PSL (sec)	Fib(mg/dL)	DDi.L (ug/l)	vWF Ag	RiCof
ΠΣΔ (n=20)	11.725 $\pm$ 1.3	1.06 $\pm$ 0.14	32.37 $\pm$ 5.05	405.225 $\pm$ 73.5	496.81 $\pm$ 265	175.15 $\pm$ 77.8	176.71 $\pm$ 73.2
Control (n=10)	12.47 $\pm$ 0.74	1.13 $\pm$ 0.08	31.39 $\pm$ 3.64	265.31 $\pm$ 57.76	373.22 $\pm$ 298.3	91.2 $\pm$ 32.02	96.19 $\pm$ 34.99

**Πίνακας 1:** Μέσος ορός και τυπική απόκλιση των παραμέτρων PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof στους 2 πληθυσμούς (σε μορφή  $\mu \pm SD$ )

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκαν δυο έλεγχοι κανονικότητας. Ο πρώτος έλεγχος (Πίνακας 2) έγινε στους παραμέτρους για τους οποίους εξετάστηκε η ομάδα ελέγχου, δηλαδή PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof και ο δεύτερος έλεγχος (Πίνακας 3) έγινε στους παραμέτρους για τους οποίους δεν εξετάστηκε η ομάδα ελέγχου, δηλαδή PROCOAG-PPL, οξειδωτικό στρες και HbA1c. Για να θεωρηθεί ότι κάποιος παράμετρος έχει κανονική κατανομή θα πρέπει το p-value > 0.05.

<b>Έλεγχος Κανονικότητας: Shapiro-Wilk</b> (p-value) Κανονική κατανομή*							
	<b>PT.sec.TS</b>	<b>PT.INR.TS</b>	<b>aPTT.PSL</b>	<b>Fib</b>	<b>DDi.L</b>	<b>vWF Ag</b>	<b>RiCof</b>
ΠΣΔ (n=20)	0.015	0.004	<0.001	0.969*	0.010	0.038	0.025
Control (n=10)	0.209*	0.045	0.137*	0.025	0.002	0.250*	0.325*

**Πίνακας 2:** Έλεγχος κανονικότητας Shapiro-Wilk για τους παραμέτρους PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof στους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control)

<b>Έλεγχος Κανονικότητας: Shapiro-Wilk</b> (p-value) Κανονική κατανομή*		
<b>Procoag.PPL</b>	<b>FeSO4x7H2O</b>	<b>HbA1c</b>
0.008	0.018	0.015

**Πίνακας 3:** Έλεγχος κανονικότητας Shapiro-Wilk για τους παραμέτρους PROCOAG-PPL, οξειδωτικό στρες και HbA1c στους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control)

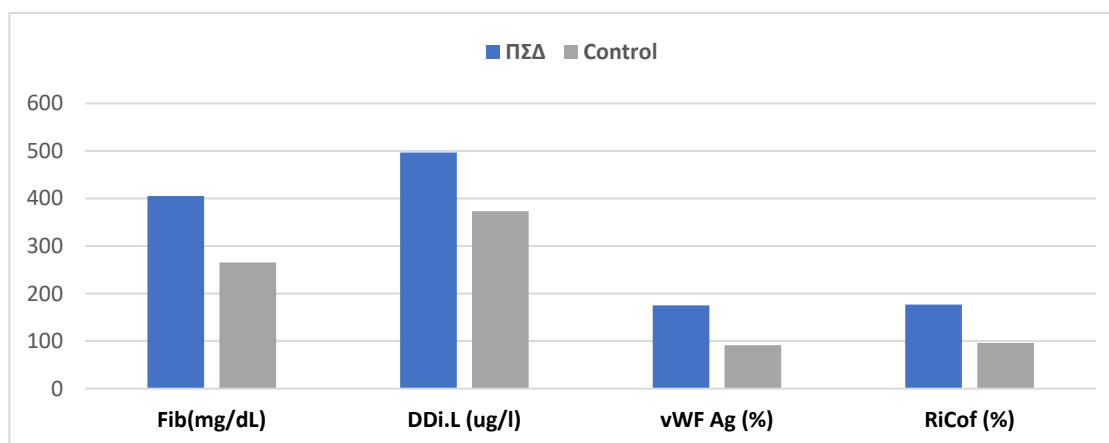
Ακολούθως πραγματοποιήθηκε σύγκριση της ομάδας διαβητικών με την ομάδα ελέγχου χρησιμοποιώντας τον έλεγχο Mann-Whitney U. Ο έλεγχος αυτός είναι μη-παραμετρικός και χρησιμοποιείται για τη σύγκριση δυο ανεξαρτήτων πληθυσμών. Οι δυο πληθυσμοί θεωρούνται ότι έχουν σημαντική διαφορά σε μια παράμετρο όταν το Sig 2-tailed < 0.05.

<b>Σύγκριση Μέσων Όρων: Mann-Whitney U</b> (Sig 2-tailed) Σημαντική διαφορά μέσων ορών*						
<b>PT.sec.TS</b>	<b>PT.INR.TS</b>	<b>aPTT.PSL</b>	<b>Fib</b>	<b>DDi.L</b>	<b>vWF Ag</b>	<b>RiCof</b>
0.016*	0.052	0.741	<0.001*	0.052	<0.001*	<0.001*

**Πίνακας 4:** Σύγκριση μέσων όρων: Mann-Whitney U μεταξύ τους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control) για τους παραμέτρους PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα η παράμετρος PT.sec.TS και ιδιαίτερα το ινωδογόνο, το vWF Ag και το RiCof έχουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους δυο πληθυσμούς. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα D-dimers οριακά δεν τηρούν το κριτήριο Sig. 2-tailed < 0.05, αυτό πολύ πιθανό να οφείλεται στο γεγονός ότι ο αναλυτής εξετάσεων πήξεως Siemens BCS-XP δεν ανιχνεύει τιμές των D-dimers μικρότερες από 169.3 ug/l. Από τους μάρτυρες στην ομάδα ελέγχου το 50% είχαν D-dimer χαμηλότερη από αυτή την τιμή. Όμως διότι δεν μπορεί να υπολογιστεί η τιμή, χρησιμοποιήθηκε η κατώφλι τιμή (169.3 ug/l) για την στατιστική ανάλυση.

