



# UNIVERSITÀ DI PISA

## Facoltà di medicina e Chirurgia

*Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia*

*Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in  
Medicina e Chirurgia*

*Tesi di Laurea*

### LA TROMBOELASTOGRAFIA IN AREA CRITICA

*Candidato*

Martina Malvaldi

Relatore:

Prof. Francesco Giunta

Tutor:

Prof. Francesco Forfori

Anno accademico 2012-2013

## ***Indice analitico***

### ***Capitolo 1***

#### *1.1 L'emostasi*

*pag 5*

#### *1.2 Fase vaso piastrinica o emostasi primaria*

*pag 7*

#### *1.3 Coagulazione : modello a cascata della coagulazione pag 11*

*Cell based model pag 13*

#### *1.4 Meccanismo di regolazione della coagulazione*

*pag 19*

#### *1.5 Il sistema fibrinolitico*

*pag 21*

### ***Capitolo 2***

#### *Metodiche di analisi standard della coagulazione*

*pag 25*

## **Capitolo 3**

3.1 *La tromboelastografia:* *pag 33*  
*basi teoriche del TEG*

3.2 *Parametri tromboelastografici significativi*  
*pag 39*

3.3 *Tracciati tromboelastografici significativi*  
*pag 43*

3.4 *Strumentazioni disponibili*  
*pag 51*

## **Capitolo 4**

4.1 *Utilizzo della tromboelastografia in ambito ostetrico*  
*pag 53*

4.2 *Utilizzo della tromboelastografia nella sepsi*  
*pag 63*

4.3 *Utilizzo della tromboelastografia nel politrauma*  
*pag 75*

*4.4 Utilizzo della tromboelastografia in cardiocirurgia*

*pag 86*

*4.5 Utilizzo della tromboelastografia nel trapianto epatico*

*pag 91*

*4.6 Utilizzo della tromboelastografia nella fibrinolisi primaria e secondaria*

*pag 95*

*4.7 Utilizzo della tromboelastografia nella chirurgia bariatrica*

*pag 100*

*4.8 Utilizzo della tromboelastografia nella valutazione del sanguinamento perioperatorio*

*pag 109*

# ***1. Il sistema coagulativo***

## ***1.1 L'emostasi***

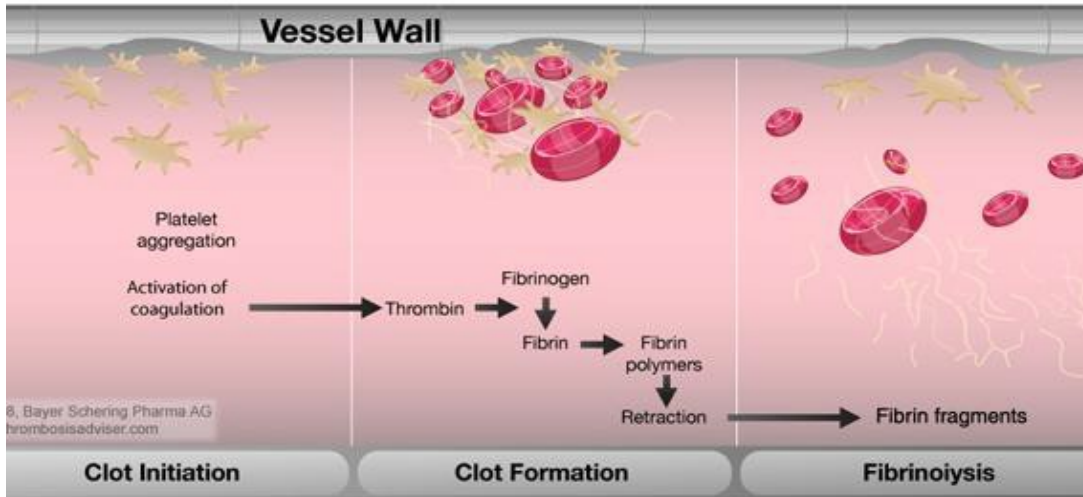
Il danneggiamento dei vasi sanguigni porta a una complessa serie di eventi, progettati per prevenire la perdita di sangue e ripristinare il funzionamento del sistema vascolare. La natura ha fornito il sistema emostatico al fine di assicurare un adeguato flusso sanguigno. Questo previene un prolungato arresto dell'apporto di sangue, che causerebbe un danneggiamento dei circostanti tessuti ed organi. Il sistema emostatico dipende dall'interazione tra la parete vasale, le piastrine, la cascata della coagulazione e la fibrinolisi. Quando i vasi sanguigni vengono danneggiati, la vasocostrizione temporaneamente riduce il flusso sanguigno. Questa è poi seguita dall'adesione delle piastrine alle fibre collagene, che sono state esposte a causa del danno all'endotelio, dall'aggregazione piastrinica e dalla formazione del tappo piastrinico primario. La cascata della coagulazione stabilizza il tappo piastrinico con la formazione di un reticolo di fibrina. In seguito alla ricostruzione dell'endotelio, il coagulo di fibrina viene lisato al fine di assicurare un normale flusso sanguigno. <sup>1</sup>

Nell'ultimo decennio l'endotelio è stato rivalutato, ed è oggi considerato un organo con un'estensione di 700m<sup>2</sup>. L'endotelio funzionalmente rappresenta una vera e propria bilancia emostatica in equilibrio tra le sue proprietà pro-trombotiche e anti-trombotiche, infatti le cellule endoteliali sono in grado di mantenere il sangue allo stato fluido tramite la produzione di diversi fattori tra i quali: inibitori della coagulazione, inibitori dell'aggregazione piastrinica (ossido nitrico, prostaglandine). Modula la fibrinolisi tramite la secrezione di t-PA ed urochinasi e PAI-1 e, inoltre, svolge anche azione antiinfiammatoria (proteina C attivata, inibizione dell'aggregazione e dell'adesione dei leucociti). L'endotelio presenta quindi una vera e propria attività esocrina associata alla sua attività di barriera, che separa il sangue dalle strutture sottoendoteliali. <sup>2</sup>

L'emostasi può essere schematicamente divisa in tre fasi, fra loro strettamente connesse dal punto di vista sia spaziale sia temporale:

- *Fase vaso piastrinica (emostasi primaria)*

- *Coagulazione*
- *Fibrinolisi* <sup>(carulli)</sup>



*Fig. 1: rappresentazione del processo emostatico*

## ***1.2 Fase vaso piastrinica o emostasi primaria***

La prima risposta al danno vascolare, finalizzata a ridurre il flusso e la perdita di sangue a livello dei vasi colpiti, è la vasocostrizione locale. La contrazione delle arterie e arteriole è parzialmente sotto controllo neurale, mentre metarteriole, sfinteri precapillari e capillari rispondono a stimoli adrenergici; gli endoteli lesi liberano gli endothelium derived growth factors e le endoteline e le piastrine attivate rilasciano ADP, 5-idrossitriptamina o serotonina o trombano A<sub>2</sub>, ad azione vasocostrittrice.

La fase di vasocostrizione è ristretta nel tempo, ma le piastrine, assieme al fattore di Von Willebrand, attivate dal collagene del sottoendotelio leso, portano, attraverso l'adesione e l'aggregazione irreversibile, alla formazione del tappo emostatico, alla quale partecipano anche leucociti e mastociti attraverso il rilascio di platelet activating factor.<sup>3</sup>

Le piastrine svolgono funzioni in tutte le fasi dell'emostasi. Queste provvedono all'emostasi primaria tramite la produzione del tappo piastrinico, che si forma quasi subito dopo il danneggiamento di un piccolo vaso sanguigno.

Aderiscono, inoltre, al sub-endotelio nell'arco di pochi secondi dalla sua esposizione, in seguito al danneggiamento dell'endotelio vasale.

Dopo 30-60 secondi si possono vedere i primi filamenti di fibrina inframezzati alle piastrine e dopo alcuni minuti il tappo piastrinico è completamente formato e stabilizzato dalla fibrina. Nell'arco di alcune ore, le piastrine perdono la loro integrità e il tappo appare come una massa di filamenti di fibrina. La formazione della fibrina avviene in quanto le piastrine, oltre che aderire al sub endotelio (***adesione***) e tra di loro (***aggregazione***), forniscono una superficie per l'assemblamento dei fattori della coagulazione, la cui attività porta alla formazione di trombina ed infine di fibrina.

Le funzioni delle piastrine sono quattro:

- *Adesione*
- *Aggregazione*
- *Secrezione*
- *Attività pro coagulante*

## Adesione

Quando il vaso sanguigno viene leso, le piastrine aderiscono ai diversi componenti del sottoendotelio, in dipendenza della portata del vaso sanguigno. Nei vasi a bassa portata le piastrine aderiscono e si appiattiscono ed allargano (spreading) sul collagene e sulla fibronectina di modo da riparare la breccia endoteliale.<sup>4</sup>

In condizioni di elevata portata, come nella circolazione arteriosa, un fattore denominato fattore di Von Willebrand (vWF), che trasporta anche il FVIII, si lega alla glicoproteina Ib od alla glicoproteina IIb-IIIa espressa sulla superficie piastrinica ed al tessuto connettivo sub endoteliale esposto, grazie al tramite fornito dal fattore VIII, al fine di mediare l'adesione delle piastrine al sito di lesione.

Il fattore di von Willebrand è una proteina che viene rilasciata dai corpi di Weibel Palade delle cellule endoteliali e dagli alfa-granuli delle piastrine.<sup>5</sup>

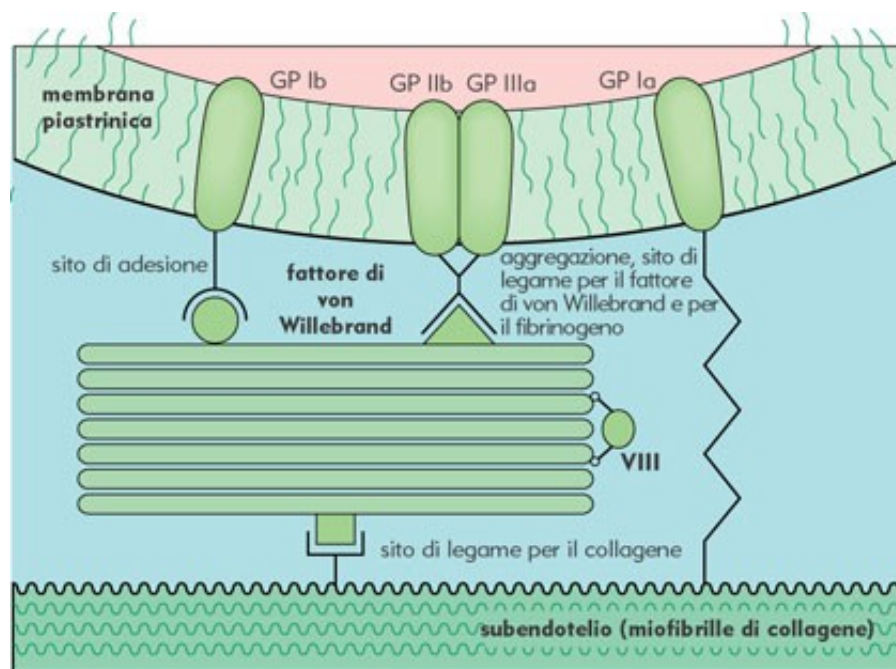


Fig. 2: rappresentazione schematica del processo di adesione piastrinica

## Aggregazione



Dopo che uno strato di piastrine si è accumulato sul sito sub-endoteliale leso, un ulteriore numero di piastrine partecipa alla formazione del tappo completo, tramite un processo denominato aggregazione.<sup>2</sup>

Infatti in seguito alla deposizione di un monostrato di piastrine sul VWF e sul collagene esposti, il passo successivo richiesto per la formazione del trombo è il reclutamento di ulteriori piastrine dal sangue, che al momento dell'attivazione acquisiscono l'abilità di unirsi tra loro in un processo detto aggregazione. Questo è reso possibile dall'accumulo locale di agonisti solubili, prodotti e secreti dalle piastrine attivate, che includono ADP, TxA<sub>2</sub>, l'adrenalina e trombina. Il passaggio finale è l'attivazione della glicoproteina  $\alpha_{IIb}\beta_3$  che causa un cambiamento conformazionale, che consente alle piastrine di legarsi al fibrinogeno e al VWF, permettendo l'instaurarsi di legami stabili. Il gran numero di copie di  $\alpha_{IIb}\beta_3$  sulla superficie piastrinica (40,000-80,000) , rende possibile l'assemblamento di estesi aggregati a livello del sito di lesione vascolare.<sup>6</sup>

Nell'ultimo decennio è stato acclarato che l'aggregazione piastrinica rappresenta un processo di adesione "multistep", che coinvolge diversi recettori e ligandi, con il contributo di interazioni ligando-recettore, che dipende dalle prevalenti condizioni del flusso sanguigno.<sup>7</sup>

### ***Secrezione***

La secrezione è resa possibile da diversi mediatori, che sono coinvolti anche nell'aggregazione piastrinica. L'aumentata concentrazione plasmatica di Ca<sup>++</sup> è fondamentale nell'assemblaggio dei microtubuli, che a loro volta sono coinvolti nel movimento dei granuli.

Questo movimento porta i microgranuli in prossimità del sistema canalicolare. In questa sede i granuli e le membrane dei canalicoli si fondono e il contenuto dei granuli viene riversato nell'extracellulare.

Ci sono quattro tipi di granuli nelle piastrine:

- Alfa granuli
- Delta granuli o granuli densi
- Lisosomi
- Microperossisomi

Gli alfa granuli contengono un ampio numero di sostanze. Alcuni esempi sono i seguenti: platelet factor 4, trombo globulina, platelet derived growth factor, e la trombospondina.

I granuli densi contengono anch'essi una varietà di componenti tra i quali ADP, ATP, calcio, pirofosfato, e serotonina. L'ADP è l'agente responsabile del reclutamento di ulteriori piastrine per la formazione del tappo piastrinico primario.

### ***Attività pro coagulante:***

Le piastrine contengono fattori della coagulazione tra cui fibrinogeno, fattore V e fattore VIII. Ad ogni modo, il loro principale contributo alla coagulazione è dato dalla superficie e dagli specifici recettori sui quali si formano i complessi di fattori della coagulazione.<sup>4</sup>

### ***1.3 Coagulazione***

Negli anni '60 due distinti gruppi di biochimici introdussero un modello di coagulazione basato su una serie di steps in cui l'attivazione di ciascun fattore della coagulazione portava all'attivazione di un altro, culminando in un'esplosiva generazione di trombina. Questo modello descriveva ciascun fattore della coagulazione come un proenzima che poteva essere convertito in un enzima attivo. Sugeriva, inoltre, che la sequenza di reazioni della coagulazione potesse essere divisa in due vie. La coagulazione poteva iniziare tramite una "via intrinseca", così chiamata perché tutti i componenti erano già presenti nel sangue o tramite una "via estrinseca" nella quale il fattore tissutale, espresso sulla membrana delle cellule sub endoteliali, era richiesto in aggiunta ai fattori circolanti.

L'attivazione di entrambi i percorsi conduceva all'attivazione del F X ed infine alla generazione di un tappo fibrinico attraverso il percorso comune.

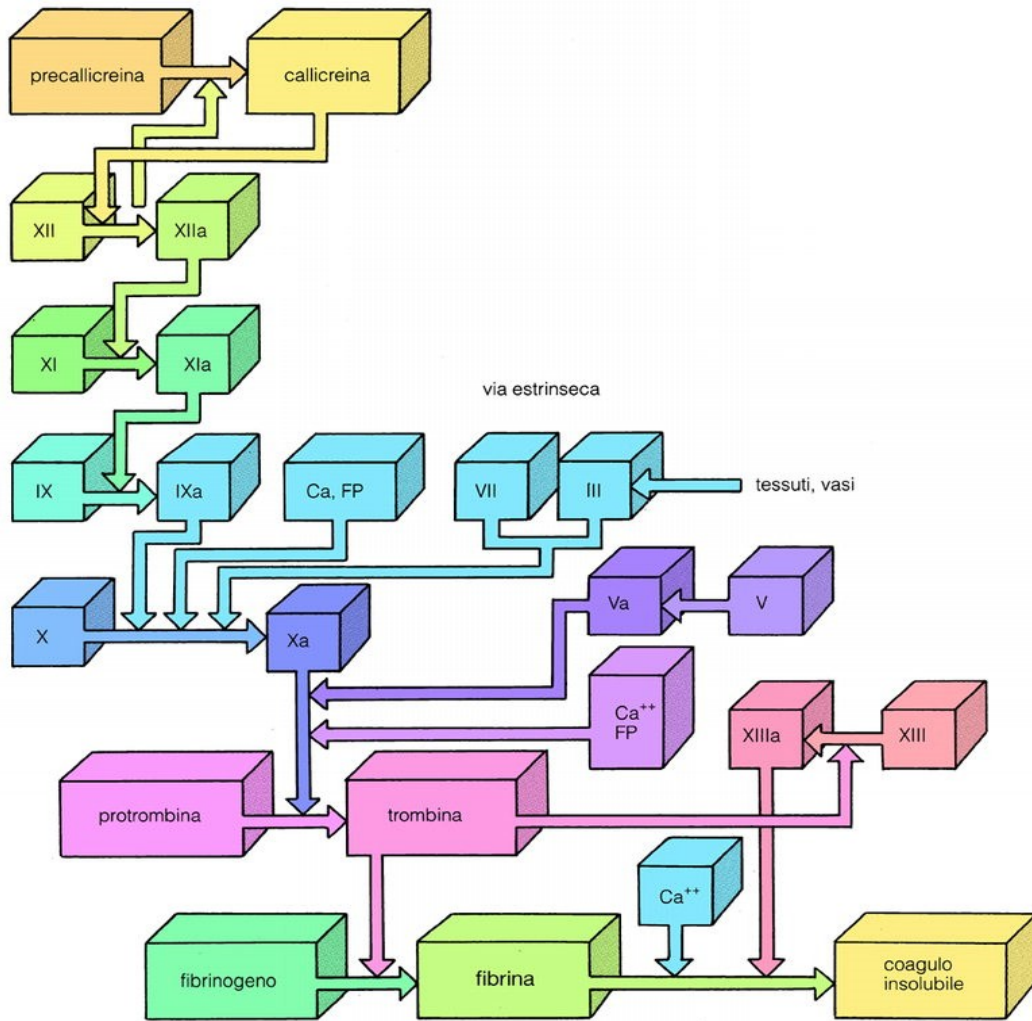


Fig.3: il modello a cascata della coagulazione.

### **La via intrinseca**

La via intrinseca consiste in una cascata di reazioni protesiche il cui inizio è determinato da fattori presenti nel sangue. Quando in contatto con una superficie carica negativamente come il vetro o la superficie di piastrine attivate, una proteina plasmatica chiamata FXII (Hageman factor), diviene il FXIIa.

Una molecola chiamata chinogeno ad alto peso molecolare (HMWK), prodotto delle piastrine che può essere presente sulla loro superficie, aiuta il FXII ad ancorarsi alla superficie carica negativamente, che serve così da cofattore.

Comunque, questa conversione del FXII assistita dal HMWK avviene a velocità limitata.

Una volta che una piccola quantità di FXIIIa si è accumulato, questa proteasi converte la precallicreina a callicreina, sfruttando il HMWK come ancora. A sua volta la callicreina appena formata accelera la formazione del FXII a FXIIa. Il FXIIa effettua il clivaggio proteolitico del FXI a FXIa, che è anch'esso una proteasi.

Il FIXa e due prodotti a valle nella cascata, il FXa e la trombina, effettuano un clivaggio proteolitico del FVIII, formando il FVIIIa, cofattore nella successiva reazione. Infine il FIXa e il FVIIIa insieme al  $Ca^{2+}$  ( che proviene soprattutto dalle piastrine attivate) e i fosfolipidi carichi negativamente formano un complesso trimolecolare, chiamato *tenase*.

Il complesso tenase converte il FX a FXa. In una serie parallela di reazioni il FXa si lega al FVa, questo è un fattore a valle nella cascata che partecipa con meccanismo di feedback positivo, tramite questa reazione, alla generazione di un complesso enzimatico, chiamato *protrombinasi*.

Questo complesso converte la protrombina nella sua forma enzimatica, la trombina. La trombina agisce sul fibrinogeno per formare i monomeri di fibrina, che rapidamente polimerizzano per formare il coagulo di fibrina.

### ***La via estrinseca***

La via estrinseca include anche cofattori proteici ed enzimi. Questa via comincia con la formazione del complesso tra il fattore tissutale (TF), presente sulla superficie delle cellule endoteliali, e il FVIIa che si trova al di fuori del sistema vascolare. Quando una lesione dell'endotelio permette al FVII di venire in contatto con il TF, il TF attiva in modo non proteolitico il FVII a FVIIa.<sup>8</sup>

Il fattore tissutale lega il cofattore FVII o FVIIa in un complesso con proporzioni di 1:1.

Una proteolisi circoscritta porta alla formazione del complesso TF/ FVIIa che è in grado di attivare il FX o il FIX a serin proteasi attive attraverso il clivaggio di un peptide di attivazione. Una volta che la via ha avuto inizio, l'attivazione del FX da parte del

complesso TF/FVIIa è rapidamente arrestata da un inibitore prodotto dalle cellule endoteliali, tissue factor pathway inhibitor (TFPI).

Il FIXa si lega al suo cofattore , fattore VIIIa , sulla superficie fosfolipidica per formare il complesso tenase che porta all'attivazione del FX a FXa.

L'attivazione del FX a FXa dà inizio alla **via comune** per la formazione della trombina.

Il FXa si combina al suo cofattore , il fattore Va, insieme con il  $Ca^{2+}$  sulla superficie fosfolipidica per formare il complesso protrombinase.

Questo complesso a sua volta porta alla conversione della protrombina a trombina tramite il clivaggio di un peptide di attivazione, prothrombin F1.2.

La generazione di una piccola quantità di trombina, iniziata dalla via estrinseca, sembra essere sufficiente a dare inizio al meccanismo della coagulazione e , in condizioni adeguate, l'espansione della generazione di trombina avviene tramite la via intrinseca.

Il fibrinogeno è l'ultimo substrato proteico della cascata coagulativa e forma la principale proteina strutturale del coagulo di fibrina.

Il fibrinogeno, prodotto nel fegato, è un dimero composto da tre paia di catene proteiche , A alfa, B beta, e gamma che sono legate con legame disulfidico alla loro regione N-terminale.

Il fibrinogeno, come osservato con tecniche di imaging molecolare, è composto da tre domini globulari; un dominio E centrale, affiancato da due domini D identici.

La trombina taglia dei piccoli peptidi, i fibrinopeptidi terminali A e B, dalle catene A alfa e B beta, rispettivamente, per formare monomeri di fibrina.

Questi monomeri si assemblano in profibrille.

Le profibrille si associano lateralmente in spesse fibre di fibrina e formano così il coagulo di fibrina. Questo coagulo tuttavia non è stabile e, in ultima analisi, si sfalderebbe se non venissero formati legami covalenti.

La trombina attiva il FXIII a FXIIIa, che è un enzima trans glutaminasi.

Il FXIIIa, agendo sul lato della catena dove c'è l'acido glutammico e la lisina nella sequenza amminoacidica della fibrina, forma legami covalenti tra catene gamma di monomeri di fibrina, creando così un coagulo stabile.

Inoltre , il FXIIIa può legare covalentemente una varietà di sostanze nel coagulo di fibrina in formazione, incluso il plasminogeno e l'antiplasmina. Questa proprietà del

FXIIIa è importante per la penultima fase di formazione del coagulo: la guarigione della ferita e la riparazione del tessuto.

La trombina ha altre capacità oltre a quella rivolta alla formazione del coagulo di fibrina. La trombina ha infatti diretti effetti su gli altri costituenti della triade della coagulazione: le piastrine e le cellule endoteliali.

Inoltre, partecipa alla down regulation della propria formazione.<sup>9</sup>

### ***Cell based model***

Ad oggi vi è un numero significativo di lavori, svolti da diversi gruppi di ricercatori, che mostrano come le differenti superfici delle cellule abbiano differenti ruoli nell'ambito del processo coagulativo, anche se le cellule hanno simili composizione dei lipidi di membrana.

Le proprietà coagulanti risultano dall'espressione di una varietà di caratteristiche cellulari, inclusi i recettori proteici, che localizzano i componenti della cascata coagulativa sulla superficie di specifiche cellule. Il lavoro condotto da Hoffman et al. ha permesso di capire come la localizzazione di tale processo permetta di controllare il processo coagulativo. *Questo potenzialmente, rappresenta un cambiamento di paradigma da un concetto, che vede la coagulazione come processo controllato da livelli di concentrazione e cinetica delle proteine della coagulazione, ad un concetto che invece la considera come controllata da componenti cellulari.*

Secondo il "cell based model" il processo emostatico si svolgerebbe in tre differenti (sovrapposte) fasi:

- Fase di iniziazione
- Fase di amplificazione
- Fase di propagazione<sup>10</sup>

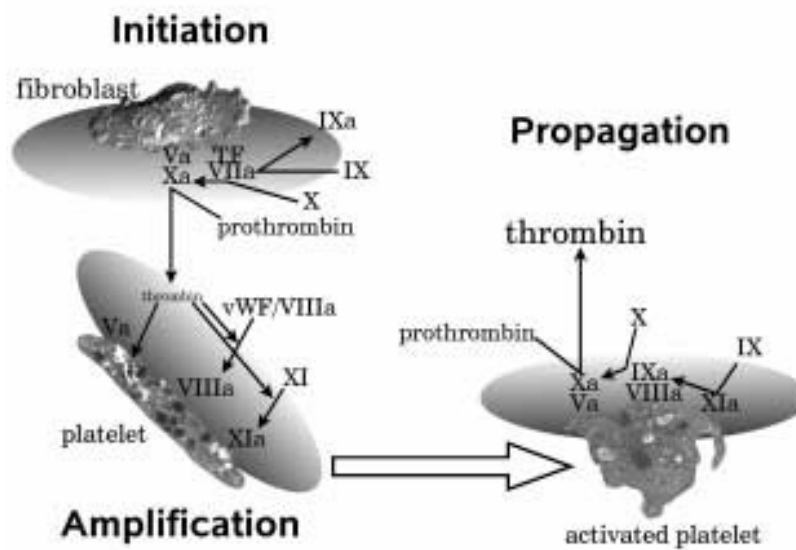


Fig. 4: rappresentazione schematica dell'emostasi secondo il "cell based model"

La fase di iniziazione della coagulazione si verifica sulle cellule che esprimono il TF sulla loro superficie, come i fibroblasti. Se lo stimolo pro coagulante è sufficientemente forte, vengono formati sufficienti quantità di FXa, FIXa e trombina per iniziare il processo coagulativo.

La fase di amplificazione della risposta coagulativa si verifica quando "l'azione" si sposta dalla superficie delle cellule che esprimono TF alla superficie piastrinica. Lo stimolo pro coagulante è amplificato quando le piastrine adese all'endotelio, si attivano e accumulano cofattori sulla loro superficie. Infine, nella fase di propagazione, le proteasi attivate si combinano con i loro cofattori sulla superficie piastrinica, il sito più adatto per generare la trombina.

Vi sono diversi meccanismi atti a prevenire un'inappropriata attivazione del processo coagulativo.

L'inattivazione e la propagazione avvengono, infatti, sulla superficie di cellule diverse. Gli inibitori plasmatici delle proteasi localizzano le reazioni sulle superfici cellulari le proteasi attivate che diffondono nella fase fluida. (?)

Infine, le cellule endoteliali esprimono fattori antitrombotici, che impediscono l'attivazione della coagulazione in corrispondenza dell'endotelio intatto.



Fase di iniziazione:

Il fattore tissutale è il fattore primario di inizio della coagulazione. Strutturalmente non è correlato alle altre proteine che partecipano a tale processo ed è una proteina integrale di membrana. Infatti il fattore tissutale rimane localizzato alla membrana delle cellule che lo hanno sintetizzato. In condizioni normali viene espresso sulla superficie di una varietà di cellule extravascolari, e può essere espresso anche da monociti e cellule endoteliali in corso di stati infiammatori.

È importante sottolineare come la fase di iniziazione così come la fase di propagazione si svolgano sulla superficie di cellule differenti, al fine di evitare un'indesiderata ed inappropriata attivazione del processo coagulativo.

Portare l'attivazione del FVIIa/ TF nelle immediate vicinanze delle piastrine attivate è la chiave dell'iniziazione della coagulazione. Durante il processo emostatico, il verificarsi di una lesione dell'endotelio permette al plasma di venire in contatto con le cellule extravascolari che esprimono TF sulla loro membrana. Il FVII lega strettamente il TF e viene rapidamente attivato dalle altre proteasi plasmatiche.

Il complesso FVIIa/TF lega sia il FX che il FIX. Il FXa può legare il FV plasmatico. Il FX attivato dal complesso FVIIa/TF è rapidamente inibito dal TFPI o dall'ATIII, se lascia l'ambiente protetto della superficie cellulare. Tuttavia, il FXa che rimane sulla superficie delle cellule riesce a combinarsi al FVa per formare una piccola quantità di trombina, la quale gioca un ruolo importante successivamente, attivando le piastrine ed il FVII, durante la fase di amplificazione.<sup>13</sup>

Fase di amplificazione:

Il danneggiamento dell'endotelio permette al plasma, così come alle proteine, di venire in contatto con i tessuti extravascolari. Le piastrine aderiscono ai componenti della matrice extravascolare, a livello del sito di lesione. Il processo di legame delle piastrine che si legano alle proteine della matrice le attiva parzialmente, così come le localizza vicino al sito di esposizione del TF.

La piccola quantità di trombina generata dalle cellule recanti il TF sulla loro superficie, amplifica il segnale pro coagulante, intensificando l'adesione piastrinica, attivando completamente le piastrine così come il FV, FVIII e il FXI. Così, la trombina agisce sulla superficie delle piastrine, impostando l'assemblaggio del complesso pro coagulante.

La trombina è un potente attivatore delle piastrine tramite i loro recettori PAR protease activated receptors.

Durante l'attivazione le piastrine rilasciano il FV dagli alpha granuli. Parte della trombina, legata a recettori non PAR, come GPIIb/IIIa, rimane attiva e può legare altri fattori della coagulazione sulla superficie piastrinica. Il complesso formato dal fattore di Von Willebrand/FVIII si lega alle piastrine e viene efficacemente "spaccato" dalla trombina attivata, rilasciando VWF ed attivando il FVIII.

Il FVIIIa rimane legato alla superficie delle piastrine. Una volta che le piastrine sono state attivate e hanno attivato il FV e FVIII, legati alla loro superficie, inizia l'assemblaggio del complesso pro coagulante e la produzione di una grande quantità di trombina.

#### Fase di propagazione

Durante la fase di propagazione il complesso "tenasi" ed il complesso "protrombinasi" sono assemblati sulla superficie piastrinica e si ha la produzione di una grande quantità di trombina. Le piastrine esprimono siti con elevata affinità per il FIXa FXa e FXIa. Si ritiene che questi recettori giochino un ruolo importante nel coordinato assemblaggio dei complessi pro coagulanti. Il complesso tenasi ( FVIIa/FIXa) viene assemblato quando il FIXa raggiunge la superficie piastrinica. Il FIXa diffonde verso la superficie piastrinica dalla sua sedi di attivazione sulle cellule che esprimono il TF, dato che non viene rapidamente inattivato dall'ATIII o da altre proteine inibitrici del plasma. Inoltre, il FXI può legarsi alle piastrine attivate facilitando così la sua attivazione da parte della trombina. Il FXIa può fornire ulteriore FIXa direttamente sulla superficie delle piastrine. Il complesso FIXa/FVIIIa attiva il FX sulla superficie piastrinica dove il FXa risultante può legarsi direttamente in un complesso col FVa. Il complesso FVa/FXa, presente

sulla superficie piastrinica, può determinare l'aumento di produzione di trombina necessario alla formazione del coagulo definitivo.<sup>14</sup>

## ***1.4 Meccanismi di regolazione della coagulazione***

La regolazione della coagulazione è esercitata a ogni livello della via della coagulazione; o tramite inibizione enzimatica o tramite modulazione dell'attività dei cofattori. Il tissue factor pathway inhibitor inibisce la reazione che coinvolge il TF e il FVIIa.

Questo inibitore nel plasma è legato soprattutto alle LDL o all'eparansolfato quando associato alle cellule endoteliali. La mancanza di tissue factor pathway inhibitor potrebbe non essere compatibile con la vita, in quanto nessuno stato di deficienza è stato descritto nell'uomo.

La maggior parte degli enzimi generati durante l'attivazione della cascata coagulativa sono inibiti da una serin proteasi chiamata antitrombina, precedentemente chiamata antitrombina III.

L'antitrombina inibisce preferenzialmente gli enzimi liberi, considerato che gli enzimi che fanno parte del complesso tenase o del complesso protrombinase sono meno accessibili per l'inibizione.

Il ruolo fisiologico dell'antitrombina è quello di limitare il processo della coagulazione al sito di lesione endoteliale e di proteggere la circolazione dagli enzimi liberi circolanti. L'antitrombina sarebbe un inefficiente inibitore di serin proteasi ma l'eparina e le molecole simili all'eparina, che sono presenti sulla superficie delle cellule endoteliali, stimolano la sua attività. Questo meccanismo è la base molecolare della terapia anticoagulante con eparina.<sup>15</sup>



*Fig 5. : azione dell'antitrombina III e potenziamento della sua attività da parte dell'eparina*

Un'altra proteina plasmatica importante nella regolazione della coagulazione è la proteina C. Questo fattore vitamina K dipendente inattiva sia il FVa che il FVIIIa tramite una proteolisi, in presenza di fosfolipidi  $Ca^{2+}$ , una reazione stimolata dalla proteina S.

La proteina C circola anche nel sangue sotto forma di precursore o zimogeno ed è convertita a serin proteasi attiva tramite la trombina in presenza di un cofattore legato alla membrana chiamato trombomodulina.

