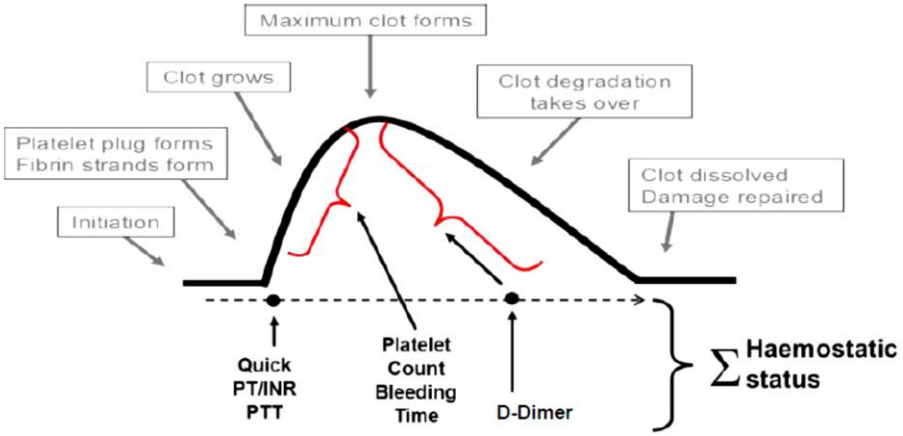
ترومبوالاستوگرافی (TEG) و ترومبوالاستومتری (ROTEM)

پایش ویژگیهای ویسکوالاستیک خون کامل در طول انعقاد و فیبرینولیز توسط ترومبوالاستومتری و ترومبوالاستوگرافی توانایی ارزیابی ترکیبات انعقادی پلاسمایی و سلولی فرایند هموستاز را دارد. این روش‌ها برخی از محدودیت‌های روش‌های آزمایشگاهی مانند شمارش پلاکت، زمان پروترومبین (PT)، زمان ترومبوپلاستین نسبی فعال شده (aPTT)، D-Dimer و زمان ترومبین (TT) را نداشته اما خود دارای برخی از محدودیت‌ها هستند. از محدودیت‌های روش‌های آزمایشگاهی نامبرده می‌توان گفت که این تست‌ها تنها بخش کوچکی از فرایند هموستاز را مورد ارزیابی قرار می‌دهند (شکل ۱) و معمولاً بعد از تولید کمتر از ۵٪ ترومبین متوقف می‌شوند (در مورد PT و aPTT). این تست‌ها روی پلاسمای سیتراته انجام شده و نقش سلولها در انعقاد نادیده گرفته می‌شود. علاوه بر این، تست‌های مذکور خطر ترومبوز را در بیمار ارزیابی نمی‌کنند. در صورتیکه سیستم‌های TEG و ROTEM توانایی شناسایی بیماران در خطر خونریزی، ترومبوز یا هیپرفیبرینولیز را دارند. با توجه به اینکه تزریق غیرضروری خون و فرآورده‌های خونی علاوه بر افزایش هزینه‌های درمانی باعث به خطر افتادن سلامت بیمار نیز می‌شود، استفاده از این روش‌ها در اتاق عمل و بخش‌های اورژانس می‌تواند در مدیریت صحیح مصرف خون و فرآورده‌های خون ماثر باشد. هر دوی این روش‌ها جزو تست‌های POCT محسوب شده و علاوه بر آزمایشگاه در بالین بیمار نیز قابل انجام هستند. در این مقاله این دو سیستم بطور اجمالی مورد بررسی قرار خواهد گرفت. لازم به ذکر است که اطلاعات فراهم شده توسط هر دو سیستم TEG و ROTEM مشابه هستند، اما این دو سیستم از دو مکانیسم متفاوت و همچنین از فعال‌کننده‌ها و اصطلاحات متفاوتی برای ارزیابی و گزارش فرایند هموستاز استفاده می‌کنند. بنابراین اطلاعات بدست آمده از یک سیستم قابل جایگزینی با اطلاعات سیستم دیگر نیست.

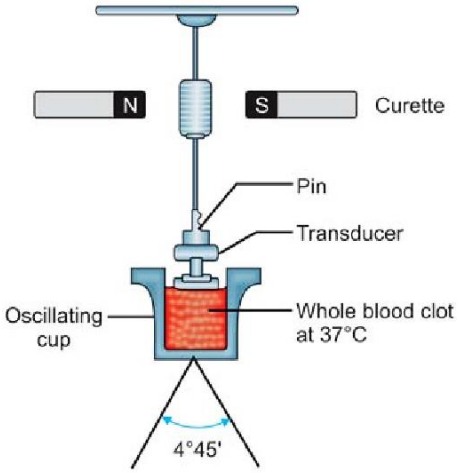


شکل ۱. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود، هر کدام از تست‌های آزمایشگاهی تنها بخشی از فرایند هموستاز را ارزیابی می‌کنند.