Μελετώντας τους πίνακες 9 και 12 είναι τόσο φανερό η αύξηση στα επίπεδα των παραμέτρων D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof όσο είναι η μείωση στον χρόνο PT.sec.TS στον πληθυσμό διαβητικών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Συγκεκριμένα, υπάρχει 92.05% αύξηση στο vWF Ag, 83.7% αύξηση στον συμπαράγοντα RiCof, 52.7% αύξηση στο ινωδογόνο και 33.1% αύξηση στα Δ-διμερη. Αυτά τα δεδομένα επισημάνουν την προθρομβωτική τάση των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη. Αξίζει να σημειωθεί ότι η τυπική απόκλιση σε αυτούς τους παραμέτρους στην ομάδα ελέγχου είναι αρκετά μικρότερη από αυτή στον ΠΣΔ.



**Γραφική Παράσταση 2:** Μεσοί οροί παραμέτρων Fib (mg/dL), Δ-διμερη (ug/L), vWF Ag (%) και RiCof (%) στον πληθυσμό ΠΣΔ και στην ομάδα ελέγχου.

Επιπλέον εξετάστηκε η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και οξειδωτικού στρες ως προς τους υπολοίπους παραμέτρους της ερευνάς. Για να εξεταστεί η συσχέτιση χρησιμοποιήθηκε μη-παραμετρικός έλεγχος Spearman's rank correlation για όλους τους παραμέτρους διότι τα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και οξειδωτικού στρες δεν είχαν κανονική κατανομή. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ο έλεγχος συσχέτισης πραγματοποιήθηκε μόνο στον πληθυσμό διαβητικών.

Έλεγχος συσχέτισης: Spearman's rank correlation (Sig 2-tailed) Σημαντική συσχέτιση*								
	PT.sec.TS	PT.INR.TS	aPTT.PSL	Fib	DDi.L	Procoag.PPL	vWF Ag	RiCof
HbA1c	0.105	0.05	0.227	0.758	0.081	.703	0.433	.548
FRAP	0.447	0.185	0.473	0.554	0.214	.366	0.427	.389

**Πίνακας 5:** Έλεγχος συσχέτισης Spearman's rank correlation μεταξύ των επιπέδων γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και αντιοξειδωτικής ικανότητας για τους παραμέτρους PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, Procoag. PPL, vWF Ag και RiCof



Από τον παραπάνω πίνακα συμπεράνουμε ότι κανένα από τους παραμέτρους που εξετάστηκαν στην ερευνά επηρεάστηκαν από τα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης ή αντιοξειδωτικής ικανότητας (δεν τηρούν το κριτήριο Sig. 2-tailed < 0.05).

Στην συνέχεια εξετάστηκε η συσχέτιση μεταξύ τους παράμετρους αιμόστασης και το είδος θεραπείας που λαμβάνει ο πληθυσμός διαβητικών. Ακολούθησε διαχωρισμός των δειγμάτων των διαβητικών σε ασθενείς που λαμβάνουν ινσουλινοθεραπεία και αντιδιαβητικά δισκία και ασθενείς που λαμβάνουν μόνο αντιδιαβητικά δισκία. Για το έλεγχο συσχέτισης του ινωδογόνου χρησιμοποιήθηκε το 1-way ANOVA διότι έχει κανονική κατανομή. Ενώ για του υπολοίπους παραμέτρους αιμόστασης χρησιμοποιήθηκε ο μη-παραμετρικός έλεγχος Kruskal-Wallis.

<b>Έλεγχος συσχέτισης: Kruskal-Wallis &amp; 1-way ANOVA (Sig 2-tailed)</b>									
Σημαντική συσχέτιση*									
<b>PT.sec.TS</b>	<b>PT.INR.TS</b>	<b>aPTT.PSL</b>	<b>Fib</b>	<b>DDi.L</b>	<b>Procoag.PPL</b>	<b>vWF Ag</b>	<b>RiCof</b>	<b>FRAP</b>	<b>HbA1C</b>
0.283	0.389	0.405	0.984	0.405	0.362	0.009*	0.029*	0.383	0.721

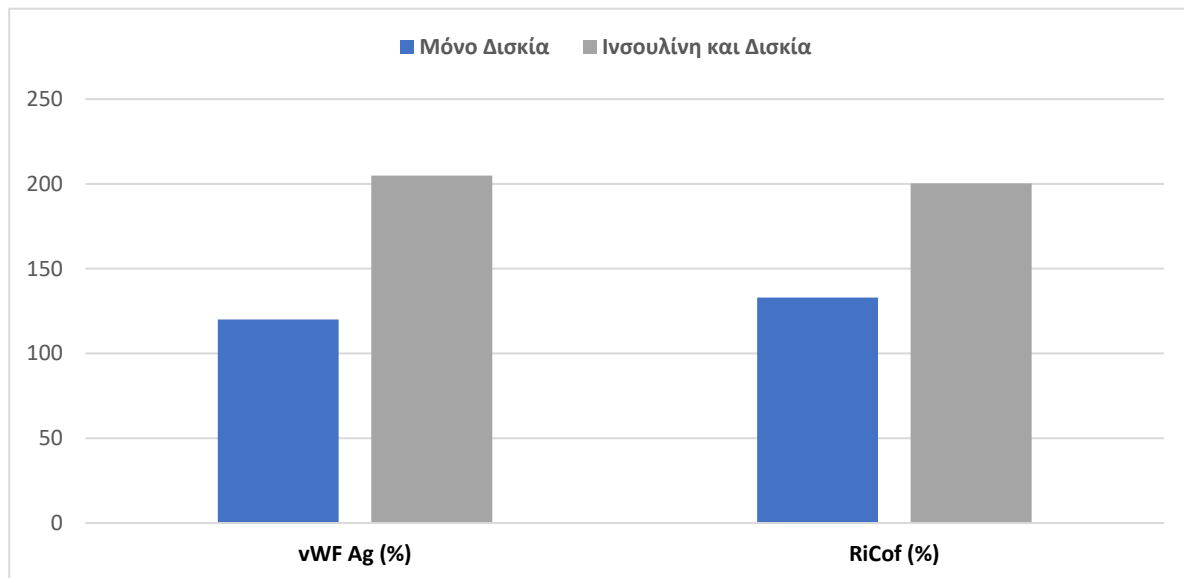
*Πίνακας 6: Έλεγχος συσχέτισης Kruskal Wallis & 1-way ANOVA μεταξύ το είδος θεραπείας του πληθυσμού ΠΣΔ και τους παραμέτρους PT INR, PTsec, aPTT, D-dimer, Ινωδογόνου, Procoag. PPL, vWF Ag, RiCof, FRAP και HbA1c*

