

# Hemostaseaktivitet hos traumepasienter

Daniel Barth



Litteraturstudie ved det Medisinske fakultet, Universitetet i Oslo

**Innhold:**

Abstract	3
Innledning	4
Hemostase	5
Trombose	9
Koagulasjonstester	10
Hypovolemisk sjokk og transfusjonsbehandling	14
Traume-indusert koagulopati	17
Konklusjon	22
Litteraturliste	24

## Abstract:

Managing hemorrhagic shock is complex and difficult, and hemorrhage remains the leading cause of preventable deaths among trauma patients.

There is an on-going debate on the best resuscitative strategy. Many intensive care units practice massive transfusion protocols with resuscitation fluids composed of Packed Red Blood Cells (PRBC), Fresh Frozen Plasma and platelets in equal ratios, thus resembling whole blood. Some studies reported a great survival benefit from this relative high proportion of FFP, but most of this benefit has later been shown to be due to a survival bias.

Trauma-induced coagulopathy (TIC) is present in 10-34 percent of trauma-patients at admission to the intensive care unit. A feared complication to massive hemorrhage includes the so-called «viscous cycle» of hypothermia, acidosis and coagulopathy, which is associated with increased morbidity and mortality.

To understand the pathophysiology behind this, knowledge of hemostasis is needed. Endothelium, platelets and coagulation proteins are the constituents that together provide the hemostatic pathways.

Each system constituent interacts with and influences all other constituents. While the coagulation proteins previously have been the only accessible constituent, newer techniques are now available. Viscoelastic hemostatic assays (VHAs), including thromboelastography and thromboelastometry, allows «point of care» evaluation of the coagulation in whole blood, and hence gives more information about clotting *in vivo*. It remains to tell whether the use of VHAs as guide for massive transfusion protocols will improve outcomes.

Evolving evidence appears to link damage to the endothelium as a key factor to TIC. The endothelium, estimated to represent an area of 4000-7000 m<sup>2</sup> and some 10<sup>13</sup> cells, and its tremendous heterogeneity, is by far the constituent of the hemostatic systems most difficult to study. New insight is emerging, however.

The availability of «point of care» testing is getting more common in intensive care units. Will a better understanding lead to altered transfusion protocols? And will «point of care» monitoring lead to improved outcomes through earlier diagnosis and more targeted therapy?

Based on non-systematical search of relevant literature, the present study addresses these issues.

## **Innledning**

I denne oppgaven har jeg forsøkt å sette meg inn i sentrale problemstillinger knyttet til monitorering av hemostase og væske-resuscitering av traumepasienter etter massive blødninger. Innledningsvis finner jeg det derfor naturlig å se på de grunnleggende hemostasemekanismer.

Videre har jeg søkt etter svar på hva som er den ideelle behandling for traumepasienter i behov av massiv transfusjon. Vil den stadig økende innsikten på dette feltet, og bedrede muligheter for «point-of-care» monitorering, gi nye retningslinjer og mer målrettet behandling?

Det foreligger mye spennende forskning innen dette fagfeltet, og er publisert mer enn 5.000 randomiserte kontrollerte studier innen transfusjonsmedisin, og nær 1000 systematiske oppsummeringer[1]. Jeg har basert oppgaven på ikke-systematiske litteratursøk, og forsøkt å velge ut sentrale originalartikler fra 2013. Samtidig har jeg også lest oppsummeringer, samt noen eldre publikasjoner, for å få et større bilde. Jeg har også lest noen fagbøker og sett på retningslinjer, bl.a. UpToDate.

Jeg vil takke min veileder overlege og professor Hans Erik Heier for en spennende og konstruktiv dialog underveis.

## Hemostase

Iboende i menneskets trykkdrevne sirkulasjon er behovet for en mekanisme som stopper en blødning med dertil følgende trykkfall og blodtap[4]. Dette kalles hemostase, og er en komplisert respons som involverer så vel cellulære som enzymatiske reaksjoner. Avgjørende for adekvat hemostase er samspillet mellom funksjoner knyttet til endotel, trombocytter og koagulasjonsfaktorer.

### Endotel

Endotelceller kler det arterielle lumen, som tilsammen utgjør 4000-7000 m<sup>2</sup> og anslagsvis 10<sup>13</sup> celler[40]. Endotelial glykokalyx utgjør et 0,2 - 1 micrometer tykt negativt ladet lag over endotelcellene, og bidrar bl.a. til styrket barrierefunksjon[40]. Under normale forhold virker endotelet anti-koagulant og bidrar til å opprettholde sirkulasjon, bl.a. ved å produsere endotelial ADP-ase, nitrogenmonoksid (NO) og prostasyklin (PGI<sub>2</sub>). [3]. De to sistnevnte mediatoene er også potente vasodilatorer og inhibitorer av trombocyttaggregasjon. Syntesen er stimulert av flere faktorer (bl.a. trombin og cytokiner) som produseres under koagulasjon. Anti-koagulasjonseffekter medieres av membranassosierte, heparin-liknende molekyler og trombomodulin. De heparin-liknende molekylerne virker indirekte; de er kofaktorer som lar antitrombin III inaktivere trombin, faktor Xa, og flere andre koagulasjonsfaktorer (se senere). Trombomodulin har også en indirekte virkningsmekanisme: den binder til trombin, som dermed omdannes fra pro-koagulant til anti-koagulant med evne til å aktivere det anti-koagulante protein C. Aktivert protein C vil deretter inhibere koagulasjon ved proteolytisk kløving av faktorene Va og VIIIa. Dette krever det endotelproduserte protein S som kofaktor[2,3].

Endotelcellene kan også virke protrombotisk, med aktiviteter som påvirker trombocytter, koagulasjonsproteiner og det fibrinolytiske system[2]. En skade av en arterie vil medføre en kortvarig vasokonstriksjon, hovedsakelig som følge av reflektoriske nevrogene mekanismer, og forsterket av lokal sekresjon av faktorer som *endotelin* (en potent endotelderivert vasokonstriktor). Effekten er forbigående, og blødningen ville tatt seg opp igjen om det ikke var for aktiveringen av trombocytter og koagulasjonssystemet[3].

Endotelcellene produserer også von Willebrands faktor (vWF), et multimer av varierende lengde, som enten slippes ut i sirkulasjonen eller bidrar som ligand i binding mellom endotel og kollagen[37]. vWF er en viktig kofaktor når det gjelder å binde trombocytter til kollagen og andre overflater. I tillegg er vWF obligat transportør av FVIII [3].

Cytokiner som tumor-nekrosefaktor (TNF) og interleukin-1 (IL-1), i tillegg til bakterielle endotoksiner, induserer alle endotelcellenes produksjon av *Tromboplastin* (også kjent som tissue factor eller vevsfaktor). Tromboplastin aktiverer den ytre koagulasjonskaskade (Se senere). Ved å binde aktivert koagulasjonsfaktor IXa og Xa, øker endotelcellene disse koagulasjonsfaktorenes katalytiske aktivitet. Endotelcellene frislipper også plasminogen aktivator inhibitorer (PAIs), som hemmer fibrinolysen [2].

### Trombocytter

Trombocyttene er i sin ikke-aktiverte form små diskoider, glatte cellefragmenter fra megakaryocytter. Kontakt med subendoteliale strukturer kan aktivere trombocyttene i løpet av millisekunder. Ved intakt endotel og normale laminære strømningsforhold vil de relativt mindre trombocyttene skyves ut perifert for erytrocytter og leukocytter, samtidig som en film av plasma vil hindre direkte kontakt med karlumen[3]. Dette forklarer på den ene siden blødningstendensen som kan oppstå ved anemi (trykket som presser trombocyttene utover, avtar), et fenomen referert til som trombocyttenes tromboplastiske effekt, og på den andre siden trombocyttenes tendens som turbulens og stase medfører [2].

Etter en vaskulær skade vil trombocytene aktiveres. Dette skjer ved kontakt med proteiner som normalt ikke er til stede i sirkulasjonen, bl.a. kollagen og vWF i kompleks med subendoteliale strukturer. Trombocytter vil raskt binde seg via sine glykoprotein Ib (GpIb) -reseptorer. Samtidig aktiveres en annen reseptor kalt GPIIb/IIIa, som muliggjør binding til fibrinogen, vWF og fibronektin. Også sirkulerende vWF vil bindes opp av den voksende trombocyttopluggen [3,7].

Genetiske mangler av vWF (von Willebrands sykdom) eller dets reseptorer resulterer i blødningsforstyrrelser, som illustrerer betydningen av disse interaksjonene. På den andre siden vil mangelfull proteolytisk prosessering av vWF fra høymolekulære multimerer til mindre bestanddeler føre til avvikende trombocyttaggregasjon i sirkulasjonen. En slik defekt i vWF-prosessering kan føre til trombotisk trombocyttopenisk purpura, en av de såkalte trombotiske mikro-angiopatiene [3].

Ved aktivering gjennomgår trombocytene en dramatisk formforandring der overflaten øker og de får lange pseudopodier bygget opp av kontraktile myosin- og actinfilamenter.

Trombocytene inneholder tre typer granula hvorav alfa- og beta-granula er av særlig stor betydning. Disse skilles ut når trombocytene aktiveres etter adhesjon. Ulike agonister kan binde spesifikke overflatereseptorer og initiere en intracellulær fosforyleringskaskade som fører til degranulering. Alfa-granula uttrykker adhesjonsmolekylet P-selektin på sin overflate og inneholder fibrinogen, fibronektin, koagulasjonsfaktor V og VIII, trombocyt faktor 4 (et heparin-bindende kjemokine), trombocyt-derivert vekstfaktor (PDGF) og Transforming Growth factor alfa (TGF $\alpha$ ). Faktorene bidrar til ytterligere trombocyttrekruttering og koagulasjon. Delta-granula inneholder ADP og ATP, ionisert kalsium, histamin, serotonin og adrenalin, og ser ut til å være av særlig betydning for stimulering av karkonstriksjon [3].