L'attivazione della proteina C è dovuta al clivaggio di un singolo peptide legato nella parte amino-terminale della catena pesante della proteina vitamina K dipendente; questo porta al rilascio di un piccolo peptide di attivazione e alla generazione di serin proteasi. La trombomodulina è una glicoproteina a singola catena localizzata sulla superficie delle cellule endoteliali. La trombomodulina forma un complesso con la trombina in proporzione di 1:1 e porta così al cambiamento di specificità per il substrato della trombina.

Sorprendentemente la trombina che si è legata alla trombomodulina adesso attiva la proteina C e perde la sua capacità di attivare le piastrine e l'attività di serin proteasi nei confronti degli altri substrati come il fibrinogeno o il FV. Così la trombina perde la sua attività pro coagulante e acquista caratteristiche anticoagulanti tramite la sua interazione con la trombomodulina. <sup>16</sup>

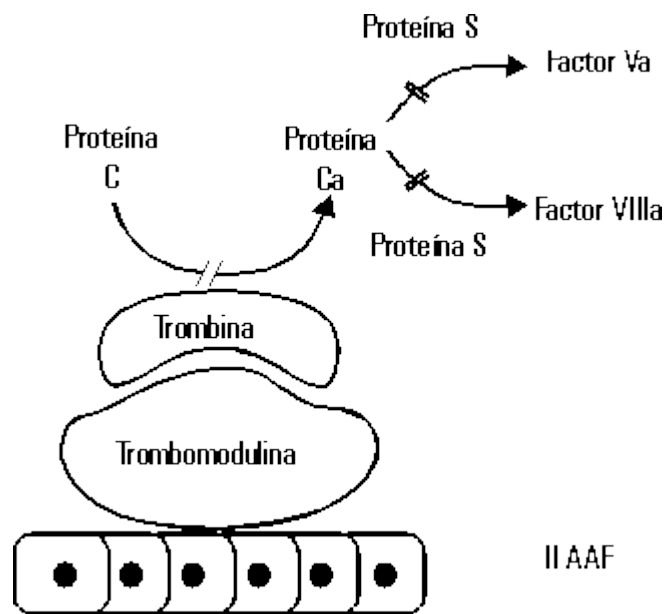


Fig. 6. : l'attivazione della proteina C e la sua attività di inibitore del FVa e FVIIIa

### 1.5 Il sistema fibrinolitico

Nel sangue è presente un sistema enzimatico che è chiamato *sistema fibrinolitico*, la cui principale funzione è la dissoluzione del coagulo di fibrina formatosi nel sistema vascolare. La fibrina che si forma in un vaso leso ha infatti il compito di arrestare temporaneamente la perdita di sangue, viene quindi successivamente rimodellata ed infine completamente rimossa per ristabilire il normale flusso ematico.

Il sistema fibrinolitico comprende un proenzima, il plasminogeno, che viene convertito nella sua forma attiva, che è la plasmina, ad opera di diversi attivatori del plasminogeno (PAs). La plasmina può, a sua volta, degradare il fibrinogeno, la fibrina solubile e la fibrina stabilizzata da parte del FXIIIa, formando prodotti di degradazione caratteristici per ogni forma di fibrina.

Due attivatori del plasminogeno sono stati identificati, inizialmente sulla loro relazione immunologica con il PA trovato nei tessuti (attivatore tissutale del plasminogeno, il t-PA) o con il PA trovato nelle urine (attivatore del plasminogeno urochinasico o urochinasasi indicato con la sigla u-PA). L'inibizione della fibrinolisi avviene sia a livello degli attivatori del plasminogeno (PAI s) che a livello della plasmina, prevalentemente tramite l'alfa<sub>2</sub>antiplasmina. La fibrinolisi fisiologica è altamente fibrina specifica come risultato di una specifica interazione molecolare tra il PA, plasminogeno, fibrina, plasmina e alfa<sub>2</sub>antiplasmina.<sup>17</sup>

Il sistema fibrinolitico può essere innescato da *attivatori fisiologici*, quali il t-PA e l'u-PA; da *attivatori estrinseci* in cui la reazione chiave risulta essere la conversione della precalicreina a callicreina da parte del FXIIIa, convertendo l'urochinasasi a singola catena nella forma a doppia catena più attiva; e infine da *attivatori esogeni o terapeutici*, tra i quali i principali utilizzati nella pratica clinica sono la streptochinasasi e l'urochinasasi. [manuale di ematologia per gli studenti di medicina; castoldi]

Anche la formazione della fibrina porta all'attivazione del sistema fibrinolitico e la generazione della plasmina; quest'ultima degrada la fibrina in frammenti solubili disintegrando il coagulo.

La fibrina non è un substrato passivo nella fibrinolisi, di fatto svolge un ruolo attivo nella attivazione del plasminogeno mediata dal t-PA, e nella successiva inibizione della plasmina da parte dell'alfa<sub>2</sub>antiplasmina. La presenza della fibrina aumenta la lenta attivazione del plasminogeno, data dal t-PA, di circa tre volte e protegge la plasmina dall'inibizione operata dagli specifici inibitori; il fibrinogeno non presenta queste caratteristiche.

Questo è fisiologicamente rilevante, in quanto questo fenomeno restringe la formazione della fibrina e quindi la generazione dell'attività fibrinolitica alla zona dove è richiesta, ovvero il coagulo di sangue. Questa formazione localizzata di plasmina così come la sua inibizione data dall'alfa<sub>2</sub>-antiplasmina dopo il suo rilascio dalla fibrina degradata sono

importanti per la restrizione a livello locale del processo fibrinolitico e per la protezione del fibrinogeno e di altre proteina plasmatiche dalla degradazione.

L'effetto stimolatore della fibrina sull'attivazione del plasminogeno può essere diviso in due fasi. La prima fase coincide con la formazione della fibrina e l'esposizione dei siti di legame nascosti sia del plasminogeno che del t-PA che danno inizio alla fibrinolisi. La seconda fase è correlata con l'iniziale degradazione della fibrina polimerica da parte della plasmina e con la generazione (nei polimeri di plasmina modificati ) di un addizionale sito di legame del plasminogeno che contribuisce alla propagazione della fibrinolisi.

La fibrina interagisce, quindi, con una serie di proteine tra cui il plasminogeno e il t-PA. Il plasminogeno è una glicoproteina a catena singola prodotta nel fegato ,nel rene, e negli eosinofili midollari. Questo è un proenzima costituito da una sola catena, solo dopo la sua conversione alla forma a doppia catena diviene un enzima attivo. Il t-PA è una proteasi serinica presente in circolo in forma a singola catena o doppia, a seguito dell'azione enzimatica operata dalla plasmina. L'interazione di queste due proteine con la fibrina stimola la generazione di plasmina che effettua il clivaggio della fibrina insolubile a prodotti di degradazione della fibrina solubili.

Così la fibrina serve non solo come substrato per la plasmina ma ha anche un importante ruolo nell'iniziazione della fibrinolisi.

L'iniziale clivaggio della fibrina avviene a livello del dominio alfa-C, seguito da multipli clivaggi tra la regione D e la regione E. Questo porta alla formazione di prodotti di degradazione della fibrina (FDP) di differenti dimensioni che comprendono conglomerati molecolari di grandi dimensioni e anche di più piccole. Si arriva così alla dissoluzione del trombo ed al ripristino del lume vasale.<sup>18</sup>

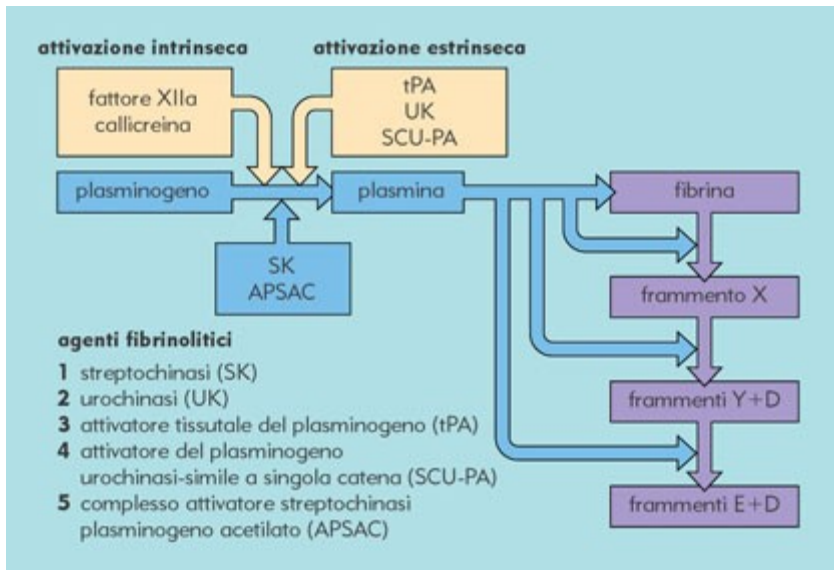


Fig 7.: rappresentazione schematica del processo fibrinolitico



## Capitolo 2

### ***Metodiche di analisi standard della coagulazione***

Lo studio dell'emostasi è indicato in diversi contesti quali: emorragia in atto; sospetto diagnostico di diatesi emorragica; valutazione preoperatoria di soggetti che devono essere sottoposti ad intervento chirurgico o manovre invasive, monitoraggio della terapia anticoagulante; valutazione pre-analitica negli screening trombofilici.

La valutazione della cascata coagulativa si basa su quattro test :

- Il tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT)
- Tempo di protrombina (PT)
- Tempo di trombina (TT)
- Fibrinogeno (assays)

Inoltre, la disponibilità di un test per la valutazione dei livelli di D-dimero è di considerevole importanza. I livelli di D-dimero risultano elevati in caso di fibrinolisi.<sup>19</sup>

- **Il test aPTT:** è un test che valuta la via intrinseca e la via comune della coagulazione. Il test dell'aPTT viene eseguito aggiungendo un attivatore di superficie (ad esempio: kaolino, acido ellagico, ceelite o silice) e fosfolipidi diluiti ( ed esempio: cefalina ) al plasma citrato. I fosfolipidi utilizzati vengono detti tromboplastina parziale perché è assente il fattore tissutale. Dopo l'incubazione, necessaria per permettere un ottimale attivazione dei fattori di contatto (FXII, FXI, precallieina, e chininogeno ad alto peso molecolare), viene aggiunto il calcio e viene misurato il tempo di formazione del coagulo. [shannonM., Coagulation assays, 2005, circulation, journal of american heart association].

Anche se il valore dell'aPTT varia in accordo con i reagenti e il coagulometro usato, il range di valori è solitamente compreso tra 20 e 40 secondi.

Le condizioni cliniche caratterizzate da un prolungamento dell'aPTT sono:

1. deficit di fattori della coagulazione; fattore IX X VIII e V; protrombina; o fibrinogeno
2. Specifici inibitori dei fattori, così come anche gli inibitori non specifici possono determinare un prolungamento dell'aPTT
3. I prodotti di degradazione della fibrina e gli anticoagulanti ( ad esempio: eparina, inibitori diretti della trombina, o il Warfarin) determinano un prolungamento dell'aPTT, anche se l'aPTT è meno sensibile al warfarin rispetto al PT.
4. malattie autoimmuni, quali LES, pan arterite nodosa, artrite reumatoide.
5. amiloidosi
6. sindrome nefrosica
7. ipofibrinogemia e disfibrinogemie in generale.<sup>20</sup>

- **Tempo di protrombina:** il PT è il test della coagulazione più comunemente utilizzato. Il PT test esplora la via estrinseca ( FVII,X,V,II, e il fibrinogeno) e la via comune. Tale test misura il tempo necessario alla formazione del coagulo di fibrina quando al plasma del paziente si aggiungono calcio e tromboplastina tissutale. Questo test viene quindi eseguito aggiungendo un reagente tromboplastinico ,che contiene fattore tissutale, (che può essere di origine ricombinante o derivato da un estratto di encefalo, polmone, placenta) e calcio al plasma, misurando poi il tempo di formazione del coagulo. In questo modo si va a stimolare la reazione tra il FVII del plasma in esame ed il TF aggiunto, in presenza di ioni calcio, che attiverà il FX.

Il tempo di protrombina varia a seconda del reagente e del coagulometro utilizzati, ma tipicamente il range di valori è tra 10 e 14 secondi. Oltre che in secondi il PT può essere misurato in percentuale (rispetto ad un pool di plasmici normali a cui viene assegnata un'attività del 100%); nel soggetto normale l'attività può essere compresa tra l'80 ed il 130%.

Il tempo di protrombina risulta prolungato in caso di:

1. deficit di fattori ( FV ,FVII, FX , protrombina e fibrinogeno)
2. dalla presenza di anticorpi diretti contro questi fattori.

3. elevati livelli di eparina, terapia anticoagulante con antagonisti della vitamina K, terapia con base di salicilati, deficit di vitamina K, e in presenza di fattori di degradazione della fibrina.
4. insufficienza epatica
5. inadeguato assorbimento di lipidi quale si osserva in corso di morbo celiaco, diarrea cronica, steatorrea, sprue
6. trasfusioni

Tipicamente i reagenti del PT contengono fosfolipidi in eccesso così che gli inibitori non specifici, che reagiscono con i fosfolipidi anionici, non prolungano il tempo di formazione del coagulo.

Il PT è usato per monitorare la terapia anticoagulante con anticoagulanti orali come il Warfarin, ed è indicatore di sintesi epatica.

La tromboplastina disponibile in commercio varia nell'origine del fattore tissutale e nel metodo di preparazione, questo porta quindi a diverse sensibilità al deficit dei fattori; perciò i risultati di PT test eseguiti con diversi reagenti non sono interscambiabili. L'INR (International normalised ratio) permette di correggere queste differenze tra le varie tromboplastine utilizzate.

L'organizzazione mondiale della sanità ha infatti stabilito una tromboplastina di riferimento con la quale sono confrontate le altre tromboplastine ad oggi in commercio. L'indice di sensibilità internazionale descrive la responsività a ciascuna tromboplastina nel ridurre i fattori vitamina K dipendenti in confronto ad uno standard di sensibilità a cui è assegnato un ISI di 1.0.

La tromboplastina presente in commercio derivata da fonti animali è meno sensibile rispetto allo standard di riferimento e comunemente ha un valore di ISI compreso tra 1.2 e 1.8. Grazie all'uso dell'ISI, possiamo convertire il PT ad INR con la formula,  $INR = (PT \text{ del paziente} / PT \text{ media dei controlli})^{ISI}$ , il cui valore normale è compreso tra 0,87 e 1,12.

Errori nella determinazione dell'INR possono derivare da:

1. contaminazione del campione da parte della tromboplastina tissutale
2. contaminazione dell'anticoagulante usato nella preparazione del campione
3. non corretto rapporto sangue-citrato nel campione (esattamente 9:1)

4. fattori che possono alterare l'analisi della lettura: iperlipidemia ,emolisi iperbilirubinemia, iperproteinemia.

- **Fibrinogeno:** il fibrinogeno è conosciuto anche come fattore I della coagulazione. Si tratta di una glicoproteina sintetizzata dagli epatociti, che rappresenta una delle principali proteine plasmatiche. È costituita da tre coppie diverse di catene polipeptidiche (Aa Bb e γ) unite da legami disolfuro. La trombina taglia la coppia di catene Aa e Bb formando il fibrinopeptide A ed il fibrinopeptide B dalla zona amino terminale. Dopo che i fibrinopeptidi vengono rilasciati, i risultanti monomeri di fibrina vanno incontro a polimerizzazione, formando un coagulo insolubile di fibrina. [Hantgan, Francis, Marder ; fibrinogen structure and physiology; 1994; hemostasis and thrombosis :basic principles and clinical practice ]. Tradizionalmente il dosaggio del fibrinogeno è stato utilizzato nei test di laboratorio negli stati emorragici e nei disordini emorragici. In alcuni centri viene usato assieme al PT ed all'aPTT come test per la valutazione generale dell'assetto coagulativo.

Le indicazioni all'uso del test del fibrinogeno sono:

1. valutazione degli stati emostatici ( afibrinogemia, ipofibrinogemia, disfibrinogemia acquisita o congenita)
2. indagine per l'ulteriore valutazione dell'assetto coagulativo in caso di anormali o prolungati test della coagulazione
3. per stabilire e monitorare la terapia trombolitica prolungata<sup>21</sup>

il dosaggio viene eseguito aggiungendo una soluzione di trombina al campione di plasma citrato da esaminare. Va valutato il tempo di comparsa del primo filamento di fibrina e da questo siamo in grado di risalire direttamente alla concentrazione di fibrinogeno nel campione mediante una curva di concentrazione, preparata eseguendo il test su una serie di diluizioni a contenuto noto di fibrinogeno. Il test non è influenzato dall'eparina, può

esserlo da sostanze che interferiscono con la polimerizzazione del fibrinogeno, quali i fattori di degradazione del fibrinogeno e della fibrina. I valori normali sono compresi tra 200 e 450 mg/dl.

I livelli di fibrinogeno riflettono la capacità e l'attività emostatica dell'organismo.

Livelli ridotti di fibrinogeno possono ridurre la capacità di formare un coagulo stabile. La persistente presenza di bassi livelli di fibrinogeno può essere imputabile ad un deficit di produzione ereditario, come nella afibrinogenemia ereditaria, oppure a condizioni acquisite come l'insufficienza epatica o la malnutrizione (ipofibrinogenemia). La riduzione acuta del fibrinogeno è spesso dovuta ad un aumentato consumo, come accade nella coagulazione intravascolare disseminata (CID) e, più raramente, nel corso di alcune neoplasie in fase avanzata. In queste situazioni si verifica inizialmente un largo consumo di fattori della coagulazione, con anomala formazione di coaguli, cui segue la comparsa di sanguinamento per la progressiva diminuzione dei livelli. In casi rarissimi (iperfibrinogenolisi primitiva), le proteine del sistema fibrinolitico, normalmente deputato alla degradazione del coagulo stabilizzato, possono ridurre i livelli di fibrinogeno degradandolo direttamente o lisando troppo velocemente la fibrina.

Pur in presenza di anomalie qualitative del fibrinogeno, è talora possibile ottenere con alcuni metodi di laboratorio valori normali, i quali solitamente riflettono una normale coagulazione. Si tratta di una condizione molto rara, caratterizzata dalla produzione di molecole anomale di fibrinogeno (disfibrinogenemia). Ciò è generalmente dovuto ad una rara mutazione ereditaria a carico del gene del fibrinogeno, che determina la produzione di una proteina anomala. In presenza di segni clinici indicativi di anomalie qualitative del fibrinogeno, è indicata l'esecuzione di altri esami di approfondimento diagnostico (valutazione del fibrinogeno immunologico) per meglio caratterizzare la natura del difetto. Il fibrinogeno è una proteina della fase acuta: ciò significa che la sua concentrazione può aumentare sensibilmente in condizioni di flogosi o danno tissutale. Concentrazioni elevate di fibrinogeno non sono un riscontro specifico, non forniscono informazioni relative alla causa o alla localizzazione della patologia. I medici spesso non richiedono il dosaggio del fibrinogeno in queste situazioni, proprio perché si aspettano di trovare livelli aumentati. Generalmente questi incrementi sono temporanei e ritornano ai livelli di base dopo che la patologia si è risolta.

Livelli elevati possono essere riscontrati in corso di :

1. infezioni acute
2. neoplasie in generale
3. patologie cardiovascolari ed infarto del miocardio

4. CID cronica ( in questo caso il fibrinogeno può essere richiesto come monitoraggio)
5. malattie infiammatorie
6. ictus
7. traumi
8. ustioni
9. uremia
10. gravidanza

Aumentati livelli di fibrinogeno sono associati ad un modesto aumento del rischio di trombosi in pazienti con malattie cardiovascolari. Per questa ragione il dosaggio del fibrinogeno è spesso richiesto in associazione ad altri indicatori di rischio cardiovascolare. Trasfusioni di sangue recenti possono influenzare i risultati del dosaggio del fibrinogeno. L'assunzione di alcuni farmaci può diminuire i livelli di fibrinogeno: steroidi anabolizzanti, androgeni, streptokinasi, urokinasi ed alcuni farmaci antiepilettici. Aumenti modesti del fibrinogeno si possono talora osservare durante la gravidanza, nei fumatori e in soggetti che assumono contraccettivi orali o estrogeni.

**Tempo di trombina:** viene eseguito aggiungendo un eccesso di trombina al plasma. Risulta prolungato in pazienti con bassi livelli di fibrinogeno o disfibrinogenemia con elevati livelli di prodotti di degradazione della fibrina. Queste anomalie sono comunemente osservate nel caso della coagulazione intravascolare disseminata. È inoltre prolungato in seguito all'assunzione di eparina e inibitori diretti della trombina.

Per la valutazione dell'emostasi primaria viene invece comunemente eseguita **la conta piastrinica:** le piastrine sono frammenti di cellule che si trovano nel midollo emopoietico e circolano nel sangue. Data la loro caratteristica di essere particolarmente adesive, esse sono da considerarsi i primi componenti ad essere attivati quando ci si trova dinanzi ad un qualche insulto ai vasi sanguigni e sono responsabili dell'avvio alla formazione del coagulo. La conta piastrinica è un test atto a stabilire il numero di piastrine nel sangue e a valutare, quindi, la componente cellulare nell'emostasi.

Il test viene effettuato su sangue ottenuto da prelievo venoso a livello del braccio.

Nell'adulto una normale conta piastrinica è di circa 150000-400000 piastrine per microlitro di sangue.

Se la conta piastrinica scende molto al di sotto del valore di normalità, si possono avere emorragie spontanee e si può considerare una situazione di pericolo per la vita del paziente.

Paziente con malattie del midollo, quali leucemie o altre malattie del midollo, presentano spesso emorragie dovute ad una significativa riduzione del numero delle piastrine (trombocitopenie). Un basso numero di piastrine è spesso presente in pazienti con emorragie croniche (ulcere croniche sanguinanti dello stomaco). Individui con malattie autoimmuni (lupus, porpora trombocitopenica idiopatica, nel caso in cui l'organismo produca autoanticorpi) possono avere una accelerata distruzione di piastrine. Alcuni tipi di farmaci quali eparina, chinidina, farmaci sulfamidici, antidiabetici orali e l'alcool, possono causare una riduzione delle piastrine. Anche pazienti sottoposti a chemioterapia presentano una ridotta conta piastrinica. Circa il 5% delle donne in gravidanza incorrono in una trombocitopenia. Comunemente (circa 1% della popolazione), la facilità a presentare ematomi o emorragie può essere dovuta ad una malattia ereditaria detta di von Willebrand. In questi casi, mentre il numero di piastrine si può presentare normale, la loro capacità di aderire l'una all'altra risulta essere inferiore alla norma data la genetica riduzione del fattore di von Willebrand, una proteina necessaria ad iniziare il processo coagulativo. In una grande parte di casi questa malattia può essere misconosciuta vista la modesta gravità della patologia ma nelle forme severe, questa può avere effetti letali. Un incremento del numero di piastrine (trombocitosi) si presenta in pazienti che non mostrano significativi sintomi di problemi medici, in altri casi i sintomi possono essere più rilevanti ed essere legati ad una patologia detta disordine mieloproliferativo (anormale proliferazione di cellule del sangue). Alcuni possono presentare una tendenza alle emorragie dovuta alla perdita di adesività delle piastrine, in altri, le piastrine conservano la loro adesività ma poiché sono aumentate in numero, tendono ad aderire l'una all'altra formando un aggregato che aderisce all'interno del vaso sanguigno e causa un danno, inclusa la morte (tromboembolia). La vita in alta quota può determinare un incremento del livello di piastrine, come anche un esercizio intensivo. Un ridotto numero di piastrine può essere presente nelle donne prima delle mestruazioni. I farmaci, inclusi estrogeni e

contraccettivi orali, possono causare aumento del livello di piastrine. Altri disordini ereditari, quali tromboastenia di Glanzmann, malattia di Bernard-Soulier, sindrome di Chediak-Higashi, sindrome di Wiskott-Aldrich, sindrome di May-Hegglin e sindrome di Down sono caratterizzati dalla produzione di piastrine inefficienti o ridotte o assenti proteine attivanti le piastrine. L'incidenza di queste aberrazioni è relativamente rara.



## **Capitolo 3**

### **la Tromboelastografia**

#### **3.1 basi teoriche della Tromboelastografia**

La tromboelastografia (TEG) è una metodica di indagine della coagulazione, che è stata messa a punto per la prima volta da Hartet, ad Heidelberg durante la seconda guerra mondiale (nel 1948). Questa metodica misura i cambiamenti viscoelastici del sangue, che avvengono durante la coagulazione.<sup>22</sup>

La tromboelastografia fornisce la possibilità di valutare l'inizio del processo coagulativo, la formazione e la stabilizzazione del coagulo e la forza del coagulo stesso. È un test della coagulazione eseguibile vicino al letto del paziente. È facile da usare e fornisce informazioni sullo stato della coagulazione del paziente in 30 minuti.<sup>23</sup>

La formazione del coagulo è un processo dinamico. I test usati convenzionalmente, come il tempo di tromboplastina parziale attivata e la conta piastrinica, valutano componenti isolati del processo emostatico e non sono in grado di predire il ruolo di questi componenti nell'intero processo. Il vantaggio del TEG è che valuta le interazioni tra tutti i componenti del processo coagulativo incluse le piastrine, la fibrina, i fattori della coagulazione, la trombina così come fornisce informazioni riguardo alla qualità del coagulo.<sup>24</sup>

A causa delle limitazioni tecnologiche, l'applicazione clinica della tromboelastografia è stata molto limitata per quasi 60 anni, fino a che a metà degli anni 80 non venne utilizzata dal Dr.Kang et al. per la valutazione e gestione dell'assetto coagulativo nei pazienti sottoposti a trapianto di fegato ed, inoltre, in pazienti sottoposti a interventi di cardiocirurgia con by pass cardiopolmonare. Entrambi questi tipi di interventi sono infatti caratterizzati da una coagulopatia associata alla patologia di base ma anche iatrogenicamente indotta, che aggrava le perdite ematiche. Da quel momento in poi ha acquisito sempre maggiore rilevanza in diversi campi della medicina come nel campo dell'ostetricia, nella valutazione dell'assetto coagulativo del paziente politraumatizzato e nella gestione dei pazienti con coagulopatie critiche. Tutte le specialità chirurgiche

descritte possono causare massive perdite ematiche legate all'atto chirurgico, dove la trasfusione di emocomponenti non è scevra da rischi di natura infettiva ed immunologica e l'obiettivo del clinico deve essere quello di ottimizzare e minimizzare l'uso degli emocomponenti. In questo senso il TEG consente un'analisi qualitativa e dinamica di quello che avviene nel processo coagulativo specifico, dalla formazione del coagulo alla lisi, evidenziando le specifiche alterazioni di ogni singola fase dell'intero processo e guidando alla terapia in modo mirato. Con questa metodica è possibile discriminare anche se il sanguinamento è dovuto ad una mancata emostasi chirurgica, ad una disfunzione piastrinica, ad anomalie delle proteasi della coagulazione o dei loro inibitori, oppure è associato ad un'eccessiva precoce fibrinolisi.

I miglioramenti tecnologici hanno portato ad oggi alla standardizzazione del metodo e la riproducibilità del metodo è di conseguenza migliorata.

La digitalizzazione della procedura, combinata con la possibilità della valutazione a letto del paziente dell'episodio di sanguinamento, ha causato un aumento dell'interesse e dell'uso di questo metodo.<sup>25</sup>

Il termine tromboelastografia è stato usato per descrivere la traccia prodotta dalla misurazione dei cambiamenti viscoelastici del sangue associati alla polimerizzazione della fibrina.<sup>26</sup> I termini tromboelastografia, tromboelastografo e TEG, sono stati usati genericamente in letteratura fin dalla prima descrizione di tale tecnica.

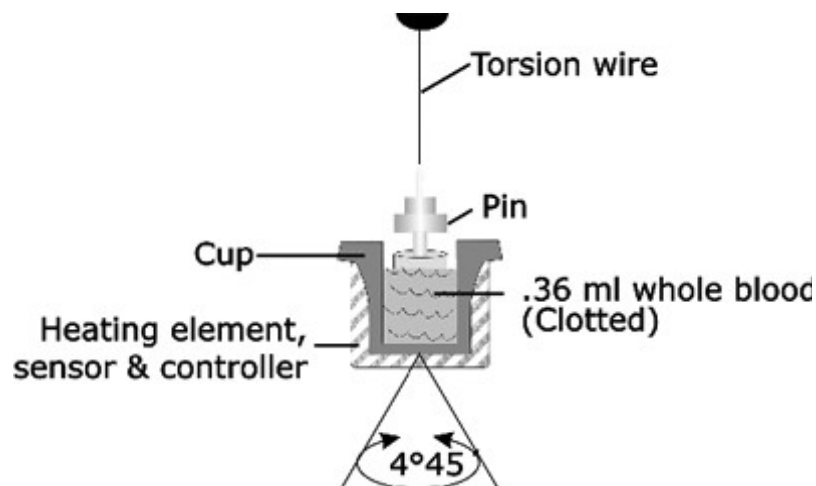
Tuttavia il termine TEG, nel 1996, divenne un marchio registrato della Hemoscope corporation e da quel momento venne usato per descrivere il test eseguito con la strumentazione della Hemoscope.

Una strumentazione alternativa introdotta sul mercato dalla Pentapharm GmbH usa il termine tromboelastogramma per il processo di misurazione e ROTEM per indicare la strumentazione e il grafico risultante.<sup>27</sup>

La tecnica della tromboelastografia (TEG) viene eseguita tramite l'utilizzo di una cuvetta cilindrica fissa, in cui si mette un campione di sangue attivato con Kaolino, che oscilla con un angolo di 4,45 gradi ad una frequenza di 0,1 Hertz. I campioni di sangue usati sono ottenuti da cateteri centrali o accessi arteriosi dato che spesso il TEG è usato in pazienti chirurgici e delle unità di terapia intensiva. La siringa con cui viene eseguito il prelievo deve essere non eparinizzata. Il test viene effettuato mettendo 0.36cc di

sangue, usando un'apposita pipetta, nella cuvetta cilindrica, che deve essere sincronizzata con la temperatura corporea.

Un piccolo pistone, di cui viene misurato il movimento, è sospeso nel campione di sangue per mezzo di un filo di torsione. I legami di fibrina che si formano tra le pareti del pistone e quelle del contenitore determinano il movimento del filo di torsione. Il movimento del pistone è poi convertito da un trasduttore elettro-meccanico in un segnale elettrico che è poi visualizzato come grafico sullo schermo del computer.



*Fig 8: Rappresentazione grafica del funzionamento del tromboelastografo.*

Nel ROTEM, il segnale della puntina che è sospesa nel campione di sangue è trasmesso tramite un sistema di rilevatore ottico e non tramite un filo di torsione. Nel ROTEM è la puntina che si muove con un angolo di 4,75 gradi e non il contenitore cilindrico.

Inoltre, questo strumento è fornito di una pipetta automatica che lo rende anche più facile da usare.

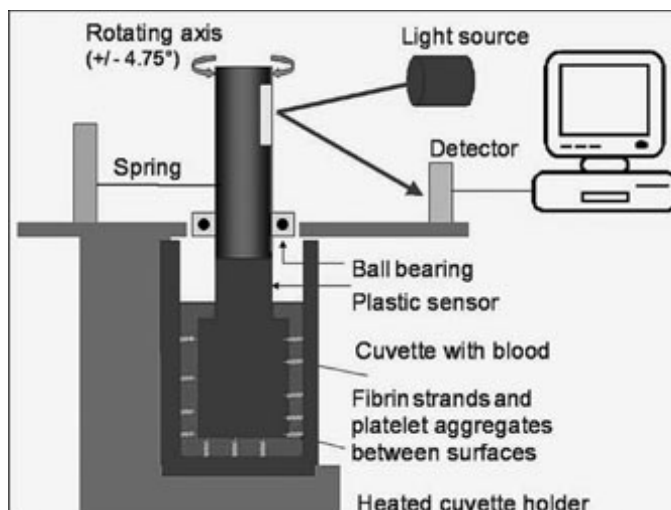


Fig. 9.:rappresentazione del funzionamento del ROTEM

Tutti e due i dispositivi rappresentano graficamente i cambiamenti di viscoelasticità, e mostrano tutte le fasi di formazione del coagulo, inclusa la lisi, iperfibrinolisi, e gli stati di ipercoagulabilità.<sup>28</sup>

Il TEG ed il ROTEM sebbene simili, mostrano alcune differenze in aspetti meccanici.

TEG	ROTEM
2 canali	4 canali
Il piccolo pistone è sospeso tramite un filo di torsione è inserito nel campione di sangue. La cuvetta contenente il campione oscilla	Il piccolo pistone è fissato alla cima di un asticella rotante che è guidata da un sistema di cuscinetto a sfere. L'asticella ruota avanti e indietro. La cuvetta contenente il campione è ferma
La miscelazione dei componenti del campione è data dall'oscillare della cuvetta	La miscelazione dei componenti nella cuvetta è compiuta re aspirandoli nella pipetta automatica
Attivatori usati: kaolino	Attivatori usati: INTEM: tromboplastina parziale fosfolipidica ottenuta da encefalo di coniglio

I campioni di sangue nativo intero usati nel TEG possono essere modificati con aggiunta di reagenti al campione in vitro allo scopo di determinare se una possibile terapia possa essere efficace per una coagulopatia, per migliorare la velocità dell'analisi, oppure per invertire una condizione clinica (per es., eparinizzazione).

Queste tecniche prevedono l'aggiunta di reagenti al campione di sangue intero nativo:

□ Attivatori (celite, caolino, fattore tissutale, trombina, DAPPTIN, ecc.)

□ Neutralizzatori dell'eparina (eparinasi, protamina)

□ Agenti di blocco delle piastrine (Reopro, Integrilin, Aggrastat, ecc.)