Συνεπώς, οι τιμές των παράμετρων vWF Ag και RiCof συσχετίζονται (Sig 2-tailed <0.05) με το είδος θεραπείας που λαμβάνει ο πληθυσμός διαβητικών. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα έγινε σύγκριση μέσου ορού και τυπικής απόκλισης για τους δυο παραμέτρους μεταξύ τις δυο ομάδες διαβητικών.

<b>Μέσος ορός και Τυπική απόκλιση (μ ± SD)</b>		
	<b>vWF Ag</b>	<b>RiCof</b>
<b>Μόνο Δισκία (n=7)</b>	120 ± 33.07	132.97 ± 37.69
<b>Ινσουλίνη και Δισκία (n=13)</b>	204.85 ± 79.37	200.26 ± 77.80

*Πίνακας 7: Μέσος ορός και τυπική απόκλιση των παραμέτρων, vWF Ag και RiCof στους 2 ομάδες διαβητικών (σε μορφή μ ± SD)*

Επομένως, οι ασθενείς που λαμβάνουν μόνο αντιδιαβητικά δισκία για την θεραπεία τους έχουν σημαντικά μειωμένα επίπεδα vWF Ag και RiCof σε σχέση με τους ασθενείς που λαμβάνουν ινσουλινοθεραπεία και αντιδιαβητικά δισκία. Συγκεκριμένα υπάρχει 70.7% αύξηση στο vWF Ag και 50.6% αύξηση στον RiCof στους ασθενείς που λαμβάνουν ινσουλινοθεραπεία και αντιδιαβητικά δισκία.



**Γραφική Παράσταση 3:** Μεσοί οροί παραμέτρων vWF Ag (%) και RiCof (%) στους 2 υποπληθυσμούς του ΠΣΔ.

### 8.1.2. Παράμετροι Δοκιμασιών Θρομβοελαστογραφίας

Η θρομβοελαστογραφία που πραγματοποιήθηκε σε αυτή την ερευνά αποτελείται από δυο κασέτες με τέσσερις δοκιμασίες η κάθε μια με είκοσι οκτώ παράμετροι συνολικά ανά δείγμα.

Πρώτα για κάθε παράμετρος, για κάθε πληθυσμό (ΠΣΔ και Control) υπολογίστηκε ο μέσος ορός, η τυπική απόκλιση και ελέγχθηκε ως προς την κανονικότητα κατανομής με έλεγχο *Shapiro-Wilk*.

Μέσος ορός και Τυπική απόκλιση ( $\mu \pm SD$ )							
	CK-R	CK-K	CK-Ang	CK-MA	CK-LY30	CKH-R	CKH-K
<b>ΠΣΔ (n=20)</b>	7.26 $\pm$ 1.26	1.66 $\pm$ 0.47	69.01 $\pm$ 4.671	61.61 $\pm$ 4.53	0.495 $\pm$ 1.13	7.36 $\pm$ 1.55	1.56 $\pm$ 0.39
<b>Control (n=10)</b>	7.26 $\pm$ 0.86	2.2 $\pm$ 0.48	63.76 $\pm$ 3.67	54.38 $\pm$ 5.74	0.83 $\pm$ 1.01	7.17 $\pm$ 0.77	2.04 $\pm$ 0.53
	CKH-Ang	CKH-MA	TEG-ACT	RT-R	RT-K	RT-Ang	RT-A10
<b>ΠΣΔ (n=20)</b>	69.97 $\pm$ 4.2	61.87 $\pm$ 4.29	103.35 $\pm$ 17.79	0.565 $\pm$ 0.19	1.365 $\pm$ 0.48	74.595 $\pm$ 3.56	57.31 $\pm$ 6.22
<b>Control (n=10)</b>	65.76 $\pm$ 4.75	54.8 $\pm$ 5.85	114.11 $\pm$ 16.38	0.68 $\pm$ 0.18	2.41 $\pm$ 0.75	64.03 $\pm$ 7.27	45.79 $\pm$ 7.5
	RT-MA	RT-LY30	CFF-A10	CFF-MA	HKH-R	HKH-K	HKH-Ang
<b>ΠΣΔ (n=20)</b>	63.57 $\pm$ 3.75	0.285 $\pm$ 0.72	21.45 $\pm$ 3.52	22.775 $\pm$ 4.38	5.92 $\pm$ 1.28	1.565 $\pm$ 0.34	70.195 $\pm$ 3.31
<b>Control (n=10)</b>	55.5 $\pm$ 6.48	0.49 $\pm$ 0.69	14.4 $\pm$ 4.72	15.84 $\pm$ 4.82	6.89 $\pm$ 1.083	2.51 $\pm$ 0.89	62.47 $\pm$ 7.79
	HKH-MA	HKH-LY30	ADP Inhibition	ADP Aggregation	AA Inhibition	AA Aggregation	ActF. MA
<b>ΠΣΔ (n=20)</b>	62.105 $\pm$ 4.1	0.2 $\pm$ 0.48	7.155 $\pm$ 11.24	92.845 $\pm$ 11.24	7.73 $\pm$ 19.99	92.27 $\pm$ 19.99	13.895 $\pm$ 5.28
<b>Control (n=10)</b>	55.07 $\pm$ 6.68	0.55 $\pm$ 1.11	6.46 $\pm$ 14.14	93.54 $\pm$ 14.14	2.55 $\pm$ 4.55	97.45 $\pm$ 4.55	5.28 $\pm$ 4.18

**Πίνακας 8:** Μέσος ορός και τυπική απόκλιση των παραμέτρων της θρομβοελαστογραφίας στους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control). Για περισσότερες πληροφορίες για κάθε παράμετρο Βλ. Κεφάλαιο 4.

