

# Tromboelastometrija - globalni koagulacijski test

---

Deny, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:520124>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Sveučilišni preddiplomski studij Medicinsko laboratorijska  
dijagnostika**

**Ivana Deny**

**TROMBOELASTOMETRIJA –  
GLOBALNI KOAGULACIJSKI TEST**

**Završni rad**

**Osijek, 2016.**



Rad je ostvaren u Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, KBC Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Vatroslav Šerić, mag. med. biochem.

Rad ima dvadeset i jedan list, dvije tablice i tri slike.

## **Zahvala**

*Zahvaljujem se svom mentoru doc. dr. sc. Vatroslavu Šeriću na mentorstvu i savjetima tijekom studiranja.*

*Zahvaljujem se Mariji Milić, spec. medicinske biokemije na nesebičnoj pomoći i savjetima tijekom pisanja završnog rada.*

*Hvala svim djelatnicima Zavoda za kliničku laboratorijsku dijagnostiku na moralnoj podršci tijekom studiranja i pisanja završnog rada.*

*Zahvaljujem se svojoj obitelji na podršci, strpljenju i ustrajnosti u ostvarivanju ovog završnog rada.*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1. Hemostaza .....	1
1.1.1. Primarna hemostaza .....	1
1.1.2. Sekundarna hemostaza .....	2
1.1.3. Inhibicija zgrušavanja.....	3
1.1.4. Fibrinoliza .....	3
1.2. Osnovne pretrage u dijagnostici poremećaja zgrušavanja.....	3
1.3. Tromboelastografija.....	4
1.4. Tromboelastometrija (ROTEM) .....	5
1.4.1. Prednosti ROTEM-a u odnosu na klasični TEG .....	5
1.4.2. Princip rada ROTEM-a.....	5
1.5. Primjena ROTEM metode u dijagnostici .....	8
<b>2. CILJ</b> .....	<b>9</b>
<b>3. MATERIJAL I METODE</b> .....	<b>10</b>
3.1. Ustroj studije.....	10
3.2. Materijal.....	10
3.3. Metode .....	11
3.4. Statističke metode.....	11
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>12</b>
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>14</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>16</b>
<b>7. SAŽETAK</b> .....	<b>17</b>
<b>8. SUMMARY</b> .....	<b>18</b>
<b>9. LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>21</b>

# 1. UVOD

## 1.1. Hemostaza

Sustav hemostaze ima ulogu održati krv u tekućem stanju u fiziološkom uvjetima, a pri ozljedi krvožilja brzom reakcijom stvoriti ugrušak i time spriječiti gubitak krvi. To je složen proces međusobno povezanih biokemijskih reakcija u kojem sudjeluje endotel krvnih žila, trombociti, faktori zgrušavanja, čimbenici fibrinolize i njihovi inhibitori. Savršena regulacija hemostaze podrazumijeva ravnotežno stanje bez krvarenja i ugruška. (1) Sustav hemostaze dijelimo na primarnu i sekundarnu hemostazu.

### 1.1.1. Primarna hemostaza

Primarna hemostaza odvija se u nekoliko koraka koji uključuju: kontrakciju krvne žile (vaskularni stadij), adheziju trombocita i agregaciju trombocita.

Kontrakcija krvne žile započinje neposredno nakon ozljede krvne žile i traje manje od jedne minute. Kontrakcija krvne žile spriječava gubitak krvi iz manjih krvnih žila. Vazokonstriktorski učinak imaju serotonin i tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) koji se oslobađaju iz trombocita.

Adhezija trombocita je proces u kojem se na oštećeni endotel krvne žile priljubljuju trombociti. Za adheziju trombocita na oštećeni endotel neophodan je von Willebrandov faktor (vWF) koji se veže na subendotelne strukture i na trombocite. Adherirani trombociti se zatim aktiviraju, gube diskoidan oblik i oslobađaju u izvanstaničnu tekućinu sadržaj granula (ADP, adrenalin, kalcij, vWF itd.).

Agregacija trombocita tj. sljepljivanje trombocita započinje vrlo brzo nakon adhezije trombocita. Agregacija se događa pod utjecajem ADP-a, adrenalina i TXA<sub>2</sub> oslobođenih iz trombocita te pod utjecajem malih količina trombina koje nastaju vanjskim putem zgrušavanja. Fibrin ima važnu ulogu u agregaciji trombocita jer omogućuje umrežavanje

trombocita. Rezultat agregacije trombocita je stvaranje trombocitnog ugruška na mjestu ozljede krvne žile.(2)

### **1.1.2. Sekundarna hemostaza**

Sekundarnu hemostazu čini niz povezanih reakcija u kojima sudjeluju brojni faktori zgrušavanja. Središnji događaj predstavlja nastanak trombina jer on stvara netopljivi fibrin tj. ugrušak. Većina faktora zgrušavanja nastaje u jetri te se izlučuje u cirkulaciju u neaktivnom obliku koji nema prokoagulantne aktivnosti. Faktori zgrušavanja se označavaju rimskim brojkama prema redu njihova otkrivanja. Tijekom zgrušavanja neaktivni se faktori prevode u aktivne što obilježavamo malim slovom „a“ uz rimsku brojku. Sekundarnu hemostazu dijelimo na vanjski i unutarnji put zgrušavanja. (3)

Vanjski put zgrušavanja započinje ulaskom fosfolipoproteina i membrana organela iz oštećenih tkivnih stanica u krv. Tkivni faktor (TF) se u fiziološkim uvjetima ne nalazi u krvi, već je dio membrane stanica. On je glavni pokretač vanjskog puta zgrušavanja jer ima veliki afinitet za FVII, tvori kompleks s FVII u prisutnosti kalcija te nastaje FVIIa. FVIIa aktivira FX, a aktivirani FX je jedini enzim koji može pretvoriti protrombin u trombin.