#### *Plateaggregasjon*

Aggregasjon trombocytene i mellom kommer etter adhesjonen og frislipp av granula. ADP og tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) produsert av trombocytene er viktige stimulatorer for aggregasjonen. ADP og TXA<sub>2</sub> bidrar sammen til den primære trombocyttopluggen. Denne prosessen er reversibel. Ved aktivering av koagulasjonskaskaden fører dannelsen av trombin til to prosesser som gir en irreversibel hemostatisk plugg. Trombin binder seg til en trombocyttoverflatereseptor. Denne interaksjonen fører til ytterligere aggregasjon. Deretter trekker trombocytene seg sammen, og danner en irreversibelt sammenbundet masse av trombocytter, kalt «viskøs metamorfose» [2]. Dette utgjør den endelige *sekundære hemostaseplugg*.

Både erytrocytter og levkocyter vil også inngå i en hemostatisk plugg. Leukocytene bindes til trombocytter og endotelium via adhesjonsmolekyler og bidrar til den inflammatoriske responsen som ledsager trombose. Trombin bidrar også ved å direkte stimulere til adhesjon av nøytrofile granulocytter og monocytter og ved å generere kjemotaktiske «fibrin split products» ved å spalte fibrinogen.

Tromboplastin blir også blottlagt på skadestedet. Tromboplastin er et membranbundet prokoagulant glykoprotein som syntetiseres av endotelet. Det virker sammen med faktor VII, og disse utgjør de viktigste faktorene for aktivering av koagulasjonskaskaden *in vivo*. Det hele resulterer i at protrombin aktiveres enzymatisk til trombin. Trombin induserer også ytterligere trombocyttrekruttering og granulasekresjon. Denne sekundære hemostasereaksjonen tar lengre tid enn den primære.

Polymerisert fibrin og trombocyttaggregater danner en solid permanent plugg som hindrer videre blødning. Samtidig inneholder trombocytene flere vekstfaktorer som stimulerer regenerasjon av det skadete bindevevet. På dette stadiet begynner også motvirkende mekanismer å gjøre seg gjeldende.

Når ADP bindes til trombocytreseptoren induseres en konformasjonsendring av GpIIb-IIIa-reseptorene, som dermed blir i stand til å binde fibrinogen. Dette gjør fibrinogen i stand til å binde mange trombocytter sammen, slik at store aggregater dannes. Denne mekanismens betydning illustreres tydelig av blødningsforstyrrelsene som oppstår hos pasienter med en medfødt mangel eller inaktive GpIIb-IIIa-proteiner. Mekanismen benyttes ved bruk av trombocyttaggregasjonsheggeren klopido-rel, som virker ved å selektivt hemme bindingen av ADP til trombocytreseptorer og den påfølgende ADP-medierte aktiveringen av GPIIb/IIIa-komplekset. (Klopido-rel hemmer også trombocyttaggregasjon induert av andre agonister ved å blokkere forsterkningen av trombocytaktiveringen fra frisatt ADP.)

**Koagulasjonskaskaden** utgjør det tredje hovedleddet i hemostasen. Koagulasjonskaskaden kan betraktes som en selvforsterkende serie enzymatiske reaksjoner, der hvert trinn i prosessen medfører proteolytisk spalting av et inaktivt proenzym, som dermed blir et aktivt enzym[3]. Reaksjonene foregår på et fosfolipidkompleks (f.eks. på overflaten av aktiverte trombocytter) og er avhengig av kalsiumioner. Kaskaden kulminerer i dannelsen av trombin, som er det viktigste enzymet for regulering av koagulasjonsprosessen. Trombin omdanner det løselige plasmaproteinet fibrinogen til fibrinmonomerer, som igjen polymeriserer til en uløselig gel som forsterker den endelige sekundære hemostatisk trombocytplugg. Fibrinpolymerer stabiliseres av transglutaminase-kryssbindinger medierte av faktor XIIIa [2].

Koagulasjonsfaktorene II, VII, IX og X sin evne til å binde kalsium er avhengig av at gamma-karboksyl-grupper blir enzymatisk festet til spesifikke glutaminsyrebestanddeler på disse proteinene. Disse reaksjonene er vitamin K-avhengige og kan hindres av K-vitaminantagonisten warfarin (Marevan), som derfor benyttes for pasienter som trenger vedvarende antikoagulant behandling.

Tradisjonelt har koagulasjonen blitt delt i den indre og den ytre reaksjonsvei, som samles i en felles reaksjonsvei med aktivering av faktor X. Mer moderne studier tyder på at dette ikke er en eksakt gjengivelse av prosessene som finner sted *in vitro*, og Lefkowitz antyder en modell der det hele er sentrert rundt trombin[4]. Andre har argumentert for en cellebasert modell, med et større fokus på trombocyttenes sentrale rolle[12]. Men kjennskap til den tradisjonelle inndelingen er likevel viktig da den gjenspeiles i de mye brukte testene INR (eller PT) og Cephotest (eller partiell tromboplastintid, APTT), som omhandles under «koagulasjonstester».

Flere mekanismer bidrar til å unngå at koagulasjon også skal bre om seg utenfor et skadested, og slik føre til levering av blodet i hele det vaskulære treet. I tillegg til nevnte begrensning i at faktorene aktiveres på en fosfolipid-madrass, finnes tre kategorier med naturlig forekommende antikoagulanter: Antitrombiner, proteinene C og S, og Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)[2].

Antitrombiner inhiberer aktiviteten til trombin og andre serinproteaser, faktor IXa, Xa, XIa og XIIa. Antitrombin III aktiveres ved binding til heparin-liknende molekyler på endotelceller. Dette forklarer heparins evne til å redusere trombotisk aktivitet i en klinisk situasjon [2].

Protein C og S er to vitamin-K-avhengige proteiner som inaktiverer kofaktorene Va og VIIIa. Protein C-aktivering av trombomodulin er tidligere nevnt. Protein S er en kofaktor for protein C-aktivitet[4].

TFPI er et protein som sekreseres av endotel (og noen andre celletyper), som inhiberer vevsfaktor-VIIa-komplekser[4].

Aktivisering av koagulasjonskaskaden setter også den fibrinolytiske kaskaden i gang. Denne modererer størrelsen på den endelige trombocyttduggen. Fibrinolysen utføres hovedsakelig av plasmin, som bryter ned fibrin og begrenser fibrins polymerisering. Nedbrytningsproduktene som oppstår virker også til en viss grad som antikoagulanter. Slike nedbrytningsprodukter, der den som oftest måles er D-dimer, kan gi nyttig informasjon ved diagnostisk utredning i forhold til abnormale trombotiske hendelser som disseminert intravaskulær koagulasjon (DIC), dyp venetrombose (DVT) og pulmonal tromboembolisme[8].

Plasmin dannes ved enzymatisk spalting av det sirkulerende, inaktive zymogenet plasminogen, enten via en faktor XII-avhengig reaksjonsvei eller via vevsplasminogenaktivatorer (t-PA) [3]. t-PA har høyest affinitet til fibrin, noe som gjør den egnet til terapeutisk bruk, siden det derfor i hovedsak begrenser sin fibrinolytiske aktivitet til områder med nylig trombotiske hendelser[2]. Også bakterieproduktet streptokinase kan kløve plasminogen, en reaksjon som kan ha klinisk signifikans ved ulike bakterielle infeksjoner. Som for andre potente regulatoriske komponenter, er det mekanismer for å begrense også plasmins aktivitet. For å unngå at overflødig plasmin ukontrollert skal lysere tromber andre steder i kroppen, vil fri plasmin raskt forme komplekser med sirkulerende alfa-2-antiplasmin og bli inaktivert[2].

Endotelcellene modulerer koagulasjons- / antikoagulasjonsbalansen ved å frislippe 'plasminogen activator inhibitors', PAI, som blokkerer fibrinolyse og gir en generell prokoagulant effekt. Frislipp av PAI økes av visse cytokiner, og spiller trolig en viktig rolle ved intravaskulær trombose i forbindelse med alvorlig inflammasjon.



## Trombose

Når balansen ved normal hemostase forskyves, kan det dannes tromber. Virchows triade vektlegger et samspill mellom tre likeverdige pillarer[5]:

1) endotelskade, 2) abnormal blodstrøm (stase eller turbulens) og 3) hyperkoagulabilitet.

### *Endotelskade*

er en sentral faktor, som i seg selv kan føre til trombose. Særlig gjelder dette i hjertet eller arterier, der den høye strøminingshastigheten normalt hemmer adhesjon av trombocytter og fører til uttynning av koagulasjonsfaktorer.

Tap av endotel fører til blottlegging av subendotelial ekstracellulær matriks, adhesjon av trombocytter, frislipp av vevsfaktor, og lokal uttømming av PGI<sub>2</sub> og plasminogenaktivatorer. Endotelet trenger ikke være skadet for å bidra til trombosedannelse. Enhver forandring i den dynamiske balanse mellom pro- og antitrombotiske aktiviteter vil påvirke lokale trombosedannelser. Dysfunksjonelt endotelium kan således sekretere større mengder prokoagulante faktorer som trombocyttheadhesjonsmolekyler, vevsfaktor og plasminogenaktivatorinhibitor, eller syntetisere færre antikoagulante faktorer, som trombomodulin, PGI<sub>2</sub>, t-PA.

Signifikant endotelial dysfunksjon kan forekomme ved hypertensjon, turbulent blodstrøm over skadete klaffer, eller under påvirkning av bakterielle endotoksiner[5].

### *Endringer i normal blodstrøm:*

Turbulens bidrar til arteriell og kardial trombose ved å forårsake endotelskade eller -dysfunksjon, så vel som å føre til motstrømmer og lokale områder med stase. Stase er en sentral årsak til dannelse av venøse tromber. Stase og turbulens medfører at:

1. Endotelcellene aktiveres og får endrete overflateegenskaper. Det er tenkelig at dette gir redusert glykokalyx-ladning.
2. I stase- og turbulensområdene fører forstyrrede strømningsforhold til at trombocytter lettere kommer i kontakt med de aktive endotelcellene.
3. I stase- og turbulensområdene uttynnes ikke aktiverte koagulasjonsfaktorer så raskt som under normale strømningsforhold.
4. Tilførsel av koagulasjonsinhibitorer med blodstrømmen hemmes, slik at tromber lettere kan bygges opp.

### *Hyperkoagulabilitet*

Her finner vi både primære (genetiske eller arvelige) og sekundære (erhvervede).