□ Farmaci antifibrinolitici (acido epsilon-amino-caproico, acido tranexamico, aprotinina)

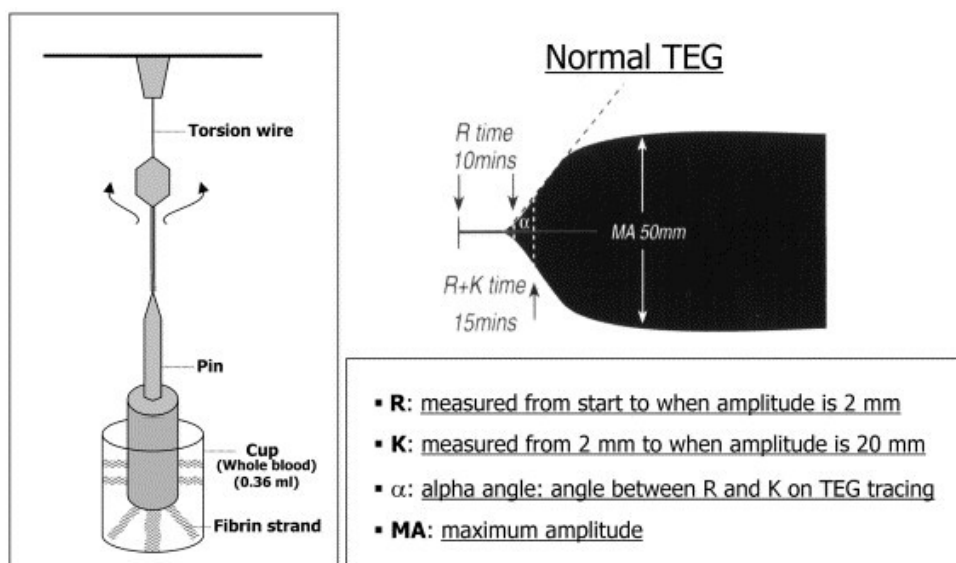
I metodi TEG attivati da celite o caolino vengono utilizzati per ridurre il tempo di esecuzione di un campione TEG fino alla metà. Il caolino (silicato di alluminio idrato) attiva la via intrinseca della coagulazione tramite il fattore XII. In generale le misurazioni di base TEG di cinetica, forza e stabilità del coagulo possono essere determinate usando un campione di sangue nativo intero. Questo metodo è il più sensibile nel monitorare le situazioni di ipercoagulazione o fibrinolitiche.

L'eparinasi I, estratta dal *flavobacterium heparinum*, è un enzima che neutralizza in modo rapido e specifico le proprietà anticoagulanti dell'eparina; scinde l'eparina in piccoli frammenti inattivi senza influenzare la funzione di altri componenti del sangue coinvolti nella coagulazione. Una cuvetta con eparinasi riesce a neutralizzare circa 6 UI di eparina per ml di sangue.

Nel caso in cui il sangue intero raccolto venga immesso in una provetta citrata, (contenente, cioè, citrato di sodio) il sangue nativo (0,34  $\mu\text{L}$ ) deve essere ricalcificato con 0,02  $\mu\text{L}$  di  $\text{CaCl}_2$  (calcio cloruro) prima di essere immesso nella cuvetta e successivamente analizzato.

L'analisi del campione deve, inoltre, essere corretta in relazione alla temperatura del paziente dal momento che questa è in grado di influenzare i processi coagulativi.

Il tracciato TEG può essere analizzato qualitativamente o quantitativamente. I profili vengono interpretati facilmente, senza misurazione, per determinare le condizioni di iper-, ipo-coagulazione o coagulazione normale, e fibrinolisi. In ogni caso, utilizzando le misurazioni nonché gli intervalli e gli indici normali stabiliti, i profili possono essere quantificati in relazione al grado di anormalità. <sup>29</sup>



*Fig.10 : rappresentazione schematica del funzionamento del TEG e la curva con relativi valori dei principali parametri ottenuta in condizioni di normalità.*

Anche se i parametri dal TEG e del ROTEM sono identici ci sono delle differenze nella nomenclatura:

- Coagulation time: R in TEG e CT nel ROTEM
- Clot formation time: k nel TEG e CFT nel ROTEM
- La massima forza del coagulo: MA nel TEG e MCF nel ROTEM<sup>30</sup>

### 3.2 *Parametri significativi del TEG*

Graficamente il TEG è caratterizzato da sei parametri principali:

1. **R. reaction time (minutes):** questo è il tempo che intercorre tra l'inizio del processo coagulativo e il momento in cui la curva raggiunge un'ampiezza di 2 mm. Questo parametro ci indica la velocità di formazione della trombina e il funzionamento della via intrinseca, specialmente l'attività del FXII FXI e FVIII. Subisce un allungamento nel caso di deficit dei fattori della coagulazione e nell'uso di anticoagulanti come l'eparina ed il Warfarin. Nel caso in cui risulti accorciato indica la presenza di uno stato di ipercoagulabilità senza però dare indicazioni circa l'origine di questa. Il normale valore è compreso tra 4 ed 8 minuti.

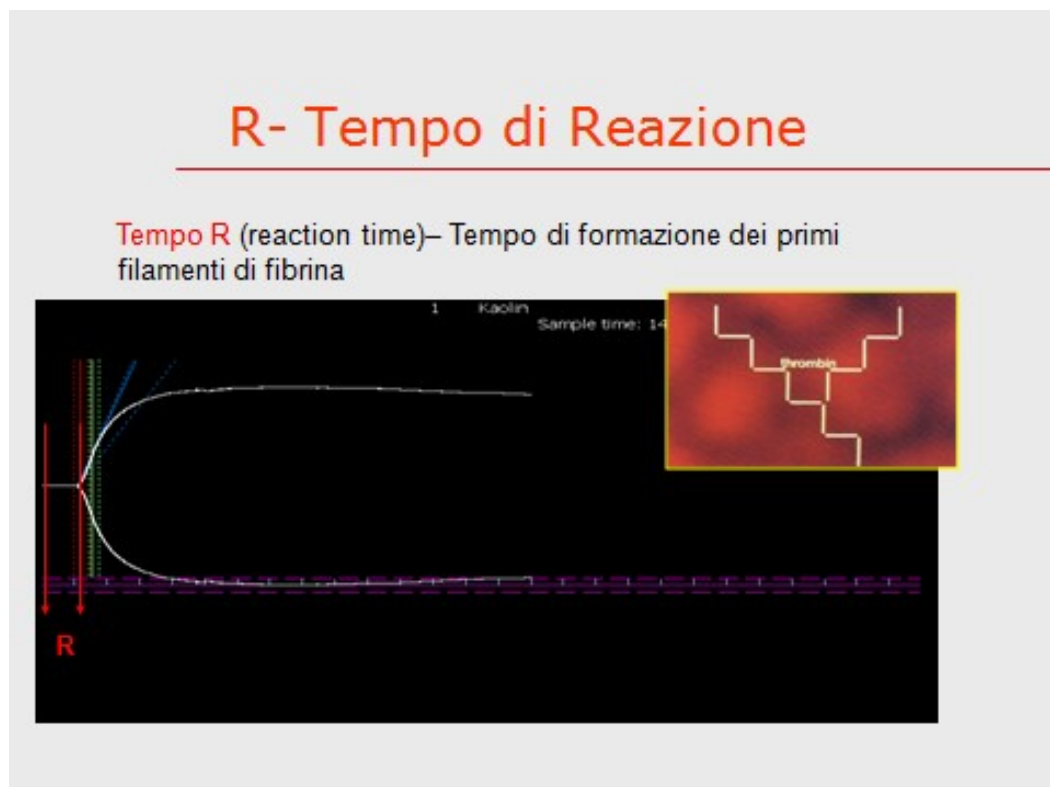


Fig. 11: parametro R del tracciato tromboelastografico

2. **K. (clot formation time):** graficamente è il tratto che va dal punto in cui si ha la formazione della fibrina sino a quello in cui l'ampiezza del TEG raggiunge i 20mm; rappresenta la formazione del coagulo ed è strettamente connesso con la funzione piastrinica, i fattori plasmatici e il fibrinogeno. Un valore di k aumentato indica un rallentamento nella formazione del coagulo, mentre un valore ridotto è segno di ipercoagulabilità.
  
3. **Alpha angle:** è l'angolo creato dal braccio R e dall'inclinazione di k, ovvero l'angolo compreso tra la linea di mezzo e la tangente alla curva esterna del TEG. Mostra la velocità alla quale si forma un coagulo solido. È un indicatore della qualità delle piastrine e del fibrinogeno. L'angolo è maggiore se c'è maggiore attività delle piastrine e del fibrinogeno presente nel sangue, ed è minore se ci sono anticoagulanti o inibitori delle piastrine. Il normale range di valori dell'angolo alpha è tra 47 e 74.

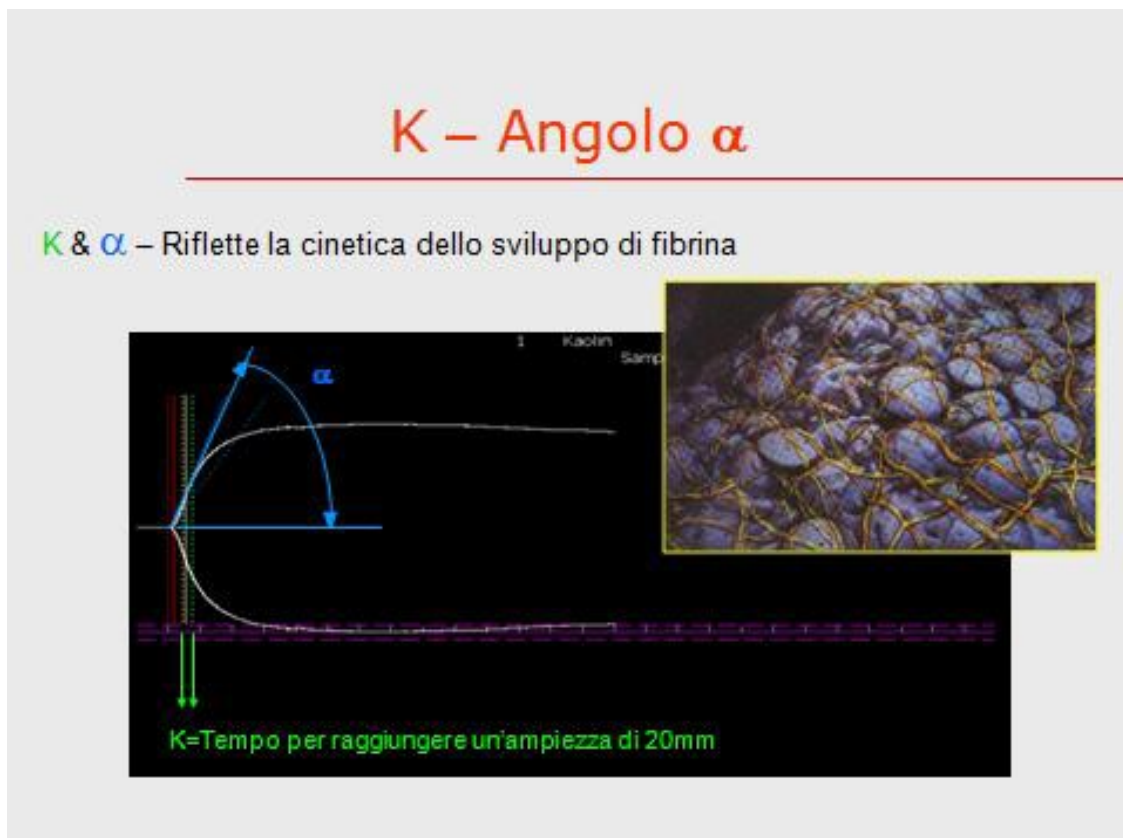




Fig. 12: parametro  $K$  e  $\alpha$  angle del tracciato tromboelastografico.

4. **MA, maximum amplitude (mm):** MA è il diametro maggiore del coagulo e una misura della sua elasticità. È rappresentativo della forza del coagulo finale.<sup>31</sup> Aumenta quando c'è un'elevata attività di piastrine, fibrinogeno, e FXII. È una misura della forza del coagulo e dipende fondamentalmente dall'interazione tra piastrine e fibrina. Il normale range di valori è compreso tra 55 e 73 mm.

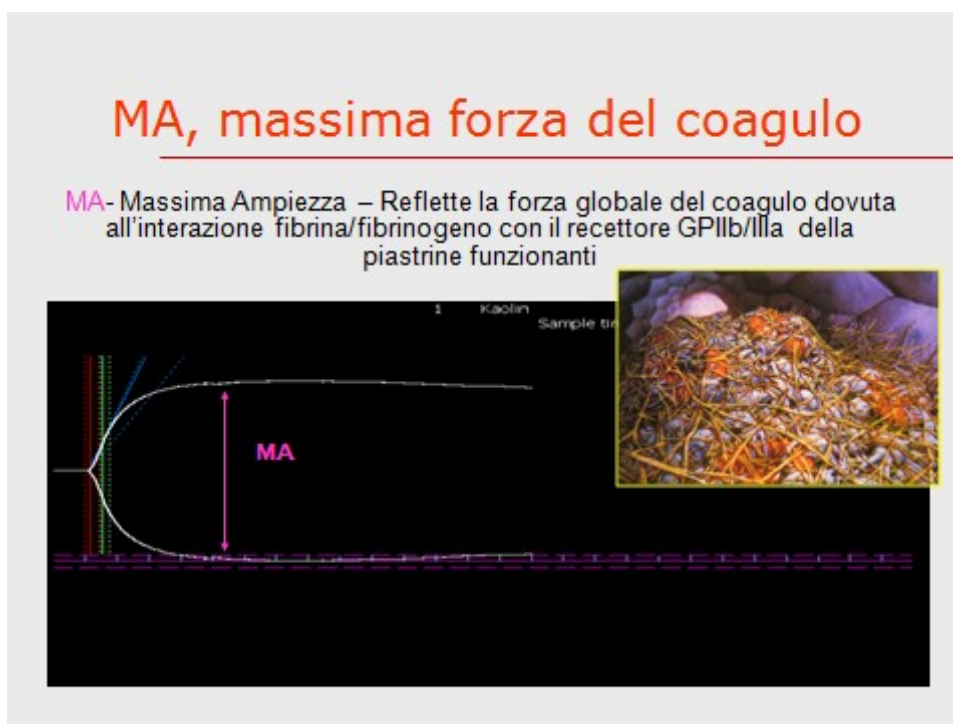


Fig. 13: parametro MA del tracciato tromboelastografico.

5. **CI, coagulation index:** è un valore numerico che può essere negativo o positivo, e oscilla tra -3 e +3. Se inferiore, è suggestivo di ipocoagulabilità; mentre indica

uno stato di ipercoagulabilità se maggiore del range. Fornisce quindi un giudizio globale di normo o ipo o iper coagulabilità.<sup>32</sup>

6. Un ultimo parametro importante nella tromboelastografia è il **CLI. clot lysis index(%)**: questo è un quoziente di misura dell'attività di fibrinolisi in un determinato tempo (30min). Il suo normale range di valori è tra 0% e 8%. Se vengono registrati valori sopra l'8%, deve essere presa in considerazione o la fibrinolisi primaria o quella secondaria.

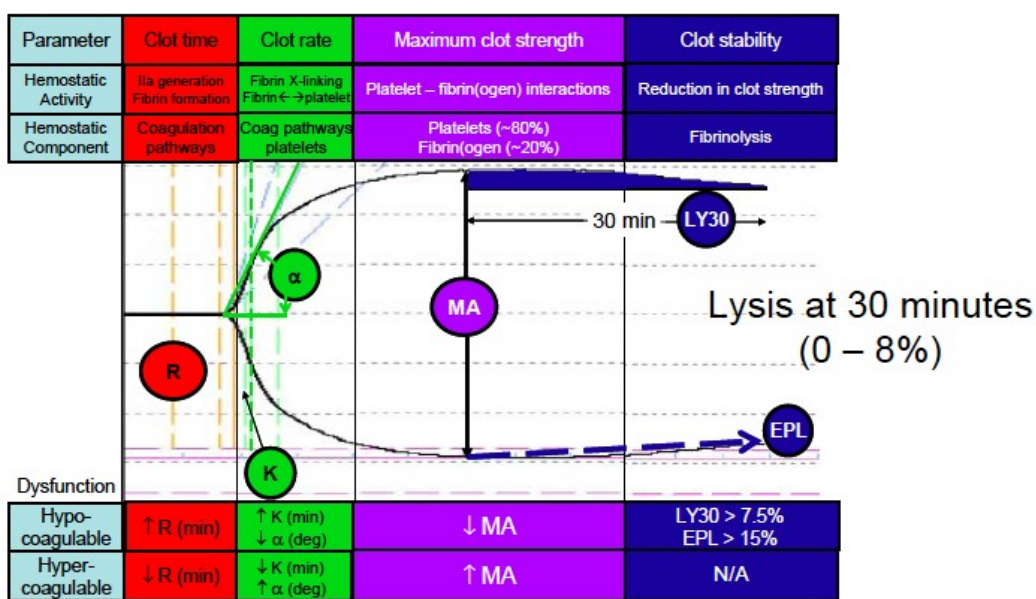


Fig. 14: illustrazione riassuntiva dei parametri significativi del tracciato tromboelastografico

### 3.3 Tracciati significativi del TEG

Un quadro dei possibili tracciati TEG è rappresentato dalla seguente figura:

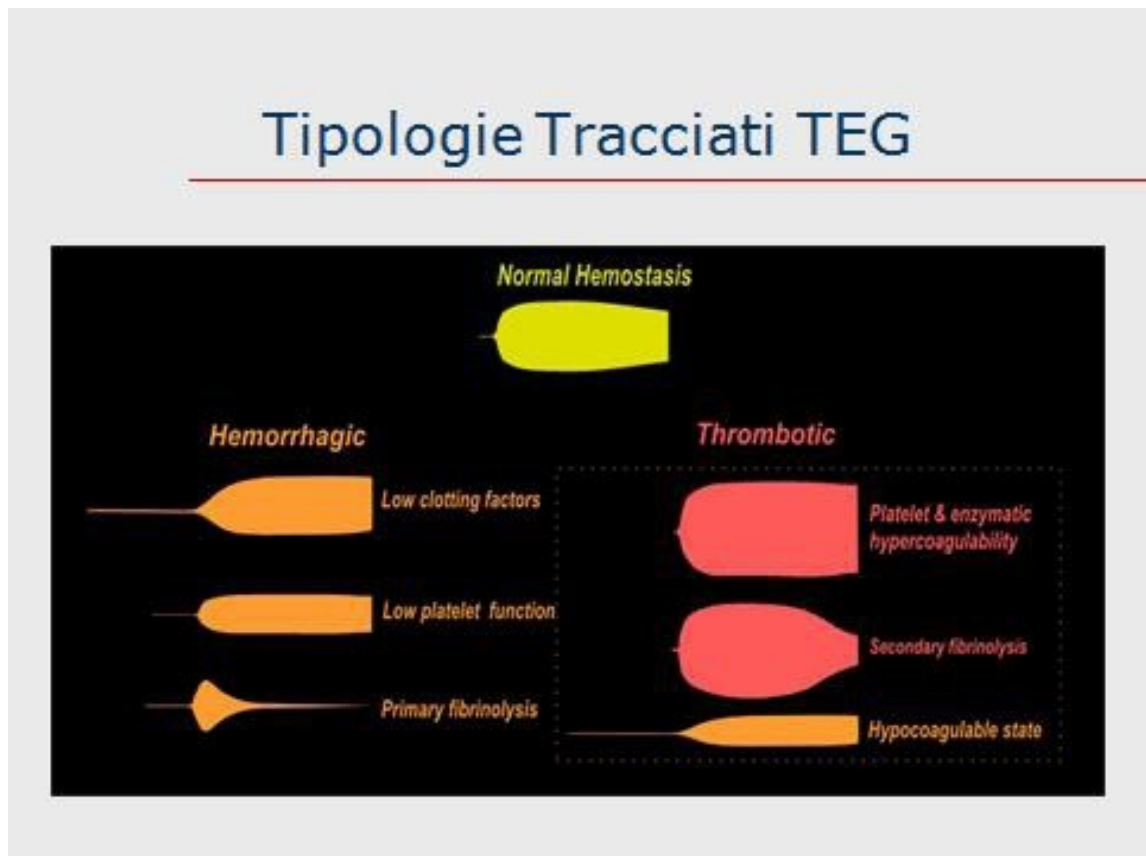


Fig.15: illustrazione riassuntiva delle principali tipologie di tracciati tromboelastografici.

## 1.Tracciato normale

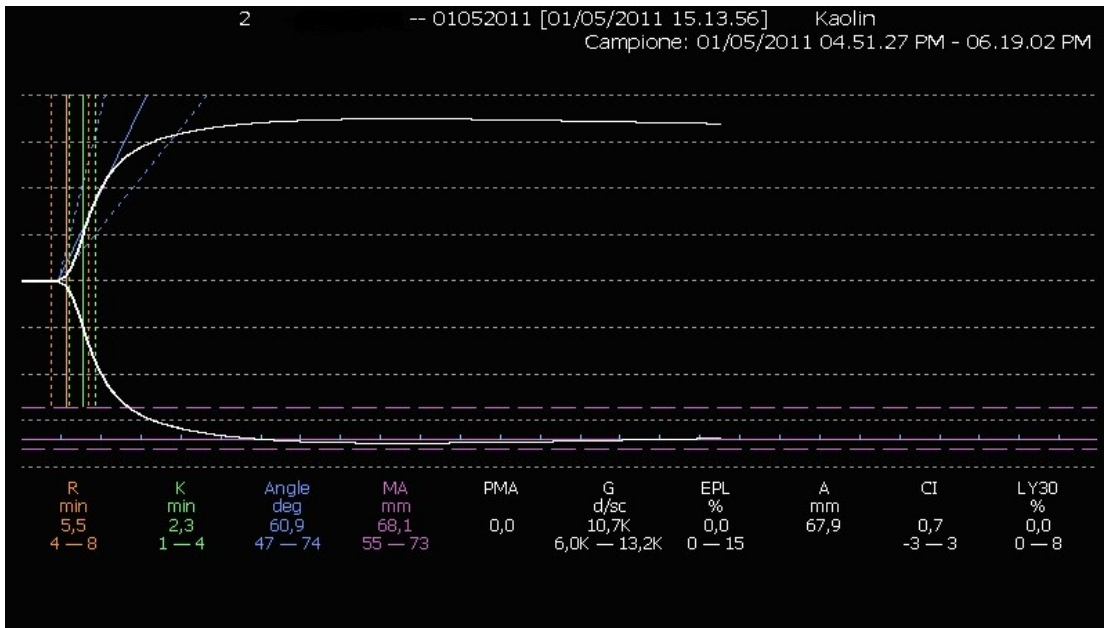


Fig. 16.: tracciato tromboelastografico con valori nella norma

Il tracciato TEG, in questo caso, presenta valori dei diversi parametri compresi nei range di normalità; in particolare:

- R: 5,5 min ( v.n.=4-8 min)
- K= 2,3 min ( v.n.= 1-4 min)
- Alpha angle=60,9 deg (v.n.=55-73)
- MA= 68,1 mm ( v.n.=55-73 deg)

Questi valori portano ad un valore normale di CI pari a 0,7 (v.n.= -3; +3); non si denota la lisi del coagulo, come documentata dal valore LY30=0% (v.n.= 0-8%)

## Deficit fattori della coagulazione

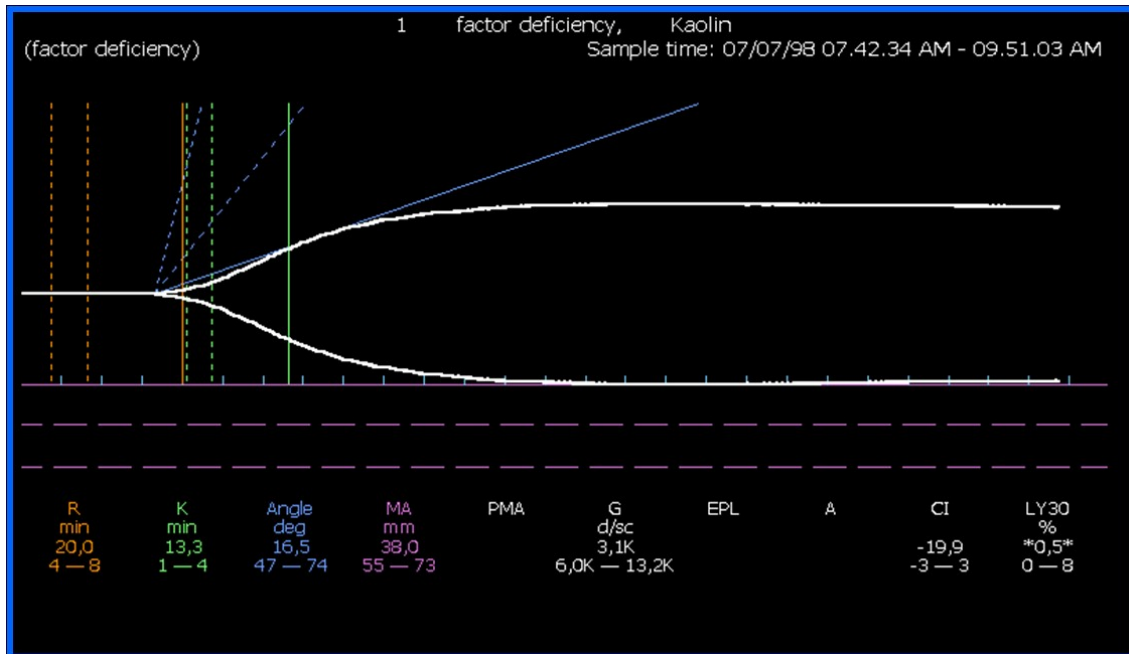


Fig 17: tracciato tromboelastografico tipico di deficit dei fattori della coagulazione.

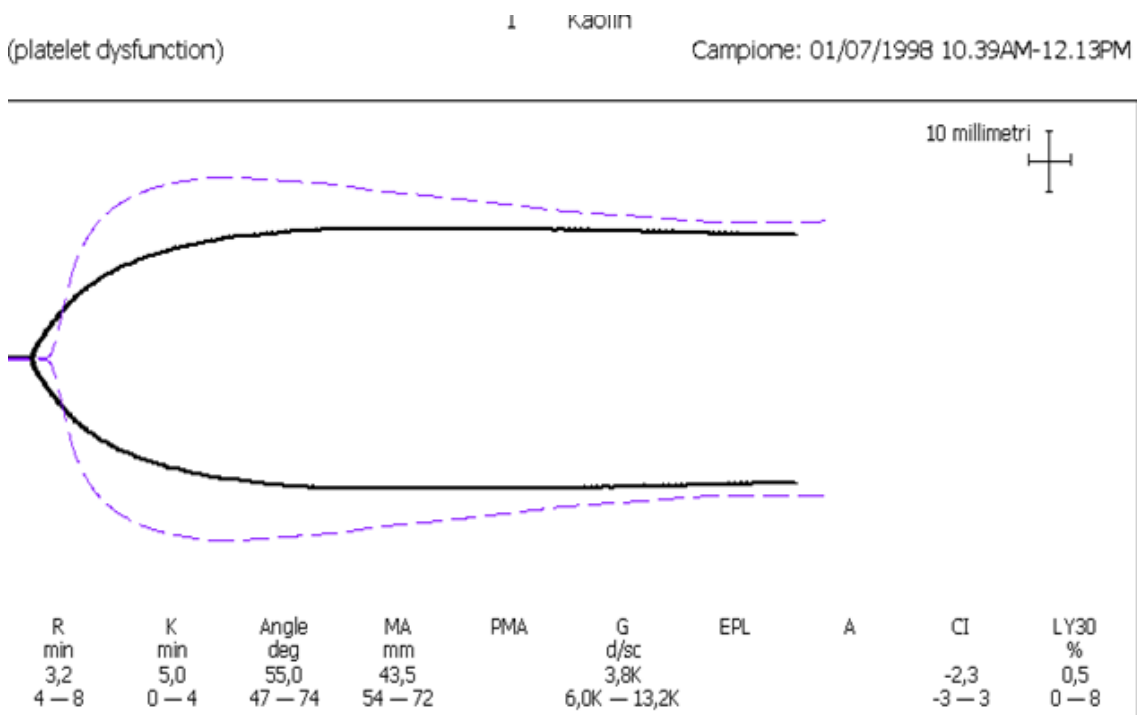
Il deficit dei fattori della coagulazione può essere congenito, come nel caso delle emofilie, acquisito, come nel caso delle epatopatie oppure iatrogenicamente indotto come nel caso della somministrazione di anticoagulanti.

La scarsità di fibrina deprime in toto il valore dei parametri tromboelastografici e condiziona un CI marcatamente negativo:

- R = 20.0 min
- K = 13,3 min
- Alpha angle = 16,5 deg
- MA = 38,0 mm
- CI = -19,9
- LY = 0,5%

Questa situazione può essere corretta tramite l'infusione di plasma fresco, fattori della coagulazione, nel caso di emorragia, mentre con solfato di protamina, nel caso in cui si voglia antagonizzare l'effetto residuo dell'eparina.

*Ipopiastrinemia o deficit della funzionalità piastrinica:*



*Fig. 18: tracciato tromboelastografico indicatore di deficit piastrinico.*

Questo profilo caratterizza le ipopiastrinemia da causa immunologica ( porpora trombotica trombocitopenica) ereditaria ( amegacariocitosi), iatrogena ( da FANS) od associata ad uremia ed ipersplenismo, ma non le forme immunitarie di ipopiastrinemia. Il trattamento in questi casi consiste nella somministrazione di piastrine e nella sospensione di eventuali terapie in atto a base di farmaci inibitori-soppressori.

I valori di formazione della fibrina e di interazione con le piastrine risultano normali mentre risalta un valore di MA depresso a causa della scarsa attività delle piastrine stesse:

- R = 3.3 min
- K = 5.0 min
- Alpha angle = 55,0 deg
- MA = 43,5 mm
- CI = -2,3
- Ly30 = 0.5%

## Ipercoagulabilità

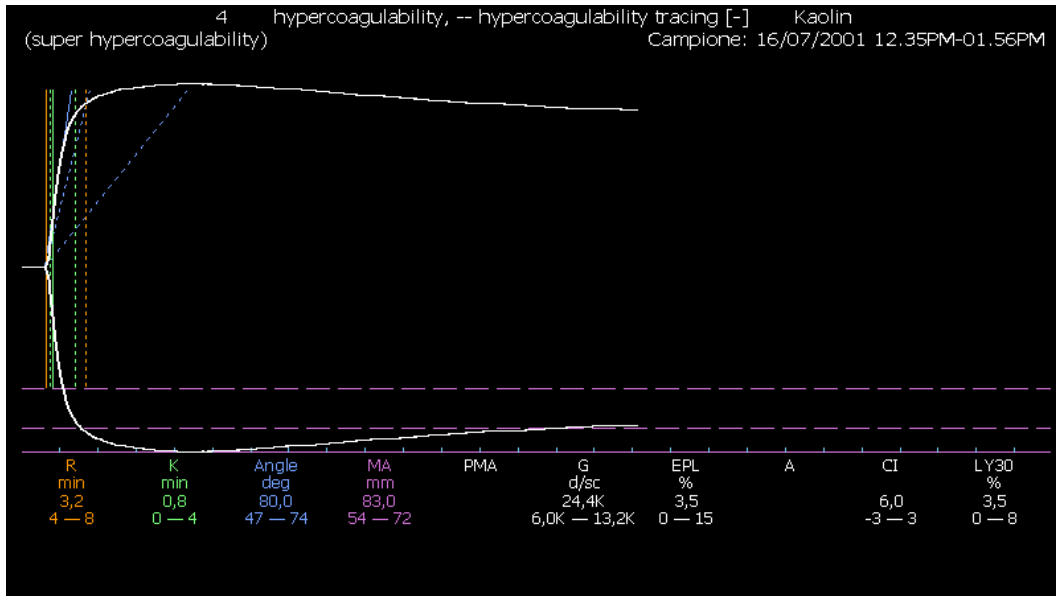


Fig.19: tracciato tromboelastografico indicativo di una condizione di ipercoagulabilità.

La condizione di ipercoagulabilità è espressa soprattutto da un alto valore di MA e da un incremento dell'alpha angle, espressione di una cinetica coagulativa globale rapida.

- R = 3,2 min
- K = 0,8 min
- Alpha angle = 80 deg
- MA = 83,0 mm
- CI = 6,0
- LY30 = 3,5%

Il fatto che il valore R sia praticamente normale porta ad ipotizzare che l'ipercoagulabilità, in questo caso, riconosca una causa piastrinica piuttosto che enzimatica.