Sve komponente unutarnjeg puta zgrušavanja prisutne su u cirkulirajućoj krvi. Unutarnji put zgrušavanja započinje adsorpcijom FXII i kininogena na negativno nabijene subendotelne strukture koje su izložene na mjestima subendotelnog oštećenja.

Nakon nastajanja FXa, vanjski i unutarnji put zgrušavanja sastaju se u zajednički put zgrušavanja. U tom zajedničkom putu sudjeluju FX, FV i FII (protrombin). Iz protrombina nastaje trombin, a njegovim djelovanjem na fibrinogen nastaje fibrin. Trombin ima brojne druge funkcije: aktivira faktore zgrušavanja, protein C, zatim aktivira trombocite i potiče agregaciju. (3)



### **1.1.3. Inhibicija zgrušavanja**

Osim faktora zgrušavanja u plazmi se nalaze i određeni inhibitori sustava zgrušavanja koji sprječavaju spontano započinjanje zgrušavanja i ograničavaju širenje ugruška izvan područja ozljede. Svi inhibitori zgrušavanja reagiraju samo s aktiviranim faktorima zgrušavanja. Najvažniji inhibitori su antitrombin, protein C, protein S, alfa2-makroglobulin, alfa1-antitripsin i C1 inhibitor.(3)

### **1.1.4. Fibrinoliza**

Fibrinoliza je fiziološki proces liziranja i odstranjivanja ugruška. Kako bi se spriječilo pretjerano stvaranje fibrina, aktiviranje fibrinolitičkog sustava zbiva se paralelno s aktiviranjem sustava zgrušavanja. U procesu fibrinolize sudjeluju plazminogen, aktivatori plazminogena, inhibitori aktivatora plazminogena i antiplazmin. Ključni enzim fibrinolize je plazmin. On cijepa fibrin i fibrinogen u degradacijske proizvode. D-dimeri su krajnji produkt razgradnje fibrina.

Dinamička ravnoteža između sustava zgrušavanja i fibrinolitičkog sustava je neophodna za odvijanje normalne hemostaze. Poremećaj ravnoteže nastajanja i razgradnje fibrina može dovesti do krvarenja, kao rezultata oslabljene koagulacije i pojačane fibrinolize, i do stvaranja krvnih ugrušaka odnosno tromboze, kao rezultat pojačane koagulacije i oslabljene fibrinolize. (3)

## **1.2. Osnovne pretrage u dijagnostici poremećaja zgrušavanja**

Osnovne laboratorijske pretrage koje se koriste u dijagnostici poremećaja zgrušavanja krvi su protrombinsko vrijeme (PV), aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV), trombinsko vrijeme (TV), određivanje koncentracije fibrinogena, brojčane koncentracije trombocita i ispitivanje agregacije trombocita. Te analize zauzimaju vrlo važnu ulogu u

dijagnostici jer njihovi rezultati izravno ili neizravno ukazuju na mnoge bolesti kako krvotvornog sustava tako i cjelokupnog organizma. (4)

Međutim, tim pretragama ne možemo otkriti sve poremećaje hemostaze, a osim toga oni ne koreliraju uvijek s kliničkim stanjem i nisu prikladni za dijagnostiku akutnih krvarenja. Stoga se stalno nastoje razviti globalni koagulacijski testovi koji bolje oponašaju fiziološka hemostatska događanja i time bolje koreliraju s kliničkim stanjem pacijenta. Uzorak u kojem se određuju PV i APTV je plazma, dok se globalni koagulacijski testovi izvode u punoj krvi te sam uzorak u kojem se analize izvode govori u prilog globalnim koagulacijskim testovima. Jedan od globalnih koagulacijskih testova je tromboelastografija (TEG) koja je davno osmišljena metoda, a zbog brojnih je nedostataka gotovo potpuno napuštena njezina uporaba.