ترومبوالاستوگرافی (TEG)

سیستم قدیمی TEG از یک مبدل الکترومگنتیک (Electromagnetic Transducer)، یک کاپ استوانه‌ای و یک بخش ثابت دارای پین و بخش‌های الکترونیکی به منظور تبدیل سیگنال‌های تولید شده به اندکس‌های مختلف تشکیل شده است. فعال‌کننده‌های مختلفی مانند کلسیم کلرید، کائولین، و . . . به همراه خون کامل درون کاپ با دمای ۳۷ درجه ریخته می‌شوند. فرایند انعقاد فعال شده و چرخش همزمان کاپ حاوی خون و فعال‌کننده آغاز می‌شود. کاپ به سمت چپ و راست با یک قوس ۴٫۴۵ درجه و ۶ بار در دقیقه می‌چرخد. پین درون کاپ ثابت بوده و با یک سیم پیچ (torsion wire) در تماس است. با افزایش ویسکوالاستیسیته خون که توسط رشته‌های فیبرین و تجمع پلاکت-

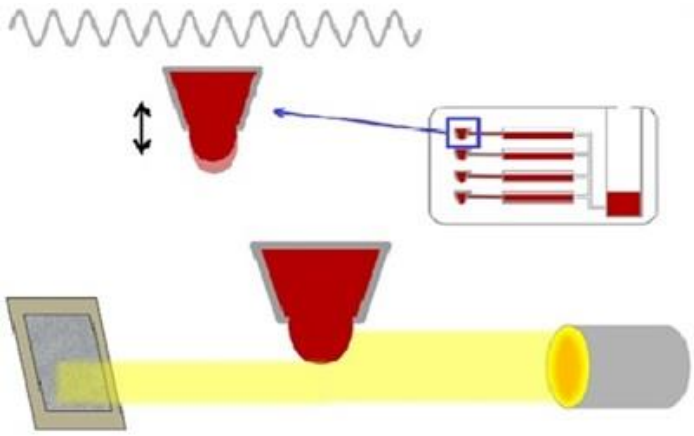
ها ایجاد می‌شود، نیروی چرخش کاپ به پین منتقل شده و این نیرو توسط مبدل الکترومگنتیک به سیگنال الکتریکی تبدیل می‌شود. میزان حرکت پین رابطه مستقیم با استحکام لخته و در نتیجه دامنه سیگنالها دارد. بعد از به حداکثر رسیدن تشکیل لخته، فرایند فیبرینولیز آغاز شده و ویسکوالاستیسیته خون کاهش می‌یابد. همانند افزایش استحکام لخته در مرحله اول، در مرحله فیبرینولیز نیز کاهش استحکام لخته توسط پین تشخیص داده شده و سیگنالهای با دامنه کوچکتری تشکیل می‌شود. در نهایت این سیگنالها بصورت یک نمودار نمایش داده می‌شود. به دلیل ثابت بودن پین، سیستم TEG به لرزش و محرک‌های مکانیکی که در بخش‌های اورژانس و جراحی بطور شایعی اتفاق می‌افتد، بسیار حساس است. البته این مشکل مربوط به مدل قدیمی TEG بوده و سیستمی که اخیراً توسعه یافته است، حساسیت کمتری به لرزش و محرک‌های مکانیکی دارد و از مکانیسم متفاوتی برای پایش ویژگیهای ویسکوالاستیک خون استفاده می‌کند که در ادامه شرح داده می شود.



شکل ۲. سیستم قدیمی TEG.

با توجه به نوع فعال‌کننده روش‌های مختلف ترومبوالاستوگرافی شامل TEG استاندارد، TEG فعال شده، هپارینز TEG و مپینگ پلاکت (platelet mapping method) قابل انجام می‌باشد. در روش TEG استاندارد تنها از کائولین بعنوان فعال‌کننده تماسی استفاده می‌شود. در روش TEG فعال شده که با افزودن ۸٪ کائولین و فاکتور بافتی نوترکیب انجام می‌شود، هر دو مسیر داخلی و خارجی فعال شده و مدت زمان تست کاهش می‌یابد. در TEG فعال شده زمان R به ثانیه کاهش و در TEG استاندارد به دقیقه افزایش می‌یابد. روش هپارینز TEG، به منظور ارزیابی تاثیر هپارین باقیمانده در انعقاد استفاده می‌شود. مپینگ پلاکت با استفاده از دو فعال‌کننده پلاکت شامل اسیدآراشیدونیک (ارزیابی تاثیر آسپرین) یا ADP (ارزیابی تاثیر کلوپیدوگریل) استفاده می‌نماید.