## Fibrinolisi primaria

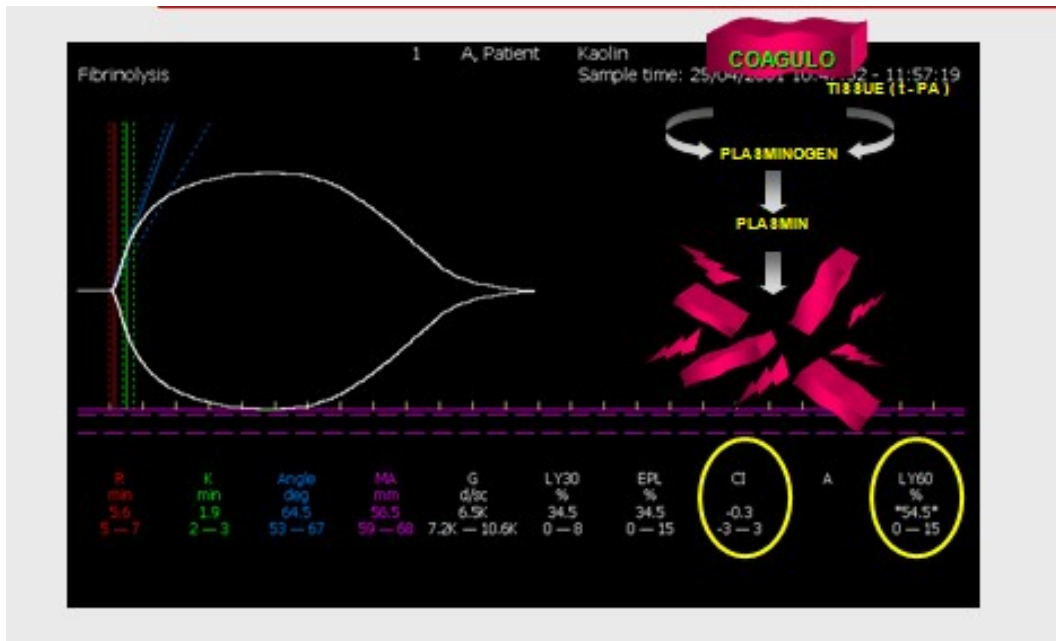


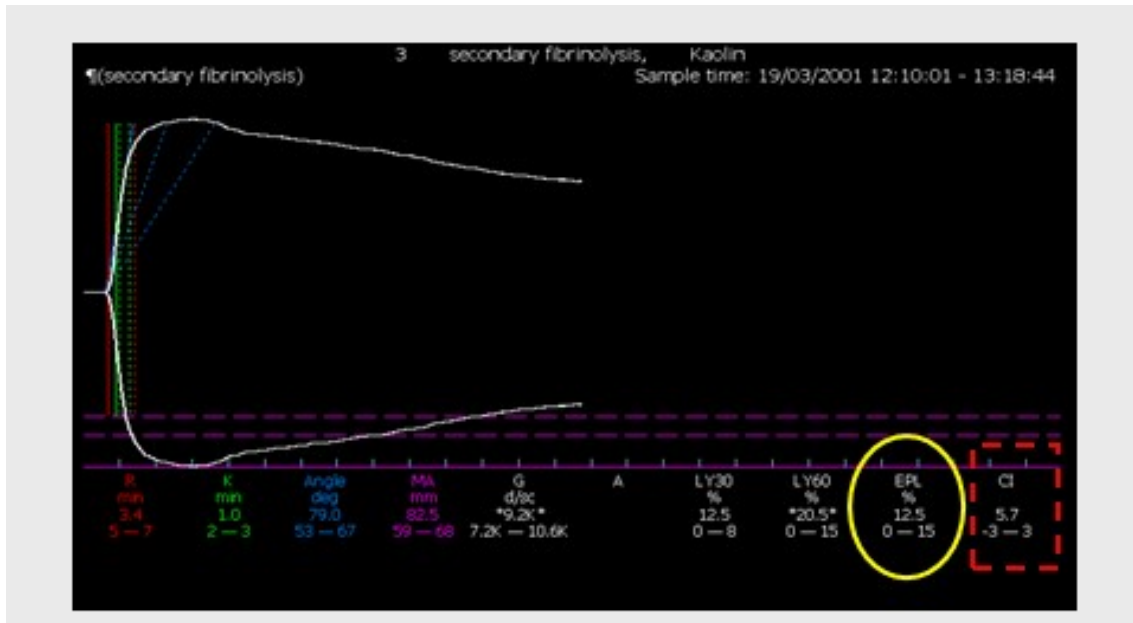
Fig. 20: tracciato tromboelastografico che rispecchia una situazione di fibrinolisi primaria.

La fibrinolisi così detta primitiva o primaria è caratterizzata, dal punto di vista tromboelastografico, oltre che dal classico andamento a cipolla del tracciato, dalla carente attività piastrinica espressa da un MA ridotto, e dalla evidente riduzione di ampiezza del tracciato dopo 30 min, come documentato da un valore di LY30 enormemente più elevato rispetto al range di normalità.

I valori che esprimono la funzionalità dei fattori della coagulazione e la formazione di fibrina, sono, invece pressochè normali:

- R = 6,0 min
- K = 1,9 min
- Alpha angle = 64,5 deg
- MA = 56,6 mm
- CI = - 0,3
- LY30 = 34,5%

## *Fibrinolisi secondaria*



*Fig.21: tracciato tromboelastografico che riflette una situazione di fibrinolisi secondaria.*

La fibrinolisi secondaria è caratterizzata da una condizione ipercoagulativa, e si manifesta con una elevata coagulazione iniziale, espressa da valori di formazione del coagulo abbastanza buoni:

- R = 3,4 min
- K = 1,0 min
- Alpha angle = 79,0 deg
- MA = 82,5 mm

Mentre , il fenomeno di retrazione del coagulo è espresso da un valore di LY30 elevato (12,5% ). È proprio quest'ultimo parametro che ci permette di distinguere lo stato di ipercoagulabilità dalla fibrinolisi secondaria.

### **3.4 Strumentazioni disponibili:**

Originariamente, la celite è stata usata come attivatore di contatto nel TEG, ed è stata successivamente sostituita dal caolino (kaoTEG). È stata recentemente introdotta una modifica tramite l'aggiunta di eparinasi per neutralizzare gli effetti dell'eparina insieme con l'attivazione data dal caolino (hepTEG) al fine di monitorare la capacità di coagulare del sangue in presenza di eparina.

Un'altra modifica è il così detto rapidTEG, nel quale il fattore tissutale viene usato come attivatore in aggiunta al caolino. Sia il kaoTEG che il rapidTEG sono insensibili agli antiaggreganti piastrinici.

Sono disponibili multipli reagenti per il ROTEM. Un reagente monouso è divenuto recentemente disponibile per tutti i test ROTEM per ottenere più facili prestazioni con ottime correlazioni con i reagenti classici.

EXTEM usa il fattore tissutale come attivatore della via estrinseca, mentre INTEM usa l'acido ellagico/fosfolipidi per l'attivazione tramite contatto. L'HEPTEM test è un INTEM test modificato che include un enzima che degrada l'eparina. Il FIBTEM è usato per stimare l'estensione della polimerizzazione di fibrina con la cythocalasin-D dopo l'attivazione del fattore tissutale.

La fibrinolisi sistemica può testata usando il sistema APTEM, nel quale l'aprotinina viene aggiunta per inibire la plasmina.

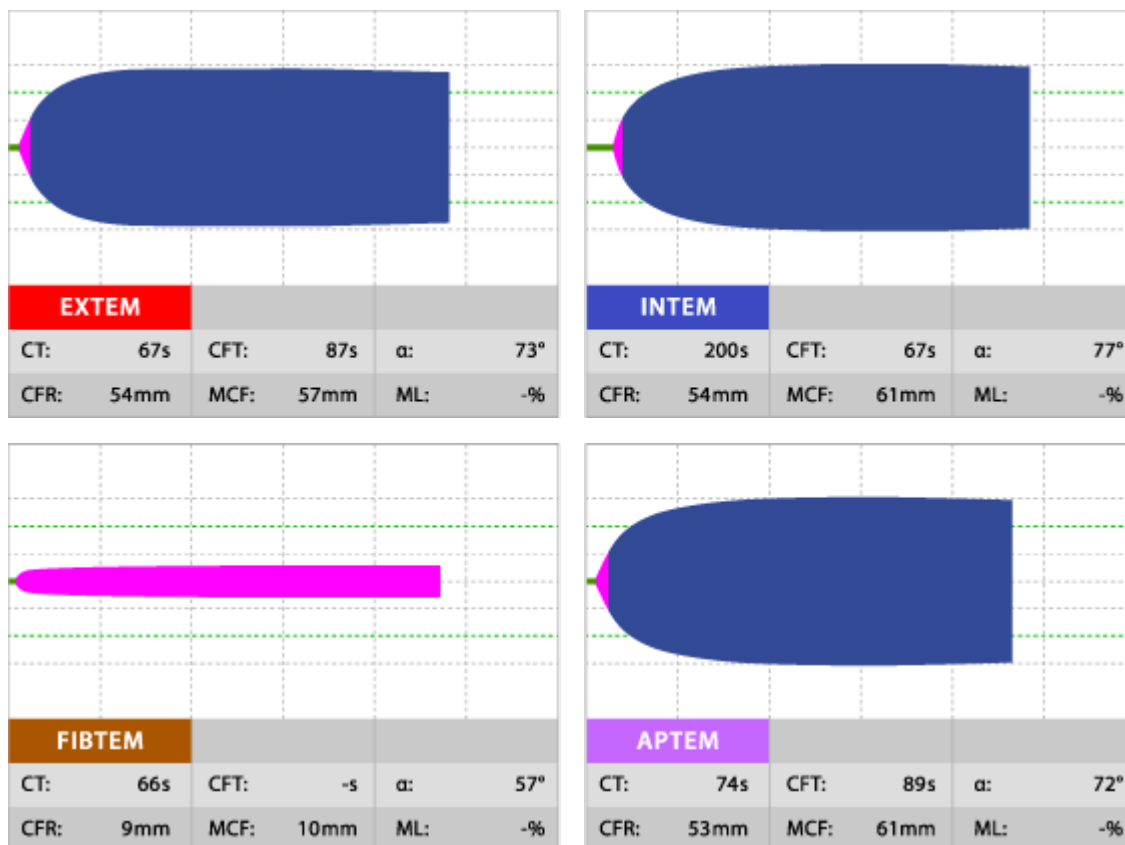


Fig. 22: Tracciati ottenuti con ROTEM utilizzando diversi tipi di reagenti.

Ogni modifica altera la specificità e la sensibilità del sistema. Nonostante TEG e ROTEM condividano i principi metodologici di base, i due sistemi hanno diverse caratteristiche che limitano il diretto confronto delle misurazioni ottenute con i medesimi.<sup>33</sup>

## **Capitolo 4**

### **4.1 utilizzo della tromboelastografia in ambito ostetrico**

In ambito ostetrico vi sono delle situazioni in cui i test della coagulazione di routine e l'emocromo non forniscono sufficienti informazioni. Tali situazioni sono le seguenti:

1. valutazione dell'assetto coagulativo di donne sottoposte a terapia anticoagulante, per stabilire se possa essere effettuata un'anestesia regionale in sicurezza.
2. situazioni in cui si debba decidere la strategia trasfusionale ottimale nell'evenienza di un'emorragia post partum.
3. Inoltre, in corso di gravidanza in vista del sottostante stato pro trombotico, il medico si trova di fronte al problema del rischio di sovra trattamento nella paziente che sanguina e della predisposizione alla trombosi venosa che spesso hanno le donne in gravidanza.

Il rischio della trombosi venosa, in corso di gravidanza, è di circa 1-2 casi ogni 1000 partorienti, e nonostante l'aumentato uso della trombofilassi e l'applicazione delle linee guida fornite dalla Royal College of Obstetricians, il tromboembolismo venoso e l'emorragia rimangono le principali cause di morte materna negli UK. L'aumentato rischio di trombosi venosa in corso di gravidanza, è correlato con i cambiamenti a livello della parete dei vasi, con il ridotto flusso a livello pelvico, alle gambe e con lo stato pro trombotico. Lo stato pro trombotico tipico della gravidanza può essere dimostrato chiaramente con l'uso del TEG, che mostra, inoltre, una successiva normalizzazione dei parametri, in circa sei settimane dal parto. Gordon et al. hanno dimostrato che l'ampiezza massima (MA) era significativamente aumentata. L'MA riflette la forza del coagulo e l'interazione tra le piastrine ed il fibrinogeno. In gravidanza l'ampiezza è maggiore che nelle donne sane non in gravidanza. Nella trombocitopenia gestazionale l'MA rimane maggiore che nelle donne sane non in gravidanza fino a che il valore della conta piastrinica non scende sotto  $50 \times 10^9/L$ , a causa dell'aumentato livello di fattori della coagulazione, in particolar modo del fibrinogeno. Quindi il TEG ha un enorme potenziale per quanto riguarda le decisioni relative alla gestione dell'emostasi in ambito ostetrico. È stato usato anche per valutare lo stato di ipercoagulabilità ed i difetti coagulativi nella gravidanza. Un'interessante osservazione è che le donne con aborti ricorrenti hanno un valore di MA aumentato. Dato che il TEG

fornisce una valutazione globale dell'emostasi, questo potrebbe aumentare la sicurezza nelle decisioni riguardo l'utilizzo dell'anestesia regionale, e potrebbe anche ridurre l'inappropriato utilizzo di emoderivati e farmaci antiemorragici, inoltre, il fatto che fornisca risultati in tempi rapidi, lo rende ideale per il monitoraggio in una situazione di emergenza come quella di un'emorragia. Tuttavia sono necessari dei controlli di qualità, e probabilmente sarebbe ottimale usare il TEG in concerto con il laboratorio di patologia locale. Sarebbe inoltre importante avere degli studi su larga scala che accertino la validità del TEG e degli algoritmi pratici per l'anestesia in ambito ostetrico.<sup>22</sup>

Altre condizioni morbose, nelle quali l'uso del TEG può essere d'aiuto nella valutazione dell'assetto coagulativo e gestione della terapia, sono la preeclampsia e la HELLP sindrome.

La preeclampsia è una patologia associata con un aumentato rischio di sviluppare anomalie dell'emostasi. La più frequente è la trombocitopenia, mentre, meno frequente ma pur sempre presente è la coagulazione intravascolare disseminata. Il rischio di anomalie aumenta con la severità della malattia. La conta piastrinica è un test comunemente usato per la valutazione dell'emostasi nelle pazienti preeclampatiche. È stato dimostrato che nel caso di una riduzione del numero di piastrine al di sotto di un valore pari a  $100000/\text{mm}^3$ , altre anomalie dell'emostasi, quali allungamento del PT o dell'aPTT, riduzione dei livelli di fibrinogeno, possono essere presenti. Uno studio condotto su partorienti con preeclampsia, ha messo in evidenza che un aumento della massima ampiezza (MA) correla in modo più significativo con la conta piastrinica, di quanto non faccia il tempo di sanguinamento. Uno studio condotto da Sharma et al., in cui è stata utilizzata la tromboelastografia, mostra che le donne con preeclampsia di livello moderato hanno ipercoagulabilità rispetto alle donne sane in gravidanza. Al contrario, dal momento in cui la gravità della malattia aumenta, la capacità del sangue di coagulare si riduce, e queste pazienti con conta piastrinica  $< 100000/\text{mm}^3$  hanno uno stato di ipocoagulabilità rispetto alle partorienti sane.<sup>34</sup>

L'HELLP sindrome ( emolisi, trombocitopenia, livelli elevati di enzimi epatici) è una importante complicanza della preeclampsia. L'HELLP sindrome può manifestarsi in qualsiasi momento della gravidanza e del puerperio, è tuttavia (come per la preeclampsia ) è rara prima della ventesima settimana. Quando la preeclampsia è

complicata dalla comparsa dell'HELLP la mortalità materna e fetale aumenta notevolmente. La mortalità è attestata intorno al 0-24%. Queste pazienti vanno incontro a morte più spesso per insufficienza renale, rottura epatica, coagulazione intravascolare disseminata, accidenti cerebrovascolari ed edema polmonare.<sup>35</sup> La tromboelastografia è stata utilizzata per stabilire quale fosse il range di valori tromboelastografici nelle partorienti sane ed in quelle con vari gradi di pre eclampsia, inclusa la HELLP sindrome. Chadwick et al. hanno evidenziato una significativa riduzione nei valori di alpha angle, in donne con preeclampsia di grado elevato e con HELLP sindrome, rispetto alle partorienti sane. Hanno, inoltre, evidenziato una significativa riduzione nel valore dell'ampiezza massima (MA) e dell'A60 in donne con HELLP rispetto a donne sane. Questo suggerisce la presenza di uno stato ipocoagulativo in quelle pazienti che abbiano preeclampsia di grado elevato e HELLP. Le pazienti con pre-eclampsia moderata, invece, mostravano un assetto di ipocoagulabilità al tracciato tromboelastografico.<sup>36</sup>

### ***L'emorragia post- partum: cause, impatto epidemiologico e problemi di terapia***

L'emorragia in ambito ostetrico può verificarsi sia prima che dopo il parto, tuttavia più dell'80% dei casi si verifica nel post partum. La definizione data dall'organizzazione mondiale della sanità (WHO) dell'emorragia post partum primaria nel parto naturale è: "la perdita di 500 mL o più di sangue dai genitali che si verifichi entro 24 ore dalla nascita del bambino" mentre si parla di PPH secondaria qualora si verifichi dopo le 24 ore dal parto.

In tutto il mondo, un'emorragia ostetrica massiva, come risultato di un fallimento dell'emostasi ostetrica, chirurgica e/o sistemica è responsabile del 25% delle 358000 morti materne al mondo. La maggior parte di queste donne non ha fattori di rischio identificabili. Ciò nonostante la prevenzione primaria di un'emorragia post partum (PPH) inizia con l'accertamento di fattori di rischio identificabili.

La principale causa di PPH è l'atonia uterina, tuttavia anche i traumi a carico del tratto genitale ( lacerazioni vaginali o della cervice), rottura uterina, placenta ritenuta, o disordini coagulativi materni possono condurre a PPH. Anche se la maggior parte delle

donne che vanno incontro a una PPH non presentano fattori di rischio identificabili, la multiparità e il numero di gravidanze intraprese dalla donna correlano con un aumentato rischio di sanguinamento dopo il parto.<sup>37</sup>

Le donne per le quali sia stato identificato un rischio di PPH dovrebbero essere inviate a centri nei quali vi sia uno staff adeguatamente preparato, e vi sia una banca del sangue (centro trasfusionale) in loco. Un aspetto caratteristico di un'emorragia massiva in ambito ostetrico è lo sviluppo di una situazione denominata coagulazione intravascolare disseminata (CID), che, a differenza della CID che si sviluppa assieme all'emorragia nel trauma è frequentemente una caratteristica iniziale. Mancano tuttavia dei dati provenienti da trial clinici riguardo all'ottimale terapia trasfusionale in caso di PPH. Ci sono probabilmente degli aspetti comuni tra la gestione delle trasfusioni in caso di gravi PPH e la gestione del sanguinamento maggiore in altri ambiti clinici. Tuttavia il processo fisiopatologico che contribuisce al verificarsi di emorragie post partum massive può necessitare di differenti strategie trasfusionali, come la proporzione tra eritrociti e componenti plasmatici, in particolare il fibrinogeno. Bisogna essere cauti nel valutare l'appropriato utilizzo del FVII (rFVIIa) nella gestione dell'emorragia maggiore post partum..<sup>38</sup>

La WHO ha pubblicato nel 2012 le raccomandazioni per il trattamento dell'emorragia post-partum. Si ritiene che l'uso di utero tonici ( l'ossitocina da sola come prima scelta ) giochi un ruolo centrale nella terapia della PPH. Risulta inoltre raccomandata l'esecuzione di massaggio uterino appena diagnosticata una PPH e anche la terapia con cristalloidi per ripristinare il volume ematico. L'uso dell'acido tranexamico è consigliato in caso di sanguinamento refrattario alla terapia o del persistere di un sanguinamento correlato a trauma. L'uso di un palloncino di tamponamento intrauterino è raccomandato in caso di sanguinamento refrattario o qualora non si disponga di utero tonici. Nel caso di sanguinamento persistente e di disponibilità di risorse necessarie dovrebbe essere considerata l'esecuzione di embolizzazione dell'arteria uterina. Se il sanguinamento persiste ulteriormente nonostante il trattamento con utero tonici e altri interventi conservativi, bisognerebbe ricorrere ad interventi chirurgici.<sup>37</sup>

È stato osservato che l'uso di emazie concentrate, plasma fresco congelato, e piastrine in rapporto di 1:1:1 migliora i risultati nella coagulopatia diluzionale e la sopravvivenza delle pazienti. Le donne che si presentano con bassi livelli di fibrinogeno al momento



della diagnosi di PPH hanno peggior out come e potrebbero beneficiare di una precoce somministrazione di fibrinogeno. I farmaci antifibrinolitici come l'acido tranexanico, riducono il sanguinamento e la progressione verso una grave emorragia post partum, tuttavia il suo ruolo nella gestione della PPH è ancora in fase di evoluzione. Studi osservazionali mostrano che l'uso del FVIIa ricombinante dovrebbe essere limitato al trattamento di sanguinamento non responsivo ad una terapia trasfusionale ottimale. L'uso dei point of care testing , come la tromboelastografia, sembra essere utile nella selezione degli emoderivati con cui trasfondere la paziente.<sup>39</sup>

### ***Svantaggi degli attuali test di laboratorio e possibile utilità del teg nella gestione della PPH:***

I test di laboratorio standard per la coagulazione, potrebbero essere utili per guidare la gestione dell'assetto coagulativo durante l'emorragia post partum. Per poter essere considerati utili, questi devono essere rapidamente disponibili e fornire informazioni aggiuntive, che non siano ricavabili dalla sola valutazione clinica. In uno studio retrospettivo, un centro ha individuato che il valore che dovrebbe indurre a somministrare fattori della coagulazione è per l'aPTT >1.5 volte del normale in un 43% dei casi. Tuttavia nel 57% dei casi i risultati di laboratorio non erano stati disponibili in tempo utile per le decisioni diagnostiche.

Sempre di più i point of care testing, come la tromboelastografia e la tromboelastometria (ROTEM), vengono considerati come una misura alternativa o complementare per guidare la terapia trasfusionale in pazienti con emorragia massiva. In particolar modo questi test possono identificare pazienti che abbiano una fibrinolisi aumentata, che può essere molto rilevante nell'emorragia ostetrica. Modificazioni del test FIBTEM permettono una più diretta valutazione della concentrazione di fibrinogeno e del suo contributo alla formazione del coagulo. Uno studio case-control ha mostrato che l'ampiezza del coagulo del FIBTEM test era molto minore in pazienti con PPH che nei controlli e che c'era una forte correlazione tra l'ampiezza del coagulo a 5 min (CA5) e l'ampiezza del coagulo a 15 min (CA15) e la concentrazione del fibrinogeno. Un piccolo studio clinico ha mostrato che i parametri del ROTEM di massima stabilità del coagulo in combinazione con i livelli di emoglobina possono essere utili per valutare l'uso di trasfusioni massive in pazienti con trauma. Questi dati

sono solo generatrici di ipotesi e ed è necessario che si effettuino studi prospettici riguardo ai point of care testing prima che questi possano essere usati nella gestione di routine delle trasfusioni in corso di emorragia ostetrica massiva.<sup>38</sup>

## ***Caso clinico***

Paziente di 32 anni, 65Kg di peso corporeo, primi gravida, 40settimane ed 1 giorno di amenorrea.

Anamnesi familiare negativa per patologie

Anamnesi personale negativa

Nega allergie a farmaci, lattice, comuni sostanze, alimenti.

Anamnesi ostetrica negativa.

La paziente effettua accesso al P.S. Ostetrico alle ore 12 e successivo ricovero presso la U.O. COG 2 per prodromi di travaglio di parto h 12:00

Visita Ostetrica al ricovero: Genitali e Vagina regolari Utero come da amenorrea, dilatazione 2 cm, sacco teso PP cefalica elevata. Eco TA: feto unico cefalico, placenta anteriore.

Alle h 16.00: circa la paziente entra in travaglio attivo.

Alle h 17.10: la paziente richiede analgesia epidurale.

Viene quindi posizionato catetere epidurale con dilatazione di 4/5 cm, PP -2. Si esegue gestione partoanalgesia secondo protocolli: Tecnica Top-Up

Prima somministrazione: 10µg Sufentanil in 5 ml + 15 ml Levobupivacaina 0.0625% con completo pain relief.

Alle h 19.30: Successivo carico peridurale (alla richiesta della donna) Levobupivacaina 20ml 0.0625% con completo pain relief.

Alle h 20.30 dilatazione completa, h 21.50 dose perineale Levobupivacaina 7 ml 0.125%

Alle h 22.13 parto spontaneo di neonato di 2994 gr con Apgar al 5':9  
Somministrazione delle protocollate dosi di ossitocici.

Alle h 22.40 la pz non ha ancora secondato per cui si opta per svuotamento sangue cordonale e somministrazione di ossitocina intracordonale.

Alle 22.50 visto che il sanguinamento superava i 1000 ml di sangue è stato allertato l' Anestesista, il quale reperisce due accessi venosi 16. Si esegue inoltre il monitoraggio con ECG, SpO2 e NIBP.

Alle 22.52 visto che, il sanguinamento continuava (1500), la paziente riferiva senso di ripienezza vaginale e urgenza minzionale, la fuoriuscita di coaguli e di materiale

placentare viene effettuata Eco TA che evidenzia un'inversione uterina di I grado. Vengono immediatamente allertati i ginecologi e gli anestesisti reperibili. Allertamento e richiesta di sangue e plasma al centro trasfusionale.

Si avvia anche TEG due canali (kaolino e FF) ed invio esami urgenti.

Alla paziente viene somministrato 1gr di acido tranexamico e 3000 u.i. di ATIII. Si effettua infusione di RL e riscaldamento con termocoperta ad aria. La paziente viene a questo punto sedata e si procede a IOT. Reperimento ed incanalamento di arteria radiale con monitoraggio della PA: cruenta, ega nella norma con Hb= 6.4.

Alle 23.00 arrivo dei reperibili con situazione di perdita ematica pari a 2500 ml.

Nel frattempo si somministrano tre sacche di globuli rossi concentrati GRC 0 NEG presenti in deposito nella nostra emoteca per emergenze. (tempo prolungato per l'arrivo del sangue dal centro trasfusionale). I valori del TEG che è stato effettuato sono sostanzialmente buoni:

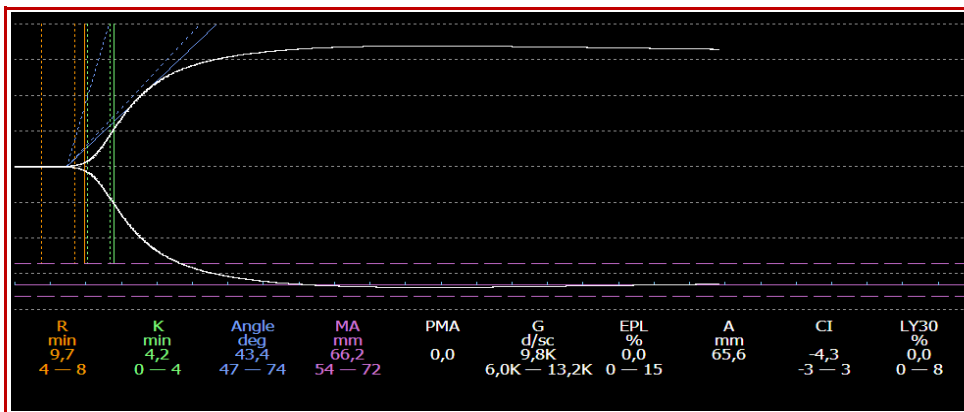


Fig.23: tracciato ottenuto con Kaolino

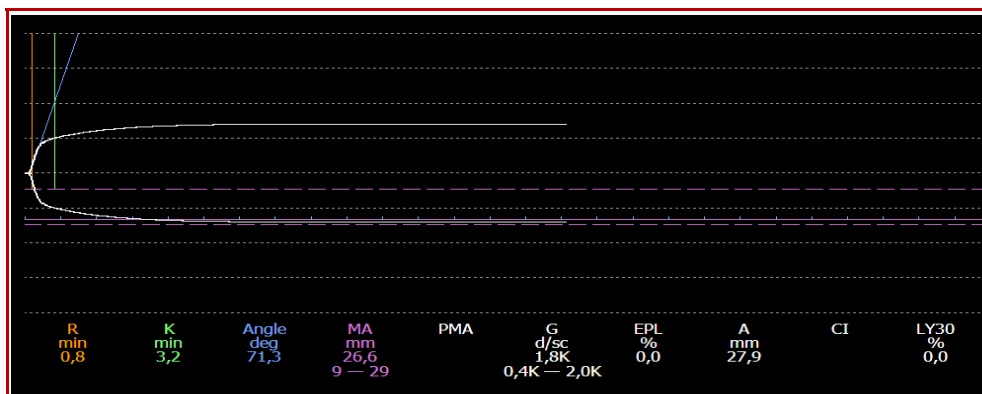


Fig.24: tracciato eseguito con l'aggiunta di fibrinogeno funzionale. Il test con fibrinogeno funzionale usa fattore tissutale ed inibitore piastrinico (abciximab), permette di eliminare la parte piastrinica dell'MA e vedere solo il fibrinogeno.

La terapia che viene quindi impostata è la seguente:

- Somministrazione di sevoflurane Fe 3% (1-5%)
- Correzione manuale dell' Inversione sotto guida ecografica
- Revisione della cavità uterina, posizionamento di Bakri balloon e tamponamento stipato in vagina
- Arresto dell' emorragia (3000 ml totale)

Arrivano gli esami urgenti con Hb 5.9 (11.6), Plt 190000 (254000).

All' Arrivo del materiale dal centro trasfusionale è stata somministrata una ulteriore sacca di sangue, visti i tracciati teg non si somministra plasma.

Ripetizione di TEG con Kaolino e FF con valori sostanzialmente analoghi ai precedenti  
Monitoraggio notturno in ambiente protetto c/o l' area critica della Anestesia e Rianimazione 3.

### ***Discussione del caso:***

Vi è accordo sul fatto che quando si verifichi una perdita del 30% o più del volume di sangue circolante, si renda necessaria la trasfusione di sangue per mantenere un adeguato delivery di O<sub>2</sub> ai tessuti.

Il delivery dell'O<sub>2</sub> è funzione sia del cardiac output che del contenuto di ossigeno:

$O_2 \text{ content} = \text{saturazione di } O_2 \% \times Hb \times 1,34$

Quando l'emorragia è importante, avere disponibilità veloce di sangue può salvare la vita:

tutte le unità di ostetricia dovrebbero infatti avere delle unità di O NEG immediatamente disponibili dato che il sangue di un gruppo specifico e il sangue completamente abbinato richiedono un'ora per essere preparati.

Recentemente è cambiata l'opinione riguardo a quale sia il livello ottimale di ematocrito o di concentrazione di emoglobina. Tradizionalmente, l'obiettivo è il raggiungimento di un ematocrito del 30% ed una concentrazione di Hb di 10g/dl. Comunque vi sono evidenze sempre maggiori che concentrazioni di Hb inferiori a 7g/dL sono ben tollerate

in soggetti sani e normovolemici. Un più basso livello di ematocrito riduce la viscosità del sangue, aumenta il cardiac output e migliora l'ossigenazione tissutale.

Le linee guida odierne affermano che la trasfusione di RBC è scarsamente richiesta nel caso di livelli di Hb > 10 g/dL e quasi sempre necessaria nel caso in cui sia < 6g/dL. A concentrazioni intermedie, la richiesta di trasfusioni dipende dalla situazione clinica del soggetto. Durante l'emorragia post partum, la concentrazione dell'Hb cambia rapidamente e la richiesta di ossigeno nel peripartum è maggiore che nelle non partorienti. Così, sembra prudente puntare il livello superiore del range raccomandato di concentrazioni di emoglobina.<sup>40</sup>

La trasfusione di plasma non è molto utilizzata in ambito ostetrico. Il plasma fresco congelato (FFP) dovrebbe essere usato solo nel caso di emorragie massive o per ripristinare una situazione di normalità nel caso in cui ci sia un deficit di fattori della coagulazione. Sia il FFP che le piastrine sono indicate solo in caso di deficienza di fattori della coagulazione associata a sanguinamento importante e/o in caso di DIC. Tuttavia la presenza di DIC senza l'evidenza di un sanguinamento non pone indicazione all'uso di FFP.<sup>41</sup>

L'uso del tromboelstogramma ha permesso, in questo caso, di evidenziare che, nonostante l'emorragia in atto, l'assetto coagulativo della paziente era nella norma. Conseguentemente a ciò, i medici hanno evitato la somministrazione di plasma fresco, procedendo alla sola trasfusione con emazie.

## ***4.2 Uso della tromboelastografia nella sepsi***

### ***Fisiopatologia della sepsi***

La definizione di sepsi è stata messa a punto durante due Consensus Conferences. La prima, nel 1992, stabilì il concetto di risposta infiammatoria sistemica (SIRS), riconoscendo che l'alterazione fisiopatologica potesse essere presente anche in assenza di emocolture positive. I criteri per la diagnosi di SIRS sono i seguenti:

Criteria for the Systemic Inflammatory Response Syndrome, Adapted from the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine

Consensus Conference:

Two or more of the following are required:

- 1) Body temperature  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  or  $\leq 36^{\circ}\text{C}$
- 2) Heart rate  $\geq 90$  beats per minute
- 3) Respiratory rate  $\geq 20$  breaths per minute or arterial CO<sub>2</sub> tension less than 32 mm Hg or a need for mechanical ventilation
- 4) White blood count greater than 12,000/mm<sup>3</sup> or  $\leq 4000$ /mm<sup>3</sup> or  $\geq 10\%$  immature forms

Sepsis represents SIRS, which has been induced by an infection.

La sepsi rappresenterebbe quindi una SIRS indotta da infezione. Per sepsi severa si intenderebbe invece una sepsi in cui si verifichi la disfunzione di uno o più sistemi dell'organismo, mentre, lo shock settico è una condizione di sepsi severa associata all'ipotensione.

Nel 2001 la International Sepsis Definitions Conference modificò il modello della SIRS, sviluppò e ampliò, inoltre, il concetto di sepsi.

Questa conferenza propose un modello di stadiazione per la sepsi basato su quattro diverse caratteristiche designate dall'acronimo PIRO. P sta per predisposizione, indicando con questa la precedente esistenza di comorbidità, che potrebbero ridurre la sopravvivenza. La lettera I indica l'insulto dell'infezione, che riflette il fatto che alcuni microrganismi sono riconosciuti come più letali rispetto ad altri. R rappresenta la risposta all'infezione da parte dell'ospite, incluso lo sviluppo di una SIRS. E l'ultima

lettera, la O, indica la disfunzione d'organo e include anche l'insufficienza d'organo così come l'insufficienza di un sistema come ad esempio il sistema della coagulazione (emostatico).<sup>42</sup>

La sepsi rappresenta la manifestazione clinica di un disequilibrio nella risposta infiammatoria, secondaria ad una sospetta o confermata infezione batterica, virale, fungina o parassitaria.