### **1.3. Tromboelastografija**

Hartert H. je osmislio i 1948. godine objavio članak u kojem opisuje viskoelastični test koji je nazvao tromboelastografom (TEG). (8) Za razliku od testova kao što su PV i APTV, koji detektiraju trenutak u kojem se počinju stvarati prve niti fibrina tj. detektiraju početak stvaranja ugruška, TEG-om se prati i daljnji rast i razgradnja ugruška. TEG je osjetljiv na razinu aktivnosti faktora zgrušavanja, broj trombocita, koncentraciju fibrinogena, stupanj polimerizacije fibrina, prisutnost inhibitora funkcije trombocita i hiperfibrinolizu. (5)

Brojni su nedostaci te metode kao npr. analiza se mora provesti neposredno nakon vađenja krvi jer je uzorak nativna krv, instrument je osjetljiv na vibracije, vrijeme reakcije je dugačko i potrebno je iskustvo pri izvođenju testa. Zbog tih nedostataka metoda je bila zanemarena do sredine 80-ih godina, kada je napravljeno bolje tehničko rješenje manje osjetljivo na vibracije i uvedeni su različiti aktivatori i inhibitori u svrhu diferenciranja poremećaja zgrušavanja. Takva poboljšana verzija poluautomatiziranog instrumenta i metode nazvana je tromboelastometrija. (9) Ona je ušla u rutinsku uporabu najčešće kao POCT u zbrinjavanju akutnih krvarenja. (5)

Tromboelastometrija nije savršen globalni koagulacijski test jer nije osjetljiv na disfunkciju trombocita bilo urođenu ili stečenu, na nedostatak Von Willebrandovog faktora i deficit FXIII. (6, 10)

## **1.4. Tromboelastometrija (ROTEM)**

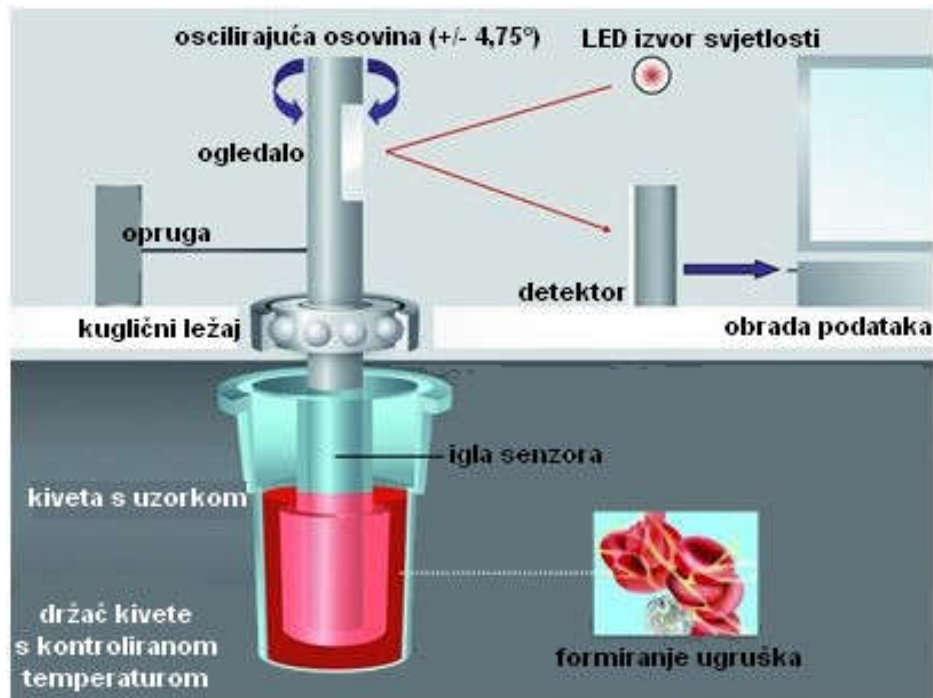
Rotacijska tromboelastometrija, odnosno ROTEM je modifikacija TEG-a koja omogućuje brzu diferencijalnu dijagnozu uzroka krvarenja, ciljanu terapiju krvarenja i praćenje učinkovitosti terapije.

### **1.4.1. Prednosti ROTEM-a u odnosu na klasični TEG**

Ova je metoda značajno brža od klasičnog TEG-a zbog dodatka aktivatora zgrušavanja čime se skraćuje dugo vrijeme reakcije. Dodatna prednost je što je uzorak citratna krv i stoga se analiza ne mora provoditi neposredno nakon vađenja krvi. Velika prednost ROTEM metode u odnosu na klasični TEG je uvođenje četiri kanala, odnosno mogućnost izvođenja četiri različite pretrage istovremeno. Upravljanje je lako i standardizirano uz pomoć elektroničke pipete i programa koji korisniku daje detaljne slikovne i pisane upute. Stoga se obuka i rukovanje uređajem svode na minimum. Uređaj je moguće prenositi, otporan je na udarce i vibracije, što je još jedna velika prednost nad klasičnim TEG-om. (5)