<b>Έλεγχος Κανονικότητας: Shapiro-Wilk</b> (p-value) Κανονική κατανομή*							
	<b>CK-R</b>	<b>CK-K</b>	<b>CK-Ang</b>	<b>CK-MA</b>	<b>CK-LY30</b>	<b>CKH-R</b>	<b>CKH-K</b>
<b>ΠΣΔ (n=20)</b>	0.26*	0.007	0.025	0.11*	< 0.001	0.94*	0.12*
<b>Control (n=10)</b>	0.40*	0.53*	0.67*	0.85*	0.006	0.40*	0.63*
	<b>CKH-Ang</b>	<b>CKH-MA</b>	<b>TEG-ACT</b>	<b>RT-R</b>	<b>RT-K</b>	<b>RT-Ang</b>	<b>RT-A10</b>
<b>ΠΣΔ (n=20)</b>	0.11*	0.095*	0.031	0.031	0.009	0.006	0.18
<b>Control (n=10)</b>	0.69*	0.96*	0.48*	0.47*	0.26*	0.31*	0.37*
	<b>RT-MA</b>	<b>RT-LY30</b>	<b>CFF-A10</b>	<b>CFF-MA</b>	<b>HKH-R</b>	<b>HKH-K</b>	<b>HKH-Ang</b>
<b>ΠΣΔ (n=20)</b>	0.071*	< 0.001	0.063*	0.004	0.008	0.129*	0.503*
<b>Control (n=10)</b>	0.76*	0.002	0.409*	0.529*	0.215*	0.014	0.004
	<b>HKH-MA</b>	<b>HKH-LY30</b>	<b>ADP Inhibition</b>	<b>ADP Aggregation</b>	<b>AA Inhibition</b>	<b>AA Aggregation</b>	<b>ActF. MA</b>
<b>ΠΣΔ (n=20)</b>	0.26*	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.6*
<b>Control (n=10)</b>	0.72*	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.005

**Πίνακας 9:** Έλεγχος κανονικότητας Shapiro-Wilk των παραμέτρων της θρομβοελαστογραφίας στους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control) . Για περισσότερες πληροφορίες για κάθε παράμετρο Βλ. Κεφάλαιο 4.

Όπως αναφέρθηκε προηγούμενος, οι παράμετροι με p-value (ή αλλιώς Sig.) > 0.05 έχουν κανονική κατανομή, ενώ οι παράμετροι με p-value < 0.05 δεν έχουν κανονική κατανομή.

Δεύτερο, πραγματοποιήθηκε σύγκριση μέσω των όρων μεταξύ τους 2 πληθυσμούς, για την σύγκριση χρησιμοποιήθηκαν οι έλεγχοι *Mann-Whitney U* ή *Independent t-test* ανάλογα με την κανονικότητα κατανομής της παραμέτρου. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι πρέπει και οι δυο πληθυσμοί να έχουν κανονική κατανομή του συγκεκριμένου παραμέτρου για να χρησιμοποιηθεί ο έλεγχος *Independent t-test*. Αν έστω ένα από τους δυο πληθυσμούς του συγκεκριμένου παραμέτρου δεν έχει κανονική κατανομή τότε χρησιμοποιείται ο έλεγχος *Mann-Whitney U*

<b>Σύγκριση Μέσων Όρων: Mann-Whitney U &amp; Independent t-test</b> (Sig 2-tailed) Σημαντική διαφορά μέσων ορών*						
<b>CK-R</b>	<b>CK-K</b>	<b>CK-Ang</b>	<b>CK-MA</b>	<b>CK-LY30</b>	<b>CKH-R</b>	<b>CKH-K</b>
0.991	0.004*	0.004*	0.001*	0.018*	0.726	0.009*
<b>CKH-Ang</b>	<b>CKH-MA</b>	<b>TEG-ACT</b>	<b>RT-R</b>	<b>RT-K</b>	<b>RT-Ang</b>	<b>RT-A10</b>
0.019*	0.001*	0.085	0.085	0.001*	0.001*	< 0.001*
<b>RT-MA</b>	<b>RT-LY30</b>	<b>CFF-A10</b>	<b>CFF-MA</b>	<b>HKH-R</b>	<b>HKH-K</b>	<b>HKH-Ang</b>
0.003*	0.076	< 0.001*	0.001*	0.015*	< 0.001*	0.001*
<b>HKH-MA</b>	<b>HKH-LY30</b>	<b>ADP Inhibition</b>	<b>ADP Aggregation</b>	<b>AA Inhibition</b>	<b>AA Aggregation</b>	<b>ActF. MA</b>
0.001*	0.476	0.378	0.378	0.804	0.804	< 0.001*

**Πίνακας 10:** Σύγκριση μέσων όρων: Mann-Whitney U & Independent t-test μεταξύ τους 2 πληθυσμούς (ΠΣΔ & Control) για τους παραμέτρους της θρομβοελαστογραφίας. Για περισσότερες πληροφορίες για κάθε παράμετρο Βλ. Κεφάλαιο 4.

Στον Πίνακα 18 παρατηρούμε ότι 10/28 παράμετροι δεν έχουν Sig 2-tailed <0.05. Αυτό σημαίνει ότι οι παράμετροι CK-R, CKH-R, TEG-ACT, RT-R, RT-LY30, HKH-LY30 και ADP/AA Inhibition/Aggregation δεν έχουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους 2 πληθυσμούς ενώ οι υπόλοιποι παράμετροι διαφέρουν αρκετά μεταξύ τους πληθυσμούς.