Av de primære er særlig Leiden-mutasjonen, der faktor Va er unormalt stabil, utbredt. Av de ervervede kan Heparin-indusert trombocytopeni (HIT) nevnes[2].

## Koagulasjonstester

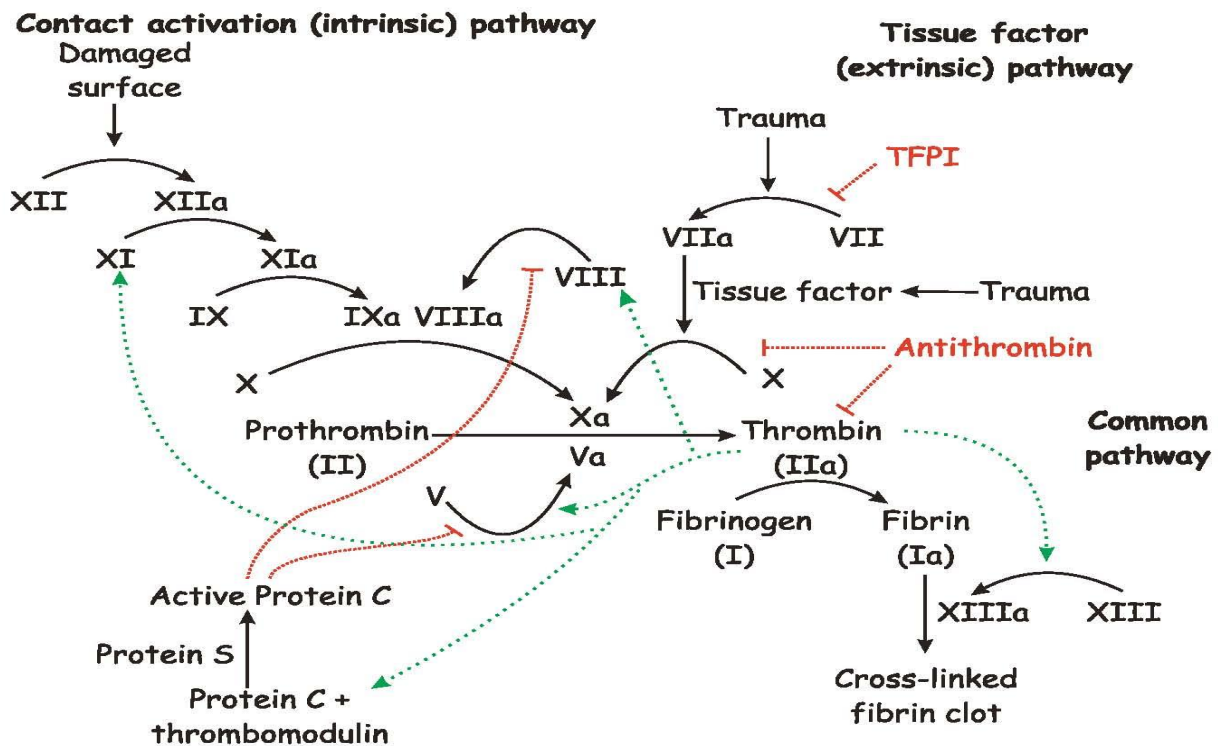
De tradisjonelle koagulasjonstester inkluderer protrombintid (PT) og INR, aktivert partiell tromboplastintid (aPTT, eller cephotest) og trombintid (TT). I tillegg inngår orienterende blodprøve med differensialtelling av blodlegemer, elektrolytter, arteriell blodgass og base excess. Ofte vil også D-dimer måles[8]. I tillegg har såkalte viscoelastiske hemostatiske tester blitt tilgjengelige og er i økende bruk ved mange traumesentre. Slike analysemetoder kan tenkes å gi et bedre bilde av hemostasen *in vivo*.

De tradisjonelle testene var utviklet for diagnostisering og behandling av pasienter med arvelige defekter knyttet til den hemostatiske prosessen. I tillegg var de fleste testene begrenset til spesialiserte laboratoriesentre [10].

### INR eller protrombin-tid (PT):

INR gir et mål for aktivitetene til proteinene i den ytre reaksjonsvei: faktor II, V, VII og X, og fibrinogen. Testen utføres ved å tilføre fosfolipider og vevsfaktor til en pasients citrerte plasma (natriumsitrat binder alt tilgjengelig kalsium, og spontan koagulasjon forhindres).

Koagulasjonsreaksjonen startes ved å tilsette eksogent kalsium, og tiden det tar før det dannes en fibrinplugg måles - vanligvis 11-13 sekunder. Dette uttrykkes typisk som forholdet mellom pasientens PT og en PT-verdi hentet fra en kontrollgruppe friske individer. Dette kalles INR (International Normalized Ratio). I tillegg til et redskap for å screene for defekter i den ytre reaksjonsvei, er PT også sensitiv for effekten av warfarin-behandling. Testen brukes derfor til monitorering av antikoagulasjonsbehandling med warfarin, der det etterstrebes en INR mellom 2 og 3 (forebygging av venøse tromboter), eller mellom 2,5 og 3,5 (ved arterielle indikasjoner)[3]. INR > 1,2 eller > 1,3 har blitt vurdert som tegn på traume-indusert koagulopati i flere studier.[4]



### *Cephotest (eller aPPT)*

er en test for proteinene i den indre reaksjonsvei (samt felles vei), det vil si faktorene II, V, VIII, IX, X, XI og XII og fibrinogen[4]. Først tilføres pasientens citrerte plasma fosfolipider og en passende overflate, f.eks. slipt glass, og så tilføres kalsiumioner. Igjen registreres tiden før blodet koagulerer, vanligvis mellom 30 - 44 sekunder (St. Olavs Hospital). Denne testen gir samtidig informasjon om effekten ved heparinbehandling, f.eks. ved akutt trombose eller embolisme. De vanligste indikasjoner inkluderer monitorering av heparinbehandling (ufraksjonert heparin, i.v. behandling) og utredning av blødningstilstander som test for det interne koagulasjonssystemet[8].

### *Trombintid (TT)*

gir et mål på siste trinnet i koagulasjonskaskaden, altså dannelsen av fibrin fra fibrinogen [8]. Testen utføres ved å rekalsifisere citrert plasma i nærvær av fortennet trombin og registrering av tiden (i sekunder) før en plugg dannes. Årsaker til forlenget TT kan være:

- \* Tilstedeværelsen av direkte trombin-inhiberende forbindelser slik som hirudin, eller heparan-lignende forbindelser.
- \* Tilstedeværelsen av fibrinogen-nedbrytningsprodukter
- \* Hypofibrinogenemia (<100 mg / dl), dysfibrinogenemia, eller hyperfibrinogenemia (> 400 mg / dl). [8]

### *D-dimer*

er et fibrindegredasjonsprodukt som er lett å påvise i blod, og gir først og fremst høy negativ prediksjonsverdi ved mistenkt tromboembolisme. [3].

### *Fibrinogen*

Fibrinogen er koagulasjonskaskadens primære substrat og fundamentalt for hemostase. For lave plasma-nivåer kan derfor måtte korrigeres med transfusjon av helplasma eller fibrinogenkonsentrat[11]. Å beregne nivået inngår likevel ikke som en av de rutinemessige hemostasetester, men Davenport og Brohi argumenterer for at tidlig erkjennelse av en slik mangel hos traumepasienter og målrettet terapi potensielt kan korrigere traume-indusert koagulopati og gi bedret prognose[9]. Etter omfattende traumatiske blødninger faller fibrinogenkonsentrasjonen tidlig sammenlignet med andre koagulasjonsfaktorer, og kritisk lave verdier er assosiert med økte transfusjonsbehov og økt mortalitet[9]. Mekanismene som forklarer fall i fibrinogenkonsentrasjon ser ut til å være sammensatte, der forbruk, uttynning og fibrinogens sensitivitet overfor endringer i temperatur og pH ved hypotermi og acidose ser ut til å være avgjørende.

TEG eller RoTEM (se side 12) er funksjonelle analysemetoder som kan benyttes bl.a. for å vurdere om fibrinogenkonsentrasjonen er kritisk lav. I tillegg har Schlimp et al vist at fibrinogenkonsentrasjonen kan estimeres ved hjelp av hemoglobin og base deficit, noe som muliggjør «point-of-care» monitorering. Grenseverdien settes vanligvis mellom 1,5 og 2.0 g/L [9].

Base deficit inngår ofte blant gjennomførte tester, og kan betraktes som en sensitiv indikator for vevsperfusjon [11]. Base deficit vil si base excess lavere enn 0 [12]. Base deficit er tilgjengelig innen få minutter, og muliggjør således «point-of-care»-monitorering.

I en retrospektiv studie publisert i 2013 gjennomgår Mutschler *et al* 16.305 pasientkasus fra databasen TraumaRegister DGU, og grupperer pasientene etter innkomst-base deficit[11]. Forfatterne vurderer i hvilken grad base deficit kan benyttes til å identifisere hypovolemisk sjokk og forutse behov for tidlig transfusjon. De finner at base deficit er en prediktor for mortalitet i traumepopulasjonen, der tallene fra deres studie tydet på at en base deficit-verdi på 6 mmol/L var en viktig grenseverdi når det gjaldt videre prognose. De fant også at alkohol- og medisinbruk påvirket testens prognostiske verdi lite.

De sammenlikner validiteten med foreslåtte parametre gitt ved Advanced Trauma Life Support (ATLS), det vil si hjertefrekvens, systolisk blodtrykk og Glasgow Coma Scale. Artikkelen konkluderer med at base deficit-verdi ved innkomst gir en mer presis klassifisering av hypovolemisk sjokk og bedre identifiserer pasienters tidlig behov for transfusjon.

## **TEG og RoTEM**

Tromboelastografi (TEG) er en metode med siktemål å beskrive blodets koagulasjonspotensial, først beskrevet av Hartert i 1948. Den opprinnelige metode stilte store krav til fingerferdighet for at reproducerbarhet skulle oppnås, men senere tids tekniske forbedringer og digitalisering har brakt metoden til videre anvendelse. Mens de mer utbredte testene PT og APTT kan gi informasjon om deler av koagulasjonen, kan TEG supplere med informasjon om trombocytffunksjon, og samtidig gi informasjon om koagelets styrke og om fibrinolyse[13].