### **1.4.2. Princip rada ROTEM-a**

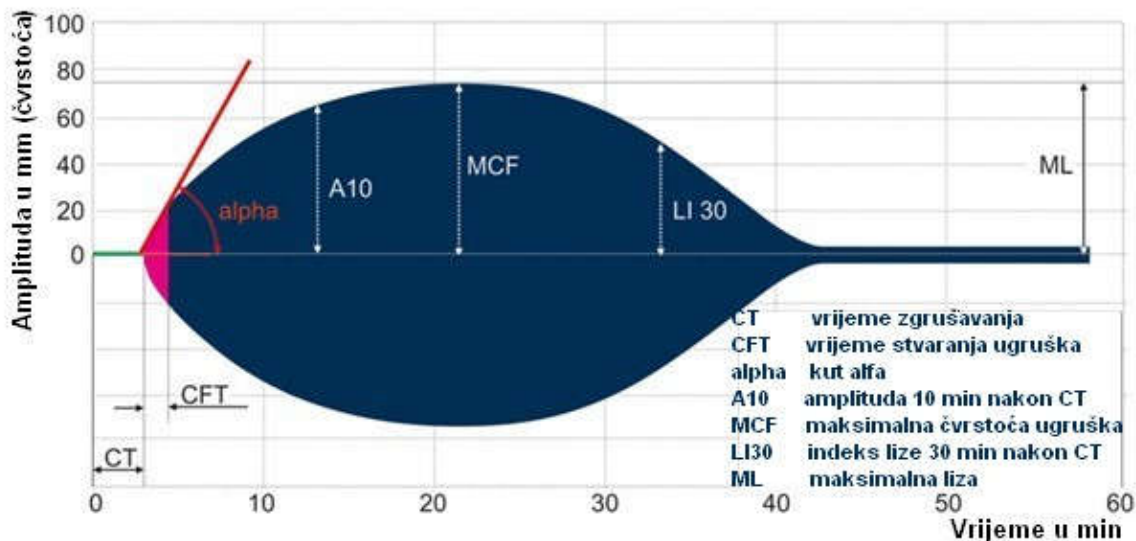
Kiveta s uzorkom krvi ne rotira kao u TEG-u, već rotira osovina koja je jednim krajem uronjena u uzorak krvi u kivetu. Njen okretni moment registrira se pomoću izvora svjetla i CCD čipa. (Slika 1.)



Slika 1. Princip rada tromboelastometra (ROTEM-a)<sup>1</sup>

Osovina rotira slobodno, dok je krv u tekućem stanju. Nastanak prvih niti fibrina ometa rotiranje osovine. Daljnji rast ugruška, doprinos trombocita i fibrinogena, stabilizacija ugruška i njegova razgradnja utječu na rotaciju osovine. Kretnje rotirajuće osovine prikazuju se grafički pomoću računala i odgovarajućeg softwarea. Rezultat analize je krivulja koju nazivamo TEM-ogram. (5) (Slika 2.)

<sup>1</sup> Slika preuzeta i obrađena sa stranice <https://www.rottem.de/en/methodology/thromboelastometry/>, uz dopuštenje autora



Slika 2. TEM-ogram s prikazom najvažnijih mjerenih veličina<sup>2</sup>

Najvažnije mjerene veličine koje se iščitavaju iz TEM-ograma su vrijeme zgrušavanja (CT), vrijeme formiranja ugruška (CFT), kut alfa, maksimalna čvrstoća ugruška (MCF) i maksimalna liza ugruška.(6)

ROTEM-om se pomoću različitih reagensija koji aktiviraju zgrušavanje ili inhibiraju trombocite, heparin i fibrinolizu može pristupiti diferencijalnoj dijagnostici poremećaja koagulacije te na taj način uputiti liječnika u izbor ciljane terapije.

Diferencijalna dijagnoza može se postaviti uz pomoć sljedećih specifičnih testova: INTEM, EXTEM, HEPTEM, FIBTEM, APTEM.

EXTEM test koristi se za pretraživanje na poremećaje hemostaze, osjetljiv je na manjak faktora zgrušavanja, trombocita i polimerizaciju fibrina. Reagens je tkivni faktor koji pokreće vanjski put zgrušavanja.

INTEM test koristi se za pretraživanje na poremećaje hemostaze, osjetljiv je na manjak faktora zgrušavanja, trombocita, polimerizaciju fibrina i prisutnost heparina. Reagens je aktivator unutarnjeg puta zgrušavanja.

<sup>2</sup> Slika preuzeta i obrađena sa stranice <https://www.rottem.de/en/methodology/rotem-delta-and-sigma-analysis/>, uz dopuštenje autora

HEPTEM test se uz INTEM primjenjuje pri praćenju terapije heparinom ili drugih poremećaja zgrušavanja prikrivenih heparinom, a može se upotrijebiti i za otkrivanje heparinu sličnih antikoagulansa u krvotoku. Reagens u ovom testu je inhibitor heparina.

FIBTEM se koristi za razlikovanja uzroka poremećaja zgrušavanja kad je EXTEM-om uočeno da postoji poremećaj s polimerizacijom fibrina, manjak fibrinogena ili nedostatak trombocita. Uz pomoć FIBTEM testa možemo razlučiti koliki je udio trombocita i fibrinogena u formiranju ugruška jer je reagens inhibitor trombocita pa se, nakon što su inhibirani trombociti, prati nastanak ugruška samo iz fibrinogena.