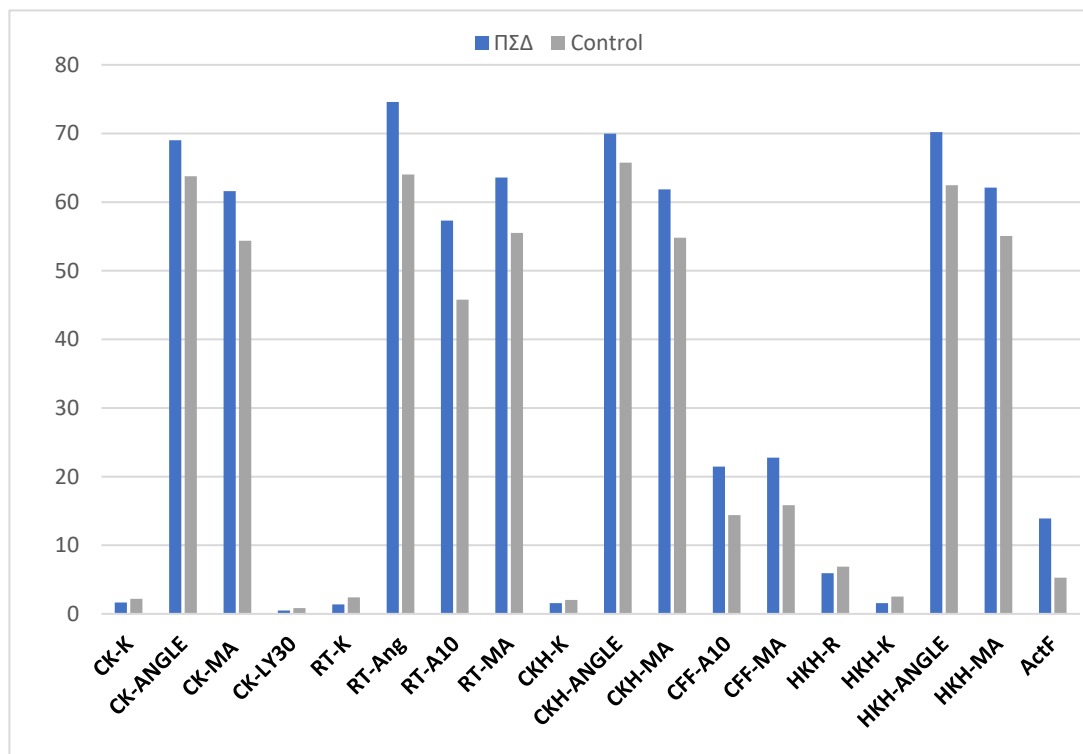
Χρησιμοποιώντας τους Πίνακες 8 και 10 μπορούμε να διακρίνουμε τις διαφορές που υπάρχουν μεταξύ τους 2 πληθυσμούς. Αρχικά παρατηρούμε ότι για σχεδόν όλες τις δοκιμασίες η παράμετρος Rtime που συμβολίζει τον χρόνο από την αρχή της εξέτασης μέχρι να ξεκινήσει να σχηματίζεται ο θρόμβος δεν έχει σημαντική διαφορά μεταξύ τους 2 πληθυσμούς. Στην μονή δοκιμασία που έχει σημαντική διαφορά είναι στο Heparinase Kaolin (HKH) οπου εξαλειφεται η δράση της ηπαρίνης.

Οι παράμετροι Ktime, Angle και MA, σε αντίθεση με το Rtime έχουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους 2 πληθυσμούς σε όλες τις δοκιμασίες. Οι παράμετροι Ktime και Angle εξαρτώνται από το ινωδογόνο και αντιπροσωπεύουν την ταχύτητα με την οποία σχηματίζεται ο θρόμβος. Συγκεκριμένα στον ΠΣΔ παρατηρούμε ότι το Ktime είναι μειωμένο και το Angle είναι αυξημένο, δηλαδή οι ασθενείς με ΣΔ είχαν αυξημένη ταχύτητα σχηματισμού θρόμβου σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Ακόμη, η παράμετρος MA που εξαρτάται από σύνδεση αιμοπεταλίου-ινωδογόνου μέσω του επιφανειακού υποδοχέα GPIIb/IIIa και αντιπροσωπεύει την τελική ισχύ του θρόμβου ήταν αυξημένη στους διαβητικούς, γεγονός που σημαίνει ότι ο ΠΣΔ είχαν ισχυρότερους, πιο σταθερούς θρόμβους.

Υπάρχει επίσης μεγάλη διαφορά στην δοκιμασία ACTF, η οποία χρησιμοποιεί τη Ρεπτιλάση και τον FXIII για την παραγωγή θρόμβου χωρίς καμία συνεισφορά από τα αιμοπετάλια. Δηλαδή αντιπροσωπεύει την ισχύ θρόμβου που σχηματίζεται μόνο με την συνεισφορά του ινώδες. Στον ΠΣΔ βλέπουμε αρκετά αυξημένο MA, αυτό σημαίνει ότι ο θρόμβος είναι αρκετά πιο ισχυρός και κατά συνέπεια ότι το ινώδες έχει αυξημένη συγκέντρωση και δραστηριότητα στους διαβητικούς.