در سیستم جدید TEG از یک کارتریج چند کاناله با تکنولوژی میکروفلویدیک (multi-channel microfluidic) به جای کاپ در سیستم قدیمی استفاده می‌شود (شکل ۳). ابتدا کارتریج درون دستگاه قرار داده می‌شود. خون سیتراته یا هپارینه (حدود۳۰۰ میکرولیتر) با استفاده از پیپت پاستور یا سمپلر به چاهک مخصوص روی کارتریج انتقال داده می‌شود. خون با حرکت در چهار کانال مختلف حرکت کرده و به میکروکاپ رسیده و آنرا پر می‌کند. در انتهای میکروکاپ خون قابلیت عبور دارد. با لرزش ایجاد شده توسط دستگاه، خروج خون از انتهای کاپ توسط نور پایش می‌شود. همانطور که خون لخته می‌شود، خواص ویسکوالاستیک آن افزایش یافته و سرعت عبور آن کاهش می‌یابد. تغییر سرعت عبور خون به شکل نمودار نمایش داده می‌شود.



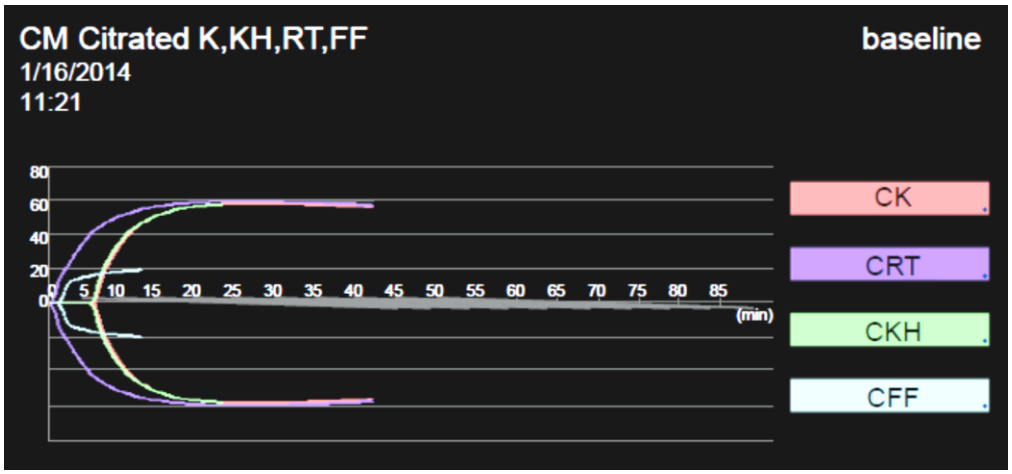
شکل ۳. مکانیسم عمل در سیستم جدید TEG.

دو نوع کارتریج مختلف شامل روتین TEG و مپینگ پلاکت در دسترس است. کارتریج روتین TEG دارای چهار کانال شامل کائولین TEG، هپارینز TEG، Rapid TEG و Functional Fibrinogen می‌باشد و از خون سیتراته استفاده می‌کند. کارتریج مپینگ پلاکت نیز دارای چهار کانال شامل ADP، اسید آراشیدونیک، کائولین همراه با هپارینز و ActivatorF می‌باشد و از خون هپارینه استفاده می‌کند (جدول ۱).