Metoden går ut på at en liten mengde vanligvis citrert blod plasseres i TEG-maskinens kopp, som dreier frem og tilbake. En dreiepinne forbundet med en computer er senket ned i koppen. Når koagulasjonen kommer i gang, fester pinnen seg til koagelet og dreier med dette. Omfanget av dreiepinnens bevegelse blir direkte proporsjonal med koagelets styrke. Computeren viser grafisk dreiepinnens bevegelse som funksjon av tiden. Kurven tegnes «dobbel», det vil si at nedre del speiler øvre del (se figur). Dreiepinnens amplitude øker således ettersom trombocytpluggen blir sterkere. Amplituden reduseres igjen når fibrinolysen kommer igang. Den avtegnede grafen analyseres, og fem variabler bestemmes:

R (reaksjonstid)

K (K-tid)

Alfa-vinkel

MA (Maksimal amplitude)

LY30 (lyse etter 30 min)

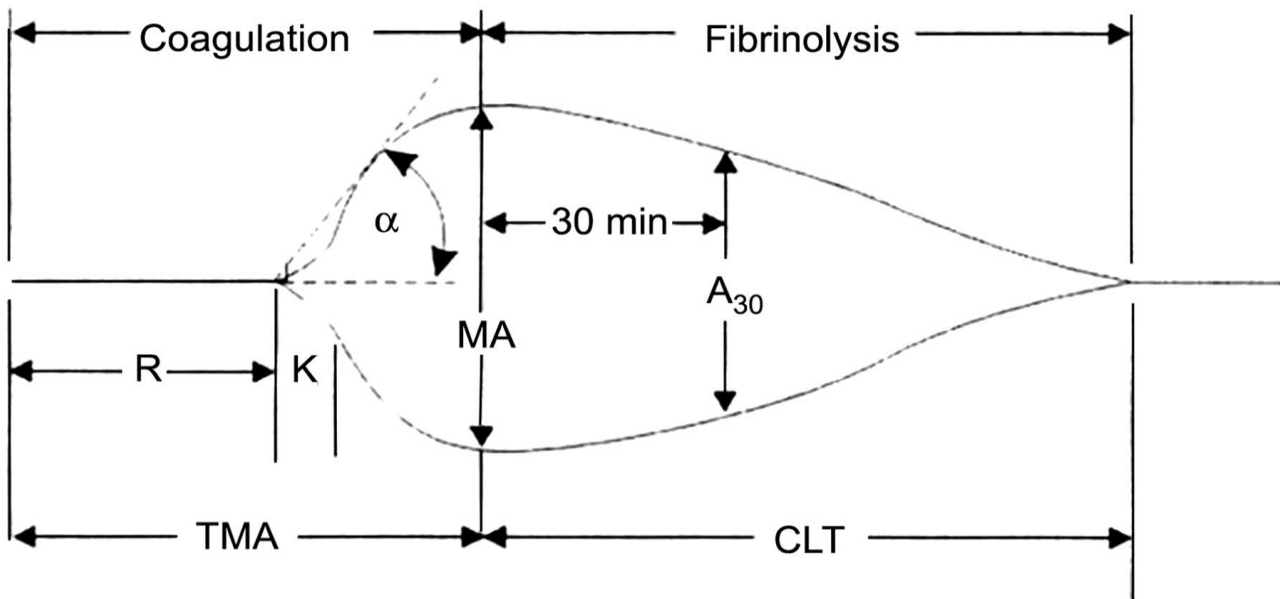
R er tid frem til første målbare koagel er dannet. R påvirkes av koagulasjonsfaktorer.

K er tiden frem til koagelet når en bestemt størrelse (20 mm). K påvirkes av fibrinogen.

Alfa-vinkelen reflekterer hastigheten av fibrinakkumulering og påvirkes av fibrinogen.

MA er den største vertikale amplitude av TEG-diagrammet og påvirkes av trombocytene.

LY30 er prosentvise reduksjon av amplituden 30 minutter etter maksimum, og er et mål på fibrinolysen.



Normalverdi av R er 5-10 minutter. Økning tyder på generell koagulasjonsfaktormangel. Det kan i mange tilfeller behandles med FFP.

Normalverdi for K er 1-3 minutter. Økning tyder på fibrinogenmangel og kan behandles med fibrinogenkonsentrat. I noen land anvendes også kryopresipitat, som i tillegg til fibrinogen blant annet inneholder faktor VIII.

Alfa-vinkel: normalverdi 53-72 grader. Lav verdi tyder på fibrinogenmangel og behandles også med faktor VIII-holdig kryopresipitat.

MA: Normalverdi 50-70 mm. Lav verdi tyder på mangel på funksjonsdyktige trombocytter, og kan behandles med tilførsel av friske trombocytter.

LY30 har en normalverdi fra 0 til 8 %. Høyere verdi tyder på økt fibrinolyse, som kan behandles med antifibrinolytika (tranexamsyre = Cyklokapron®).

En modifisert versjon der det er dreiepinne og ikke koppen som roterer, kalles for Rotational thromboelastography (RoTEM). Begge testene anses som nyttige for tidlig diagnostisering av koagulopati hos traume-pasienter [14]. Samtidig er det verdt å merke seg at Hagemo *et al* sammenliknet TEG og RoTEM i en studie publisert i 2012, og konkluderte med at de to metodene ser ut til å gi noe forskjellige verdier. Forskjellene så også ut til å øke når klinikere betjente apparatene [15]. En Cochrane-oppsummering med mål om å bestemme det diagnostiske presisjonsnivå av TEG og RoTEM er påbegynt. Den vil kanskje også kunne si mer om hvorvidt tidlig erkjennelse av traume-indusert koagulopati og effektiv målrettet terapi vil kunne bedre prognose for blødende traumepasienter [16].

### MEA (Multiple electrode aggregometry, Multiplate® analyser)

Dette er et apparat som måler elektrisk motstand mellom to elektroder senket ned i fullblod. Hver test-celle tilsettes 600 mL fortennet fullblod, som varmes i 3 minutter. Deretter tilsettes reagenser, og aggregasjon monitoreres i 10-15 minutter. Ulike reagenser er tilgjengelige for testing av ulike reseptorer og reaksjonsveier. De viktigste er kollagen, arakidonsyre (AA), adenosin-difosfat (ADP) og TNF-related activation protein (TRAP) [17].

MEA har fem parallelle test-celler, og hver celle har to sett elektroder, derav navnet. Ved at motstandsendringer i de to elektrodene registreres uavhengig av hverandre, oppnås en viss intern kontroll. (Benyttes også i monitorering av ulik platehemmende terapier, for eksempel med acetyl salisylsyre eller GPIIb/IIIa-reseptorantagonister). Maskinen vil tegne opp en graf, der arealet under aggregasjonskurven gir et uttrykk for aggregasjonen [17,18].

## Hypovolemisk sjokk og transfusjonsbehandling

Blodtrykket bestemmes av samspillet mellom hjertets minuttvolum og den perifere karmotstanden, og kretsløpet har stor reservekapasitet for å sikre den til enhver tid nødvendige perfusjon av vevene. Dette er, i tillegg til hjertet, knyttet til de kontraktile egenskaper til pericyttene, som omgir kapilærer og mindre arterier[5]. Flere mekanismer bidrar til denne reguleringen, både overordnet autonom regulering og lokale substanser som NO, ATP, eikosanoider, endotelin med flere [3].

Et stort, akutt væsketap som overgår kroppens kompensatoriske potensiale, vil føre til sirkulasjonssvikt med utilstrekkelig vevsperfusjon som følge. Et slikt *hypovolemisk sjokk* kan være forårsaket av et større blodtap, men også ha andre årsaker som tap av plasma ved alvorlige brannskader, tap av væske ved diaré og oppkast, eller generalisert vasodilatasjon etter hodeskader eller forgiftninger. Karakteristiske trekk er lavt sentralt venetrykk, rask puls og økt perifer vaskulær motstand[5]. Kliniske markører for sjokk inkluderer systolisk blodtrykk under 90mmHg, svak respons på initial væskebehandling og mistanke om pågående blødning[42].

Væsketapet medfører nedsatt hjerte/minuttvolum, og kroppen kompenserer med å nedprioritere først sirkulasjon til hud og muskulatur, deretter indre organer, mens hjerte og hjerne prioriteres. Utilstrekkelig perfusjon av vev medfører at cellene tvinges over til anaerob metabolisme og gir laktatproduksjon. Sviktende ATP-produksjon fører til redusert N/K-ATPase-aktivitet i cellene med elektrolyttforstyrrelser. Økt karpermeabilitet fører til at plasma og erytrocytter lekker ut i interstitiet. Dette medfører vevsskade og aktivering av inflammasjonsmediatorer, og pasienten beveger seg inn i en ond sirkel.[5].

Etter igangsatt behandling og reperfusjon kan bl.a. tidligere nevnte inflammatoriske transmittorer spres systemisk og kan føre til systemisk inflammatorisk respons syndrom (SIRS), og Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)[5].

Raskt tap av mer enn 40 % av det totale blodvolumet vil kunne gi umiddelbar hjertestans. Langvarig nedsatt sirkulasjon vil kunne medføre organskade og senere død. Massiv traumatisk blødning leder også til en triade av acidose, hypotermi og koagulopati [19]. Av denne grunn står erstatning av det tapte blodvolumet ved hjelp av intravenøse væsker sentralt i behandlingen.

Transfusjonsbehandling har tre mål: *volumerstatning* for å sikre adekvat perfusjon, sikring av adekvat *hemostase*, og sikring av *adekvat transportkapasitet for oksygen* [7].