Questa risposta infiammatoria comprende l'attivazione del sistema immunitario innato ed adattativo, con il conseguente rilascio di una notevole quantità di citochine sia anti infiammatorie che infiammatorie. Questo rilascio di citochine porta, in ultima analisi, all'attivazione della coagulazione con la successiva inibizione della fibrinolisi. Un'incontrollata attivazione della coagulazione può condurre ad alterazione del sistema coagulativo fino alla condizione di coagulazione intravascolare disseminata (DIC) , che contribuisce alla disfunzione d'organo ed al peggioramento della prognosi.<sup>43</sup>

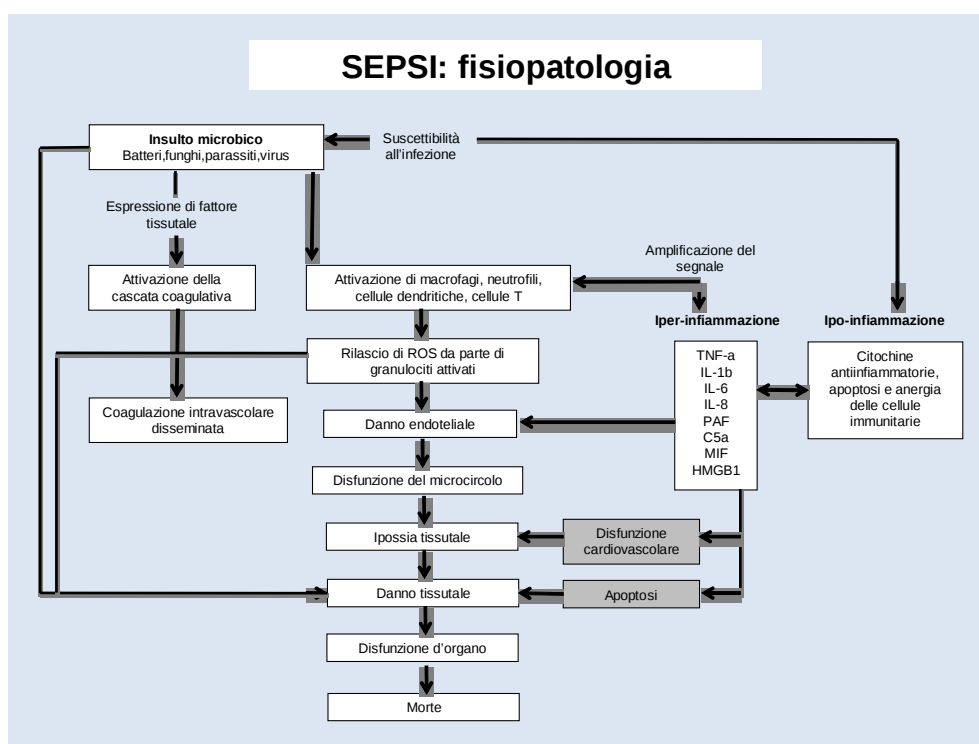


Fig. 25: rappresentazione schematica della fisiopatologia della sepsi.



### ***sepsi ed emostasi:***

La risposta dell'ospite nei confronti di un microrganismo prevede il coinvolgimento sia di mediatori solubili ( mediatori di flogosi e della cascata coagulativa) sia di cellule ( monociti, neutrofilo, cellule endoteliali e piastrine) . Normalmente la risposta dell'ospite riesce nel contenere ed eliminare l'agente patogeno. Quando eccessiva o aberrante la risposta dell'ospite può rivoltarsi contro lo stesso portando all'insufficienza multi organo.

Per sepsi si intende una risposta infiammatoria sistemica, da parte dell'organismo, ad un'infezione, per sepsi severa si intende invece la sepsi associata alla disfunzione d'organo. La sepsi severa risulta invariabilmente associata all'attivazione sia dell'emostasi primaria ( le piastrine) che dell'emostasi secondaria ( fattori solubili della coagulazione).<sup>44</sup>

Nella pratica clinica, nel paziente settico si assiste alla comparsa di trombocitopenia, associata ad uno stato di ipercoagulabilità, a seguito dell'attivazione sia dell'emostasi primaria che secondaria.<sup>45</sup>

L'attivazione dell'emostasi primaria è associata a trombocitopenia in una percentuale variabile dal 35-59%. L'attivazione dell'emostasi secondaria, si manifesta con l'aumento dei livelli di D dimero in quasi tutti i pazienti con sepsi, con riduzione della proteina C in circa il 90% dei pazienti e con riduzione dell' ATIII in più della metà dei pazienti.

Per quanto riguarda invece la comparsa di coagulazione intravascolare disseminata, invece, questa è stimata attorno al 15-30% di pazienti con sepsi severa inclusi pazienti in shock settico. <sup>44</sup>

Per quanto riguarda la comparsa di trombocitopenia questa sembra avere diverse possibili cause:

1. pseudo trombocitopenia
2. meccanismi immunomediati
3. adesione delle piastrine all'endotelio
4. ematofagocitosi: ovvero la fagocitosi di eritrociti da parte di cellule dell'immunità quali monociti, macrofagi.
5. consumo in corso di coagulazione intravascolare disseminata
6. trombocitopenia eparina indotta

#### 7. diluizione in pazienti sottoposti a trasfusioni

la trombocitopenia è associata ad una più alta mortalità e si presenta solitamente nel giro di poche ore ed entro pochi giorni dal ricovero in UTI.<sup>46</sup>

L'interazione tra leucociti attivati e le cellule endoteliali porta ad un sequestro piastrinico, quindi ad un'aumentata distruzione (trombocitopenia da consumo) dovuta all'attivazione piastrinica. Le rimanenti piastrine vengono invece attivate come risposta all'evento settico: rilasciano mediatori della flogosi e partecipano al processo stesso.<sup>47</sup>

In corso di sepsi vi sarebbe, oltre ad un'alterazione quantitativa, anche un'alterazione qualitativa a carico delle piastrine. Queste dimostrerebbero infatti, una diminuita aggregabilità e una riduzione della produzione di VEGF e ciò testimonia che nella sepsi anche non complicata, vi è un'alterazione della funzione piastrinica, presente anche in assenza di altre anomalie coagulative.

Lo stato di ipercoagulabilità è collegato a diversi fattori:

1. attivazione dell'endotelio
2. attivazione piastrinica
3. TF espresso nei monociti e nell'endotelio
4. riduzione degli anticoagulanti normali
5. immobilità
6. distruzione dell'integrità della parete dei vasi

L'ipercoagulabilità è il risultato dello spostamento dell'emostasi verso uno stato pro coagulante, ovvero verso l'attivazione piastrinica, l'attivazione della cascata coagulativa, e la soppressione dei fattori anticoagulanti naturali. Questo porta a formazione di trombina, deposizione di fibrina, consumo dei fattori della coagulazione e in casi estremi a DIC.

In aggiunta all'aumentata produzione di trombina si ha anche una riduzione della rimozione dovuta alla depressione dell'attività del sistema fibrinolitico. Il fattore tissutale gioca un ruolo fondamentale nell'attivazione della coagulazione da parte dell'infiammazione.<sup>48</sup>

Riguardo a quelle che sono le alterazioni dell'emostasi, in corso di sepsi, è stato condotto uno studio presso il reparto di rianimazione IV dell'ospedale Cisanello di Pisa. In questo studio è stata eseguita la misura dei livelli di attività dell'endotossina (EAA Spectral Diagnostics Toronto ), su 10 pazienti ammessi in UCI, con diagnosi di sepsi/sepsi severa/ shock settico da gram negativi, e si è andati a valutare la relazione tra i livelli di EAA ed i parametri della coagulazione.

I campioni di sangue periferico, vengono presi ad ogni paziente, all'ammissione in ICU. Al terzo giorno di degenza in UCI, ed al settimo giorno. Vengono, quindi, valutati livelli di EAA , la conta piastrinica, il TEG (thromboelastographic test usando TEG, Hemoscope Corporation, Skokie, IL), PAI-1, fattore di Von Willebrand, F VII, ATIII, fibrinogeno, D-dimero.

Inoltre, è stato eseguito esame tromboelastografico, con acido arachidonico per indurre l'aggregazione delle piastrine. L'obiettivo, che si poneva tale studio, era quello di comprendere la correlazione tra questi parametri e, rispetto alla mortalità a 28 giorni dall'ammissione in ICU.

Dallo studio è emerso una riduzione dell'attività dell'ATIII ( valore medio = 77,13% ; range = 49-105% ; n.v = 80-120% ), del CI del TEG ( mean -3,43 ; range = -8,1-1,8 ; n.v = -3 - +3 ) ed una riduzione dei livelli di D-dimero ( valore medio = 2,39 mg/ml ; range 0,2-13,3 mg/ml ; n,v = 0,22-0,74 mg/ml ) ; valori, questi, che supportano l'ipotesi di un'attivazione della coagulazione, fino ad una non palese condizione di DIC.

I pazienti che erano affetti da trombocitopenia all'ingresso, mostravano un tasso di mortalità del 50%, mentre i pazienti non affetti da trombocitopenia mostravano un tasso di mortalità del 20%.

Nei pazienti sopravvissuti ( n =5 ), il CI del TEG aumentava dal primo giorno al terzo ( valore medio da -4.0 a 0.5 , p = 0,016) . I livelli di fattore VII correlavano con i livelli di EAA ( R = 0,78, p < 0.02 ). Le variazioni di ATII sono correlate negativamente con le variazioni di EAA ( R = 0,98, p= 0,05 )

Infine è emerso che, i livelli di PAI-1 all'ammissione, erano generalmente più alti nei pazienti che poi non sopravvivevano (13,1 UI/ml) , rispetto che nei pazienti sopravvissuti (8,1 UI/ml).

I dati che emergono da questo studio , mostrano pertanto, un pattern caratterizzato dall'ipocoagulabilità , nella prima fase del processo settico, seguito poi da un aumento

del valore di CI, talvolta anche al di sopra dei valori normali, in particolar modo in quei pazienti che sopravvivevano, confermando, pertanto, ciò che era stato dichiarato da Duadel et.al.

Il decremento in numero delle piastrine, ed anche il peggioramento del funzionamento delle piastrine, può probabilmente spiegare in parte, le alterazioni nell'emostasi tipiche della sepsi. Sono, pertanto, necessari più studi, al fine di capire il grado di disfunzione piastrinica, ed i pattern molecolari che potrebbero essere coinvolti in questa. Tuttavia, ciò risulta difficoltoso, in quanto, i tradizionali mezzi per lo studio della funzione piastrinica richiedono, al minimo,  $200 \times 10^3$  plts/ml, che sono ottenibili raramente nel paziente settico. Pertanto la tromboelastografia potrebbe realmente essere d'aiuto nel risolvere questo problema, anche se, il test con aggregazione piastrinica indotta dall'acido arachidonico è risultato nella norma quando applicato.

## Caso clinico 1:

Paziente con shock settico conseguente a mediastinite da KPC

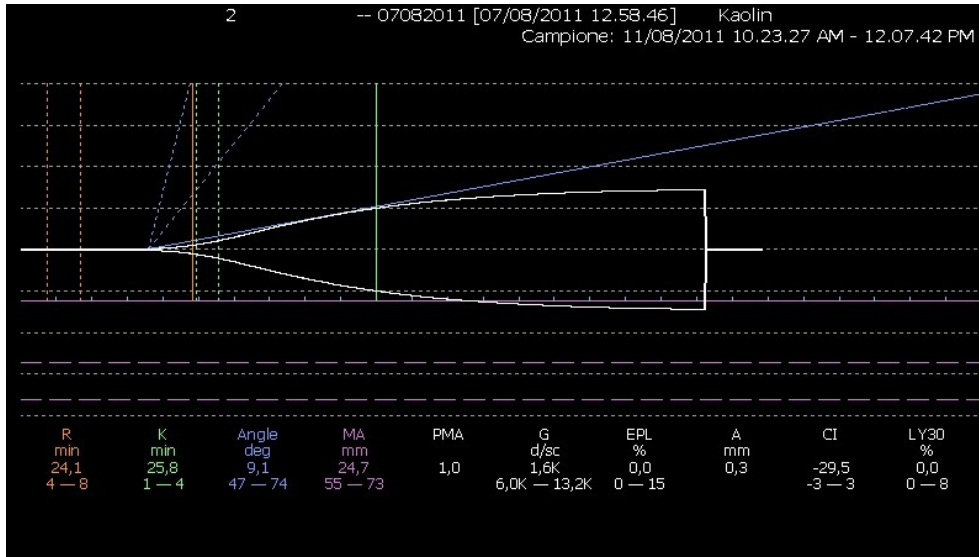


Fig. 25: tracciato tromboelastografico in paziente con shock settico e conseguente coagulopatia.

Il tracciato tromboelastografico mostra una condizione di ipocoagulabilità.

- R = 24,1 ( v.n tra 4-8 ). L'aumento del valore di questo parametro, indica una condizione di ipocoagulabilità. Può essere dovuto ad una carenza di fattori come ad una terapia con eparina.
- K= 25,8 (v.n tra 1-4) . L'aumento di questo parametro indica una ridotta velocità di formazione del coagulo.
- Alpha angle= 9,1 ( v.n. tra 47-74 ). Il valore di alpha angle è ridotto, il che indica una riduzione sia nelle piastrine che nel fibrinogeno.
- MA= 24,7 (v.n tra 55 e 73,9). Il valore di MA significativamente ridotto indica una ridotta forza del coagulo.
- CI= -29,5 (v.n tra -3 e +3). Tale parametro ci permette di valutare in toto la formazione del coagulo e ci indica, in questo caso, una condizione di ipocoagulabilità.

Al paziente è stato somministrato un concentrato piastrinico, plasma fresco congelato (20ml/kg) , desmopressina 20MCG e tranex in dose di 4 gr. Viene nuovamente somministrato PFC in dose di 10ml/kg e ripetuto il TEG.

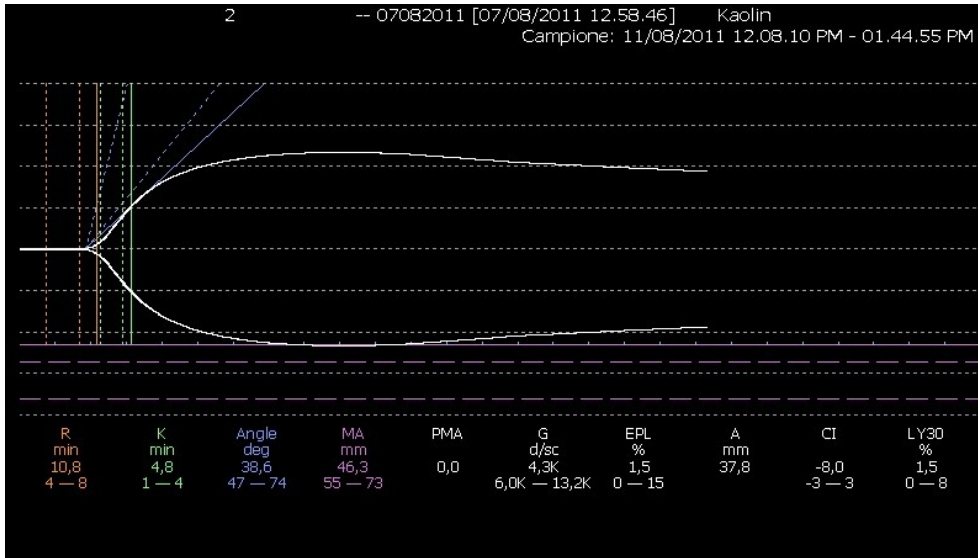


Fig. 26: tracciato tromboelastografico del paziente ripetuto in seguito a terapia.

Il tracciato tromboelastografico ottenuto mostra un miglioramento dei valori dei parametri.

- R= 10,8. il valore di R si è ridotto rispetto al valore iniziale.
- K = 4,8
- Alpha angle= 38,6
- CI= -8,0
- LY30% = 1,5 %

### **Discussione del caso:**

Al paziente è stato somministrato concentrato piastrinico. In pazienti con sepsi severa è ,infatti, suggerito che vengano profilatticamente trasfusi concentrati piastrinici,

quando la conta piastrinica sia al di sotto di un valore di  $10000/\text{mm}^3$ , anche in assenza di sanguinamento evidente, così come in presenza di una conta piastrinica  $< 20000/\text{mm}^3$ , se vi è un significativo rischio di sanguinamento. Le linee guida per la trasfusione di piastrine sono derivate dal parere di consenso e dall'esperienza di pazienti con trombocitopenia indotta da chemioterapia. Pazienti con sepsi severa hanno, infatti, una riduzione di della produzione di piastrine simile a quella indotta da chemioterapici, ma hanno anche una aumentato consumo delle piastrine. Le raccomandazioni tengono di conto dell'eziologia della trombocitopenia, dell'alterata funzione piastrinica, del rischio di sanguinamento e di malattie concomitanti. Fattori che indicano un aumentato rischio di sanguinamento sono presenti in pazienti con sepsi severa, la sepsi stessa è, infatti, considerata un fattore di rischio. Altri fattori sono: temperatura corporea superiore ai 38 gradi centigradi, rapida riduzione della conta piastrinica, recenti emorragie minori, ed altre anomalie della coagulazione.

A riguardo della terapia con plasma fresco, anche se, non vi sono studi clinici che abbiano stabilito quale sia l'impatto di trasfusioni con plasma fresco congelato, sull'outcome dei pazienti in condizioni cliniche critiche, diverse organizzazioni professionali hanno raccomandato il suo utilizzo per trattare la comparsa di coagulopatia. Questo viene raccomandato, qualora ci sia una documentata deficienza di fattori della coagulazione ( aumentato tempo di protrombina, INR , o aPTT) e in presenza di sanguinamento attivo, o prima di eseguire procedure chirurgiche.

È stata somministrata desmopressina in quanto la terapia con vasopressori è raccomandata al fine di mantenere la perfusione per trattare, quindi, l'ipoperfusione, che comporta un rischio per la vita del paziente, anche quando l'ipovolemia non sia ancora stata risolta. L'obiettivo della terapia con vasopressori è inizialmente un valore di pressione arteriosa media (MAP) pari a 65mmHg. Ad ogni modo il valore di MAP da raggiungere dovrebbe essere individualizzato, dato che è maggiore per pazienti con aterosclerosi e/o precedente ipertensione che in pazienti giovani senza patologie cardiache concomitanti. Un adeguata terapia con fluidi è un aspetto fondamentale nella gestione di pazienti con shock settico e, idealmente, dovrebbe essere completata prima di usare farmaci vasopressori o ionotropici. Comunque, l'uso precoce di vasopressori ,come misura d'emergenza in pazienti con shock settico severo, è spesso necessario come nel caso in cui, la pressione diastolica sia bassa. [surviving sepsis campaign:

International guidelines for management of severe sepsis and septic shock:2012 ; Dellinger, Mitchell,Rhodes, critical care medicine; febbraio 2013; volume 41, numero 2 ]

Caso clinico 2:

Paziente con sepsi

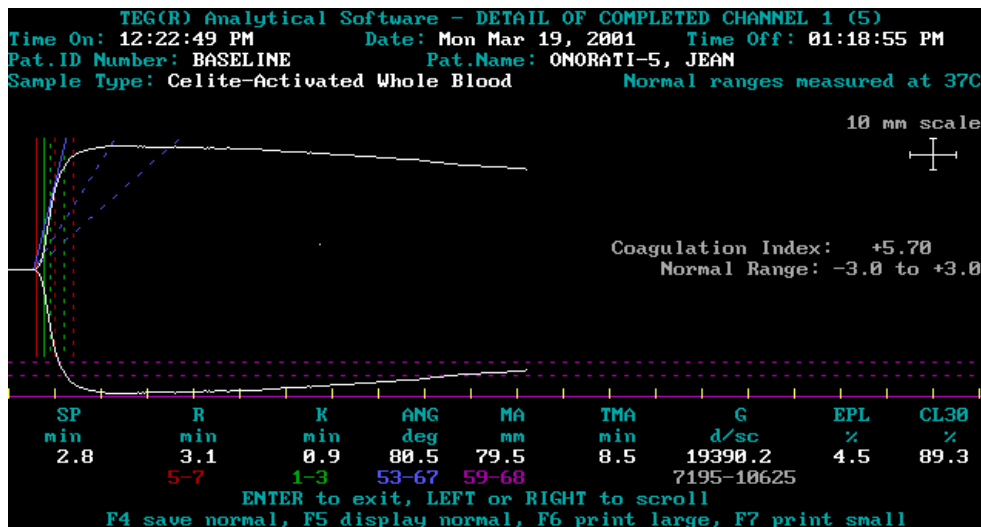


Fig. 27: tracciato tromboelastografico in paziente con sepsi e conseguente coagulopatia.

Il tracciato tromboelastografico mostra una situazione di tendenza all'ipercoagulabilità. I parametri R e K sono infatti ridotti ( con valori di 3,1 e 0,9 rispettivamente) , mentre l'MA e l'alpha angle risultano aumentati ( con valori di 79,5 e 80,5). Dal tracciato emerge inoltre una tendenza all' iperfibrinolisi, in quanto il valore di CL30 è considerevolmente aumentato.

È quindi possibile dedurre da questo tracciato, che vi sia uno stato di ipercoagulabilità, conseguente sia ad un'attivazione eccessiva dell'emostasi primaria ( componente piastrinica ) , sia all'attivazione della cascata coagulativa ( componente enzimatica ).

La paziente è già in sala operatoria, per l'esecuzione di intervento di by-pass aorto coronarico, quando medici vengono informati dello stato pro trombotico. La paziente viene quindi rivalutata, ed emerge uno stato di sepsi. Viene quindi trasferita in reparto ,



dove si esegue terapia con antibiotici e LMWH per ridurre la probabilità di evento ischemico.

Alcuni giorni dopo viene nuovamente ripetuta l'analisi con TEG:

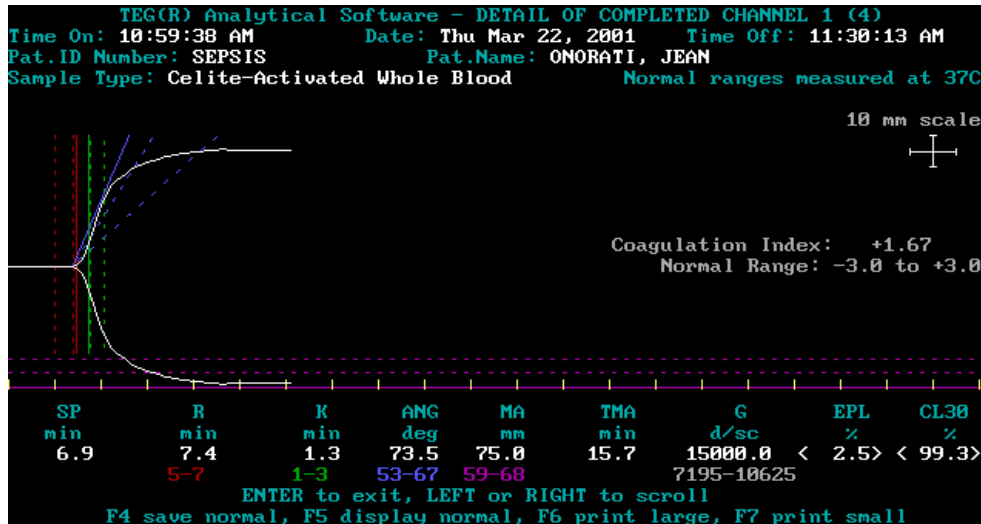


Fig. 28: tracciato tromboelastografico della stessa paziente eseguito in seguito a terapia con antibiotici ed eparina.

Il valore del parametro R è aumentato, il valore di MA è sempre al di sopra del range di valori normali, ma comunque in calo rispetto al valore precedente ed il CI è invece tornato nella norma.

Si può quindi dedurre che la paziente mostra un lieve stato pro-trombotico ( in quanto il valore MA è ancora sopra alla norma), sicuramente inferiore a quello che presentava prima dell'inizio della terapia. Si può quindi ritenere sicuro il procedere alla chirurgia. Viene, così, eseguito l'intervento di by-pass aorto coronarico (CABG) senza che si verificano complicanze per anomalie dell'emostasi.

La sovrapposizione dei due tracciati mostra i cambiamenti che si sono verificati nell'assetto emostatico del paziente in seguito alla terapia

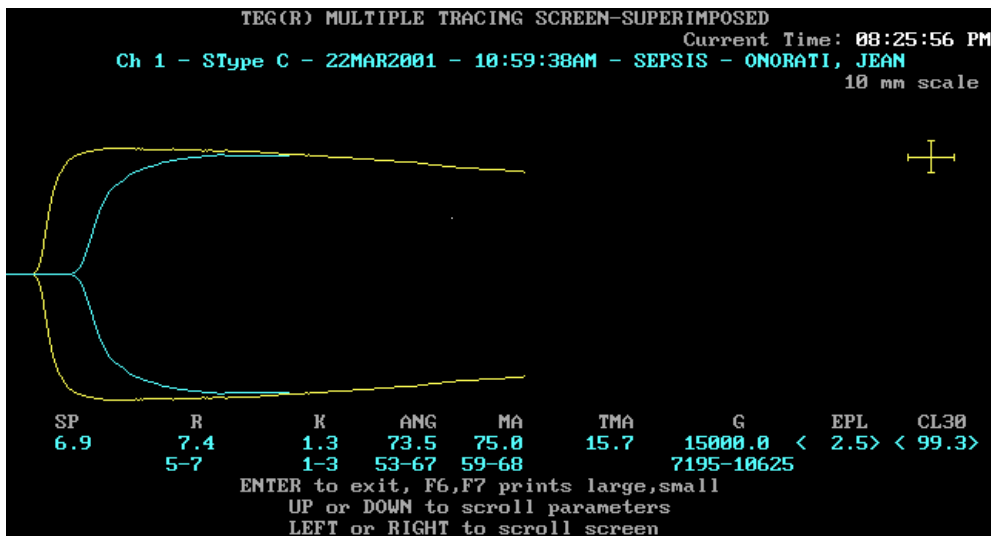


Fig. 29: sovrapposizione dei due tracciati eseguiti nella paziente che mostra il cambiamento ottenuto nell'assetto coagulativo.

In questo caso, l'analisi tromboelastografica ha permesso di identificare uno stato di ipercoagulabilità, che ha indotto i medici a rivalutare la paziente ed instaurare un'adeguata terapia e controllo dell'emostasi prima di procedere con la chirurgia.

### ***4.3 Utilizzo della tromboelastografia nel politrauma***

Il trauma rappresenta un importante problema sanitario a livello globale, si rende infatti responsabile di, approssimativamente, una morte ogni dieci in tutto il mondo.<sup>49</sup>

Il trauma comporta 5 milioni di morti ogni anno, di cui un milione, avvengono in Europa. Quasi il 50% delle morti legate a trauma interessano persone con età compresa tra i 15 ed i 44 anni.<sup>50</sup>

#### ***patogenesi del sanguinamento e della coagulopatia in corso di trauma:***

L'emorragia massiva è la causa preponderante di mortalità legata a al trauma, ed in ambito preospedaliero, la più frequente causa di morte , dopo i danni a carico del sistema nervoso centrale. Inoltre, il sanguinamento incontrollato è la principale causa di morte in ambito ospedaliero nelle prime 48 ore dall'arrivo.

La coagulopatia, quando si presenta in associazione all'ipotermia e all'acidosi metabolica, è associata con alta mortalità ed è la principale causa di mortalità legata a sanguinamento nel primo periodo post operatorio.<sup>51</sup>

I difetti della coagulazione che si riscontrano in pazienti con trauma hanno origine complessa. La natura multifattoriale della coagulopatia in corso di trauma comprende diversi fattori tra cui l'emodiluizione, l'ipotermia, il consumo dei fattori e i disordini metabolici.<sup>52</sup>

Le principali cause di coagulopatia in corso di trauma sono:

- *Diluizione dei fattori della coagulazione*
- *Ipotermia* che a sua volta determina:
  - Rallentamento del funzionamento degli enzimi coinvolti nella coagulazione
  - Disfunzione piastrinica
  - Aumentata fibrinolisi
- *Trauma*
  - Trauma cranico- coagulazione intravascolare disseminata
- *Condizioni sottostanti:*
  - Emofilia

Malattia di Von Willebrand

Malattie epatiche

Warfarin<sup>53</sup>

- *Schock*
- *Acidosi*
- *infiammazione*

*Diluizione dei fattori della coagulazione:* sembra ovvio che, se vengono somministrati una gran quantità di fluidi o di RBC al paziente, i suoi fattori della coagulazione verranno diluiti.<sup>54</sup> Nei pazienti che hanno subito un trauma la situazione comunque, è più complessa. I fluidi possono passare nello spazio extravascolare, le proteine plasmatiche continuano ad essere prodotte e i fattori della coagulazione vengono consumati. Alcuni studi hanno dimostrato che la diluizione, spesso non è un problema fino a che non al paziente viene dato un volume di sangue pari a quello normalmente presente nel suo organismo ( 10 o 12 unità di RBC)

*Ipotermia:* i pazienti con trauma sono predisposti allo sviluppo di ipotermia. Potrebbero essere, infatti, rimasti a lungo in ambiente aperto, ed essere quindi in ipotermia già all'arrivo in ospedale. Inoltre le emazie concentrate vengono mantenute a 4 gradi centigradi, quindi, l'infusione di un'unità di emazie concentrate può ridurre di 0,25 gradi centigradi la temperatura corporea. L'infusione di fluidi, a temperatura ambiente, può ridurre la temperatura corporea del paziente di 0,5 gradi centigradi per ogni litro infuso. L'esposizione dei visceri durante la chirurgia può condurre ad un profondo raffreddamento del paziente.

L'ipotermia ha importanti effetti sul sistema della coagulazione, i quali sono associati con il sanguinamento. <sup>53</sup>

Il processo coagulativo consiste in multiple reazioni enzimatiche, che sono temperatura dipendenti, e funzionano in maniera ottimale a 37 gradi centigradi. Il deleterio effetto dell'ipotermia sulla coagulazione nel trauma è stato ben documentato. È stato osservato che, qualora si verifici assieme all'acidosi metabolica, può aumentare il tasso di mortalità fino al 90%. In sintesi, l'ipotermia ostacola la formazione di trombina e la formazione del tappo piastrinico, come anche la formazione del coagulo definitivo ed

allo stesso tempo aumenta la lisi del coagulo, comportando coagulopatia e sanguinamento incontrollato.

I test di routine di solito sottovalutano la coagulopatia presente in corso di trauma, se presente anche ipotermia, e questo dovrebbe essere preso in considerazione quando si interpretano i risultati e si corregge la coagulopatia.<sup>50</sup>

*Trauma:* il fattore chiave che stimola la coagulazione è il trauma tissutale. L'esempio più esplicativo è il trauma cranico.

I pazienti con gravi danni cerebrali hanno spesso una severa riduzione dei livelli di fibrinogeno, causata dall'esposizione del tessuto cerebrale, ricco di tromboplastina, al flusso sanguigno. Anche se non in maniera così eclatante, come nel caso del danno cerebrale, anche altri tipi di gravi traumi, che si associano ad estesi danni tissutali, possono condurre alla comparsa di una condizione di coagulazione intravascolare disseminata.

*patologie sottostanti:* il trauma non è ristretto soltanto a persone sane. Pazienti con sottostanti patologie e difetti della coagulazione possono andare incontro a trauma e tendono ad avere un peggior outcome.

I pazienti emofiliaci possono avere impressionanti perdite ematiche quando vanno incontro a lesioni. Un problema che sta rapidamente aumentando, è quello dei pazienti che assumono terapia anticoagulante. Le indicazioni per terapia anticoagulante a lungo termine stanno aumentando e così, anche nell'ambito dei pazienti che vanno incontro a trauma, un numero crescente di questi assume terapia anticoagulante.

Pazienti con malattie epatiche, costituiscono casi particolarmente complessi ed hanno un significativo aumento della mortalità in corso di trauma, in parte a causa dei loro sottostanti problemi nell'assetto coagulativo. I pazienti con malattia epatica hanno trombocitopenia ed evidenza di disfunzione piastrinica. La malattia epatica è la principale causa di iperfibrinolisi primaria, indotta da una diminuzione dei livelli plasmatici di inibitori della fibrinolisi e di una ridotta clearance della plasmina.<sup>53</sup>

*Shock:* lo shock di per se sembra essere uno dei driver principali della precoce coagulopatia. C'è una associazione dose-dipendente tra la severità dell'ipoperfusione

tissutale e il grado di coagulopatia all'ammissione, misurata tramite il tempo di protrombina e il tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT).

*Acidemia:* l'acidemia è un evento comune nel trauma, tipicamente prodotta da stati di shock a basso flusso e da eccesso di acido cloridrico, somministrato durante la rianimazione. L'acidemia di per sé riduce la funzione delle proteasi plasmatiche. L'attività dei complessi dei fattori della coagulazione sulla superficie delle cellule è marcatamente ridotti in un ambiente acido, in modo tale che, l'attività del complesso FXa/Fva è ridotta al 50% ad un livello di pH=7.2.

L'induzione dell'acidemia a causa dell'infusione di acido cloridrico porta al prolungamento di tempo di formazione del coagulo e riduzione della forza del coagulo. L'acidosi porta, inoltre, all'aumento della degradazione del fibrinogeno.

*infiammazione:* il trauma è un forte induttore dell'infiammazione, e la risposta infiammatoria sistemica è una comune conseguenza delle lesioni gravi. L'attivazione endoteliale ed il danno endoteliale, portano all'attivazione delle cellule e di elementi umorali del sistema immunitario. C'è, quindi, un link importante tra la coagulazione e il sistema infiammatorio. L'attivazione delle proteasi della coagulazione può indurre l'infiammazione, tramite l'attivazione di recettori presenti a livello trans membrana sulla superficie cellulare e l'attivazione del complemento. Le piastrine durante la degranolazione rilasciano anche mediatori lipo fosfolipidici che potenziano la risposta immunitaria tramite l'attivazione dei neutrofili e dell'endotelio. A sua volta, l'attivazione dell'infiammazione può portare a disordini nella coagulazione. I monociti possono esprimere il fattore tissutale e possono aderire alle piastrine nel sito di lesione vasale.<sup>61</sup>

*test di laboratorio comunemente usati ed i possibili vantaggi dell'utilizzo della tromboelstografia:*

La presenza di una coagulopatia è normalmente facile da riconoscere, in un paziente con trauma, tramite una attenta valutazione clinica del sanguinamento in corso, l'esecuzione dell'esame fisico e l'osservazione dello stillo ematico dalle ferite e dalle mucose.<sup>51</sup>

Un'accurata e tempestiva valutazione dell'assetto coagulativo è, tuttavia necessaria, per ottimizzare la gestione della coagulopatia eventualmente presente.