Στην δοκιμασία TEG Functional Fibrinogen (CFF) όπου απομονώνεται η συνεισφορά του ινωδογόνου στον σχηματισμό και στη ισχύ του θρόμβου παρατηρούμε πάλι ότι ο ΠΣΔ έχει σημαντικά αυξημένο μήκος κυματομορφής 10 λεπτά μετά την έναρξη σχηματισμού θρόμβου (A10) αλλά και αυξημένο μέγιστο μήκος κυματομορφής (MA) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η παράμετρος LY30 στις δοκιμασίες RT και HKH δεν έδειξε σημαντική διαφορά μεταξύ τους 2 πληθυσμούς, ενώ στη δοκιμασία CK υπήρχε διαφορά. Η παράμετρος LY30 παρουσιάζει την μείωση μήκος κυματομορφής 30 λεπτά μετά το μέγιστο μήκος κυματομορφής και είναι σημαντικός δείκτη της ινωδόλυσης. Με βάση την βιβλιογραφία αναμέναμε να ήταν μειωμένος ο LY30 στους διαβητικούς εφόσον η δομικές αλλαγές στο ινωδογόνο οδηγεί στην αντίσταση αποικοδόμηση του θρόμβου από την πλασμίνη.



**Γραφική Παράσταση 4:** Μεσοί οροί παραμέτρων CK-K, CK-ANGLE, CK-MA, CK-LY30, RT-K, RT-Ang, RT-A10, RT-MA, CKH-K, CKH-ANGLE, CKH-MA, CFF-A10, CFF-MA, HKH-R, HKH-K, HKH-ANGLE, HKH-MA και ActF στον πληθυσμό ΠΣΔ και στην ομάδα ελέγχου.

Τρίτο, εξετάστηκε η συσχέτιση των παραμέτρων με τα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και οξειδωτικού στρες. Χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος *Spearman's rank correlation* διότι τα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και οξειδωτικού στρες δεν είχαν κανονική κατανομή.

<b>Έλεγχος συσχέτισης: Spearman's rank correlation</b> <b>(Sig 2-tailed)</b> Σημαντική συσχέτιση*							
	CK-R	CK-K	CK-Ang	CK-MA	CK-LY30	CKH-R	CKH-K
HbA1c	0.528	0.039	0.139	0.103	0.058	0.75	0.174
FRAP	0.541	0.528	0.271	0.541	0.028*	0.338	0.946
	CKH-Ang	CKH-MA	TEG-ACT	RT-R	RT-K	RT-Ang	RT-A10
HbA1c	0.27	0.107	0.708	0.708	0.752	0.748	0.624
FRAP	0.985	0.543	0.232	0.232	0.836	0.813	0.576
	RT-MA	RT-LY30	CFF-A10	CFF-MA	HKH-R	HKH-K	HKH-Ang
HbA1c	0.175	0.172	0.672	0.446	0.679	0.859	0.84
FRAP	0.755	0.22	0.628	0.774	0.37	0.512	0.85
	HKH-MA	HKH-LY30	ADP Inhibition	ADP Aggregation	AA Inhibition	AA Aggregation	ActF. MA
HbA1c	0.113	0.258	0.639	0.639	0.935	0.935	0.781
FRAP	0.659	0.02*	0.596	0.596	0.915	0.915	0.917

**Πίνακας 11:** Έλεγχος συσχέτισης Spearman's rank correlation μεταξύ των επίπεδων γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και οξειδωτικού στρες για τους παραμέτρους της θρομβοελαστογραφίας

Παρατηρώντας τους πίνακες 8 & 11 είναι εμφανής ότι οι ασθενείς με μειωμένο δείκτη αντιοξειδωτικής ικανότητας έχουν αυξημένο LY30, ενώ ασθενείς με υψηλότερο FRAP είχαν μηδενική LY30.

Τέλος, εξετάστηκε η συσχέτιση των παραμέτρων με το είδος θεραπείας των διαβητικών με έλεγχο συσχέτισης *Kruskal Wallis* ή *1-way ANOVA* ανάλογα με την κανονικότητα κατανομής. Παρόμοιος με το προηγούμενο κεφάλαιο (8.1.1) ο πληθυσμός διαβητικών χωρίστηκε σε ασθενείς που λαμβάνουν ινσουλινοθεραπεία και αντιδιαβητικά δισκία και ασθενείς που λαμβάνουν μόνο αντιδιαβητικά δισκία.

<b>Έλεγχος συσχέτισης: Kruskal-Wallis &amp; 1-way ANOVA</b> <b>(Sig 2-tailed)</b> Σημαντική συσχέτιση*						
CK-R	CK-K	CK-Ang	CK-MA	CK-LY30	CKH-R	CKH-K
0.744	0.281	0.143	0.895	0.922	0.558	0.432
CKH-Ang	CKH-MA	TEG-ACT	RT-R	RT-K	RT-Ang	RT-A10
0.393	0.945	0.417	0.417	0.297	0.166	0.486
RT-MA	RT-LY30	CFF-A10	CFF-MA	HKH-R	HKH-K	HKH-Ang
0.666	0.922	0.217	0.362	0.427	0.575	0.552
HKH-MA	HKH-LY30	ADP Inhibition	ADP Aggregation	AA Inhibition	AA Aggregation	ActF. MA
0.730	0.496	0.287	0.287	0.211	0.211	0.052

**Πίνακας 12:** Έλεγχος συσχέτισης *Kruskal Wallis* & *1-way ANOVA* μεταξύ το είδος θεραπείας του πληθυσμού ΠΣΔ και τους παραμέτρους της θρομβοελαστογραφίας

Από τον πίνακα 20 συμπεράνουμε ότι κανένα από τους 28 παραμέτρους της θρομβοελαστογραφίας επηρεάζονται από το είδος θεραπείας που λαμβάνει ο πληθυσμός των διαβητικών.



## 9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

---

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων συμπεράνουμε ότι υπάρχουν αρκετές διαταραχές των παραμέτρων αιμόστασης στους ασθενείς με Σακχαρώδη διαβήτη.

Από την σύγκριση μέσω των ορών: Mann-Whitney U στον πίνακα 12 βρέθηκε διαφορά στους παραμέτρους PT.sec, D-dimer, Ινωδογόνου, vWF Ag και RiCof μεταξύ τους 2 πληθυσμούς. Συγκεκριμένα υπήρχε μείωση στον χρόνο PT.sec και αύξηση στα D-dimers, Ινωδογόνο, vWF Ag και RiCof στους διαβητικούς. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν αναμενόμενα και συμφωνούν με την βιβλιογραφία, εκτός από την αύξηση στα D-dimer. Δεν έχει μελετηθεί αρκετά η διαταραχή στην ισορροπία των προϊόντων αποικοδόμησης του ινώδους (FDP) σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη και για αυτό το λόγο δεν υπάρχει βιβλιογραφία με την οποία να συγκριθούν τα αποτελέσματα.