Valg av erstatningsvæske, endepunkter for optimal volumerstatning og hvor aggressiv væskebehandlingen bør være før man har fått stoppet blødningen er fortsatt tema for debatt og intens forskning. Resusciteringsprotokoller varierer betydelig mellom ulike sykehus, og prospektive randomiserte studier har så langt ikke kunnet fastslå det ideelle forholdstall mellom blodprodukter ved transfusjon til traume-populasjonen[42]. Det ser ut til at tidlig og «aggressiv» transfusjon i forholdet 1:1:1 (PRBC:FFR:trombocytter) er å foretrekke. Nascimento *et al* gjennomførte en studie publisert i 2013 der en fast ratio-transfusjonsprotokoll (1:1:1) ble sammenlignet med en kontrollgruppe som fikk laboratorieveiledet transfusjon. De konkluderte med at fast ratio-transfusjonsprotokoll var gjennomførbar, men at en slik protokoll vil utfordre blodbanker grunnet økt etterspørsel av FFP. Studien, som inkluderte 78 pasienter, kunne i likhet med flere tidligere studier ikke vise noen signifikante forskjeller i harde endepunkter[20]. Som harde endepunkter ble det her valgt mortalitet etter 28 dager og døgn uten ARDS.

Følgende produkter tilgjengelige til behandling ved akutt blødning[6]:

### **Volumterapi:**

*Krystalloider* (saltløsninger, oftest bufret og som kombinasjon av flere salter). De alternative preparatene er i utstrakt klinisk bruk.

*Kunstige kolloider* (dekstraner, gelatiner og stivelsespreparater)

*Albumin 4%* løsning i 100ml og 250 ml flasker, *albumin 20%* løsning i 100ml flasker.

Både FFP og blodkomponenter har også volumekspanderende virkning.

### **Sikring av hemostase:**

*Trombocyttkonsentrat* fra 4 givere (fra buffy coat) eller 1 giver (trombaferese):

Inneholder 250-300 x 10<sup>9</sup> trombocytter. Kan etter gjeldende regler oppbevares i blodbanken i inntil 6,5 døgn ved 22oC. En enhet trombocyttkonsentrat vil hos en pasient på 70 kg med normalt blodvolum gi en stigning i antall sirkulerende trombocytter på 25-40 x 10<sup>9</sup>/L. Preparatet er leukocyttiltrert og inneholder <1x10<sup>6</sup> leukocytter.

### *Plasmaprodukter:*

*Ferskfrosset plasma (FFP)* er humant plasma fra fullblod eller fra plasmaferese.

Etter opptining inneholder FFP nær normale verdier av mange plasmaproteiner (prokoagulanter, hemmende komponenter i koagulasjonskaskaden, akutt faseproteiner, immunoglobiner og albumin). I Norge anvendes for tiden det infeksjonssikrede pool-preparatet Octaplas® som er likeverdig med FFP. FFP brukes som kilde til koagulasjonsfaktorer for å fremme hemostase.

*Fibrinogenkonsentrat (Riastat®)* er rensset, frysetørret humant fibrinogen. Kan anvendes når fibrinogenmangel antas å være den fremherskende årsaken til sviktende hemostase.

### *Andre preparater til sikring av hemostase:*

*Traneksamsyre* (den ledende plasminogenhemmeren i det norske markedet):

Traneksamsyre er vist å kunne redusere blødning blant annet i forbindelse med kirurgiske inngrep, uten at det er vist økning i trombotiske komplikasjoner. En stor randomisert studie kalt CRASH-2 evaluerte effekt av 1g traneksamsyre versus placebo, ble publisert i 2012. De kunne konkludere med at tidlig administrasjon av traneksamsyre gir en signifikant reduksjon i mortalitet for blødende traumepasienter (og at tiltaket er svært kostnadseffektivt). Behandling senere enn etter tre timer ser derimot ikke til å gi effekt [21] og kan være forbundet med økt fare for trombosekomplikasjoner.

### *Rekombinant Faktor VIIa*

Rekombinant faktor VIIa (rFVIIa) virker direkte inn i koagulasjonskaskaden og fremmer koagulasjonen. rFVIIa ble opprinnelig laget til bruk ved ukontrollerbar blødning hos blødere som har antistoff mot faktor VIII (hemofili A). En systematisk oppsummering fra Cochrane publisert i mars 2012 konkluderer med at det ikke grunnlag for å anbefale generell bruk av rFVIIa verken som profylakse før kirurgi assosiert med store blodtap eller for behandling av ukontrollert blødning. Derimot ble det påvist en viss økning i tromboemboliske hendelser[22].

### **Sikring av vevsoksygenering:**

SAGMAN ("SAG") erytrocyttkonsentrat: Inneholder 40-60 g hemoglobin i erytrocytter. Det vil hos en pasient på 70 kg med normalt blodvolum gi en stigning av hgb-konsentrasjon = 0,7-1g/dl. Preparatet er leukocyttiltrert og inneholder <1x10<sup>6</sup> leukocytter.

### **Klinisk transfusjon ved store blødninger:**

Ved massive blødninger er tilførsel av erytrocytter (Packed Red Blood Cells, PRBC) nødvendig for å sikre oksygentransport. Viktigst er at en svært lav hemoglobin vil kompromittere blodets rolle i gassutvekslingen tross adekvat sirkulasjon. I tillegg er erytrocyttenes tromboplastiske effekt

tidligere nevnt. Hvilken Hb-verdi man bør sikte mot er uklart, og vil variere pasienter i mellom etter kardiovaskulær status, traumets karakter osv. Enkelte studier har vist at en Hb-verdi mellom 7 og 9 g/dL kan være et adekvat siktemål[26]. Samtidig har det blitt vist at ved hodeskader gir en Hb-verdi på 10.2 g/dL bedret cerebral oksygenering sammenlignet med 8,2 g/dL. [26].

Også indikasjoner for transfusjon av trombocyttkonsentrat er tema for debatt. Lenge var trombocyt-tall eneste tilgjengelige parameter, og det ble anbefalt transfusjon ved trombocyt-tall under  $50 \times 10^9$  for å sikre koagulasjon[23]. Det har vært debattert om denne grensen er lagt lavt. Samtidig har økt forståelse og tilgjengelighet av nye måleinstrumenter rettet fokus mot hypo- og dysfunksjon av trombocytter.

Flere retrospektive studier fant en klar effekt på overlevelse ved administrasjon av høyere ratio FFP:PRBC ved massive transfusjoner. Resultater fra Irak-krigen viste bedre overlevelse med en høyere transfusjonsratio enn tidligere; dette ble betraktet som en bekreftelse på retningslinjer for massive transfusjoner som anbefaler like forholdstall mellom FFP og PRBC[27].

De fleste retningslinjer idag anbefaler forholdstallet 1:1:1. Det vil si 1 enhet SAG, 1 enhet trombocytter og 1 enhet octaplas. En slik ratio vil gi hematokrit  $<30\%$ , koagulasjonsfaktorer ca  $60\%$  og trombocytter  $80 \times 10^9/L$  i den væsken som transfunderes[43].

Senere studier har imidlertid vist at den markant forbedrede overlevelsen observert ved administrering av høy ratio FFP i hvert fall til dels skyldtes en *overlevelses-bias*: Mens det initialt ble administrert krystalloider og PRBC, tok det tid før FFP var opptint og klart til administrering. Mange av pasientene som døde tidlig, fikk derfor en lav ratio FFP. Når det tas høyde for denne biasen, viste forskjeller i total overlevelse seg å ikke lenger være statistisk signifikant. Mens det ideelle forhold mellom blodprodukter ved massive transfusjoner dermed fortsatt er tema for diskusjon og må belyses av flere studier, anbefaler de fleste retningslinjer like forhold mellom PRBC, FFP og trombocytter. Dette gjenspeiler fullblod, og kan således hevdes å være henimot fysiologisk korrekt [28].

Også fibrinogen må korrigeres for ved for lave plasma-verdier. Nye TEG-studier tyder på at grenseverdien bør settes mellom 1,5 og 2.0 g/L. Studier har vist at infusjon av fibrinogen-konsentrat eller kryoprecipitat etter disse retningslinjene bidro til å korrigere koagulopati indikert med TEG[23].

### **Bivirkninger av transfusjonsbehandling**

De fleste blodkomponenter har volumekspanderende effekt, hvilket også er ønskelig, men for aggressiv transfusjonsbehandling kan medføre en trykkøkning hjertet ikke klarer å kompensere for, med sirkulasjonssvikt som følge. Dette kalles transfusional volume overload (TACO)[43]. Eldre og hjertesyke er særlig utsatt for dette. Lagrede erytrocytter har også redusert pH, noe som kan spille en rolle ved massive transfusjoner. Videre reduseres trombocyttenes innhold av 2,3-difosfoglycerat (2,3-DPG) ved lagring. Dette medfører at oksygenet bindes hardere til hemoglobin. Det diskuteres om dette er av betydning ved massive transfusjoner[6].

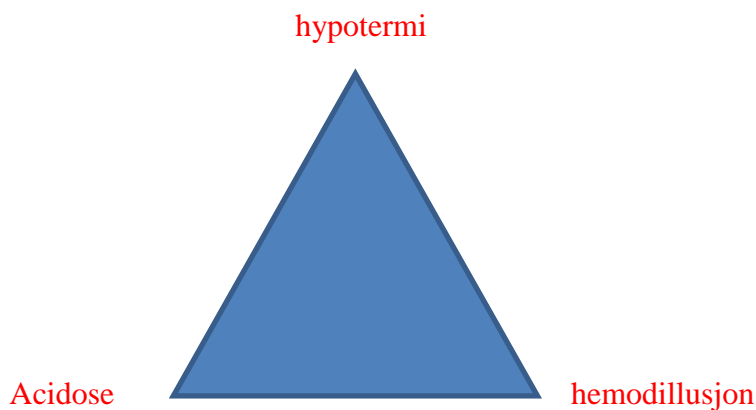
Transfusjonsrelatert akutt lungeskade (Transfusion-related acute lung injury, TRALI) er en sjelden, men potensielt fatal komplikasjon til transfusjon av blodprodukter. Den er ledende årsak til transfusjonsrelaterte dødsfall i USA. TRALI er en klinisk diagnose, og de diagnostiske kriteriene krever nyoppstått akutt lungeskade (ALI) eller akutt respiratorisk distress syndrome (ARDS) innen seks timer etter administrering av blodprodukter. Differensialdiagnostisk er det særlig viktig å skille TRALI fra TACO[43]. I tillegg kreves tiltak for å unngå overføring av virale og bakterielle agens, samt uforlikelighetsreaksjoner. En videre behandling av dette temaet vurderes å ligge utenfor oppgavens problemstilling.