APTEM testom potvrđujemo hiperfibrinolizu jer je reagens aprotinin koji je inhibitor fibrinolize. Ako je prisutna hiperfibrinoliza, nakon dodatka aprotinina, uspostavlja se normalna hemostaza i dobijamo normalan TEM-ogram u odnosu na EXTEM. (5)

## **1.5. Primjena ROTEM metode u dijagnostici**

Tromboelastometrija (ROTEM) se sve više primjenjuje u zbrinjavanju akutnih krvarenja tijekom kardiokirurških operacija (11), velikih trauma (12), transplantaciji jetre (13), porodu (14) itd. Pomoću ROTEM-a možemo vrlo brzo (već za 10 - 15 minuta) razlikovati kirurško krvarenje od krvarenja uslijed poremećaja hemostaze ili predoziranosti antikoagulansima. (5) Osim toga, ROTEM-om diferenciramo uzrok krvarenja te se može započeti s ciljanom terapijom odnosno primjenom koncentrata trombocita, fibrinogena, faktora zgrušavanja, svježe smrznute plazme, inhibitora fibrinolize, protamina itd., ovisno o rezultatima analize. (7)

U brojnim je studijama dokazano da ROTEM-om vođeno zbrinjavanje krvarenja dovodi do znatnih ušteta na krvnim pripravcima, bržem oporavku pacijenata i kraćim boravkom pacijenata u intenzivnim jedinicama liječenja. (7)

## 2. CILJ

S obzirom na to da je tromboelastometrija globalni koagulacijski test, što znači da prati nastanak, rast i razgradnju ugruška u punoj krvi, a za nastanak ugruška su neophodni trombociti, cilj nam je bio ispitati povezanost tj. korelaciju brojčane koncentracije trombocita s maksimalnom čvrstoćom ugruška (maximum clot firmness, MCF) izmjerenom tromboelastometrijskom analizom.

## **3. MATERIJAL I METODE**

### **3.1. Ustroj studije**

Presječna studija.

### **3.2. Materijal**

Podatci tromboelastometrijskih analiza uzoraka krvi trideset pacijenata oba spola ( $n = 30$ ), u dobi od 18 do 80 godina, prikupljeni su od siječnja do ožujka 2016. godine na Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, KBC-a Osijek. Analize su napravljene rutinski na zahtjev liječnika s Odjela za intenzivno liječenje ili operacijske sale, a u svrhu dijagnoze i terapije pacijenata s poremećajem hemostaze. Iz tih tromboelastometrijskih analiza učinjenih uređajem ROTEM, koje uključuju brojne mjerene veličine objašnjene u uvodnom dijelu, izdvojili smo sljedeću mjerenu veličinu: maksimalnu čvrstoću ugruška (engl. maximum clot firmness, MCF). Uz svaku tromboelastometrijsku analizu prikupljeni su i podatci o brojčanoj koncentraciji trombocita u krvi pacijenta kojem je zatražena tromboelastometrijska analiza.

Uzorci venske krvi za ROTEM analizu uzeti su na citratni antikoagulans (3,2 % puferirani natrijev citrat). Svaki uzorak krvi je prema standardima dobre laboratorijske prakse pregledan na prisutnost ugruška, budući da ugrušan uzorak nije prihvatljiv za analizu. Osim toga, svakom uzorku krvi je provjeren volumen usporedbom s oznakom na epruveti, budući da nepoštivanje omjera krvi i citratnog antikoagulansa u omjeru 1 + 9 uzrokuje niže tj. lažno produžene vrijednosti u koagulacijskim testovima pa tako i u tromboelastometriji.

Za određivanje brojčane koncentracije trombocita uzorci krvi su uzeti na EDTA antikoagulans u vakuum sisteme proizvođača Becton, Dickinson and Company, USA.



### **3.3. Metode**

Tromboelastometrijska analiza je učinjena uz pripadajući reagens EXTEM kojom je određena maksimalna čvrstoća ugruška (MCF) na uređaju ROTEM proizvođača Tem International GmbH, Munich, Germany.

Brojčana koncentracija trombocita određena je impedancijskom metodom na automatskom hematološkom analizatoru XN 2100, proizvođača Sysmex, Japan.

U slučajevima kada uz zahtjev za tromboelastometriju nije bio dostavljen i uzorak EDTA krvi za krvnu sliku, tada je iz citratne krvi za tromboelastometriju određena i krvna slika iz koje smo dobili podatak o brojčanoj koncentraciji trombocita i pri tome je učinjena korekcija množenjem s 1,1 zbog standardnog razrjeđenja citratnim antikoagulansom.

### **3.4. Statističke metode**

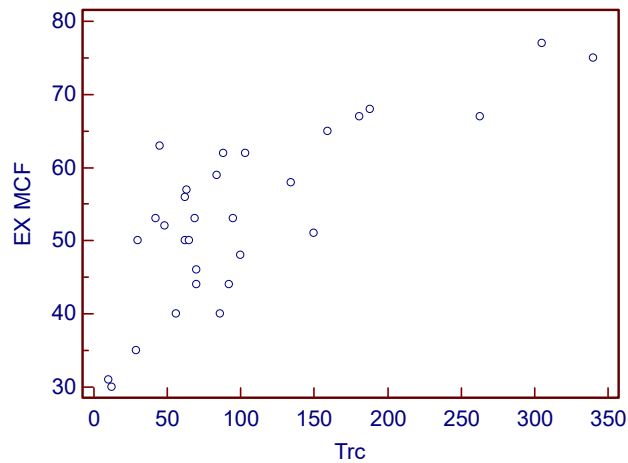
Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina  $\pm$  SD za normalno distribuirane parametre. Za ocjenu normalnosti distribucije parametara korišten je Kolmogorov-Smirnovljev test. Za ocjenu povezanosti korišten je Pearsonov koeficijent korelacije. Vrijednosti  $p < 0,05$  smatrale su se statistički značajnima. Statistička analiza učinjena je pomoću statističkog programa MedCalc (inačica 11.1.0.0, MedCalc Software, Ostend, Belgija).