I routinari tests di laboratorio, come il tempo di protrombina (PT) e il tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) sono molto usati, anche se non sono stati sviluppati con il fine di guidare la terapia della coagulopatia.<sup>62</sup>

I normali test usati per valutare la coagulazione mostrano alcuni svantaggi:

- vengono svolti ad una temperatura di 37 gradi centigradi, quindi anche se forniscono un'utile informazione quantitativa riguardo ai fattori della coagulazione, la disfunzione qualitativa dovuta all'ipotermia non viene tenuta di conto. Infatti, il contributo dell'ipotermia a una diatesi emorragica potrebbe essere trascurato sulla base dei test svolti a temperature standard.
- il PT e l'aPTT danno risultati in tempi troppo lunghi, ed inoltre i valori patologici in questi test sono raramente associati con sanguinamenti acuti e clinicamente rilevanti.<sup>51</sup>

al contrario la tromboelastografia/tromboelastometria è in grado di fornire un'accurata e tempestiva valutazione, non solo dell'inizio del processo di coagulazione, ma anche della formazione del coagulo e della stabilità del coagulo. Una serie di reagenti diversi, permettono di valutare diversi aspetti della coagulazione, incluso la stabilità e l'ampiezza del coagulo di fibrina (test FIBTEM).

È stato riconosciuto che, i test definiti come point of care test, offrono una più rapida valutazione dell'assetto coagulativo rispetto ai comuni test di laboratorio.

## Caso clinico:

Donna di 82 anni

anamnesi personale: ipertensione arteriosa e diabete mellito.

Ore 10.30: Incidente bici contro pulmino, in seguito al quale riporta amputazione della gamba sx e viene applicato tourniquet. La paziente viene intubata e trasportata in ospedale tramite elisoccorso. Durante il trasporto si procede alla somministrazione di 3,5L di cristalloidi.

Ore 12:08 arriva in pronto soccorso: la paziente è intubata, trachea in asse, enfisema sottocutaneo collo ed emitorace (snx) . rumore respiratorio ridotto a sx. SpO<sub>2</sub> al 100%. FC= 119 e PA 100/60.

Ore 12.30: vengono posizionati due drenaggi toracici, eseguita eroga analisi che riporta i seguenti valori: pH= 7.24; PO<sub>2</sub>=23,7; PC<sub>2</sub>= 37; BE= -10; Hb= 5.5; lat= 9,6. la pressione arteriosa è scesa a 45/25, e la frequenza cardiaca a 110 bmp. Vengono richieste 6 UGRC, 2000ml di plasma fresco congelato, 1 UPLT.

Inizia trasfusione di tre unità di globuli rossi concentrati 0 negativo. Si somministra anche 2gr di acido tranexamico e 2gr di fibrinogeno.

Ore 13.00: pressione arteriosa a 94/45 e saturazione di O<sub>2</sub> al 100% con frequenza cardiaca a 70. il valore di emoglobina è pari a 6 dopo le tre unità di globuli rossi concentrati 0 negativo. L'eco addome non è diagnostica per meteorismo.

Ore 13.15: al cranio si riporta frattura composta di arco e radice dello zigomatico di destra. Al rachide cervicale evidenza di verosimile rottura traumatica del complesso legamentoso disco vertebrale C3-C4.

Torace e addome e arto inferiore sinistro: diffuso enfisema sottocutaneo collo, emneumotorace sinistro, contusioni multiple, fratture costali multiple alcune a lembo( risparmiate forse solo le ultime due coste) , pneumo mediastino. Radice arto inferiore sinistro vistoso enfisema sottocutaneo e presenza livello idroaereo con liquido che presenta un rifornimento venoso in atto. Frattura alla scapola destra.

Ore 14.00 arriva in rianimazione: i valori di pressione arteriosa sono a 60/45 la FCa 92 ; sPO<sub>2</sub> 100%; T=35;

Emogasanalisi : pH= 7,12; PO<sub>2</sub>=151; (FiO<sub>2</sub>=80%) ; BE=-12; Hb=6,3; lat=13



Vengono quindi somministrati: 2 grammi di tranex; 2 grammi di fibrinogeno; 2 unità di plasma fresco congelato; 6 unità di globuli rossi concentrati ed eseguito TEG.

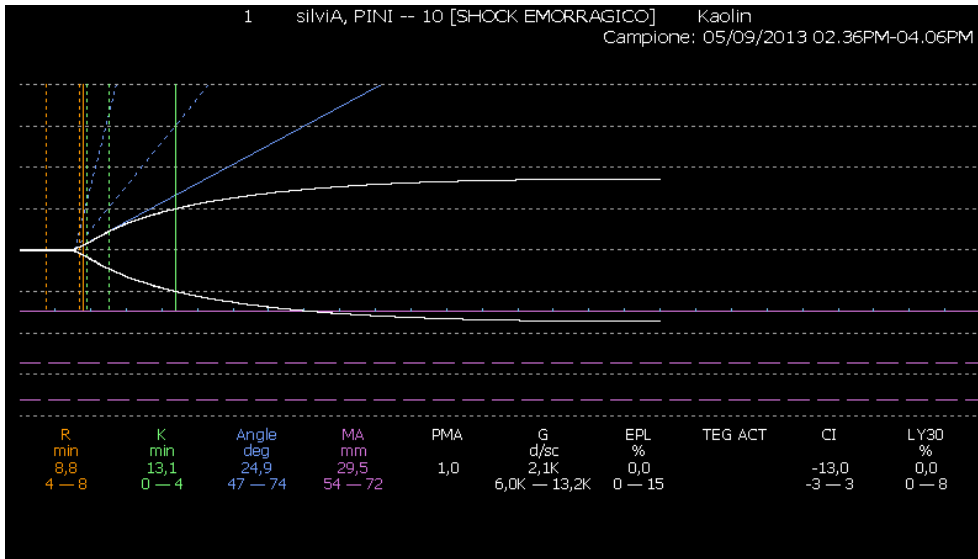


Fig.30 : tracciato TEG eseguito con Kaolino.

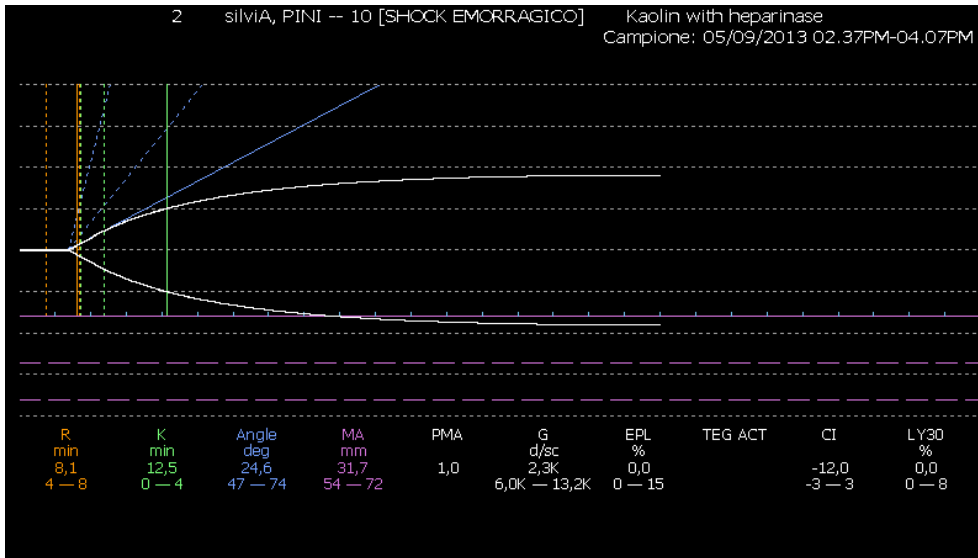


Fig.31 : tracciato TEG eseguito con kaolino ed eparinasi

I tracciati TEG in Fig. 32-33 mettono in evidenza una condizione di tendenza all'ipocoagulazione, come mostrato dal valore del CI= -12,0. L'MA che è, probabilmente l'informazione più importante fornita dal TEG nel trauma, in quanto di da informazioni su piastrine, fibrinogeno, FXIII, in questo caso è al sotto della norma.

Quando si riscontri un valore di MA al di sotto della norma, si ritiene opportuno la somministrazione di fibrinogeno e piastrine.

Alle ore 20.45: rientra dalla sala operatoria dove si è eseguito stabilizzazione della gamba sinistra con fissatori, embolizzazione di 3 diramazioni dell'arteria femorale profonda sinistra. I livelli di PA sono pari a 90/60, Ega: pH=7,24; Hb=8,5; lat= 14. trasfuse in SO altre tre unità di globuli rossi concentrati e due unità di plasma fresco congelato.

Ore 9.00 del giorno seguente: i valori di pressione arteriosa sono 110/60; FC=93; SpO2=97; Ega = pH=7,25; Be = -9; lat = 13; Hb=7,5.

Fino ad ora sono state trasfuse in totale 13 UGRC, 2UPLT, 8 UPFC, 6 gr di fibrinogeno.

L'esame tromboelastografico viene ripetuto e da il seguente tracciato:

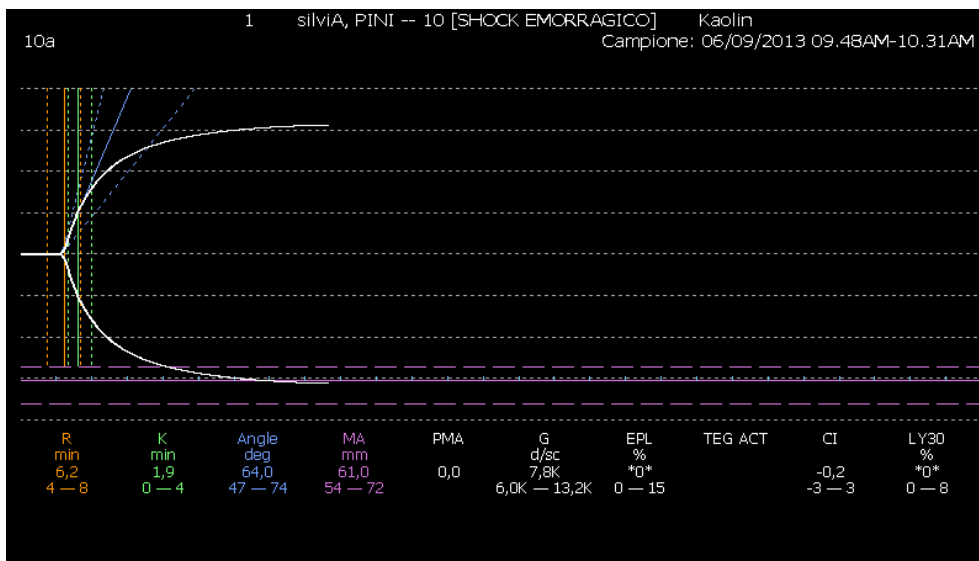


Fig.32 : tracciato TEG eseguito con Kaolino, in seguito a terapia.

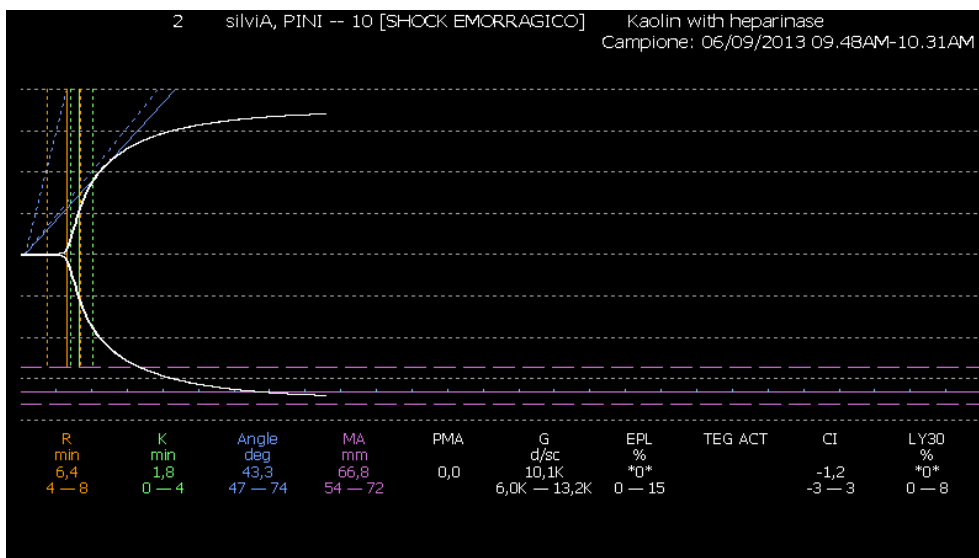


Fig.33 : tracciato TEG eseguito con Kaolino ed eparinasi, in seguito a terapia.

I tracciati in Fig.34-35 mostrano una condizione nella norma. Il valore di MA è infatti aumentato, tornando entro il range di valori, l'R è anch'esso nuovamente nel range, e il CI, che indica la tendenza all'ipercoagulabilità o all'ipocoagulabilità, è nella norma. Il valore di LY30 è pari a zero, che indica assenza di iperfibrinolisi.

Terapia trasfusionale eseguita dell 24 ore:

- 2 gr di tranex
- 13 UGRC
- 2 UPLT
- 8UPFC
- 6 gr di fibrinogeno

### Discussione del caso:

Secondo le recenti linee guida europee è raccomandato iniziare, appena possibile, il monitoraggio dell'assetto coagulativo e la messa in atto di misure per il controllo di eventuale coagulopatia. Il monitoraggio precoce della coagulazione è essenziale per individuare una coagulopatia indotta dal trauma, e per definirne le cause, inclusa l'iperfibrinolisi. Un precoce intervento terapeutico riduce la necessità di trasfusioni di

RBC, plasma fresco congelato e piastrine. Riduce, inoltre, l'incidenza di insufficienza multi organo post trauma, la durata del ricovero in ospedale e potrebbe migliorare la sopravvivenza. È inoltre raccomandato, l'uso dell'acido tranexaminico, come fatto nel caso appena esposto, appena sia possibile, in quei pazienti che stiano sanguinando o abbiano un rischio significativo di sanguinamento, con dose iniziale di 1g infuso in 10 minuti, seguito da un'infusione intravenosa di 1g in 8 ore in 100SF, se il paziente arriva entro tre ore dal trauma.

Dallo studio CRASH-2, eseguito su 20211 pazienti traumatizzati, è emerso che l'acido tranexamico riduce il rischio di morte nel paziente traumatizzato che ha emorragia. Da questo studio emerge, quindi, che l'uso dell'acido tranexamico dovrebbe essere considerato in corso di sanguinamento, nei pazienti traumatizzati.

Risulta raccomandata la somministrazione iniziale di plasma fresco congelato (FFP) o di fibrinogeno in pazienti con rischio di sanguinamento massivo.

L'utilizzo del fibrinogeno, nella terapia del paziente traumatizzato, è di estrema importanza, in quanto è il fattore che viene compromesso per primo, e gioca un ruolo chiave nel processo emostatico. È raccomandata la correzione dei livelli di fibrinogeno qualora siano al di sotto di 1,5-2 gr/L, tenendo conto che 2gr aumentano la fibrinogenemia di 1gr/L. . Viene consigliato l'uso di cri precipitato o di concentrato di fibrinogeno, nel caso in cui, un sanguinamento importante sia accompagnato da risultati tromboelastografici che indichino la presenza di deficit di fibrinogeno funzionale o da livelli plasmatici di fibrinogeno inferiori a 1.5 o 2.0 g/l. è consigliabile una dose iniziale di concentrato di fibrinogeno pari a 3-4 g o 50 mg/ kg di crioprecipitato.

Se il plasma viene somministrato successivamente, è consigliato un rapporto di plasma: RBC pari a 1:2.

Per quanto riguarda la trasfusione con emazie concentrate, sarebbe consigliabile somministrare, ai pazienti a rischio di sanguinamento o con sanguinamento in atto, 3UGRC appena possibile, al fine di ottenere un valore di Hb compreso tra 7 e 9gr/dL e/o Hct>24 (meglio se tra 27-30%).

In pazienti senza importante sanguinamento si dovrebbe evitare la somministrazione di plasma. L'uso del plasma non è scevro di rischi ed è associato ad un'aumentata incidenza di insufficienza multi organo, sindrome da distress respiratorio acuto, infezioni e con un aumento del numero di complicanza all'aumentare del volume di

plasma utilizzato. Come con tutti i prodotti derivati da sangue umano i rischi associati al trattamento con FFP include anche collasso cardiocircolatorio, incompatibilità del sistema ABO, trasmissione di patologie infettive e modeste reazioni allergiche. Il “transfusion related acute lung injury” (TRALI) è un grave effetto avverso associato con la presenza di anticorpi nel plasma trasfuso. La trasmissione di infezioni può essere, tuttavia, ridotta con l’uso di plasma purificato. La conta piastrinica dovrebbe essere mantenuta sotto a  $50 \times 10^9/l$ . L’uso del fattore VII (rFVIIa) è da tenere in considerazione nel caso in cui, vi sia un sanguinamento massivo o una coagulopatia che persiste nonostante un’adeguata terapia e messa in atto delle convenzionali misure d’emostasi.<sup>65</sup> L’utilità del TEG nella gestione del paziente politraumatizzato risiede quindi nella possibilità di sapere in tempi rapidi se il sanguinamento sia dovuto ad una difettosa formazione del coagulo (coagulopatia) o se ad un’eccessiva lisi dello stesso (iperfibrinolisi), o se ad entrambe oppure a nessuna delle due. Queste informazioni possono essere usate per guidare la terapia con sangue ed emoderivati o altri interventi come l’uso di antifibrinolitici. Può essere inoltre usato per prevenire interventi terapeutici inutili. Secondo alcuni studi il riscontro di valori di MA ridotto sarebbe un indice che potrebbe indicare un aumento nella necessità del numero di trasfusioni<sup>66</sup> e un aumento della mortalità.<sup>67</sup>

#### ***4.4 Utilizzo della tromboelastografia in cardiocirurgia***

Gli interventi di chirurgia cardiovascolare vanno ad influire sia sulla cascata della coagulazione che sulla funzione piastrinica. Una revisione della chirurgia, dovuta al sanguinamento, viene eseguita in una percentuale di casi tra il 2% ed il 6% di pazienti che effettuano interventi di chirurgia cardiaca, ed generalmente è associata ad un marcato peggioramento nella prognosi.<sup>68</sup>

Il sanguinamento massivo, la re-esplorazione mediastinica e le trasfusioni di emoderivati allogenici sono stati associati con un aumento della mortalità dopo la chirurgia cardiaca.

Una tempestiva diagnosi ed un rapido trattamento del sanguinamento, sono pertanto importanti per prevenire questi eventi avversi.

##### *Cause di sanguinamento in cardiocirurgia:*

Sono state identificate diverse cause ematologiche dell'aumentata tendenza al sanguinamento che si verifica in questi pazienti.

Queste includono:

- Doppia terapia antiaggregante
- Ridotta formazione di trombina dovuta alla terapia anticoagulante (es: warfarin, dabigatran etc.)
- Ipofibrinogenemia

Inoltre l'eparina residua, l'iperfibrinolisi, un tempo protratto dell'intervento di by-pass cardiopolmonare, una condizione di prolungata ipotermia intra-operatoria contribuiscono ad un anormale sanguinamento in seguito ad interventi di cardiocirurgia.<sup>71</sup>

Ulteriori importanti fattori di rischio, che predispongono al sanguinamento in cardiocirurgia, sono stati identificati ed includono: età avanzata, aumentati livelli di creatinina nel preoperatorio, una ridotta superficie corporea, interventi eseguiti in emergenza, bassa temperatura corporea durante l'intervento, e la durata della circolazione extracorporea.<sup>72</sup>

##### *La circolazione extracorporea ed i suoi effetti sull'emostasi:*

La maggior parte degli interventi di cardiocirurgia vengono eseguiti con l'ausilio della circolazione extracorporea. Questo approccio permette l'arresto cardiaco, eccellente condizione per l'esecuzione di bypass coronarici e sostituzione di valvole cardiache. Il sangue venoso eparinizzato viene drenato per effetto della gravità dalla vena cava ad un reservoir, viene poi arricchito con ossigeno, grazie all'uso di un ossigenatore. La temperatura del sangue può essere aggiustata da uno scambiatore di calore e il sangue viene pompato indietro tramite una cannula, che più spesso è inserita nell'aorta ascendente. La circolazione extracorporea comunque può essere accompagnata da gravi complicanze, la più comune delle quali è il sanguinamento.<sup>73</sup>

Durante la circolazione extracorporea, si verifica una riduzione dei fattori della coagulazione e delle piastrine così come anche una attivazione della fibrinolisi.

Questi cambiamenti nell'emostasi possono essere in parte spiegati dall'emodiluzione a causa della necessità di innescare la circolazione extracorporea.

Ulteriori cause che contribuiscono alla riduzione dei fattori plasmatici della coagulazione sono l'attivazione e la denaturazione delle proteine da parte delle superfici artificiali ed il contatto con bolle d'aria, particolarmente in alcuni tipi di ossigenatori. A causa di questa attivazione dell'emostasi, una continua generazione di trombina può verificarsi durante interventi di bypass cardiopolmonare, nonostante l'eparina come anticoagulante sia applicata in grandi quantità.<sup>74</sup>

L'attivazione del sistema della coagulazione, in particolar modo l'attivazione del fattore XII, si ritiene sia il meccanismo di maggior importanza per l'attivazione della coagulazione durante la circolazione extracorporea. Comunque alcuni studi suggeriscono che la via estrinseca della coagulazione possa essere anch'essa attivata.<sup>68</sup>

Durante gli interventi di bypass cardiopolmonare può essere osservata regolarmente. Si ritiene e che l'iperfibrinolisi sia un fenomeno secondario indotto dall'attivazione dei fattori della coagulazione.<sup>75</sup>

Inoltre durante un bypass cardiopolmonare si osserva spesso una riduzione sia nel numero che nella funzione delle piastrine. In aggiunta all'emodiluzione, per contatto con superfici artificiale del circuito del bypass si verificano, l'adesione, l'attivazione, e la distruzione meccanica delle piastrine.<sup>76</sup>

L'ipotermia è molto usata durante gli interventi di chirurgia cardiaca per prolungare la tolleranza all'ischemia da parte del paziente. Tuttavia, questa ha delle ripercussioni su vari componenti del sistema della coagulazione.

Durante le ultime decadi l'anticoagulante più usato, in questo ambito, è stato l'eparina. In chirurgia cardiovascolare uno dei vantaggi maggiori nell'uso dell'eparina risiede nel fatto che il suo effetto possa essere antagonizzato dall'uso della protamina.

Tuttavia una complicanza, che pone a rischio di vita il paziente, nell'uso della terapia eparinica è la trombocitopenia di tipo II.

In questa malattia l'eparina induce la produzione di anticorpi capaci di attivare le piastrine, portando così alla trombocitopenia.

Come conseguenza dell'attivazione delle piastrine si avrà attivazione della cascata coagulativa e quindi formazione di trombina. perciò tipiche complicanze comprendono la trombosi venosa, embolia polmonare, infarto miocardico, stroke, infarto mesenterico.

### *Monitoraggio dell'assetto coagulativo in cardiochirurgia:*

valutazione preoperatoria:

la valutazione preoperatoria del paziente in cardiochirurgia dovrebbe comprendere la valutazione della sua storia medica. Questo perché spesso i pazienti fanno terapia con antiaggreganti piastrinici, come l'acido acetilsalicilico, clopidogrel, oppure terapie con anticoagulanti orali, o eparina. Inoltre molti altri farmaci come alcuni antibiotici così come malattie concomitanti quali patologie epatiche o renali possono influenzare l'emostasi.

I comuni test come l'aPTT, il PT, sono generalmente indicati per il monitoraggio dell'anticoagulazione e la valutazione preoperatoria di sanguinamenti anormali.

Monitoraggio intraoperatorio dell'emostasi:



durante l'intervento i benefici dei comuni test di laboratorio sono ridotti, in quanto questi richiedono per le risposte un tempo che spesso eccede i 30 minuti, sia a causa del trasporto che della preparazione del campione.<sup>68</sup>

Sia lo screening per la ricerca di alterazioni della coagulazione, che l'uso selezionato degli interventi nell'emostasi negli algoritmi trasfusionali sono stati a lungo tempo dipendenti da test come la conta piastrinica, il tempo di protrombina e il tempo di tromboplastina parziale attivata, il dosaggio del fibrinogeno di Clauss.<sup>77</sup>

### *utilizzo dei point of care tests in cardiocirurgia:*

Un sempre maggiore interesse si è sviluppato per i point of care tests come la tromboelastografia a causa del lungo tempo richiesto per i convenzionali test di laboratorio, per il loro limitato valore predittivo, e per la loro inabilità nel valutare l'interazione tra i componenti cellulari e plasmatici dell'emostasi.<sup>78</sup>

Tuttavia è stato riportato che sia il TEG che il ROTEM hanno un basso valore predittivo per quanto riguarda il sanguinamento post operatorio per gli interventi di cardiocirurgia.

Il principale impiego dei POC viscoelastic test è, quindi, nel guidare la scelta ottimale di emoderivati allogeneici o di concentrati di fattori della coagulazione in presenza di sanguinamento.<sup>71</sup>

Secondo studi condotti da Bolliger et al., si ritiene che l'algoritmo trasfusionale basato sui risultati del TEG e ROTEM possa ridurre la proporzione di pazienti che vengono trasfusi con FFP e piastrine, in pazienti sottoposti ad interventi di cardiocirurgia.

Anche la proporzione di pazienti trasfusi con RBC si riduce notevolmente quando le trasfusioni siano guidate dai valori ottenuti dalle analisi TEG e ROTEM.

L'utilizzo di prodotti quali emoderivati allogeneici incluso gli RBC, FFP e le piastrine durante interventi di cardiocirurgia è stato associato ad aumentata mortalità e mobilità. Quindi, la riduzione o anche in non utilizzo di trasfusione di emoderivati allogeneici è l'obiettivo della gestione dell'assetto emostatico paziente, ed è stata recentemente sostenuta dalla European and American Society of Cardioracic Surgeons and Anesthesiologist.

Negli ultimi anni gli algoritmi trasfusionali basati sui point of care test hanno dimostrato di essere vantaggiosi sia in termini di efficienza ed efficacia clinica nella terapia dell'assetto emostatico sia in termini di costo totale del trattamento.<sup>71</sup>

Riguardo agli specifici emoderivati allogenici, in particolar modo l'uso del FFP è ridotto da quattro a tre volte grazie all'uso del TEG e del ROTEM

## **4.5 Utilizzo della tromboelastografia in ambito di trapianto epatico:**

*Coagulopatia nel paziente con malattia epatica terminale:*

Il fegato è un organo che svolge un ruolo fondamentale sia nell'emostasi primaria che nell'emostasi secondaria, dato che è sede della sintesi della maggior parte dei fattori della coagulazione e delle proteine fibrinolitiche. Le anomalie dell'emostasi in pazienti con insufficienza epatica, che possono condurre a sanguinamento comprendono, difetti della funzione piastrinica, ridotti livelli di fattori della coagulazione, disfibrinogenemia e bassi livelli di anti-fibrinolitici (alpha2- antiplasmina). Questi cambiamenti sono controbilanciati da alterazioni in senso pro-trombotico come ridotta sintesi dei fattori anticoagulanti ( proteina C, proteina S, antitrombina III) ridotti livelli di fattori profibrinolitici (plasminogeno) ed aumentati livelli di fattore VIII. Questi cambiamenti comportano pertanto uno stato del sistema emostatico nuovamente bilanciato, che tuttavia è meno stabile di quello normalmente presente in soggetti sani potendo tendere al sanguinamento come verso la trombosi in conseguenza ad eventi precipitanti come la sepsi, l'insufficienza renale etc.

Infatti, in contrasto con la comune idea che nel paziente con insufficienza epatica vi sia una tendenza al sanguinamento, stanno emergendo sempre più evidenze che indicano come di una tendenza alla trombosi che comporterebbe trombosi delle vene periferiche e della vena porta. <sup>81</sup>

*Alterazioni dell'emostasi in pazienti sottoposti a trapianto epatico:*

Il trapianto epatico rappresenta l'unica via per la terapia di alcune patologie del fegato. Le alterazioni dell'emostasi che si verificano durante un trapianto epatico possono essere suddivise in base alle fasi chirurgiche, che sono le seguenti:

- Fase pre-anepatica
- Fase anepatica
- Fase di ri-perfusione e post ri-perfusione

La fase pre-anepatica:

La prima fase dell'operazione è caratterizzata da un esteso trauma, conseguente alla dissezione di adesioni nella cavità addominale ed alla recisione di alcuni vasi. Solitamente durante questa fase, si presentano solo lievi anomalie della coagulazione e le perdite ematiche sono prevalentemente legate alla chirurgia ed al sottostante stato di ipocoagulabilità.

La fase anepatica:

Durante la fase anepatica le perdite ematiche che possono verificarsi sono legate ad i cambiamenti nell'emostasi tipici di questa fase più che all'azione chirurgica, dato che i vasi sono adeguatamente clampati. È stato infatti dimostrato in molti studi che in questa fase si ha spesso lo sviluppo di iperfibrinolisi. Questa è dovuta ad un aumentato livello di t-PA, rilasciato dalle cellule endoteliali; il t-PA non viene, infatti, rimosso dal circolo a causa dell'assenza del fegato.

La fase di ri-perfusione e post-ri-perfusione:

la fase di ri-perfusione è un momento cruciale nel trapianto epatico, e conduce a importanti cambiamenti nel processo emostatico. Nei primi minuti dopo la ri-perfusione è possibile infatti il verificarsi di sanguinamento incontrollabile in alcuni pazienti.

L'intrappolamento delle piastrine nell'organo trapiantato potrebbe giocare un ruolo nel verificarsi di questo sanguinamento. Tuttavia l'aumentata fibrinolisi è stata indicata come il processo principalmente responsabile del sanguinamento in questa fase del trapianto. È stato dimostrato che, nella fase di post-ri-perfusione, in circa in una percentuale variabile di pazienti tra il 25-95% si verifica il rilascio in circolo importanti quantità di eparina e di sostanze simili all'eparina. Il solfato di protamina è la sostanza che viene solitamente utilizzata per antagonizzare questo effetto.<sup>82</sup>

*Monitoraggio dell'assetto coagulativo nel paziente sottoposto a trapianto epatico:*

L'adeguata valutazione dell'assetto coagulativo nel paziente sottoposto a trapianto epatico rimane ancora oggi un'importante sfida. Le complesse alterazioni che si

verificano a carico del sistema emostatico sono dipendenti a diversi fattori, come la natura della patologia epatica, l'entità della perdita ematica e il corretto funzionamento del nuovo organo trapiantato.

Vi è una notevole variabilità tra le diverse istituzioni riguardo al metodo, o ad i metodi utilizzati per monitorare l'assetto coagulativo. Nei centri in cui viene effettuato un controllo della coagulazione, questo viene realizzato tramite l'uso sia dei normali test che del tromboelastogramma. Un lavoro pionieristico condotto da Kang et al., in cui è stato utilizzato un algoritmo trasfusionale basato sul TEG nel trapianto epatico, ha mostrato una ridotta necessità di trasfusione con emazie concentrate.<sup>83</sup> Il TEG è divenuto una comune metodica della per la valutazione della coagulazione nel trapianto epatico dal 1985.

Esiste una correlazione tra l'entità della perdita ematica durante il trapianto epatico e la sopravvivenza. L'aumentata mortalità è dovuta principalmente a disfunzione dell'organo donato o ad infezioni. Tuttavia anche le complicanze correlate alla trasfusione di emoderivati influenzano significativamente la sopravvivenza, come la trasmissione di infezioni, complicanze immuno mediate ed il danno polmonare acuto (acute lung injury).

È quindi importante cercare metodi che permettano di bilanciare gli effetti benefici delle trasfusioni con gli effetti negativi. I normali test della coagulazione valutano soltanto alcuni step del processo coagulativo, senza fornire una visione di insieme. Il tempo di protrombina, infatti, valuta solo l'attività dei fattori che portano alla formazione del coagulo, e non valuta l'attività anticoagulante endogena. Quindi, questo test, non valuta efficacemente la formazione del coagulo. L'uso di test che forniscano informazioni parziali può condurre ad errori nella gestione della terapia trasfusionale. Inoltre i risultati dei comuni test di laboratorio non sono disponibili nei tempi che sarebbero necessari per prendere decisioni durante l'intervento. Infatti, durante gli interventi di chirurgia maggiore, i cambiamenti nell'assetto coagulativo possono verificarsi in modo talmente rapido, che i risultati dei test potrebbero giungere troppo tardi. Il TEG differisce in questo dai comuni test, in quanto testa più componenti del processo emostatico contemporaneamente e fornisce risultati in tempi rapidi.