## Traumeindusert koagulopati

Massiv blødning er viktigste dødsårsak ved traume [29,30]. En fryktet komplikasjon ved større blødninger er medfølgende koagulopati, ofte referert til som *traumeindusert koagulopati*. Koagulopati vil si at den hemostatiske balansen er forstyrret, og begrepet omfatter både tilstander med økt aktivitet og trombosetendens og tilstander med redusert koagulasjon med følgende blødningstendens[12]. Traume-indusert koagulopati kan videre defineres som en koagulasjonsforstyrrelse som inntreffer tidlig etter en skade [31].

Ved hemorrhagisk sjokk er det observert et farlig samspill mellom hypotermi, acidose og hemodillusjon, ofte referert til som ”den dødelige trekanten”[19].



Hypotermi oppstår som følge av redusert varmeproduksjon, eksponering for kalde omgivelser og eventuelt forverret av resuscitering med kalde væsker. Hemostasen såvel som fibrinolysen påvirkes, og temperaturer under 35° vil trolig medføre koagulopati[19].

Også acidose vil medføre koagulopati, da både trombocytffunksjon og aktiviteten til flere koagulasjonsfaktorer faller ved lav pH.  $\text{pH} < 7,2$  er vist å være kritisk for hemostasen[19]. Like viktig er det kanskje at lav pH indikerer hypoperfusjon og vevsskade; hypoperfusjon gir både endogen koagulopati og laktatproduksjon og pH-fall, og lav pH reduserer koagulasjonskaskadens aktivitetsnivå.

Hemodillusjon vil oppstå som følge av blodtap og autotransfusjon (vevsvæske siver inn i blodårene og erstatter tapt plasma) kombinert med forbruk, eventuelt forsterket av resuscitering med krystalloider [12,19]

Disseminert intravaskulær koagulasjon (DIC) kan oppstå som følge av omfattende endotelskade. Som tidligere beskrevet vil da subendoteliale strukturer og vWF blottlegges, og føre til systemisk aktivering av koagulasjonskaskaden, med generell trombosetendens og forbruk av trombocytter og koagulasjonsfaktorer. Sekundært oppstår følgelig en forbrukskoagulopati, som blir ytterligere forverret av aktivering av fibrinolysen. Aktiverte monocytter frigir cytokiner (IL-1 og TNF), som begge fører til økt ekspresjon av endotelcellenes tromboplastin og samtidig reduserer sekresjon av trombomodulin (som aktiverer proten C)[1,4].

Sjokk med vevsskade er også kjent som en uavhengig risikofaktor. Økt base deficit (det vil si base excess  $< 0$  [12]), som er en indikator på vevsskade som følge av hypoperfusjon, er assosiert med økt transfusjonsbehov, akutt lungeskade, multiorgansvikt og mortalitet.

Studier har påvist koagulopati hos fra 10% og opptil 34% av traumepasientene allerede ved ankomst til akuttmottaket[43]. Koagulopati oppstår altså som følge av traumet, før væske-resuscitering og for eksempel kirurgiske prosedyrer med åpen buk. Traume-indusert koagulopati er siden vist å være assosiert med dårlig prognose, også når det kontrolleres for skadeomfang.

Det er vist å være en assosiasjon mellom traumets alvorlighet, gjerne målt ved ISS (Injury Severity Score), og hvor omfattende koagulopati er.

Brohi *et al* hevdet at traume-indusert koagulopati ikke kan forklares ved DIC og forbruk av koagulasjonsfaktorer alene. I en mye sitert studie viser Brohi *et al* at traume-indusert koagulopati ser ut til å bare forekomme ved omfattende vevshypoperfusjon, og tilsynelatende forekommer *uten* omfattende forbruk av koagulasjonsfaktorer[32]. Som indikator for hypoperfusjon av vev ble base deficit (BD) benyttet. Videre ble INR valgt som indikator for koagulopati, og en terskelverdi ble satt til  $INR > 1,2$ . I studien postulerte forfatterne at viktigste årsak til traume-indusert koagulopati er en dramatisk økning i trombomodulin som følge av hypoperfusjon og vevsskade. Trombomodulin vil som tidligere beskrevet binde trombin og danne et anti-koagulant kompleks som aktiverer protein C, som igjen inhiberer koagulasjon ved proteolytisk spaltning av faktor Va og VIIIa. I tillegg vil en høy konsentrasjon av aktivert protein C bidra til å danne mer plasmin fra plasminogen[32].

Brohi mener denne modellen også kan forklare at traumepasienter er utsatt for økt risiko for tromboemboliske hendelser. Han argumenterer for at etter et sjokk og medfølgende aktivering av protein C, kan proteinet være «uttømt» og ytterligere aktivering av proteinet hindres. Dette ville gi en prokoagulant trombogen tilstand og medføre risiko for organskade og venøs tromboembolisme. Denne argumentasjonen støttes av en observert sammenheng mellom koagulopati ved innkomst og senere tromboemboliske hendelser.

Mens morbiditet og mortalitet assosiert med enzymatisk koagulopati etter traume er vel beskrevet [33], er andre aspekter mindre undersøkte. At omfattende blødning og fortynning med resusciteringsvæsker uten trombocyt-konsentrat kan gi et kvantitativt tap som derfor bør korrigeres for har riktignok vært kjent lenge, men trombocyttenes rolle og funksjonsevne er utilfredsstillende utredet.

Analyse av sårede i Vietnam-konflikten reiste første gang spørsmålet om tidlig trombocyttdysfunksjon ved traumer[34]. Det ble foreslått å inkludere trombocyttkonsentrat som standard ved massive transfusjoner, selv om en prospektiv randomisert kontrollert studie ikke klarte å vise en overlevelsesfordel [34]. Siden den gang har oppmerksomheten blitt gitt til profylaktisk plasmatransfusjon hos pasienter med risiko for massiv blodoverføring, med nyere retrospektive studier som tyder på at profylaktisk trombocyttransfusjon kan redusere risiko for utvikling av koagulopati. Studier innen hjertekirurgi har vist at kvantifisering av ervervet trombocyttdysfunksjon kan bidra til å forutsi blødningsrisiko, og det er sannsynlig at identifisering av trombocyttdysfunksjon i traumer også kan ha viktige kliniske applikasjoner og prognostisk betydning[34].

I en studie fra 2012 benyttet Wohlauer *et al* tromboelastografi (TEG) for å studere forekomst av trombocyttdysfunksjon i traumepopulasjonen[34]. Over en syv måneders periode ble 51 pasienter inkludert, og vurdert mot 39 friske kontroller. Trombocytffunksjonen ble estimert utfra dannelse og stabilitet av koagel innen 30 minutter fra skadetidspunkt. Det ble benyttet fullblod som ble analysert ved hjelp av TEG. Observasjonene som ble gjort, tydet på at traume-pasientene hadde signifikant trombocyttdysfunksjon før transfusjon av væske- eller blodprodukter. Vevsskade og hemorragisk sjokk så ut til å være dominerende risikofaktorer for denne dysfunksjonen. Det ble også registrert et gjennomsnittlig trombocytall på  $232 (\pm 13,2) \times 10^9/L$ , som tegn på at platene var dysfunksjonelle tross adekvat antall.

Studien viste også at behov for PRBC korrelerte med økende trombocyttdysfunksjon. De fant en tydeligere effekt på ADP-reseptor enn på AA-reseptor.

Som mekanisme bak hypofunksjonen tenker forfatterne seg en trombocytthyperreaktivitet ved traume, og at de kort etter er ikke-responsive. («exhausted platelets» er beskrevet tidligere, blant annet i forbindelse med bypass-kirurgi. Pareti *et al* beskriver en ervervet trombocyttdysfunksjon som han antar skyldes *in vivo*-eksponering for agonister som skadet endotel, trombin og immunkomplekser[35].)

Forfatterne argumenterer for at omfattende ADP-frislipp til den systemiske sirkulasjon som følge av vevsskade og hypoperfusjon kan føre til en slik hyperreakivering av trombocytterne, som dermed igjen gir «utslitte» trombocytter. Kanskje kan denne forklaringen bidra til et mer nyansert bilde av mekanismene bak traume-indusert koagulopati. Tidlig påvisning av trombocyttdysfunksjon vil da kanskje kunne gi bedre individuelt tilpasset behandling. Funnene må bekreftes i større studier. Forfatterne selv trekker også frem at de har sammenlignet med friske kontroller - og at det i senere studier bør sammenlignes med kontroller som har mottatt blodoverføringer av andre grunner, for å se om det i seg selv vil påvirke TEG-studiene.

I en annen studie fra 2012 ble multippel elektrode-aggregometri (MEA) benyttet for å vurdere trombocyttdysfunksjon hos pasienter etter alvorlig traume[33].

101 blodprøver ble prospektivt samlet fra kritisk skadde traumepasienter ved ankomst til akuttmottak og analysert. De fant svekket trombocyttdysfunksjon på minst én agonist ved innkomst hos 46 pasienter, og hos 92 pasienter i løpet av innleggelsen. Svekket trombocyttdysfunksjon var assosiert med høy Glasgow Coma Scale (GCS) og nær 10 ganger høyere mortalitetsrate. Base deficit og GCS ved innkomst ble vist å være uavhengige prediktorer for trombocyttdysfunksjon. Innkomst-trombocyttdysfunksjon viste seg også å være inverst korrelert med tidlig mortalitet og transfusjonsbehov hos kritisk skadde traumepasienter - selv for trombocyttdysfunksjon innenfor referanseverdi.

Hyporesponsivitet for TRAP, AA og kollagen viste seg å være uavhengige prediktorer for mortalitet når det ble justert for andre pasient- og skadeparametere. Svekket respons på AA og kollagen viste seg å være sterkest assosiert med mortalitet.

I studien hevder forfatterne at en klinisk signifikant trombocyttdysfunksjon etter traume forekommer, tross tilstedeværelse av eller normale trombocyttdysfunksjonsfaktorer. Denne trombocyttdysfunksjonen er sterkt assosiert med økt mortalitet. Observasjonene tydet på at nær totalt opphevet evne til trombocyttdysfunksjon kan inntre som følge av trombocyttdysfunksjon. En slik trombocyttdysfunksjon kan være tilstede tross for at koagulasjonsfaktorer og trombocyttdysfunksjon er innenfor referanseområdene.