Η τιμές των παραμέτρων αιμόστασης δεν επηρεάστηκαν καθόλου από τα επίπεδα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης ή του δείκτη αντιοξειδωτικής ικανότητας, αλλά τα επίπεδα των παραμέτρων vWF Ag και RiCof αυξήθηκαν σημαντικά σε ασθενείς που λαμβάνουν ινσουλινοθεραπεία και αντιδιαβητικά δισκία σε σύγκριση με ασθενείς που λαμβάνουν μόνο αντιδιαβητικά δισκία.

Όσο αφορά τις δοκιμασίες της θρομβοελαστογραφίας υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους 2 πληθυσμούς, συγκεκριμένα οι 18 από τους 28 παραμέτρους είχαν σημαντική διαφορά.

Καταρχάς οι παράμετροι Ktime και Angle όλων των δοκιμασιών θρομβοελαστογραφίας, που αντιπροσωπεύουν την ταχύτητα σχηματισμού θρόμβου μεταφέρθηκαν προς προθρομβωτική κατάσταση. Για την παράμετρο Ktime αυτό σημαίνει μειωμένο χρόνο στους διαβητικούς σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, ενώ για την παράμετρο Angle υπάρχει αύξηση στην γωνιά και κατά συνέπεια στην ταχύτητα με την οποία σχηματίζεται ο θρόμβος στους διαβητικούς. Αυτά τα αποτελέσματα ήταν αναμενόμενα αφού οι 2 παράμετροι εξαρτώνται από το ινωδογόνο.

Συνεχίζοντας, η παράμετρος MA όλων των δοκιμασιών θρομβοελαστογραφίας ήταν σημαντικά αυξημένη. Λογικό, αφού η MA εξαρτάται από την αλληλεπίδραση αιμοπεταλίου-ινωδογόνου μέσω του υποδοχέα GPIIb/IIIa του αιμοπεταλίου και όπως αναφέρθηκε προηγούμενος, τα επίπεδα ινωδογόνου αλλά και vWF που ενισχύει την αλληλεπίδραση αυτή είναι αυξημένα. Επιπλέον οι δοκιμασίες CFF και ActF όπου απομονώνεται η συνεισφορά του ινωδογόνου και ινώδους στον σχηματισμό του θρόμβου αντίστοιχα, είχαν εξίσου αυξημένο MA.

Αντίθετος, οι παράμετροι Rtime και LY30 των περισσότερων δοκιμασιών δεν έδειξαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους 2 πληθυσμούς. Λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης ινωδογόνου και vWF και μειωμένης ποσότητας ανασταλτών προσκόλλησης αιμοπεταλίων στην κυκλοφορία ήταν προσδοκώμενο να υπήρχε μειωμένος χρόνος Rtime στους διαβητικούς. Κάτι ακόμη που δεν συμφωνεί με την παράμετρο Rtime είναι ο μειωμένος χρόνος PT.sec. Ακόμη, με βάση την θεωρία η παράμετρος LY30 που

αντιπροσωπεύει την ινωδólυση 30 λεπτά Μετα την ΜΑ Θα έπρεπε να ήταν αυξημένη στην ομάδα ελέγχου σε σύγκριση με τους ασθενείς αφού οι διαβητικοί έχουν αντίσταση στην αποικοδόμηση θρόμβου.

Τέλος, κανένας από τους παραμέτρους θρομβοελαστογραφίας επηρεάστηκε σημαντικά από τα επίπεδα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, του δείκτη αντιοξειδωτικής ικανότητας ή το είδος της θεραπείας που λαμβάνουν οι ασθενείς.

# 11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

---

1. William J. Marshall SB. Clinical Chemistry 5th Edition: Elsevier.
2. International Diabetes Federation «IDF Diabetes Atlas», 10th edition. ; 2021.
3. Karamanou M, Protogerou A, Tsoucalas G, Androutsos G, Poulakou-Rebelakou E. Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. World J Diabetes. 2016 Jan 10; 7(1): 1-7.
4. Ghalioungui. P. The Ebers papyrus : a new English translation, commentaries and glossaries Cairo: Academy of Scientific Research and Technology; 1987.
5. Tipton CM. Susruta of India, an unrecognized contributor to the history of exercise physiology. Applied Physiology. 2008;: 1553-1556.
6. Laios K, Karamanou M, Saridaki Z, Androutsos G. Aretaeus of Cappadocia and the first description of diabetes. .
7. Poretsky L. Principles of Diabetes Mellitus: Springer; 2010.
8. Triplitt CL. Examining the mechanisms of glucose regulation. The American journal of managed care. 2012;: S4-10.
9. Voet D, Voet JG. Biochemistry, 4th Edition: John Wiley & Sons, Inc; 2010.
10. Roglic G, Varghese C, Riley L, Harvey A. World Health Organization, Global report on Diabetes ISBN 978 92 4 156525 7. ; 2016.
11. Ali O. Genetics of type 2 diabetes. 2013.
12. H Tillil JK. Age-corrected empirical genetic risk estimates for first-degree relatives of IDDM patients. 1987.
13. Sandoo A, Zanten JJCSVv, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. The Endothelium and Its Role in Regulating Vascular Tone. The Open Cardiovascular Medicine Journal. 2010 December; 4.
14. Suwaidi , Hadi HA, Al J. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. Vascular Health and Risk Management. 2007 January; 3(6).
15. Sandoo A, Jet J.C.S Veldhuijzen van Zanten GSM, Carroll D, Kitas GD. The Endothelium and Its Role in Regulating Vascular Tone. 2010 Dec 23.
16. Hoffbrand AV, Chowdary P, Collins GP, Loke J. Essential Haematology, 4th Edition: Wiley-Blackwell; 2001.
17. Grozovsky R, Giannini S, Falet H, Hoffmeister KM. Regulating billions of blood platelets: glycans and beyond. American Society of Hematology. 2015 oct;: 1877-1884.
18. Heemskerk , Meijden PEJvd, M. JW. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. Nature Reviews Cardiology. 2019 November;: 66-179.