جدول ۱. روش‌های مختلف سیستم TEG.	
Kaolin TEG	معرف حاوی کائولین بعنوان یک فعال کننده تماسی مورد استفاده قرار می‌گیرد.
Rapid-TEG	معرف حاوی کائولین و فاکتور بافتی بعنوان یک فعال کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد.
HTEG	از هپارینز لیوفیلیزه به منظور خنثی کردن هپارین انقسام نیافته استفاده می‌شود.
Functional Fibrinogen TEG	از فاکتور بافتی بعنوان فعال کننده و از آبسیکسیمب برای مهار پلاکت‌ها استفاده می‌شود. این روش به منظور ارزیابی نقش فیبرینوژن در تشکیل و استحکام لخته بکار می‌رود. علاوه بر این، با تفریق مقادیر FF-TEG از استاندارد TEG، فعالیت مستقل پلاکت‌ها بدست خواهد آمد.
Platelet Mapping	در این روش از خون هپارینه و معرف حاوی ActivatorF (رپتیلاز و فاکتور XIIIa) استفاده می‌شود. هپارین ترومبین را غیرفعال ساخته اما رپتیلاز بطور مستقل از ترومبین توانائی تبدیل فیبرینوژن به فیبرین را دارد. علاوه بر این فاکتور XIIIa باعث ایجاد اتصالات متقاطع و استحکام لخته می‌شود. افزودن هر کدام از فعال کننده‌های ADP یا اسیدآراشیدونیک امکان ارزیابی پاسخ پلاکت‌ها به این آگونیست‌ها را مستقل از ترومبین فراهم می‌آورد.

اندکس‌های زیر در سیستم TEG محاسبه و گزارش می‌شود:

- زمان R یا Reaction Time: معادل CT در ROTEM. زمان بین شروع تست و رسیدن لخته به ارتفاع ۲ میلی‌متر است. در واقع R زمان لازم برای شروع تشکیل لخته توسط واکنش‌های آنزیماتیک انعقاد است. زمان R در روش TEG فعال شده معادل تست ACT می‌باشد.
- زمان K یا Kinetics Time: معادل CFT در ROTEM. زمان بین R و رسیدن ارتفاع لخته به ۲۰ میلی‌متر. نشان دهنده سرعت تبدیل فیبرینوژن به فیبرین توسط ترومبین است.
- زاویه آلفا به درجه: نشان دهنده سرعت تبدیل فیبرینوژن به فیبرین توسط ترومبین است.
- اندکس MA یا Maximum Amplitude: معادل MCF در ROTEM
- CL30/60 یا Clot Lysis 30/60: درصد کاهش سطح لخته زیر نمودار TEG سی/شصت دقیقه بعد از MA.

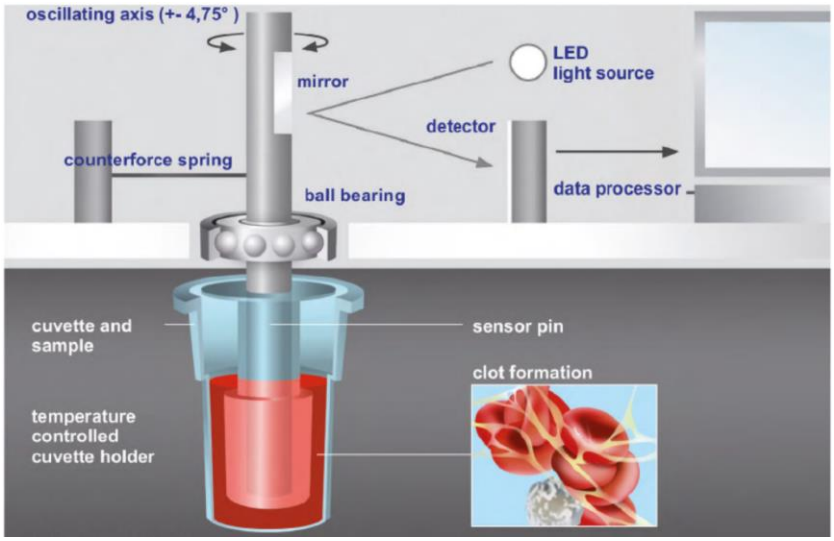


شکل ۴. نمودارهای حاصل از چهار کانال مختلف کارتریج استاندارد TEG در سیستم جدید.

ترومبوالاستومتری (ROTEM)

در سیستم ROTEM، یک کاپ ثابت حاوی نمونه خون کامل (۳۰۰ میکرولیتر خون کامل و یک فعال کننده) ثابت نگه‌داشته شده و یک پین هر ۶ ثانیه (با زاویه ۴٫۷۵ درجه) درون آن نوسان می‌کند. همانطور که قدرت ویسکوالاستیک لخته افزایش می‌یابد، مقاوت آن در برابر نوسان پین نیز افزایش می‌یابد. در نهایت سرعت نوسان کاهش یافته و این کاهش سرعت از طریق یک سیستم دارای حسگر اپتیک شناسایی می‌شود. حساسیت به لرزش و محرک‌های مکانیکی در سیستم ROTEM با استفاده از کاپ ثابت و پین متحرکی که توسط یک بلبرینگ پایدار شده برطرف شده است. علاوه بر این روش انتقال افزایش یا کاهش قدرت ویژگیهای ویسکوالاستیک در سیستم ROTEM توسط یک سیستم اپتیکی حساس صورت می‌گیرد. همانند سیستم TEG، در سیستم ROTEM نیز می‌توان با استفاده از فعال‌کننده‌ها یا مهارکننده‌های مختلف ارزیابی‌های متنوعی انجام داد (جدول ۲).