Studien tyder på at MEA kan detektere en slik tidlig trombocyttdysfunksjon, og innkomstresponser på AA og kollagen så ut til å være signifikante prediktorer på både tidlig og sen mortalitet. Forfatterne argumenterer for at klinisk tilgjengelighet av rask «point-of-care» trombocyttdysfunksjonstesting vil muliggjøre mer målrettet terapi og økt overlevelse for traumepasienter.

## Endotel

Endotelet er ”the dark horse” – den vanskeligst tilgjengelige og minst studerte faktor i spillet om hemostase ved traumer[44].

Endotelet har svært stor overflate, og har mange funksjoner. For å illustrere dette nevnes to

eksempler: Arteriolene regulerer vaskulær motstand, formidlet av et bredt spekter av signaler, og dermed helt sentrale for både blodtrykk og perfusjon. Helt andre egenskaper er knyttet til postkapillære venyler, som blant annet styrer leukocyttrafikk i respons på ulike skader. Pågående studier avslører stadig større kompleksitet knyttet til ultrastruktur, cellulær oppbygging og funksjon[36]. Det er stort behov for å kunne monitorere og studere endotelets rolle ved akutt traumatisk blødning.

I en artikkel publisert i *Transfusion* i 2013 argumenterer Ward for at det basert på gjeldende kausale teorier om traume-indusert koagulopati, ville være fornuftig å fokusere på nettopp mikrosirkulasjonen, både som diagnostisk og terapeutisk mål for å forhindre og behandle TIC[36].

Det foreligger per idag ingen studier der vevsperfusjon monitoreres i en prehospital traumesetting[36]. Ward refererer til en studie der man ved hjelp av videomikroskopering har sett kontinuerlig på mikrosirkulasjonen i den sublinguale overflaten hos griser som er utsatt for blødningssjokk av ulik grad og forsøkt resuscitert. Studien viste at som respons på sentralt volumtap oppsto endringer i mikrosirkulasjon tidligere enn endringer i middels arterietrykk. Kanskje kan denne teknologien videreutvikles til å gi et viktig terapeutisk og diagnostisk potensiale i behandlingen av traumepasienter.

Ward argumenterer også for at redoks-potensial er sentralt i forståelsen av vevshypoksi, og at viktige koagulasjonsmediatorer som fibrinogen er svært ømfientlige for oksidativt stress - noe som reduserer dets funksjon[36]. Det er da tenkelig at monitorering av redoks-potensial vil kunne gi økt innsikt i traume-indusert koagulopati, også i terapeutisk sammenheng.

En prospektiv observasjonsstudie fra 2013 forsøker å belyse sammenheng mellom endotelial skade og traume-indusert koagulopati ved å studere nivåer av vWF[37]. Selv om aktiverte trombocytter av og til kan bidra til sirkulerende vWF hos pasienter med trombotiske forstyrrelser, vil normalt trombocyt-vWF etter frislipp fra  $\alpha$ -granula forbli bundet til trombocyttoverflaten. Således argumenterer Tang *et al* for at vi kan anta at mesteparten av plasma-vWF kommer fra endotelceller, og at en økning i nivå av plasma- vWF indikerer endotelial skade og aktivering.

Økte nivåer av vWF har tidligere blitt observert hos pasienter med hjerneslag, koronar sykdom, akutt hjerteinfarkt og dyp venetrombose. Omfattende endotelskade synes også å være til stede hos pasienter med alvorlige traumer og traume-indusert koagulopati, men mekanismene som fører til disse skadene er fortsatt i stor grad ukjent[37].

Tang *et al* (37) undersøkte tidsvariasjon av vWF hos traumepasienter for å forsøke å belyse forholdet til koagulasjonsparametre og sammenheng med koagulopati og pasientenutfall. Forfatterne observerte at traumepasientene i løpet av den første uken etter innkomst generelt hadde vWF-verdier over normal referanseverdi uansett senere utfall, og mener dette tyder på endotelial aktivering.

I tillegg fant de lavere nivåer ved innkomst hos pasienter med traume-indusert koagulopati samt hos de som ikke overlevde. De lave nivåene var også assosiert med lave protein C-nivåer og FVII-nivåer. Dette impliserer at tidlig lave nivåer av vWF primært må tilskrives koagulopati, og er assosiert med dårligere prognose.

Det er kjent at etter aktivering med trombin (mediert av protease-aktivert reseptor), frigir endotelceller vWF i omtrent 30 min. Ved traume-indusert koagulopati er trombindannelsen svekket[37]. Tang *et al* argumenterer for at det kan forklare de lavere innkomst-vWF-nivåer hos pasienter med enn uten koagulopati.

I en publikasjon fra 2012 hevder Ostrowski *et al* at vevsskade, hypoperfusjon og inflammasjonsmediatorer induserer systemisk endotelial aktivering og skade, og at dette igjen fører koagulopati[38]. Mekanismen de skisserer er en akutt endogen autoheparinisering, således mekanisk knyttet til nedbrytning av glykokalyx[38]. Når endotelial glykokalyx brytes ned, slippes betydelige mengder heparin-lignende molekyler ut i sirkulasjonen. I studien har de målt blodnivåer av syndekan-1, som er et transmembrant heparin-sulfat-proteoglykan[39] og er det viktigste cellemembranprotein i glykokaliks[40].

I den prospektive observasjonsstudien der 77 traumepasienter inngikk, hadde 5% TEG-verdier forenlig med akutt endogen heparinisering. Disse pasientene hadde samtidig fire ganger så høye syndekan-1-nivåer, som kan stemme med deres hypotese om en autoheparinisering mekanisk knyttet til endotelial glykokalyx-nedbrytning. Disse pasientene hadde også tegn på mer alvorlig vevs- og endotelskade, vurdert utifra trombomodulin(median, 4,1 vs 1,7 ng / ml), høyere transfusjonsbehov og økt inflammasjon og koagulopati - sistnevnte bestemt på bakgrunn av INR (median, 1,4 vs 1,1), hyperfibrinolyse og lave nivåer av protein C (85% vs 109%). De reduserte nivåene av protein C ble ikke ledsaget av en samtidig økning av aktivert protein C. Ostrowski *et al* argumenterer for at dette tyder på at økt aktivitet i APC-reaksjonsvei ikke kan forklare hypokoagulabiliteten gitt ved TEG og INR. Alle observerte sammenhenger var statistisk signifikante ( $p < 0,05$ ). Det blir spennende å se om nye, større studier vil bekrefte disse observasjonene.

Johansson *et al* hevder at kraftig frigjøring av ekstracellulære histoner og nukleinsyrer synes å bidra til hypokoagulabilitet, inflammasjon og endotelial skade observert tidlig etter trauma[41]. I en prospektiv observasjonsstudie fra 2013 der 80 traumepasienter inngikk, benyttet de ELISA-teknikk for å måle plasmanivåer av histone-complexed DNA fragments (hcDNA). De observerte en assosiasjon mellom økt forekomst av histoner og nukleinsyrer i plasma og traume-indusert koagulopati [41]. Hos traumepasientene var høye plasmanivåer av hcDNA forbundet med høy ISS og sympatoadrenal aktivering (høyere adrenalin og noradrenalin), høyere aPTT, høyere D-dimer og t-PA, og samtidig lavere PAI, som tydet på svekket trombindannelse, hyperfibrinolyse og trombocytaktivering.

Vevsskade øker blodnivåer av ekstracellulære histoner og nukleinsyrer, og Johansson *et al* argumenterer for at disse kan påvirke hemostase, fremme inflammasjon og skade endotelet. Således tenker de seg at en slik endogen skaderespons kan bidra til å forklare traume-indusert koagulopati.

Stadig flere studier ser ut til å bekrefte at også endotelet er av avgjørende betydning for å forstå traume-indusert koagulopati. Mens det er optimisme knyttet til at tidlig målrettet behandling ved hjelp av viskoelastiske teknikker som tromboelastografi kan være nyttig, argumenterer Ward for at det ikke bør distrahere oss fra å utvikle bedre sanntids-monitorering av vevsperfusjonen[36].

## Konklusjon

I arbeidet med denne oppgaven har det dukket opp flere spørsmål enn svar. Som vi har sett, er mekansimene bak traume-indusert koagulopati ikke fullt ut kartlagt, og dyptgående innsikt i hele det hemostatiske system ser ut til å være nødvendig for å beskrive dets patofysiologi.

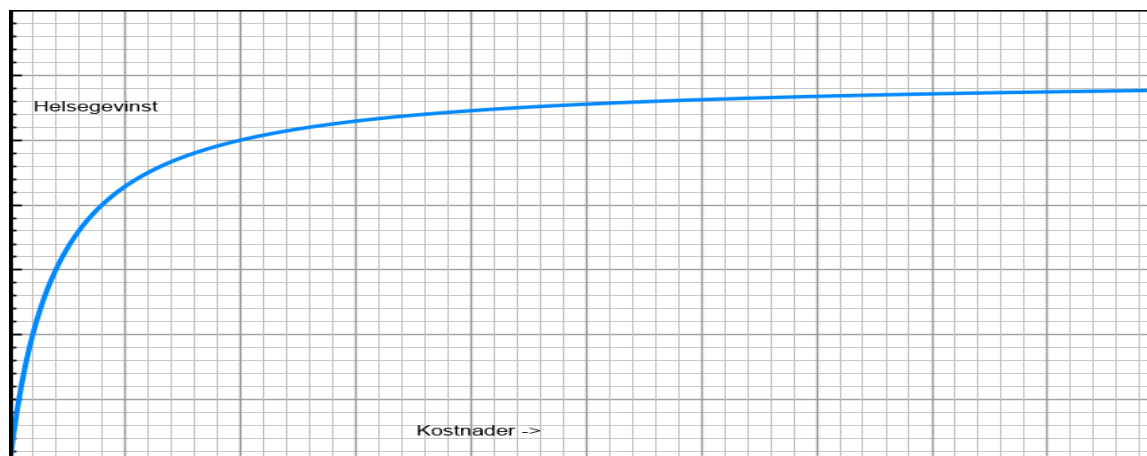
Ostrowski *et al* argumenterer for at det i et evolusjonært perspektiv, det vil si i en før-transfusjonsmedisinsk tid, kan økningen i vaskulær permeabilitet påfølgende glykokalyx-utstøting faktisk fremme en overlevelsesfordel fordi det raske skifte av volum fra det intravaskulære til det ekstravaskulære rom hos et blødende individ kan både senke blodtrykket og bevare væske i kroppen for senere mobilisering om individet overlever, og dette virker gunstig sammenliknet med å blø ut et stort uerstattelig intravaskulært volum. Således kan glykokalyx-utstøtingen og endogen heparinisering hos alvorlig skadde pasienter både redusere blødning og opprettholde blodstrøm i mikrosirkulasjon, og samtidig øke individets antimikrobielle forsvarmekanismer og modulere inflammasjon[38].