19. Kaushansky K. Lineage-specific hematopoietic growth factors. *The New England journal of medicine*. 2006 May.
20. Dong H, Rezaei N, Steinlein O, Xiao J, Rosenhouse-Dantsker A, Gerlai R. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer ed.
21. Price Blair RF. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. .
22. Sang Y, Roest M, Laat Bd, Groot PGd, Huskens D. Interplay between platelets and coagulation. *Blood reviews*. 2021 March.
23. Periyah MH, Halim AS, Saad AZM. Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*. 2017 Oct; 11(4): 319-327.
24. Ruggeri ZM. The role of von Willebrand factor in thrombus formation. *Thrombosis research*. 2007.
25. Fibrinogen and von Willebrand factor-independent platelet aggregation in vitro and in vivo. H Yang , A Reheman, P Chen, G Zhu, R O Hynes, J Freedman, D D Wagner, H Ni. 2006 Oct; 4(10): 2230-2237.
26. Nuyttens BP, Thijs T, Deckmyn H, Broos K. Platelet adhesion to collagen. *Thrombosis Research*. 2011 Jan.
27. Poole G, M E, Alastair W. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood reviews*. 2015 May; 29(3): 153-162.
28. Heemskerk JWM, Edouard M Bevers TL. Platelet activation and blood coagulation. *International Society on Thrombosis and Haemostasis*. 2002 Aug; 88(2): 186-193.
29. Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer metastasis reviews*. ; 36(2): 195-198.
30. Joo SJ. Mechanisms of Platelet Activation and Integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3. *Korean circulation journal*. 2012 May; 42(5): 295-301.
31. Wang Y, Reheman A, Kalantari J, Jin W, Gross PL, Rand ML, et al. Plasma Fibronectin In Thrombosis and Hemostasis: Exploring the Fibrin Dependent and Independent Mechanisms. *American Society of Hematology*. 2010 Nov.
32. Wu YP, Bloemendal HJ, Voest EE, Logtenberg T, Groot PGd, Gebbink MFBG, et al. Fibrin-incorporated vitronectin is involved in platelet adhesion and thrombus formation through homotypic interactions with platelet-associated vitronectin. *American Society of Hematology*. 2004 Aug;;: 1034-1034.
33. Jackson SP. The growing complexity of platelet aggregation. *American Society of Hematology*. 2007 Jun.
34. Katharina Neubauer BZ. Endothelial cells and coagulationKatharina Neubauer1. *Cell & tissue research*. 2022 Mar.
35. Lieze Thielemans MH&JC. *Heart of the Matter*; 2019.

36. Wikimedia Commons tfmr. Wikimedia Commons Contributors, File Coagulation full. 2017..
37. Steven P Grover NM. Intrinsic Pathway of Coagulation and Thrombosis. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2019 Mar.
38. O F Wagner CdVCHHVaHP. Interaction between plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) bound to fibrin and either tissue-type plasminogen activator (t-PA) or urokinase-type plasminogen activator (u-PA). American Society for Clinical Investigation. 1989 Aug.
39. Γεράσιμος Π. «Αιματολογία στην κλινική πράξη», 1η Έκδοση.
40. unglaub Sd. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ.
41. Babik B, Peták F, Agócs S, Blaskovics I, Alács E, Bodó K, et al. Diabetes Mellitus: Endothelial dysfunction and changes in hemostasis. .
42. Avogaro A, Albierd M, Menegazzo L, Kreutzenberg Sd, Fadini GP. Endothelial Dysfunction in Diabetes The role of reparatory mechanisms. .
43. Woodman RJ, Chew GT, Watts GF. Mechanism, Significance and Treatment of Vascular Dysfunction in Type 2 Diabetes Mellitus. 2012 Sept; 65: 31-74.
44. Maria I Bokarewa JHMAT. Tissue factor as a proinflammatory agent. Arthritis research. 2002.
45. Levi M, Poll Tvd, Cate Ht. Tissue Factor in Infection and Severe. Seminars in thrombosis and hemostasis. 2006 Feb.
46. P Ferroni SBAFGD. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. Journal of thrombosis and haemostasis. 2004 Aug.
47. Tschoepe D, Roesen P, Esser J, Schwippert B, Nieuwenhuis HK, Kehrel B, et al. Large platelets circulate in an activated state in diabetes mellitus. .
48. P V Halushka RCRCBLJAC. Increased platelet thromboxane synthesis in diabetes mellitus. The Journal of laboratory and clinical medicine. 1981 Jan.
49. Dunn EJ, Grant PJ. Type 2 diabetes: an atherothrombotic syndrome. Current molecular medicine. 2005 May.
50. Corp. H. Introducing TEG6S: TEG6S model white paper. Braintree, MA.; 2015.
51. Shaydakov , E M, Sigmon DF, Blebea , John. Thromboelastography. StatPearls. 2024 Jan.
52. Healy , Whitton T, WJ. Review of Thromboelastography (TEG): Medical and Surgical Applications. Clinical Medicine Insights: Ciculatory,Respiratory and Pulmonary Medicine. 2023 Sep; 17: 1-8.
53. Fritz EGR, Helena PBA, Lorena , B D. Thromboelastography: Overall Evaluation of Coagulation. Perioperative Applications. Colombian Journal of Anesthesiology. 2011 Oct; 39(3).

54. Sanne L.N. Brouns IPJPvGPEJvdMJWMH. Localized endothelial-based control of platelet aggregation and coagulation under flow: A proof-of-principle vessel-on-a-chip study. 2020.