## 4. REZULTATI

Maksimalna čvrstoća ugruška (MCF) izmjerena ROTEM-om u 30 uzoraka krvi iznosila je  $53 \pm 11$  mm. Vrijednosti brojčane koncentracije trombocita u tim istim uzorcima krvi bile su  $103 \pm 81 \times 10^9/L$ . (Tablica 1.) Oba parametra su pokazala normalnu distribuciju uporabom Kolmogorov-Smirnovljevog testa. S obzirom na to da su oba parametra pokazala normalnu razdiobu, ocjena povezanosti brojčane koncentracije trombocita i maksimalne čvrstoće ugruška učinjena je Pearsonovom korelacijom. Koeficijent korelacije iznosi  $r = 0,772$  ( $p = 0,0001$ , 95 % interval pouzdanosti je od 0,5711 do 0,8861). (Tablica 2.)

Tablica 1. Brojčana koncentracija trombocita i maksimalna čvrstoća ugruška (MCF) u EXTEM-u određena u 30 uzoraka krvi

r.b.	Trc $\times 10^9/L$	EXTEM MCF (mm)
1	188	68
2	30	50
3	45	63
4	69	53
5	103	62
6	29	35
7	95	53
8	42	53
9	56	40
10	10	31
11	181	67
12	263	67
13	48	52
14	12	30
15	62	50
16	159	65
17	100	48
18	92	44
19	86	40
20	150	51
21	84	59
22	63	57
23	70	44
24	88	62
25	70	46
26	65	50
27	62	56
28	340	75
29	134	58
30	305	77



Slika 3. Dijagram raspršenja brojčane koncentracije trombocita i maksimalne čvrstoće ugruška u EXTEM testu

Tablica 2. Ocjena povezanosti brojčane koncentracije trombocita i maksimalne čvrstoće ugruška učinjena je Pearsonovom korelacijom

Veličina uzorka (n)	30
Pearsonov koeficijent korelacije r	0,7724
Razina značajnosti	P < 0,0001
95 % interval pouzdanosti za r	0,5711 - 0,8861

## 5. RASPRAVA

Za učinkovitu hemostazu tj. zaustavljanje krvarenja neophodno je da se brojne interakcije među faktorom zgrušavanja, trombocitima i endotelom krvnih žila odvijaju uz savršenu međusobnu regulaciju. Agregirani trombociti fizički zatvaraju otvor na krvnoj žili koji je ozljedom nastao, ali oni, osim toga, oslobađaju sadržaj svojih granula i ispoljavaju na svojoj površini brojne receptore (2) koji omogućavaju sustavu sekundarne hemostaze da stvori fibrinsku mrežicu. (3) U fibrinsku mrežicu upleteni su trombociti i druge stanice te tako nastaje stabilan ugrušak. U tim interakcijama vrlo važnu ulogu imaju trombociti te u slučaju njihovog nedostatka ili disfunkcije, izostaje i učinkovito i brzo zaustavljanje krvarenja.

Masivno krvarenje ugrožava život pacijenta i liječnik mora brzo dijagnosticirati uzrok krvarenja kako bi mogao primijeniti ciljanu terapiju i tako zaustaviti krvarenje. Postojeći laboratorijski testovi u takvim situacijama nisu dovoljno brzi niti koreliraju s kliničkim stanjem pacijenta. (6) Zbog kompleksnosti hemostaze i uključenosti endotela u taj proces, nemamo na raspolaganju osjetljivu, jednostavnu, brzu i jeftinu metodu kojom ćemo točno i brzo dijagnosticirati uzrok krvarenja. Stoga se stalno nastoje razviti globalni koagulacijski testovi koji bolje oponašaju fiziološka hemostatska događanja i time bolje koreliraju s kliničkim stanjem pacijenta. (6)

Tromboelastometrija je globalni koagulacijski test, što znači da sveobuhvatnije mjeri reakcije koje se događaju nakon pokretanja koagulacijske kaskade u odnosu na klasične laboratorijske koagulacijske testove. Njome se prati nastanak, rast i razgradnja ugruška u punoj krvi za razliku od klasičnih koagulacijskih testova koji se izvode u plazmi pa su takve metode daleko od stvarnih fizioloških događanja. (7)