جدول ۲. روش‌های مختلف سیستم ROTEM.	
INTEM	معرف حاوی فسفولیپید و اسید الاژیک بعنوان یک فعال کننده تماسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اطلاعات فراهم شده معدل تست APTT است.
EXTEM	معرف حاوی فاکتور بافتی بعنوان یک فعال کننده مسیر خارجی بوده و اطلاعاتی معادل تست PT فراهم می‌آورد.
HEPTEM	از هپارین لیوفیلیزه به منظور خنثی کردن هپارین انقسام نیافته استفاده می‌شود.
APTEM	معرف حاوی آپروتینین بوده و به منظور مهار فیبرینولیز استفاده می‌شود. با مقایسه نتایج حاصل از APTEM با نتایج EXTEM می‌توان فیبرینولیز را مورد ارزیابی قرار داد.
FIBTEM	از سیتوکلازین D که یک مهارکننده پلیمریزاسیون رشته‌های اکتین می‌باشد، به منظور مهار فعالیت پلاکت‌ها استفاده می‌شود این روش به منظور ارزیابی نقش مستقل از پلاکتِ فیبرینوژن در تشکیل و استحکام لخته بکار می‌رود.
NATEM	به خون سیتراته تنها کلسیم افزوده می‌شود. به دلیل افزایش زمان CFT، کاربرد بالینی و عملی اندکی دارد.

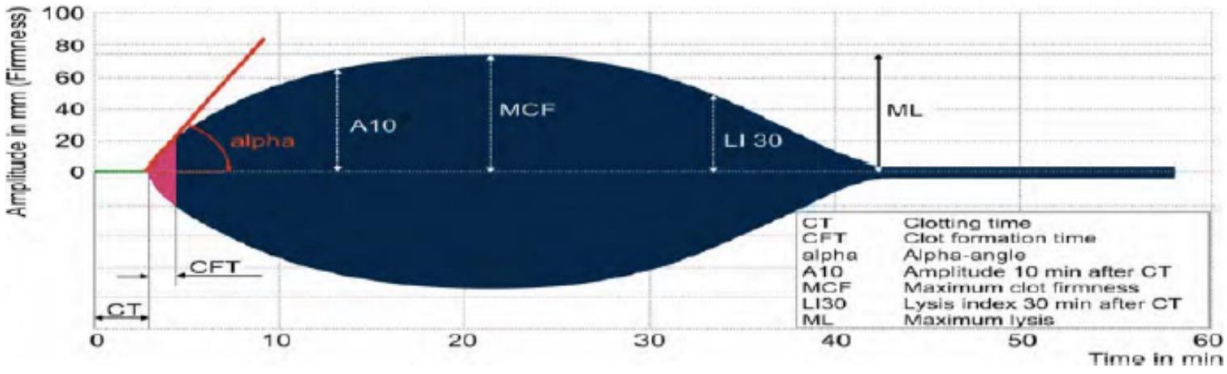


شکل ۵. مکانیسم عمل در سیستم ROTEM.

اندکس‌هایی که توسط سیستم ROTEM محاسبه و گزارش می‌شود عبارتند از:

- زمان انعقاد (Coagulation/Cloting Time; CT) به ثانیه
- CFT یا Clot Formation Time: زمان تشکیل لخته
- زاویه آلفا (α-angle) به درجه
- ارتفاع لخته ۱۰ دقیقه بعد از CT به میلی‌متر (A10)
- حداکثر سختی (ارتفاع) لخته به میلی‌متر (MCF)
- حداکثر لیز لخته (ML) که درصد کاهش ارتفاع لخته ۶۰ دقیقه بعد از MCF است.

اندکس CT زمان شروع انعقاد را نشان می‌دهد. درحالیکه CFT و α-Angle بیانگر میزان اولیه پلیمریزاسیون فیبرین هستند. اندکس MCF نشانگر حداکثر قدرت ویسکوالاستیک لخته می‌باشد. یک ML کمتر از ۱۵٪ به منظور تشخیص هیپرفیبرینولیز استفاده می‌شود.



شکل ۶. اندکسهای گزارش شده توسط سیستم ROTEM.