Studi condotti da Wang et al. hanno dimostrato come la quantità di FFP usata durante il trapianto epatico possa essere significativamente ridotta tramite l'uso di algoritmi

trasfusionali basati sull'utilizzo del TEG. Queste osservazioni portano anche a dedurre che i test come il PT e l'aPTT portino invece ad un sovra trattamento con FFP. In base alla letteratura la trasfusione con FFP è consigliata con valori di INR pari o maggiori di 1,5. nello studio sopracitato è stato osservato che basandosi sul valore di INR veniva fatto uso di più sacche di FFP rispetto che nel caso in cui la decisione si basasse sul tracciato TEG.<sup>84</sup>

I parametri del tracciato TEG possono essere influenzati dall'eparina e dalle sostanze eparinoidi. Durante un trapianto epatico il tracciato TEG (nativo) mostra la presenza di sostanze simili all'eparina presente virtualmente nel sangue di tutti gli organi che vengono trapiantati. L'utilizzo di eparinasi per l'esecuzione del TEG rimuove l'effetto simile all'eparina. Quindi l'uso del TEG "nativo" e del TEG con eparinasi può mostrare il contributo dell'eparina o degli eparinoidi al tracciato tromboelastografico.<sup>83</sup>

## **4.6 Utilizzo della tromboelastografia nella fibrinolisi primaria e secondaria:**

### ***Fibrinolisi primaria e secondaria***

L'iperfibrinolisi si verifica quando l'attività fibrinolitica è potenzialmente maggiore della formazione di fibrina, a tal punto che, viene alterata l'integrità del coagulo.

L'evento principale nella fibrinolisi è la produzione di plasmina, che degrada la fibrina ed il fibrinogeno, con il conseguente rilascio dei loro prodotti di degradazione.

La plasmina libera viene rapidamente inibita dal suo inibitore principale, che è l'alfa2-antiplasmina. L'attività fibrinolitica ha inizio con la conversione, da parte del t-PA e dell'u-PA, del plasminogeno nella sua forma attiva, la plasmina.

Il t-PA viene rilasciato dalle cellule endoteliali, ha una vita breve, di circa 3-5 min, e viene inibito dagli inibitori del plasminogeno attivato di tipo 1 e tipo 2.

Il PAI-1 è il principale inibitore plasmatico e viene prodotto da diversi tipi di cellule, quali cellule endoteliali, epatiche, fibroblasti, cellule muscolari lisce.

L'iperfibrinolisi si verifica quando la bilancia tra attivatori e inibitori della fibrinolisi viene alterata. L'attivazione della fibrinolisi viene distinta in primaria e secondaria:

la fibrinolisi primaria rappresenta la situazione in cui l'aumentata attività fibrinolitica è indipendente da altri fattori. La fibrinolisi secondaria è, invece, conseguenza dell'attivazione della coagulazione e quindi della generazione di trombina che stimola l'endotelio a produrre quantità maggiori di t-PA.

Le malattie epatiche croniche sono una comune causa di iperfibrinolisi, e sono caratterizzate dalla comparsa di fibrinolisi sia primaria sia secondaria. Si verifica, infatti, una ridotta clearance del t-PA, e una ridotta concentrazione dell'alfa2-antiplasmina a causa di una ridotta sintesi proteica: entrambe due alterazioni primarie.

L'iperfibrinolisi secondaria è dovuta, invece, all'attivazione della cascata coagulativa. Questi cambiamenti sono correlati con la severità della malattia epatica. Nei pazienti con ascite è frequentemente presente in associazione anche l'iperfibrinolisi; e in un'analisi multivariata su i fattori di rischio per sanguinamento, condotta su 100 pz, l'iperfibrinolisi (misurata in base ai livelli di D-dimero e di attività del t-PA) ha dimostrato di essere l'unico fattore predittivo di sanguinamento gastrointestinale, che è

la maggiore causa di morbilità e mortalità nell'insufficienza epatica. Durante il trapianto epatico il precario stato fibrinolitico del paziente con malattia epatica cronica è esacerbato durante la fase anepatica della chirurgia.

Un'altra procedura chirurgica che induce iperfibrinolisi è l'intervento di by pass cardiopolmonare in cardiocirurgia, caratterizzato da elevati livelli di t-PA durante l'esecuzione del bypass: questo è in parte responsabile del sanguinamento perioperatorio spesso presente in questi pazienti. L'iperfibrinolisi può essere anche di tipo iatrogeno, a causa dell'uso di agenti fibrinolitici, utilizzati per rimuovere il trombo in seguito a tromboembolismo venoso o arterioso.<sup>85</sup>

### *Terapia dell' iperfibrinolisi:*

Nell'iperfibrinolisi , la tendenza emorragica può essere trattata ,solamente utilizzando antifibrinolitici, prima della somministrazione di concentrato di fibrinogeno o , se questo non fosse disponibile, di crioprecipitato. L'efficacia degli agenti antifibrinolitici è stata ben descritta nell'ambito della chirurgia cardiaca, ortopedica e nel trapianto epatico, mentre per quanto riguarda l'utilizzo nel trauma non vi sono evidenze al riguardo.<sup>86</sup>

Gli agenti antifibrinolitici come l'acido e-aminocaproico e l'acido tranexamico sono derivati della lisina, che inibisce la plasmina. L'aprotinina è una serin proteasi derivata da bovini, che porta indirettamente alla riduzione della fibrinolisi. Questi agenti giocano potenzialmente un ruolo nel trattamento dell'iperfibrinolisi ma, al contempo, espongono al rischio di complicanze trombotiche.<sup>87</sup>

### *Caso clinico di fibrinolisi primaria:*

Paziente di 65 anni

Anamnesi familiare negativa

Anamnesi personale: ipertensione arteriosa in terapia con amlodipina e lobivon.

Nega allergia a farmaci, lattice, comuni sostanze, alimenti.



La paziente ha eseguito nel 1983 colecistectomia con tecnica open, presenta calcolosi del dotto biliare comune. Viene pertanto posta indicazione, all'esecuzione di una colangiopancreatografia retrograda endoscopica (ERCP).

Viene trasferita dal reparto di chirurgia colon rettale in UTI il giorno 23/09/2011, per cure intensive in paziente con sospetta pancreatite edematosa post- ERCP.

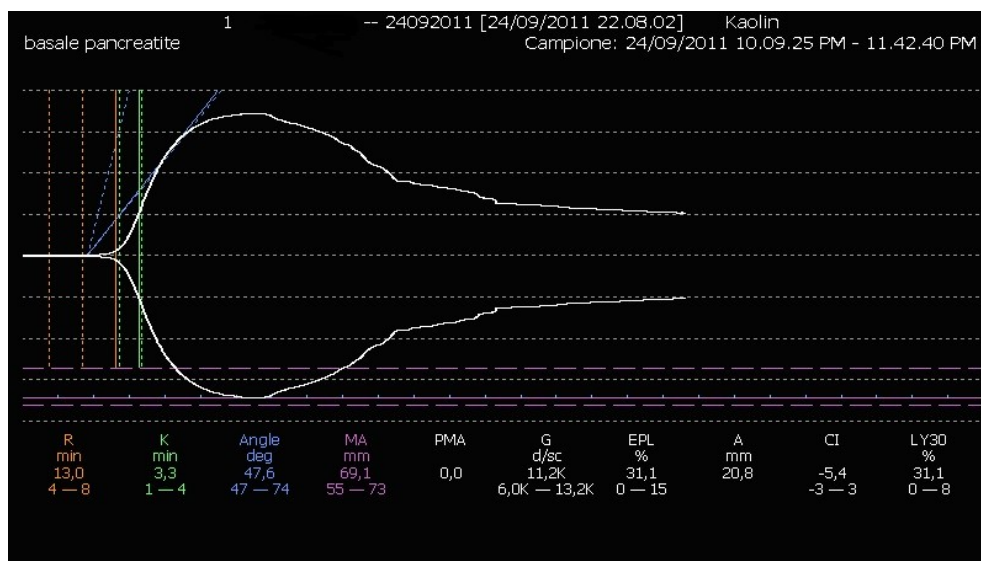
All'ingresso la paziente è vigile, orientata e cosciente. Emodinamicamente stabile con PAO 159/78 mmHg frequenza cardiaca 110 bpm e ACR tachifrequente.

Viene eseguita TAC torace ed addome completa senza m.d.c.

All'esame TAC risulta:

pancreas di dimensioni aumentate in rapporto a quadro di pancreatite acuta con disomogeneità in corrispondenza della regione istmica e cefalo pancreatica, ove si apprezza sovvertimento della struttura ghiandolare che appare sostituita da vaste aree ipodense. Conservato l'aspetto della ghiandola a livello della coda.

Viene eseguita indagine tromboelastografica il giorno seguente all'ammissione in UTI:



*Fig. 34: tracciato tromboelastografico che mostra una condizione di fibrinolisi primaria in paziente con pancreatite acuta.*

Il tracciato in fig. 35 mostra una condizione di fibrinolisi primaria.

Il parametro R è leggermente aumentato. L'MA che tende ai valori inferiori pur sempre nell'ambito del range, ci indica una forza del coagulo minor della norma, quindi una

ridotta attività piastrinica. Il CI è ridotto ad indicare una tendenza generale all'ipocoagulabilità. Il LY30 è pari a di 31.1, valore notevolmente superiore al normale range di valori, indica perciò un'aumentata attività fibrinolitica. Questo tracciato con andamento "a cipolla" è caratteristico di fibrinolisi primaria.

### *Caso clinico di fibrinolisi secondaria:*

Uomo 86 anni

Anamnesi familiare negativa

Anamesi personale: BPCO con versamento pleurico, ipertensione arteriosa in terapia, esofagite da reflusso, asma in terapia, by-pass aorto-coronarico con stent su ramo marginale. Allergia a bactrim

Viene ricoverato in UTI il giorno 27/09/2011 per monitoraggio post-operatorio in paziente sottoposto a intervento di TURP ( resezione prostatica trans ureterale) .

Il paziente entra in UTI dalla sala operatoria della urologia ospedaliera dopo intervento di TURP. Si presenta vigile, orientato, e collaborante, in RS con cannula nasale con 7L/min e SpO2 al 100%. Emodinamica stabile, RRN ridotto su tutto l'ambito polmonare, no RRA. Azione cardiaca ritmica normofrequente, toni parafonici. Addome trattabile non dolente ne palpabile. Peristalsi scarsamente udibile ed urine francamente ematiche.

Viene eseguito esame tromboelastografico:

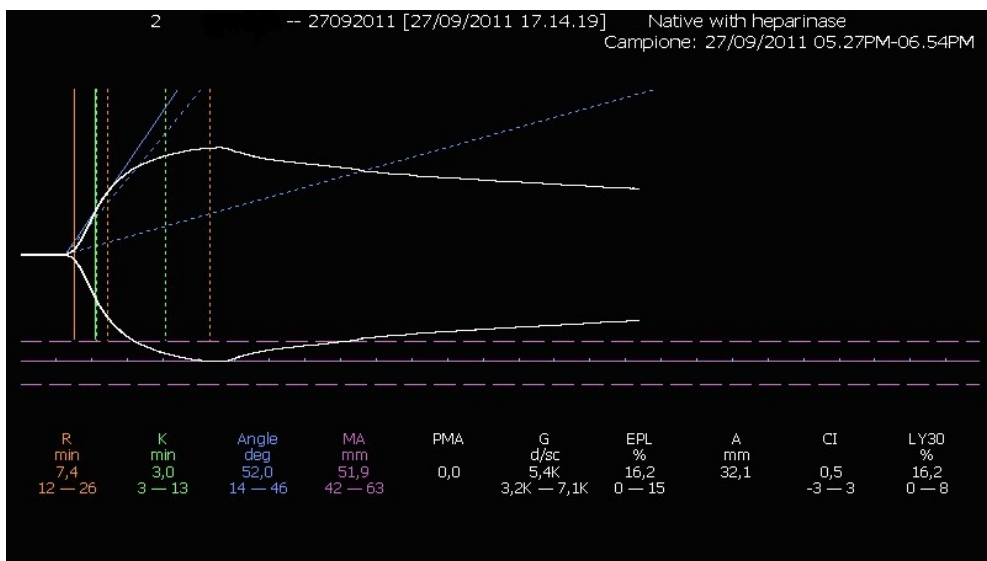


Fig.35: tracciato tromboelastografico ottenuto con Kaolino ed eparinasi.

Dal tracciato tromboelastografico, eseguito con eparinasi, si mette in evidenza un'accentuata tendenza alla fibrinolisi. il valore di LY30 è infatti superiore al range e pari a 16,2%. Il valore di MA è nell'ambito del range, ma tendente verso valori alti. Tale tracciato indica una condizione di iperfibrinolisi secondaria.

Si procede alla somministrazione di acido tranexamico, un'unità di GRC e plasma. Il giorno seguente viene somministrata un'altra unità di GRC.

L'andamento degli esami ematochimici riguardanti l'assetto coagulativo nei giorni di ricovero è il seguente:

	27/09	28/09	29/09
emoglobina	10,1 g/dl	8,7 g/dl	10 g/dl
ematocrito	29,7	25,5	29
piastrine	89	71	81
AP%	77	84	91
PTT	34,3	29,5	30,1
fibrinogeno	188	216	234
INR	1,18	1,11	1,06

#### **4.7 L'utilizzo della tromboelastografia nella chirurgia bariatrica:**

Ogni anno approssimativamente 50,000-100,000 pazienti muoiono in seguito ad eventi tromboembolici che prevalentemente originano a livello del sistema venoso profondo degli arti inferiori, o della pelvi, oppure, anche se meno frequentemente, a livello degli arti superiori. L'obesità può essere un fattore di rischio per l'aumentata incidenza di trombosi venosa profonda e embolia polmonare nel periodo post-operatorio. Sia la riduzione dell'attività fibrinolitica che l'aumento dei livelli di fibrinogeno vengono considerati i principali fattori che aumentano il rischio di eventi trombo embolici in pazienti obesi. Studi epidemiologici hanno dimostrato un aumento dell'attività dell'inibitore del plasminogeno attivato in pazienti obesi, associato con markers di stato trombofilico sia acquisito che congenito, incluso il D-dimero, fibrinogeno, fattore VII, fattore IX, fattore XI. La trombosi venosa profonda ed il conseguente rischio di embolia polmonare sono considerate le principali cause di morbilità e mortalità nei pazienti bariatrici. Lo stress chirurgico assieme alla prolungata immobilità, associati ad uno stato ipercoagulativo tipico di questi pazienti possono spiegare l'elevata incidenza di tali eventi nella popolazione in esame.

Anche se l'incidenza di tromboembolismo nel periodo post-operatorio non sembra essere in aumento, nonostante il numero di interventi di chirurgia bariatrica sia sempre maggiore, l'embolia polmonare non è più un evento raro, e quando si verifica, spesso lo fa senza prodromi.

La diagnosi di trombosi nel paziente obeso è resa difficoltosa da diversi fattori: non è semplice visitare il paziente, in quanto spesso i segni sono poco evidenti e mascherati da edema cronico agli arti inferiori, dermatite da stasi e insufficienza veonosa. Perciò trombi venosi profondi possono dare sintomatologia clinica scarsa fino a che non comportino embolia polmonare. La prevenzione del tromboembolismo venoso è vitale al fine di ridurre la morbilità e la mortalità in pazienti sottoposti a chirurgia bariatrica. La profilassi ad oggi utilizzata prevede una varietà di modalità, inclusa l'eparina non frazionata, l'eparina frazionata a basso peso molecolare (LMHW), dispositivi per la compressione intermittente, compressione elastica, una mobilizzazione precoce ed il posizionamento di filtri cavali in vena cava inferiore. Vi è accordo sul fatto che la

profilassi sia di fondamentale importanza; il problema è quindi determinare quale sia il regime profilattico ottimale e come dosare la terapia anticoagulante.

A tale scopo potrebbe essere d'aiuto l'utilizzo della tromboelastografia. Il TEG, negli ultimi 10 anni, ha dimostrato di essere in grado di valutare non solo la condizione di ipocoagulabilità ma anche di ipercoagulabilità.<sup>88</sup>

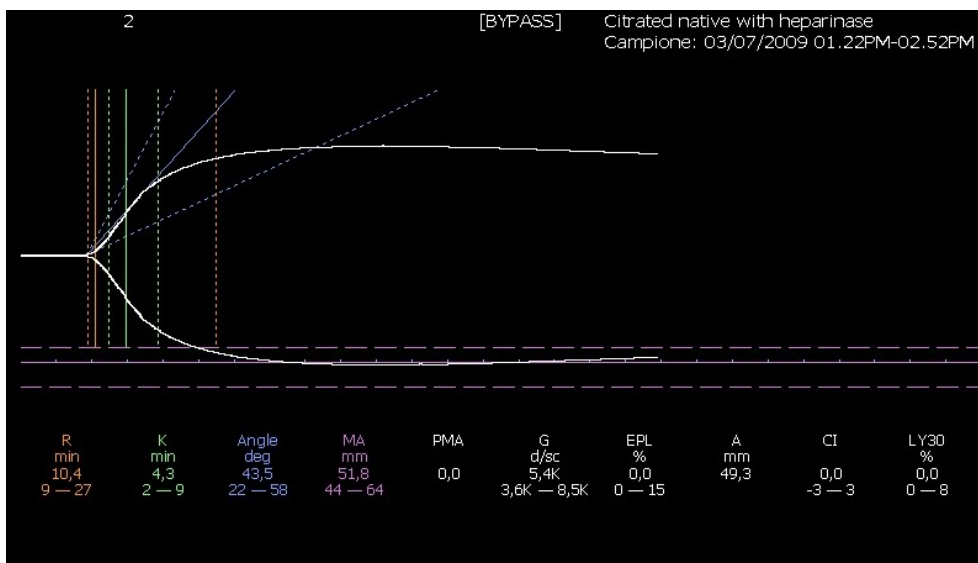
### *Casi clinici:*

Maschio 54 anni

Peso corporeo 100Kg, BMI= 39,06

Sottoposto ad intervento di by-pass gastrico.

Vengono eseguiti TEG nell'immediato post- operatorio, in prima giornata ed in terza giornata.



*Fig.36: tracciato tromboelastografico ottenuto con Kaolino ed eparinasi, nell'immediato post-operatorio, in seguito ad intervento di by-pass gastrico.*

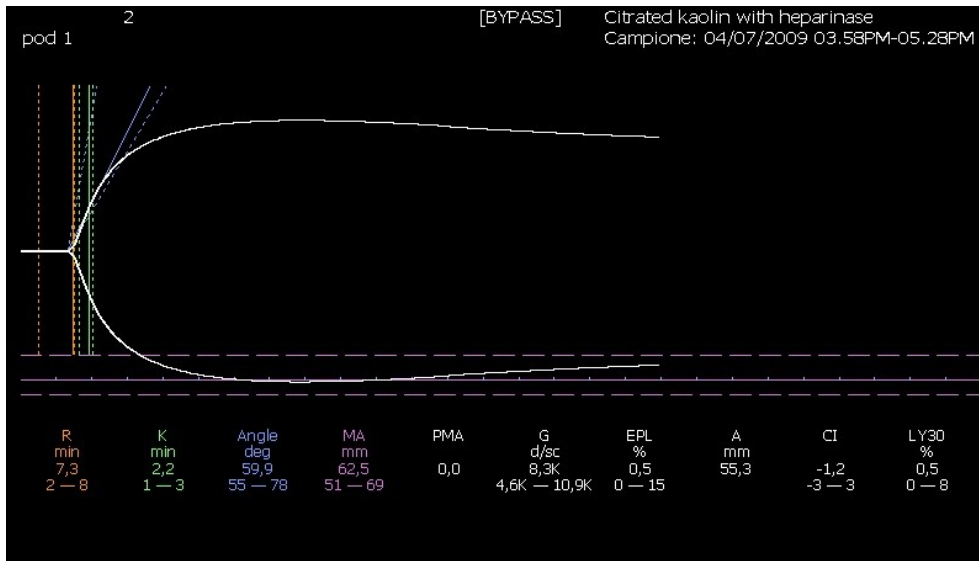


Fig.37: tracciato tromboelastografico ottenuto con Kaolino ed eparinasi, in prima giornata di post-operatorio.

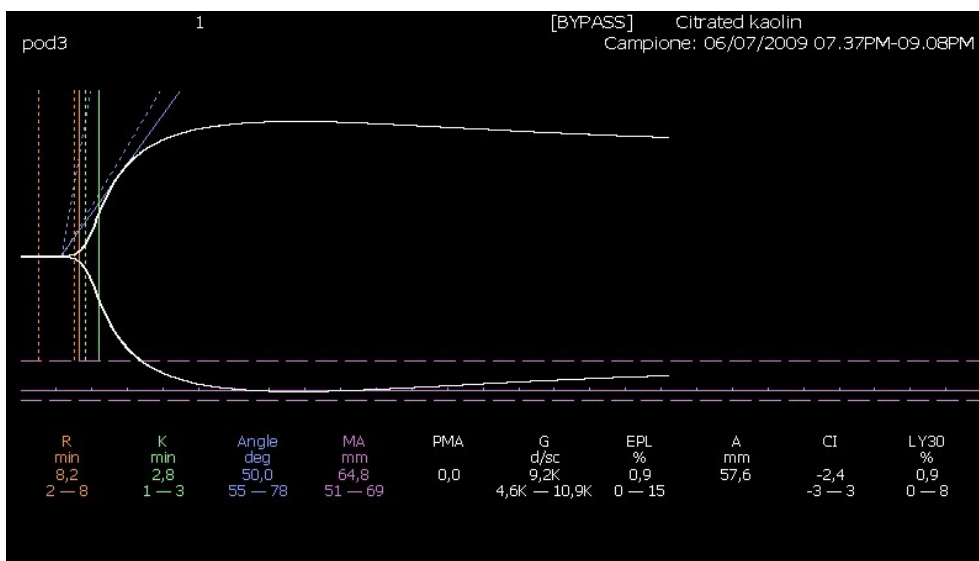


Fig.38: tracciato tromboelastografico ottenuto con kaolino, in terza giornata di post-operatorio.

I valori di MA dei tracciati in Fig. 37-38-39 mostrano una tendenza del paziente all'ipercoagulabilità. Il valore di MA fornisce, infatti, informazioni circa la forza del

coagulo, in particolare sulle piastrine fibrinogeno e FXIII. Dai tracciati si evidenzia inoltre una tendenza a crescere del valore di MA nei giorni seguenti l'intervento di by-pass gastrico.

### *Caso clinico 2*

Donna 29 anni

Peso corporeo 135Kg, BMI = 48,5

Sottoposta ad intervento di by-pass gastrico.

Viene eseguito TEG nell'immediato post operatorio, in prima giornata ed in terza giornata di post-operatorio.

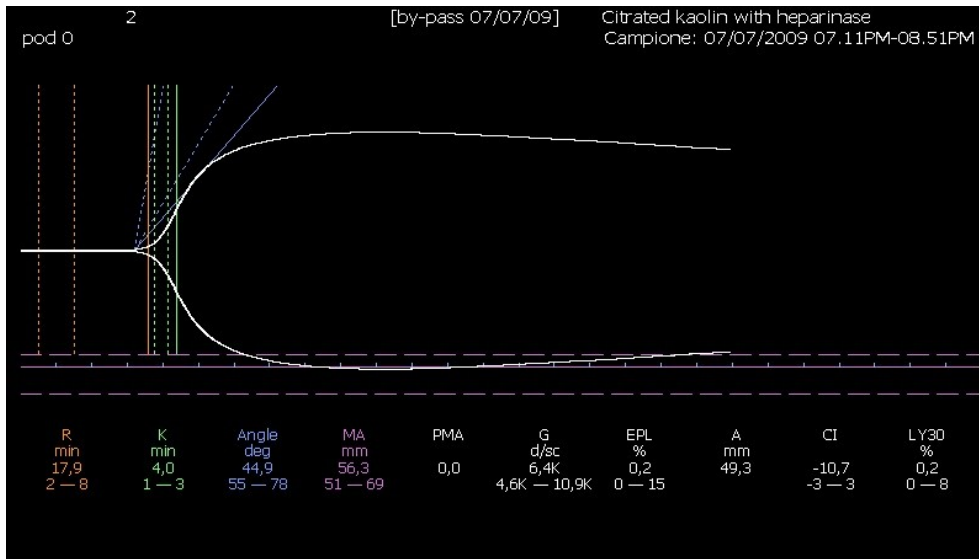


Fig. 39: tracciato tromboelastografico ottenuto con kaolino ed eparinasi, nell'immediato post-operatorio.

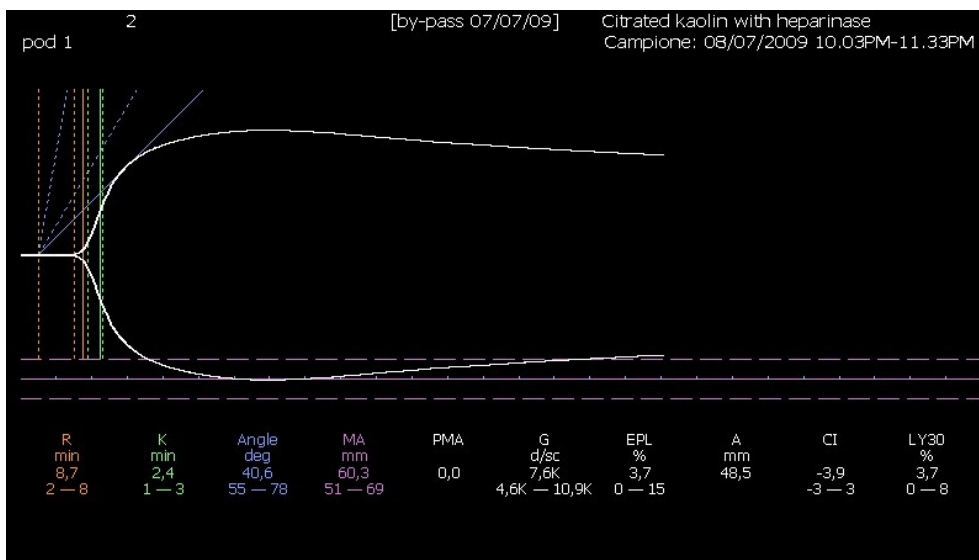


Fig.40: tracciato tromboelastografico ottenuto con kaolino ed eparinasi, in prima giornata di post-operatorio.



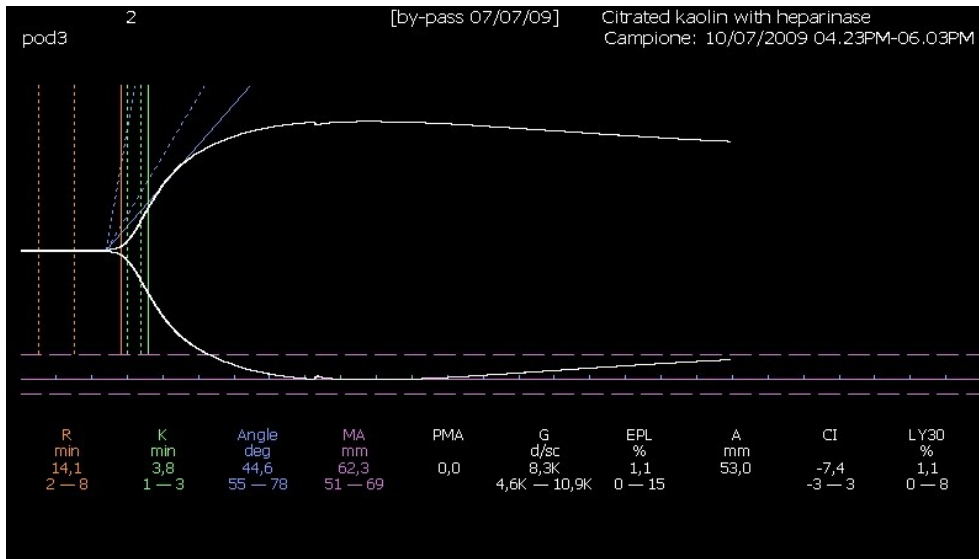


Fig.41: tracciato tromboelastografico ottenuto con Kaolino ed eparinasi, in terza giornata di post-operatorio.

### Caso clinico 3

Uomo di 25 anni

Peso corporeo di 175Kg, BMI = 59.

Sottoposto ad intervento di sleeve gastrectomy.

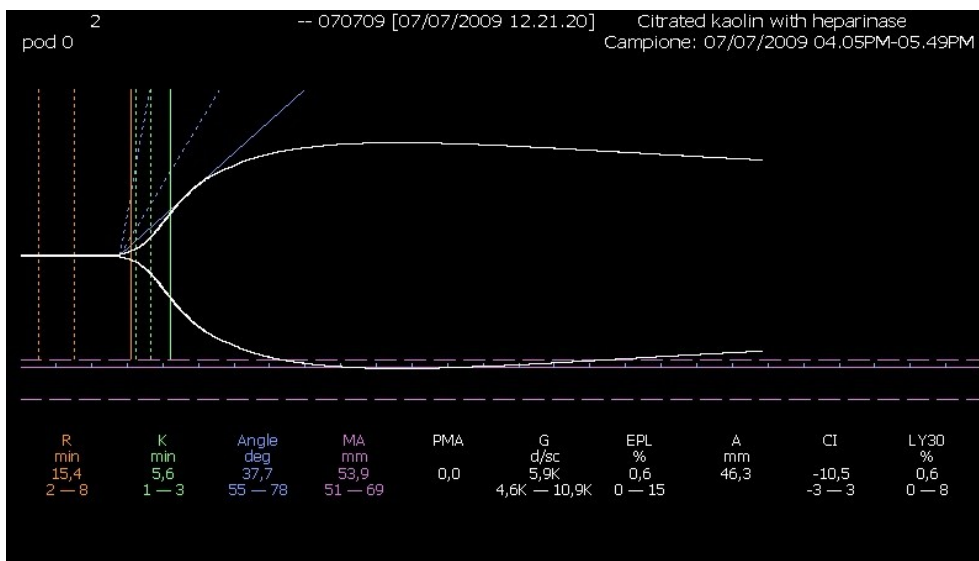


Fig.42: tracciato TEG eseguito con Kaolino ed eparinasi, nell'immediato post-operatorio al risveglio dall'anestesia.

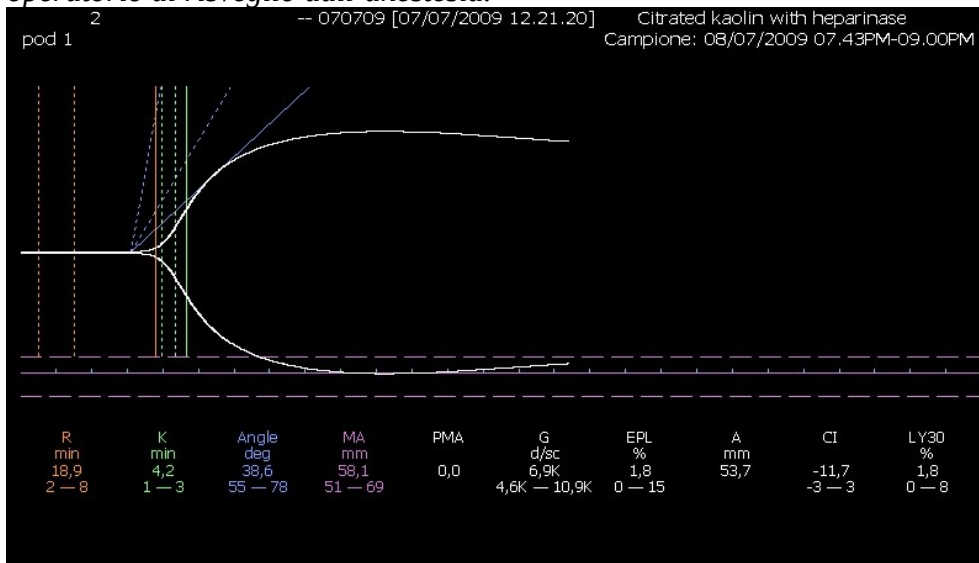


Fig.43: tracciato TEG ottenuto con Kaolino ed eparinasi, nella prima giornata di post-operatorio.

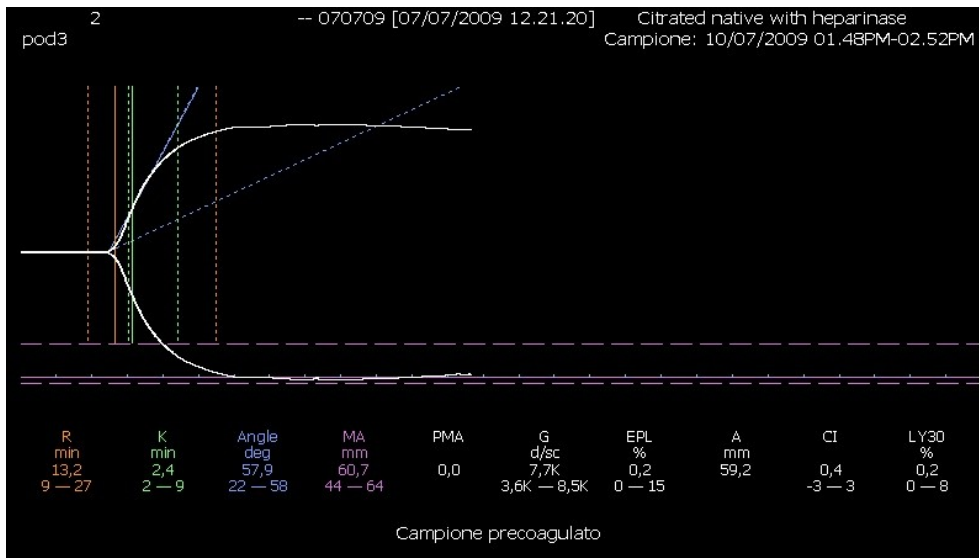


Fig.44: tracciato tromboelastografico ottenuto con Kaolino ed eparinasi, in terza giornata di post-operatorio.

Riguardo alle alterazioni dell'emostasi, in senso trombofilico, che si verificherebbero in pazienti obesi in seguito ad interventi di chirurgia bariatrica, è stato svolto uno studio presso il reparto di rianimazione IV dell'ospedale Cisanello di Pisa.

In questo studio, sono stati presi in esame, pazienti con obesità grave, sottoposti ad interventi di chirurgia bariatrica (interventi di by-pass gastrico o di sleeve

gastrectomy) , con anestesia per via intravenosa (TIVA), nel periodo compreso tra l'Aprile del 2009 ed il febbraio del 2010.