Za utvrđivanje uzroka akutnih krvarenja i praćenje terapije akutnih krvarenja, kliničaru je neophodan podatak o brojčanoj koncentraciji trombocita. Tromboelastometrija kao POC testiranje postaje zlatni standard u zbrinjavanju akutnih krvarenja (15) jer pruža važne informacije kliničaru u samo 15 – 20 minuta. Radom se ispitalo može li se iz maksimalne čvrstoće ugruška izmjerene ROTEM-om pouzdano procijeniti brojčana koncentracija trombocita. Trombociti su pokretači hemostaze, a na njihovoj se površini, nakon što se aktiviraju, odvijaju brojne reakcije koje dovode do nastanka fibrinske mrežice u koju su upleteni trombociti i druge stanice. Dakle, trombociti su osnova u stabilnom krvnom ugrušku. Tromboelastometrijskom analizom krvi dobijaju se razni podatci o nastanku, dinamici rasta i

razgradnji ugruška, a jedna od brojnih mjerenih veličina koje tom analizom mjerimo je maksimalna čvrstoća ugruška,<sup>(5)</sup> koju smo korelirali s brojčanom koncentracijom trombocita u krvi, te je ovim radom pokazano da postoji umjerena povezanost između brojčane koncentracije trombocita i maksimalne čvrstoće ugruška izmjerene tromboelastometrijskom (ROTEM) analizom. Dobivena korelacija je umjerena, što se može objasniti fiziološkim mehanizmima, odnosno time da u stvaranju ugruška ne sudjeluju samo trombociti. Osim brojčane koncentracije trombocita za stvaranje kvalitetnog ugruška, bitna je i funkcija trombocita i normalna sekundarna hemostaza koja vodi do nastanka fibrina. Niska koncentracija fibrinogena u krvi uzrok je nedovoljnom stvaranju fibrinske mrežice oko trombocita, stoga bi trebalo u opsežnijem istraživanju obuhvatiti i taj parametar i izmjeriti njegov doprinos čvrstoći i kvaliteti ugruška zajedno s trombocitima.

S obzirom na to da je korelacija između brojčane koncentracije trombocita i maksimalne čvrstoće ugruška izmjerene tromboelastometrijskom (ROTEM) analizom umjerena, kako je ovim radom pokazano, ne može se pouzdano procjenjivati brojčana koncentracija trombocita iz maksimalne čvrstoće ugruška, što bi bilo korisno kliničarima pri dijagnosticiranju i praćenju terapije akutnih krvarenja. Podatci o brojčanoj koncentraciji trombocita još se uvijek pružaju kliničarima u sklopu određivanja kompletne krvne slike referentnom metodom na automatskim hematološkim analizatorima.

## 6. ZAKLJUČCI

Iz maksimalne čvrstoće ugruška (MCF) izmjerene tromboelastometrijskom metodom ROTEM ne možemo pouzdano procjenjivati brojčanu koncentraciju trombocita jer je korelacija tih dvaju parametara umjerena. To govori u prilog tomu da je TEM globalni koagulacijski test i da mjeri doprinos brojnih čimbenika hemostaze u nastanku ugruška, a ne samo trombocita.

## 7. SAŽETAK

**CILJ ISTRAŽIVANJA:** Cilj ovog istraživanja bio je ispitati povezanost tj. korelaciju brojčane koncentracije trombocita s maksimalnom čvrstoćom ugruška izmjerenom tromboelastometrijskom (ROTEM) analizom.

**MATERIJAL I METODE:** Prikupljeni su rezultati dobiveni rutinskom ROTEM analizom uzoraka krvi ( $n = 30$ ) koji su dostavljeni iz Jedinice za intenzivno liječenje ili operacijske sale u Zavod za kliničku laboratorijsku dijagnostiku na zahtjev liječnika u svrhu dijagnoze i terapije pacijenata s poremećajem hemostaze. U uzorcima citratne pune krvi učinjena je tromboelastometrija uređajem ROTEM uz pripadajući reagens EXTEM, proizvođača Tem International GmbH, Munich, Germany. Brojčana koncentracija trombocita određena je iz uzorka EDTA krvi na automatskom hematološkom analizatoru XN 2100, Sysmex. Za ocjenu povezanosti korišten je Pearsonov koeficijent korelacije. Statistička značajnost je postavljena  $p < 0,05$ , a analiza je učinjena pomoću statističkog programa MedCalc (inačica 11.1.0.0, MedCalc Software, Ostend, Belgija).

**REZULTATI:** Vrijednosti brojčane koncentracije trombocita izražene kao aritmetička sredina  $\pm$  SD bile su  $103 \pm 81 \times 10^9/L$ , a maksimalne čvrstoće ugruška (MCF)  $53 \pm 11$  mm. Koeficijent korelacije iznosi  $r = 0,772$  ( $p = 0,0001$ , 95 % CI 0,5711 do 0,8861).

**ZAKLJUČAK:** Tromboelastometrijom (ROTEM) izmjerena čvrstoća ugruška korelira umjereno s brojčanom koncentracijom trombocita u krvi te se iz nje ne može pouzdano procjenjivati broj trombocita. To govori u prilog tomu da je TEM globalni koagulacijski test i da mjeri doprinos brojnih čimbenika hemostaze u nastanku ugruška, a ne samo trombocita.

**KLJUČNE RIJEČI:** brojčana koncentracija trombocita, maksimalna čvrstoća ugruška, ROTEM, tromboelastometrija

## 8. SUMMARY

**OBJECTIVE:** The aim of this study was to correlate the number of platelets in blood with the maximum clot firmness measured by thromboelastometry ROTEM analysis.