Av hemostasens tre hovedkomponenter, er koagulasjonsfaktorene lettest tilgjengelige for studier, og deres rolle og bidrag ser således ut til å være best beskrevet. Samtidig har nye teknikker gitt bedret innsyn i trombocyttenes rolle, og nye viskoelastiske studier antyder at også trombocyttenes bidrag er sentralt i patofysiologien knyttet til traume-indusert koagulopati.

Å komme i posisjon for å studere endotelets bidrag til hemostase ved traume-indusert koagulopati synes mest utfordrende, men også her foregår det mye spennende forskning. Mens mye arbeid enda gjenstår, virker det klart at traume-indusert koagulopati må forstås i lys av det intrikate samspillet mellom koagulasjonsfaktorer, trombocytter og endotel.

Mange ledende forskere uttrykker optimisme i forhold til de stadig bedre muligheter for «point-of-care»-tester, med tidligere diagnostisering og mer målrettet terapi. Samtidig viser det seg vanskelig å demonstrere bedre utfall på «harde endepunkter» gitt ved morbiditet og mortalitet. Det må forstås i lys av traume-settingen, der skademekanismer, egenskaper knyttet til pasienter så vel som forskjeller mellom for eksempel kirurger og traumesentres prosedyrer gjør bildet komplekst og standardisering vanskelig.

Samtidig vil det alltid være vanskeligere å påvise en effekt jo mindre denne er. Vi kan tenke oss en graf der Y-aksen representerer effekt av et tiltak (for eksempel på overlevelse), mens X-aksen representerer de ulike behandlingstiltak, eller hvor ressurskrevende de vil være. Grafen vil være brattest nær origo, og siden nærme seg en verdi asymptotisk. Det vil med andre ord si at jo mer avansert og tilpasset behandlingen allerede er blitt, jo vanskeligere vil det være å måle resultater av ytterligere forbedringer [45, 46].



Slik vil ytterligere forbedringer være stadig mer avanserte, og ofte mer kostbare, samtidig som effekten av tiltakene blir mer og mer marginale og det kreves store og gode studier for å kunne vise effekten.

## LITTERATURLISTE:

- [1] Murphy et al: **How to further develop the evidence base for transfusion medicine.** Blood transfusion 4, 2012
- [2] Kumar, Abbas, Fausto, Mitchell: **Basic Pathology.** ISBN9781416029731. 2007
- [3] Stokke, Hagve: **Klinisk biokjemi og fysiologi.** ISBN 9788205351769, Gyldendal 2006.
- [4] Ilekowitz: **Coagulation pathway and physiology**
- [5] Ræder, MG: **Grunnbok i kirurgisk patofysiologi og intensivmedisin.** ISBN9788292354070. 2008.
- [6] **Transfusjon kontra alternative behandlingsmetoder ved akutte blødninger**, rapport fra kunnskapssenteret nr 8-2005.
- [7] Heier et al: **Håndbok i transfusjonsmedisin.** 2. reviderte utgave.
- [8] Zehnder JL: **Clinical use of coagulation tests.** UpToDate Last updated nov. 5, 2013. 26, 2013
- [9] Davenport, Brohi: **Fibrinogen depletion in trauma: early, easy to estimate and central to trauma-induced coagulopathy** Critical Care 2013, 17:190 (24 September 2013)
- [10] Harrison: Platelet function analysis Blood Reviews (2005) 19, 111-123
- [11] Mutschler et al: **Renaissance of base deficit for the initial assessment of trauma patients: a base deficit-based classification for hypovolemic shock developed on data from 16.305 patients derived from the TraumaRegister RGU.** Crit Care. 2013 Mar 6.
- [12] Thorsen et al: **Clinical and cellular effects of hypothermia, acidosis and coagulopathy in major injury.** British Journal of Surgery 2011, 98: 894-907
- [13] Nielsen: Trombelastografi – skal det laves og hvornår? Ugeskr Læger 2006, 168(41)
- [14] Tauber et al: Prevalence and impact of abnormal ROTEM...
- [15] Hagemo et al: **Evaluation of TEG(®) and RoTEM(®) inter-changeability in trauma patients.** Injury. 2013 May;44(5):600-5.
- [16] Hunt et al: Thromboelastography (TEG) and thromboelastometry (ROTEM) for trauma-induced coagulopathy in adult trauma patients with bleeding. Editorial group, Cochrane injuries group.
- [17] Cezary Watała: **impedance whole blood electrical aggregometry: Measurements, evaluation and interpretation of aggregometry outcomes,** Medical University of Lodz
- [18] Petricevic et al: **Bleeding risk assessment using whole blood impedance aggregometry and rotational thromboelastography in patients following cardiac surgery.** J Thromb Thrombolysis. 23. January 2013
- [19] Kapan et al: **The effective risk factors on mortality in patients undergoing damage control surgery** Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2013 Jun;17(12):1681-7.
- [20] Nascimento et al: **Effect of a fixed-ratio (1:1:1) transfusion protocol versus laboratory-results-guided transfusion in patients with severe trauma: A randomized feasibility trial.** C Maj 2013 september 3; 182
- [21] Roberts et al: **The CRASH-2 trial: a randomised controlled trial and economic evaluation of the effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events and transfusion requirement in bleeding trauma patients.** Health Technol Assess. 2013 Mar;17(10):1-79. doi: 10.3310/hta17100
- [22] Simpson et al: **Recombinant factor VIIa for the prevention and treatment of bleeding in patients without haemophilia.** Cochrane database syst. Rev. 2012 Mars 14
- [23] Bouglé et al: **Resuscitative strategies in traumatic hemorrhagic shock.** Ann Intensive Care. 2013 Jan 12;3
- [24] Perel et al: **Colloids vs crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients.** Cochrane database syst rev 2011
- [25] Rossaint et al: **Management of bleeding following major trauma, an updated European guideline,** critical care, 2010
- [26] Desjardins et al, **Hemoglobin levels and transfusion in neurocritically ill patients: a**



**systematic review of comparative studies**, Crit. Care 2012

- [27] Kashuk et al. **Postinjury life threatening coagulopathy: is 1:1 fresh frozen plasma:packed red blood cells the answer?** J Trauma. 2008;65:261–270
- [28] Snyder et al: **The Relationship of Blood Product Ratio to Mortality: Survival Benefit or Survival Bias?** J Trauma. 2009;66:358–364.
- [29] Wohlhauer et al, Early platelete dysfunc; (2. Brohi K, Cohen MJ, Ganter MT, et al. Acute traumatic coagulopathy: initiated by hypoperfusion: modulated through the protein C pathway? Ann Surg. 2007;245:812–8.3.
- [30] Moore EE, Moore FA, Fabian TC, et al. **Human polymerized hemoglobin for the treatment of hemorrhagic shock when blood is unavailable: the USA multicenter trial.** J Am Coll Surg. 2009;208:1–13.)
- [31] Huntet et al: **Thromboelastography (TEG) and thromboelastometry (ROTEM) in trauma-induced coagulopathy in adult trauma patients with bleeding.** Cochrane injuries group 28. mars 2013
- [32] Brohi et al: **Acute Traumatic Coagulopathy: Initiated by Hypoperfusion Modulated Through the Protein C Pathway?** Ann Surg. 2007 May; 245(5): 812–818
- [33] Kutcher et al: **Characterization of platelet dysfunction after trauma.** J Trauma Acute Care Surg. 2012 Jul;73(1):13-9
- [34] Wohlauer et al: **Early Platelet Dysfunction: An Unrecognized Role in the Acute Coagulopathy of Trauma** J Am Coll Surg . 2012 May; 214(5): 739–746.
- [35] Pareti et al: **Acquired dysfunction due to the circulation of “exhausted” platelets.** Am J Med. 1980;69:235–40
- [36] Kevin Ward: **The Microcirculation: Linking trauma and coagulopathy.** Transfusion volume 53, january 2013
- [37] Tang et al: **Time course of soluble P-selectin and von Willebrand factor levels in trauma patients: a prospective observational study** Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine 2013, 21:70
- [38] Ostrowski et al:**Endothelial glycocalyx degradation induces endogenous heparinization in patients with severe injury and early traumatic coagulopathy.** J Trauma Acute Care Surg. 2012 Jul;73
- [39] Harve, Champe: **Biochemistry** Lippincott Wiliams & Wilkins, ISBN 0-7817-2265-9
- [40] Noel et al: **Trauma-induced Coagulopathy: From Biology to Therapy.** Seminars in Hematology, vol 50, No 3, July 2013 pp 259-269
- [41] Johansson et al: **Blood levels of histone-complexed DNA fragments are associated with coagulopathy, inflammation and endothelial damage early after trauma.** J Emerg Trauma Shock. 2013 Jul-Sep; 6(3)
- [42] Cohen et al: **Coagulopathy associated with trauma.** UpToDate, last updated des.2012
- [43] Kleinman S: **Transfusion-related acute lung injury (TRALI),** UpToDate, Last updated feb.
- [44] HE Heier, personlig meddelelse 2013.
- [45] HE Heier, Blod og samfunn. Streiftog med refleksjoner i transfusjonstjenestens historie. Senter for helseadministrasjon 2000. ISBN 82-7756-038-9
- [46] Tugwell et al, Technology assessment. Old, New, and needs-based. Int. J Techn Assess Health Care 11 (4), 650-62, 1995