Sono stati stabiliti dei criteri di esclusione : pazienti con coagulopatie, che abbiano fatto uso di FANS nel periodo preoperatorio, di contraccettivi orali o di anticoagulanti orali, pazienti con malattie renali o epatiche. Tutti i pazienti hanno ricevuto una profilassi antitrombotica con 0,8 ml di calcium nodraparin (fraxieparin), per via sottocutanea, una volta al giorno, iniziando il giorno dopo l'intervento chirurgico e continuando nel periodo post-operatorio.

Inoltre, sono stati impiegati dei dispositivi meccanici , come calze elastiche e compressione pneumatica intermittente degli arti inferiori.

Per ogni paziente, è stato valutato il profilo coagulativo nell'immediato post operatorio, al primo giorno ed al terzo giorno di degenza in ICU.

L'analisi TEG è stata effettuata prima dell'induzione dell'anestesia, nell'immediato post- operatorio, al primo giorno ed al terzo giorno di degenza din ICU. Ogni campione è stato eseguito anche in una cuvetta con eparinasi, per eliminare l'interferenza della profilassi antitrombotica.

I risultati ottenuti dall'analisi TEG con eparinasi mostrano una tendenza alla riduzione del valore di R e di K e di un aumento di alpha angle, ed una tendenza all'aumento del parametro MA e del CI, a partire dal basale nei giorni post operatori, fino al terzo giorno.

Dall'analisi TEG senza eparinasi si è evidenziato , invece, un aumento dei parametri R e K e una riduzione dell'alpha anche ed un aumento dell'MA e del CI, dal basale al terzo giorno di periodo post-operatorio.

Questi pazienti, mostrano pertanto, una tendenza all'ipercoagulabilità determinata soprattutto dall'MA e dal CI. I dati ottenuti suggeriscono che lo stato coagulativo dei pazienti è stato caratterizzato dalla tendenza all'ipercoagulabilità, soprattutto a causa di un' aumentata attività piastrinica e della stabilità del coagulo, come testimoniato dai valori di MA e di CI.

Al contrario, è stato osservata un minimo e non statisticamente significativo aumento dell'attivazione immunoenzimatica, misurata tramite r-tima, k.time e l'apha angle.

L'uso del TEG senza eparinasi ha permesso di valutare l'effetto della profilassi con LMWH sullo stato coagulativo. L'uso del dosaggio era in grado di ridurre i valori dei parametri TEG monitorati nel post operatorio, con particolare effetto sul POD3.

Dato interessante, è che in entrambe le analisi TEG, si è evidenziato un aumento dell'MA, fatto che suggerisce che la profilassi era sufficiente a ridurre l'attivazione del sistema coagulativo ma non ad eliminare la tendenza all'ipercoagulabilità. È stato osservato un aumento dell'MA >68 mm nei pazienti al POD3. considerando che, il parametro MA è il maggior indice prognostico di ipercoagulabilità, associato con complicanze trombotiche, è possibile che i pazienti con una tendenza all'aumento dell'MA potrebbero beneficiare sia di un aumento nel dosaggio di eparina LMHW o dell'uso di farmaci antiaggreganti piastrinici.

Considerato che, tutti i pazienti presi in esame in tale studio, erano stati trattati con la stessa dose di LMHW, è stata analizzata la correlazione tra la variazione dei normali parametri del TEG e l'ammontare del dosaggio di terapia anticoagulante aggiustata in base al peso. Non è stata trovata, tuttavia, una correlazione tra le variazioni dei parametri TEG dal basale al POD3 e il dosaggio di LMHW impostato in base al peso in Kg. Questo dato suggerisce che la profilassi con LMHW, basata sul peso corporeo, produce un fattibile, ma non più efficiente profilo anticoagulante, rispetto alla terapia standard con LMHW.

In questo senso, si potrebbe ipotizzare di realizzare una terapia con LMHW che sia basata su i parametri TEG, individualizzata pertanto per il singolo paziente. Questo obiettivo potrebbe, tuttavia, essere realizzato solo con ulteriori trials clinici randomizzati, finalizzati a analizzare la sensibilità e la specificità dei parametri TEG come clinical markers per il rischio pro-trombotico post-operatorio.

## ***4.8 Utilizzo della tromboelastografia nel sanguinamento perioperatorio:***

Ad oggi, il verificarsi di un eccessivo sanguinamento perioperatorio, rimane una delle complicanze maggiori della chirurgia, comportando un aumento della morbilità e della mortalità. La principale causa di sanguinamento perioperatorio, non di tipo chirurgico, è la presenza di disturbi coagulativi non precedentemente valutati, correlati alla natura stessa dell'operazione o da anomalie della coagulazione conseguenti a perdita ematica massiva. Spesso è causata dalla combinazione di più patologie. Importante è perciò identificare i pazienti a rischio al fine di prevenire la comparsa di sanguinamento. Inoltre, comprendere i meccanismi, alla base dei cambiamenti che si verificano a carico del sistema emostatico durante il periodo operatorio, soprattutto in interventi come quelli di cardiocirurgia o di trapianto epatico, è fondamentale per la gestione del sanguinamento perioperatorio. È noto che l'attivazione dell'emostasi avviene come risultato dello stimolo iperadrenergico, conseguente allo stress chirurgico. L'iperfibrinolisi può verificarsi, ed è dovuta ad un aumentato rilascio di t-PA. Interventi su alcune regioni anatomiche, come la pelvi, ed anche organi, come la prostata, presentano più frequentemente la comparsa di per fibrinolisi, causata da rilascio di t-PA. Ad ogni modo anche gli interventi di bypass cardiopolmonare e di trapianto epatico sono caratterizzati da aumentata fibrinolisi. Il consumo dei fattori della coagulazione, delle piastrine e degli anticoagulanti fisiologici dipende da sanguinamento e/o emodiluizione, conseguente ad infusione di cristalloidi, ma raramente provoca una riduzione tale da esacerbare il sanguinamento.

Farmaci quali, aprotinina, acido tranexamico, desmopressina, e sempre di più il rFVIIa vengono utilizzati sia a scopo profilattico che a scopo terapeutico per fermare il sanguinamento. L'uso dei "near patient testing" come la tromboelastografia e l'analizzatore della funzione piastrinica hanno permesso una valutazione più dettagliata dei vari step del processo emostatico. Uno dei maggiori obiettivi è quello di ridurre l'utilizzo di trasfusioni di sangue e dei rischi a queste collegati.<sup>89</sup>

L'obiettivo dell'esecuzione di test della coagulazione nel periodo preoperatorio è di identificare le caratteristiche di pazienti che potrebbero essere associate con maggior rischio di sanguinamento: disordini della coagulazione molto frequenti nella popolazione (es: malattia di Von Willebrand) coagulopatie rare ma con notevole

rilevanza clinica (es. emofilia) così come le coagulopatie indotte da farmaci ( es: terapia antiaggregante piastrinica, terapia con antagonisti della vitamina K ). Vi sono evidenze sempre maggiori che i normali test della coagulazione non siano in grado di identificare i pazienti a rischio di sanguinamento o di trombosi durante l'intervento.

L'obiettivo della valutazione dell'assetto coagulativo nel periodo intra-operatorio è di identificare i meccanismi patogenetici alla base del sanguinamento perioperatorio e di iniziare la terapia tempestivamente.<sup>90</sup>

L'utilizzo dei "near patient test" è aumentato a causa dei limiti dei test standard della coagulazione come il tempo necessario per ottenere risultati durante un episodio di sanguinamento che non cessa. L'obiettivo nel near patient test, era quello di ottenere un test che fosse non costoso, riproducibile e producesse risultati in tempi rapidi e fosse capace di misurare tutti i componenti del processo. A differenza dei tradizionali test di laboratorio usati per la valutazione della coagulazione, la tromboelastografia (TEG) fornisce risultati in tempi rapidi e un'analisi globale della coagulazione, fornendo informazioni sequenziali sul tempo di formazione del coagulo, sulla forza del coagulo e sul grado di fibrinolisi.

L'uso del TEG nel monitoraggio perioperatorio dell'emostasi ha permesso lo sviluppo di algoritmi per un appropriato utilizzo degli emoderivati, ed in alcuni studi ha ridotto la necessità di trasfusioni in pazienti ad alto rischio. In particolar modo è stato utilizzato in cardiocirurgia e nei trapianti epatici. Kang et al. hanno aperto la strada all'uso del TEG per la messa a punto di algoritmi terapeutici che possano guidare la terapia trasfusionale. Da tale studio emerse che vi era un minor utilizzo di emoderivati seguendo l'algoritmo terapeutico basato sul TEG piuttosto che basando la terapia su i valori della conta piastrinica, del PT o dell'aPTT.

*Caso clinico:*

Uomo 54 anni

Peso corporeo 80 Kg.

Anamnesi familiare negativa per patologie degne di note.

Anamnesi personale: embolia polmonare nel 2011 post-chemioterapia, resezione del retto secondo Hartmann nel 2011, ultimo ciclo di chemioterapia nel giugno 2012.

Viene ricoverato in UTI per monitoraggio post-operatorio in seguito a resezione epatica del II, III, VII, segmento, resezione atipica del V e VI segmento, resezione VIII anteriore, enucleo resezione del VI; biopsia della pleura diaframmatica.

Entra in UTI proveniente dalla sala operatoria della chirurgia colon rettale, sedato, intubato, ventilato manualmente con vai e vieni. SpO2 100%. Si pone in ventilazione meccanica modalità MMV (FR = 14 e VT = 550, PEEP 7). Emodinamica stabile, pressione arteriosa 110/60mmHg , FC 96, diuresi spontanea conservata, drenaggi chirurgici in ordine , SNG a caduta.

All'ammissione in reparto alle ore 01:45 il bilancio idrico è il seguente:

uscite	Entrate
Diguno = 1000	11500
Perspiratio insensibilis = 1400	
Diuresi = 2100	
Sangue = 600	
	Tot = - 6200

Considerato il bilancio idrico, fortemente negativo, conseguente all'intervento chirurgico si somministra ringer lattato 500ml.

Viene eseguito esame tromboelastografico alle ore 1:45:

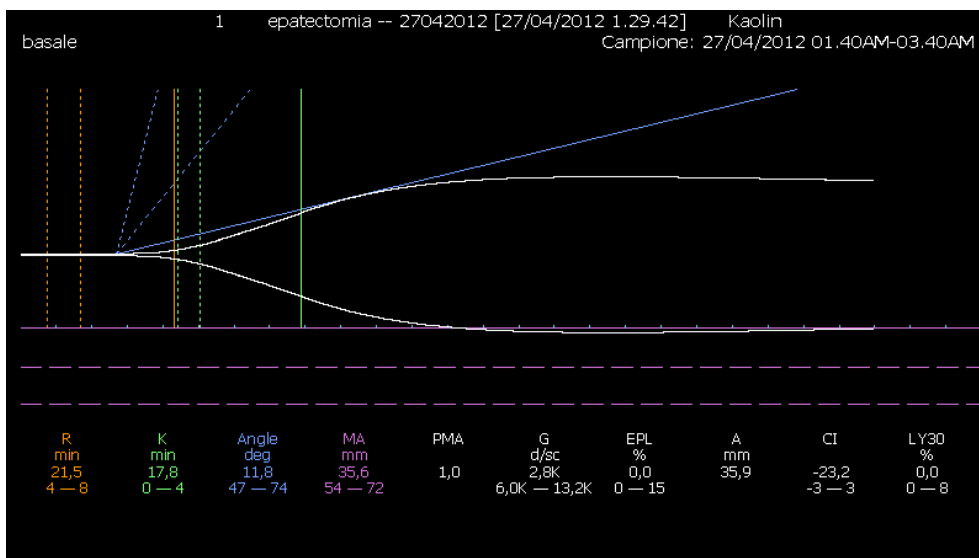
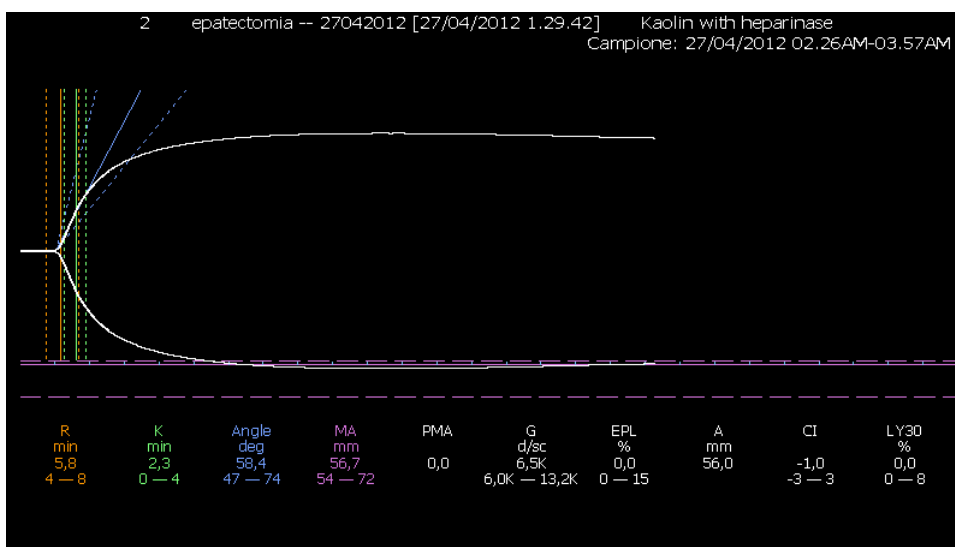


Fig 45:tracciato tromboelastografico eseguito con Kaolino, in paziente epatetectomizzato.

Dal tracciato soprastante emerge una condizione di tendenza all'ipocoagulabilità. il valore di R è infatti al di sopra della norma come anche il valore di K. Mentre il valore del parametro MA e del CI sono nettamente inferiori alla norma.

Si procede quindi alla somministrazione di plasma fresco congelato (PFC) ed all'invio di esami ematochimici. Al termine della sacca di PFC si esegue nuovo esame tromboelastografico.





*Fig. 46: tracciato TEG eseguit con Kaolino ed eparinasi, in seguito a somministrazione di plasma fresco congelato.*

Gli esami ematochimici forniscono i seguenti valori:

- Hb = 10,9 g/dl
- Htc = 32,4
- Plt = 132.000
- AP% = 63
- INR = 1,32
- PTT = 23,4
- Fibrinogeno = 124
- AT III = 53
- Dimero D = 0,57

In considerazione dei risultati degli esami ematochimici, del tracciato tromboelastografico e del fatto che il paziente sia emodinamicamente stabile, con valori di PA = 170/95 mmHg , FC = 72bpm SpO2 100%, non si procede alla somministrazione di ulteriore terapia trasfusionale ( GRC ?)

Il decorso clinico è regolare, privo di complicanze. Vista la stabilità del quadro clinico ed i buoni scambi respiratori si procede ad estubazione la mattina seguente. Si pone il paziente in maschera di Venturi, FiO2 50%.

L'utilizzo dell'esame tromboelastografico ha permesso di individuare una tendenza del paziente all'ipocoagulabilità e di comprenderne la causa.

Il tracciato TEG mostrava valori di R e K aumentati e valori di MA e CI invece, al di sotto del range dei valori di riferimento. Pertanto è stato possibile dedurre che, il paziente avesse un deficit di fattori, e che l'opzione terapeutica ottimale, al fine di correggere tale anomalia, sia la somministrazione di plasma fresco congelato. Ha permesso, inoltre, di osservare l'efficacia della terapia con la successiva ripetizione dell'esame TEG.

Come dimostrato da alcuni studi l'utilizzo del TEG nel monitoraggio perioperatorio dell'emostasi ha permesso lo sviluppo di algoritmi per un appropriato utilizzo degli emoderivati, ed in alcuni studi ha ridotto la necessità di trasfusioni, non prive di complicazioni.

## ***Conclusioni:***

In base ai casi riportati possiamo concludere che la tromboelastografia rappresenti, ad oggi, uno strumento di rilevanza, per quanto riguarda la valutazione dell'assetto coagulativo, la gestione della terapia di eventuali anomalie dell'emostasi, in diversi ambiti dell'area critica.

Questo grazie al fatto che permetta di:

- eseguire un'analisi globale, qualitativa e dinamica dell'intero processo emostatico, studiando pertanto tutte le fasi, e permettendo così di evidenziarne eventuali anomalie, di modo da poter mettere in atto adeguata terapia.
- ottenere risultati in tempi più rapidi rispetto a quelli necessari per i test standard della coagulazione.
- discriminare se il sanguinamento sia dovuto ad una mancata emostasi chirurgica, ad una disfunzione piastrinica, ad anomalie delle proteasi della coagulazione o dei loro inibitori, oppure è associato ad un'eccessiva precoce fibrinolisi.

Nell'ambito ostetrico è risultata di grande rilievo nella gestione dell'emorragia post-partum. L'analisi tromboelastografica, infatti, si è dimostrata utile al fine di comprendere le cause del sanguinamento in atto, ed ha permesso, pertanto, di impostare un'adeguata terapia trasfusionale per la paziente.

Nell'ambito della gestione del paziente settico, ha permesso di individuare una tendenza all'ipocoagulabilità e di impostare adeguata terapia trasfusionale, ottenendo una normalizzazione dei parametri, e stabilizzazione della paziente. Risulta inoltre di grande rilevanza, ai fini dello studio della complessa fisiopatologia alla base delle alterazioni dell'emostasi, che si verificano in pazienti settici.

Nell'ambito della gestione del paziente politraumatizzato, risulta di notevole rilevanza, sia per la possibilità di fornire una valutazione globale dell'emostasi in tempi rapidi, sia per la possibilità di individuare, in base all'analisi del tracciato, quali siano le anomalie del processo coagulativo e correggerle limitando, allo stretto necessario per quel paziente, la trasfusione con emoderivati, che non risulta affatto scevra di complicanze.

Nell'ambito della chirurgia bariatrica sembra avere un ruolo dimostrare la presenza di uno stato procoagulante nel periodo post-operatorio, messo in evidenza da un aumento del valore di MA. Inoltre l'analisi tromboelastografica, potrebbe essere d'aiuto nel valutare la terapia eparinica in pazienti sottoposti a chirurgia bariatrica, al fine di stimare se questa sia o meno adeguata.

Nella gestione del sanguinamento perioperatorio è risultata utile al fine di comprendere se vi fosse un'effettiva tendenza al sanguinamento e la sua causa, permettendone così un'adeguata ed individualizzata correzione.

## Bibliografia:

1. van Geffen M, van Heerde WL. Global haemostasis assays, from bench to bedside. *Thromb Res.* 2012; **129**(6): 681-7.
2. BG Schwartz CE, G S Mayeda, S Burstein, and R A Kloner. The endothelial cells in health and disease: its function, disfunction, measurement and therapy. *International Journal of Impotence Research.* 2010; **22**: 77-90.
3. G. Castoldi VL. *Malattie del Sangue e degli Organi Ematopoietici.* 4° edizione ed; 2004.
4. Boon GD. An overview of hemostasis. *Toxicol Pathol.* 1993; **21**(2): 170-9.
5. Green D. Coagulation cascade. *Hemodial Int.* 2006; **10 Suppl 2**: S2-4.
6. Rivera J, Lozano ML, Navarro-Nunez L, Vicente V. Platelet receptors and signaling in the dynamics of thrombus formation. *Haematologica.* 2009; **94**(5): 700-11.
7. White JG. Fine structural alterations induced in platelets by adenosine diphosphate. *Blood.* 1968; **31**(5): 604-22.
8. Riddel JP, Jr., Aouizerat BE, Miaskowski C, Lillicrap DP. Theories of blood coagulation. *J Pediatr Oncol Nurs.* 2007; **24**(3): 123-31.
9. MD JBL. *Coagulation Pathways and Physiology*; 2008.
10. Hoffman M, Monroe DM, 3rd. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* 2001; **85**(6): 958-65.
11. Martin DM, Boys CW, Ruf W. Tissue factor: molecular recognition and cofactor function. *FASEB J.* 1995; **9**(10): 852-9.
12. Banner DW, D'Arcy A, Chene C, Winkler FK, Guha A, Konigsberg WH, et al. The crystal structure of the complex of blood coagulation factor VIIa with soluble tissue factor. *Nature.* 1996; **380**(6569): 41-6.
13. Monroe DM, Hoffman M, Roberts HR. Transmission of a procoagulant signal from tissue factor-bearing cell to platelets. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1996; **7**(4): 459-64.
14. Hoffman M, Monroe DM. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2007; **21**(1): 1-11.
15. Dahlback B. Blood coagulation. *Lancet.* 2000; **355**(9215): 1627-32.
16. Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry.* 1991; **30**(43): 10363-70.
17. Collen D, Lijnen HR. Basic and clinical aspects of fibrinolysis and thrombolysis. *Blood.* 1991; **78**(12): 3114-24.
18. Medved L, Nieuwenhuizen W. Molecular mechanisms of initiation of fibrinolysis by fibrin. *Thromb Haemost.* 2003; **89**(3): 409-19.
19. Triplett DA. Coagulation and bleeding disorders: review and update. *Clin Chem.* 2000; **46**(8 Pt 2): 1260-9.
20. Hauser VM, Rozek SL. Effect of warfarin on the activated partial thromboplastin time. *Drug Intell Clin Pharm.* 1986; **20**(12): 964-7.
21. Haverkate F, Samama M. Familial dysfibrinogenemia and thrombophilia. Report on a study of the SSC Subcommittee on Fibrinogen. *Thromb Haemost.* 1995; **73**(1): 151-61.
22. Hunt BJ, Lyons G. Thromboelastography should be available in every labour ward. *Int J Obstet Anesth.* 2005; **14**(4): 324-5.

23. Salooja N, Perry DJ. Thrombelastography. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2001; **12**(5): 327-37.
24. Kaufmann CR, Dwyer KM, Crews JD, Dols SJ, Trask AL. Usefulness of thrombelastography in assessment of trauma patient coagulation. *J Trauma*. 1997; **42**(4): 716-20; discussion 20-2.
25. Reikvam H, Steien E, Hauge B, Liseth K, Hagen KG, Storkson R, et al. Thrombelastography. *Transfus Apher Sci*. 2009; **40**(2): 119-23.
26. Chitulur M, Lusher J. Standardization of thromboelastography: values and challenges. *Semin Thromb Hemost*. 2010; **36**(7): 707-11.
27. Luddington RJ. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clin Lab Haematol*. 2005; **27**(2): 81-90.
28. Theusinger OM, Levy JH. Point of care devices for assessing bleeding and coagulation in the trauma patient. *Anesthesiol Clin*. 2013; **31**(1): 55-65.
29. *Struttura e Principi dell'analizzatore TEG : Manuale d'uso TEG 5000*.
30. Chitulur M, Sorensen B, Rivard GE, Young G, Ingerslev J, Othman M, et al. Standardization of thromboelastography: a report from the TEG-ROTEM working group. *Haemophilia*. 2011; **17**(3): 532-7.
31. Swallow RA, Agarwala RA, Dawkins KD, Curzen NP. Thromboelastography: potential bedside tool to assess the effects of antiplatelet therapy? *Platelets*. 2006; **17**(6): 385-92.
32. Galvez C. thromboelastography: new concept in haemostasis physiology and correlation with trauma associated coagulopathy. *Revista Colombiana de Anestesiologia*. 2012.
33. Bolliger D, Seeberger MD, Tanaka KA. Principles and practice of thromboelastography in clinical coagulation management and transfusion practice. *Transfus Med Rev*. 2012; **26**(1): 1-13.
34. Sharma SK, Philip J, Whitten CW, Padakandla UB, Landers DF. Assessment of changes in coagulation in parturients with preeclampsia using thromboelastography. *Anesthesiology*. 1999; **90**(2): 385-90.
35. Norwitz ER, Hsu CD, Repke JT. Acute complications of preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol*. 2002; **45**(2): 308-29.
36. Whitta RK, Cox DJ, Mallett SV. Thrombelastography reveals two causes of haemorrhage in HELLP syndrome. *Br J Anaesth*. 1995; **74**(4): 464-8.
37. WHO Recommendation for the prevention and treatment of post partum Haemorrhage. 2012.
38. McLintock C, James AH. Obstetric hemorrhage. *J Thromb Haemost*. 2011; **9**(8): 1441-51.
39. Onwuemene O, Green D, Keith L. Postpartum hemorrhage management in 2012: predicting the future. *Int J Gynaecol Obstet*. 2012; **119**(1): 3-5.
40. Plaat F. Anaesthetic issues related to postpartum haemorrhage (excluding antishock garments). *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2008; **22**(6): 1043-56.
41. Jansen AJ, van Rhenen DJ, Steegers EA, Duvekot JJ. Postpartum hemorrhage and transfusion of blood and blood components. *Obstet Gynecol Surv*. 2005; **60**(10): 663-71.
42. Remick DG. Pathophysiology of sepsis. *Am J Pathol*. 2007; **170**(5): 1435-44.
43. Machado FR, Cesar MS. Sepsis, coagulation and anticoagulants. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2010; **10**(3): 204-13.
44. Aird WC. Sepsis and coagulation. *Crit Care Clin*. 2005; **21**(3): 417-31.

45. Aird WC. The hematologic system as a marker of organ dysfunction in sepsis. *Mayo Clin Proc.* 2003; **78**(7): 869-81.
46. Vanderschueren S, De Weerd A, Malbrain M, Vankersschaever D, Frans E, Wilmer A, et al. Thrombocytopenia and prognosis in intensive care. *Crit Care Med.* 2000; **28**(6): 1871-6.
47. Levi M. Disseminated intravascular coagulation: What's new? *Crit Care Clin.* 2005; **21**(3): 449-67.
48. Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie.* 2010; **30**(1): 10-2, 4-6.
49. Murray CJ, Lopez AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 1997; **349**(9061): 1269-76.
50. Spahn DR, Rossaint R. Coagulopathy and blood component transfusion in trauma. *Br J Anaesth.* 2005; **95**(2): 130-9.
51. Lynn M, Jeroukhimov I, Klein Y, Martinowitz U. Updates in the management of severe coagulopathy in trauma patients. *Intensive Care Med.* 2002; **28 Suppl 2**: S241-7.
52. Eddy VA, Morris JA, Jr., Cullinane DC. Hypothermia, coagulopathy, and acidosis. *Surg Clin North Am.* 2000; **80**(3): 845-54.
53. DeLoughery TG. Coagulation defects in trauma patients: etiology, recognition, and therapy. *Crit Care Clin.* 2004; **20**(1): 13-24.
54. Hiippala ST, Myllyla GJ, Vahtera EM. Hemostatic factors and replacement of major blood loss with plasma-poor red cell concentrates. *Anesth Analg.* 1995; **81**(2): 360-5.
55. Lim RC, Jr., Olcott Ct, Robinson AJ, Blaisdell FW. Platelet response and coagulation changes following massive blood replacement. *J Trauma.* 1973; **13**(7): 577-82.
56. Wilson RF, Mammen E, Walt AJ. Eight years of experience with massive blood transfusions. *J Trauma.* 1971; **11**(4): 275-85.
57. Goodnight SH, Kenoyer G, Rapaport SI, Patch MJ, Lee JA, Kurze T. Defibrination after brain-tissue destruction: A serious complication of head injury. *N Engl J Med.* 1974; **290**(19): 1043-7.
58. Hulka F, Mullins RJ, Frank EH. Blunt brain injury activates the coagulation process. *Arch Surg.* 1996; **131**(9): 923-7; discussion 7-8.
59. Miller RD, Robbins TO, Tong MJ, Barton SL. Coagulation defects associated with massive blood transfusions. *Ann Surg.* 1971; **174**(5): 794-801.
60. Simmons RL, Collins JA, Heisterkamp CA, Mills DE, Andren R, Phillips LL. Coagulation disorders in combat casualties. I. Acute changes after wounding. II. Effects of massive transfusion. 3. Post-resuscitative changes. *Ann Surg.* 1969; **169**(4): 455-82.
61. Hess JR, Brohi K, Dutton RP, Hauser CJ, Holcomb JB, Kluger Y, et al. The coagulopathy of trauma: a review of mechanisms. *J Trauma.* 2008; **65**(4): 748-54.
62. Schochl H, Forster L, Woidke R, Solomon C, Voelckel W. Use of rotation thromboelastometry (ROTEM) to achieve successful treatment of polytrauma with fibrinogen concentrate and prothrombin complex concentrate. *Anaesthesia.* 2010; **65**(2): 199-203.
63. Ganter MT, Hofer CK. Coagulation monitoring: current techniques and clinical use of viscoelastic point-of-care coagulation devices. *Anesth Analg.* 2008; **106**(5): 1366-75.

64. Kashuk JL, Moore EE. The emerging role of rapid thromboelastography in trauma care. *J Trauma*. 2009; **67**(2): 417-8.
65. Spahn DR, Bouillon B, Cerny V, Coats TJ, Duranteau J, Fernandez-Mondejar E, et al. Management of bleeding and coagulopathy following major trauma: an updated European guideline. *Crit Care*. 2013; **17**(2): R76.
66. Plotkin AJ, Wade CE, Jenkins DH, Smith KA, Noe JC, Park MS, et al. A reduction in clot formation rate and strength assessed by thrombelastography is indicative of transfusion requirements in patients with penetrating injuries. *J Trauma*. 2008; **64**(2 Suppl): S64-8.
67. Park MS, Salinas J, Wade CE, Wang J, Martini W, Pusateri AE, et al. Combining early coagulation and inflammatory status improves prediction of mortality in burned and nonburned trauma patients. *J Trauma*. 2008; **64**(2 Suppl): S188-94.
68. Hartmann M, Sucker C, Boehm O, Koch A, Loer S, Zacharowski K. Effects of cardiac surgery on hemostasis. *Transfus Med Rev*. 2006; **20**(3): 230-41.
69. Johnson JL, Moore EE, Kashuk JL, Banerjee A, Cothren CC, Biffl WL, et al. Effect of blood products transfusion on the development of postinjury multiple organ failure. *Arch Surg*. 2010; **145**(10): 973-7.
70. Vamvakas EC, Blajchman MA. Blood still kills: six strategies to further reduce allogeneic blood transfusion-related mortality. *Transfus Med Rev*. 2010; **24**(2): 77-124.
71. Bolliger D, Tanaka KA. Roles of thrombelastography and thromboelastometry for patient blood management in cardiac surgery. *Transfus Med Rev*. 2013; **27**(4): 213-20.
72. Parr KG, Patel MA, Dekker R, Levin R, Glynn R, Avorn J, et al. Multivariate predictors of blood product use in cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2003; **17**(2): 176-81.
73. Levy JH, Tanaka KA. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 2003; **75**(2): S715-20.
74. Despotis GJ, Filos KS, Zoys TN, Hogue CW, Jr., Spitznagel E, Lappas DG. Factors associated with excessive postoperative blood loss and hemostatic transfusion requirements: a multivariate analysis in cardiac surgical patients. *Anesth Analg*. 1996; **82**(1): 13-21.
75. Teufelsbauer H, Proidl S, Havel M, Vukovich T. Early activation of hemostasis during cardiopulmonary bypass: evidence for thrombin mediated hyperfibrinolysis. *Thromb Haemost*. 1992; **68**(3): 250-2.
76. Holloway DS, Summaria L, Sandesara J, Vagher JP, Alexander JC, Caprini JA. Decreased platelet number and function and increased fibrinolysis contribute to postoperative bleeding in cardiopulmonary bypass patients. *Thromb Haemost*. 1988; **59**(1): 62-7.
77. Rossaint R, Bouillon B, Cerny V, Coats TJ, Duranteau J, Fernandez-Mondejar E, et al. Management of bleeding following major trauma: an updated European guideline. *Crit Care*. 2010; **14**(2): R52.
78. Bolliger D, Gorlinger K, Tanaka KA. Pathophysiology and treatment of coagulopathy in massive hemorrhage and hemodilution. *Anesthesiology*. 2010; **113**(5): 1205-19.
79. Girdukas E, Kempfert J, Kuntze T, Borger MA, Enders J, Fassl J, et al. Thromboelastometrically guided transfusion protocol during aortic surgery with circulatory arrest: a prospective, randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010; **140**(5): 1117-24 e2.

80. Weber CF, Gorlinger K, Meininger D, Herrmann E, Bingold T, Moritz A, et al. Point-of-care testing: a prospective, randomized clinical trial of efficacy in coagulopathic cardiac surgery patients. *Anesthesiology*. 2012; **117**(3): 531-47.
81. Agarwal SV. Point of care monitoring during liver transplantation. *Trends in Anesthesia and Critical Care*. 2012.
82. Senzolo M, Burra P, Cholongitas E, Burroughs AK. New insights into the coagulopathy of liver disease and liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2006; **12**(48): 7725-36.
83. Coakley M, Reddy K, Mackie I, Mallett S. Transfusion triggers in orthotopic liver transplantation: a comparison of the thromboelastometry analyzer, the thromboelastogram, and conventional coagulation tests. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2006; **20**(4): 548-53.
84. Wang SC, Shieh JF, Chang KY, Chu YC, Liu CS, Loong CC, et al. Thromboelastography-guided transfusion decreases intraoperative blood transfusion during orthotopic liver transplantation: randomized clinical trial. *Transplant Proc*. 2010; **42**(7): 2590-3.
85. Hunt BJ, Segal H. Hyperfibrinolysis. *J Clin Pathol*. 1996; **49**(12): 958.
86. Fries D, Martini WZ. Role of fibrinogen in trauma-induced coagulopathy. *Br J Anaesth*. 2010; **105**(2): 116-21.
87. Caldwell SH, Hoffman M, Lisman T, Macik BG, Northup PG, Reddy KR, et al. Coagulation disorders and hemostasis in liver disease: pathophysiology and critical assessment of current management. *Hepatology*. 2006; **44**(4): 1039-46.
88. Forfori F, Ferro B, Mancini B, Letizia R, Abramo A, Anselmino M, et al. Role of thromboelastography in monitoring perioperative coagulation status and effect of thromboprophylaxis in bariatric surgery. *Obes Surg*. 2012; **22**(1): 113-8.
89. Koh MB, Hunt BJ. The management of perioperative bleeding. *Blood Rev*. 2003; **17**(3): 179-85.
90. Kozek-Langenecker SA. Perioperative coagulation monitoring. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2010; **24**(1): 27-40.