**MATERIALS AND METHODS:** The results were obtained by routinely performed ROTEM analysis of blood samples (n=30) delivered from the Intensive Care Unit or OR to the Department of Clinical Laboratory Diagnostics. Thromboelastometry (ROTEM) was performed on citrated whole blood samples, with the corresponding reagent EXTEM, manufactured by Tem International GmbH, Munich, Germany. The number of platelets was determined as a part of the complete blood count in a EDTA blood sample by automatic hematology analyzer XN2100, Sysmex. Normality of distribution was analysed using the Kolmogorov-Smirnov test. Pearson's correlation coefficient was used to rate the correlation. Statistical significance was set at  $p < 0.05$  and analysis was performed using the statistical program MedCalc (version 11.1.0.0, MedCalc Software, Ostend, Belgium).

**RESULTS:** Number of platelets were  $103 \pm 81 \times 10^9/L$ , and the maximum clot firmness (MCF) were  $53 \pm 11$  mm. Pearson's correlation coefficient between platelet number and maximum clot firmness (MCF) was  $r = 0.772$  ( $p = 0.0001$ , 95% CI from 0.5711 to 0.8861).

**CONCLUSION:** Maximum clot firmness measured by thromboelastometry (ROTEM) moderately correlates with the number of platelets in the blood. Therefore, it cannot be used for reliable estimation of the platelet number. This supports the fact that TEM is global coagulation test as it measures the contribution of numerous hemostasis factors involved in clot formation, and not only platelets.

**KEY WORDS:** number of platelets, maximum clot firmness, ROTEM, thromboelastometry



## 9. LITERATURA

1. Zupančič-Šalek S, Stančić V Hemostaza. U: Vrhovac B, Jakšić B, Reiner Ž, Vucelić B Interna medicina. Medicinska biblioteka 2008; 918-919.
2. Larson L. Primary Hemostasis. U: McKenzie SB. Clinical Laboratory Hematology. 2004. 653-674.
3. Weller MA. Secondary hemostasis and fibrinolysis. U: McKenzie SB. Clinical Laboratory Hematology. 2004. 675-702.
4. Labar B, Hauptmann E i sur. Hematologija. Školska knjiga.1998; 253-254.
5. ROTEM, Training manual, Pentapharm GmbH, München; 2007.
6. Lance D M. A general review of major global coagulation assays: thromboelastography, thrombin generation test and clot waveform analysis. Thrombosis Journal. 2015;13:1-6.
7. Whiting P, Al M, Westwood M. Viscoelastic point-of-care testing to assist with the diagnosis, management and monitoring of haemostasis: a systematic review and cost-effectiveness analysis. Health Technol Assess. 2015;19(58):1-228.
8. Hartert H. Blutungsstudien mit der Tromboelastographie: einem neuen Untersuchungsverfahren. Klin Wochenschr. 1948;26:577-583.
9. Dostupno na adresi: <https://www.rotem.de/en/>. Datum pristupa: 1.7.2016.
10. Lang T, von Depka M. Possibilities and limitations of thromboelastometry/-graphy. Hamostaesologie. 2006;26:S20-S29.
11. Dirkmann D, Görlinger K, Dusse F, Kottenberg E, Peters J. Early thromboelastometric variables reliably predict maximum clot firmness in patients undergoing cardiac surgery: a step towards earlier decision making. Acta Anaesthesiol Scand. 2013;57(5):594-603.
12. Hagemo JS, Christiaans SC, Stanworth SJ. Detection of acute traumatic coagulopathy and massive transfusion requirements by means of rotational thromboelastometry: an international prospective validation study. Crit Care. 2015;23:19:97.
13. Donohue CI, Mallett SV. Reducing transfusion requirements in liver transplantation. World J Transplant. 2015;5(4):165-82.
14. Mallaiah S, Barclay P, Harrod I. Introduction of an algorithm for ROTEM<sup>®</sup>-guided fibrinogen concentrate administration in major obstetric haemorrhage. Anaesthesia. 2015;70(2):166-75.

15. American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood Management. Practice guidelines for perioperative blood management: an updated report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood Management. *Anesthesiology*. 2015;122(2):241-75.

## 10. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci:

Ime i prezime: Ivana Deny

Datum i mjesto rođenja: 30. srpnja 1985., Požega, Hrvatska

Adresa: Sprečanska 17, Brijest, 31000 Osijek

Telefon: 099/676-1799

E-mail: ivana.deny@gmail.com

Obrazovanje:

2004. god. završena Medicinska škola u Osijeku, smjer zdravstveno-laboratorijski tehničar

2012. god. upisana na Sveučilišni preddiplomski studij Biomedicinsko laboratorijskih tehnologija na Medicinskom fakultetu Osijek

Radno iskustvo:

2005.-2006. stažirala na Odjelu za hematološko-biokemijsku dijagnostiku Opće županijske bolnice Požega

2006.-2008. zaposlena na Odjelu za hematološko-biokemijsku dijagnostiku Opće županijske bolnice Požega

2009. do danas zaposlena u Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek