

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ

*Evaluarea complexă a tulburărilor de coagulare din
stadiile precoce ale sepsisului sever și șocului septic
și semnificația lor prognostică*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. ARAMĂ ȘTEFAN SORIN

Student-Doctorand:

SCĂRLĂTESCU ECATERINA

2018

CUPRINS

Abrevieri folosite în text.....	3
Introducere.....	5
I. Partea generală.....	10
1. Aspecte generale de fiziologie a hemostazei.....	10
1.1 Hemostaza primară.....	11
1.2 Hemostaza secundară.....	12
1.3 Fibrinoliza	16
1.4 Principalele mecanisme anticoagulante.....	17
2. Investigarea paraclinică a hemostazei.....	18
2.1 Teste standard de coagulare.....	18
2.2 Teste vâscoelastice.....	24
2.3 Teste de generare ale trombinei.....	31
2.4 Teste ale funcției plachetare.....	33
3. Modificările hemostazei în sepsis.....	35
3.1 Activarea coagulării.....	35
3.2 Modificările mecanismelor anticoagulante.....	38
3.3 Modificările fibrinolizei.....	39
3.4 Investigarea hemostazei la pacientul cu sepsis.....	40
3.5 Terapii care vizează modificările hemostatice din sepsis.....	44
II. Contribuții personale.....	48
4. Ipoteza de lucru și obiective generale ale cercetării.....	48
5. Metodologie generală a cercetării.....	50
6. Rezultate.....	59
7. Discuții.....	130
8. Concluzii și contribuții personale.....	149
 Bibliografia.....	 154
Anexe.....	171

I. Partea generală

Tulburările de coagulare sunt frecvent întâlnite în cazul pacienților septici, variind de la alterări ușoare ale testelor standard de coagulare până la manifestări ale DIC (coagularea intravasculară diseminată) și contribuind la apariția disfuncțiilor de organ din cadrul sepsisului[1]. Între inflamație și coagulare există o relație bidirecțională, inflamația contribuind la activarea coagulării, iar coagularea la rândul său modulând răspunsul inflamator[2, 3]. În cazul în care mecanismele de control sunt depășite, această stimulare reciprocă între coagulare și inflamație va conduce la amplificarea inflamației și la activarea necontrolată a coagulării însoțită de diminuarea procesului de fibrinoliză, având ca rezultat disfuncția endotelială, apariția de tromboze la nivelul microcirculației și disfuncții multiple de organ[3].

În cazul pacienților cu sepsis, nivelul plasmatic al factorilor de coagulare și al inhibitorilor coagulării este redus, însă în mod uzual concentrațiile plasmatice ale factorilor de coagulare nu sunt atât de scăzute încât să compromită hemostaza[4]. Totuși, reducerea globală a factorilor coagulării determină prelungirea testelor standard de coagulare care reflectă doar deficitul factorilor procoagulanți și nu sunt sensibile la reducerea simultană a factorilor anticoagulanți. De aceea, testele uzual folosite pentru evaluarea sistemului hemostatic (INR, aPTT, PT) sunt frecvent prelungite la pacienții din terapie intensivă cu sepsis, sugerând tendința spre hipocoagulabilitate. Testele standard de coagulare nu reflectă contribuția componentelor celulare la realizarea hemostazei, fiind efectuate folosind plasmă și nu pot detecta activitatea fibrinolitică. Aceste teste reflectă timpul necesar pentru formarea fibrinei solubile din momentul adăugării activatorilor în plasma testată. Astfel, testele standard de coagulare se opresc odată cu formarea fibrinei solubile, moment în care doar aproximativ 5% din cantitatea totală de trombină este generată. Din aceste considerente, testele standard de coagulare nu pot oferi o imagine de ansamblu asupra modificărilor hemostatice complexe din sepsis, nici asupra riscurilor de sângerare sau de tromboză în cazul acestor pacienți critici, de aceea corectarea rezultatelor frecvent anormale prin administrarea de plasmă sau concentrate de factori de coagulare la pacienții septici înaintea unor manevre invazive sau în absența sângerării nu este indicată și chiar poate avea consecințe nefavorabile[5].

Testele vâscoelastice (tromboelastometria rotațională, tromboelastografia) sunt teste globale ale hemostazei care folosesc pentru analiză sânge integral, incluzând astfel atât

componenta celulară cât și cea plasmatică în evaluarea coagulării. Prin adăugarea de activatori și/sau aditivi specifici, testele vâscoelastice investighează componente specifice ale hemostazei[6]. Activitatea fibrinolitică este, de asemenea, evidențiată și diagnosticată în practica clinică cu ajutorul testelor vâscoelastice. Având în vedere tulburările complexe ale hemostazei în cazul pacienților septici, utilizarea testelor vâscoelastice pentru o evaluare globală a coagulării cât mai apropiată de situația in vivo reprezintă o abordare descrisă deja în studii publicate care au subliniat avantajele utilizării acestor teste de tip point-of-care pentru pacienții de terapie intensivă[4]. Disfuncțiile de organ din sepsis sunt consecința răspunsului inflamator, și a interacțiunii bidirecționale dintre inflamație și coagulare, conducând la activarea necontrolată a coagulării însoțită de diminuarea mecanismelor anticoagulante și a procesului de fibrinoliză[1]. De aceea, tratamentele adjuvante care vizează modificarea răspunsului hemostatic în sepsis pot reprezenta o soluție terapeutică în anumite cazuri selecționate. În afară de selecția corectă a pacienților și alegerea tratamentului adecvat, este însă importantă identificarea exactă a momentului când activarea coagulării devine un proces nefavorabil pentru organism, aceasta fiind fereastra terapeutică pentru administrarea tratamentelor cu efect anticoagulant în sepsis, [7, 8]. Astfel, studiul tulburărilor hemostazei la pacienții cu sepsis, în special în stadiile incipiente, reprezintă o preocupare științifică de actualitate cu implicații importante pentru practica clinică.

II. Contribuții personale

Ipoteza de lucru și obiective generale ale cercetării

În această lucrare am urmărit elucidarea unor aspecte legate de profilul hemostatic al pacienților cu sepsis și/sau sepsis asociat patologiei maligne. Obiectivele prezentului studiu au inclus caracterizarea tulburărilor de coagulare întâlnite la pacienții de terapie intensivă cu sepsis și la pacienții care asociază sepsis și patologie malignă, studierea diferențelor între aceste categorii de pacienți frecvent întâlniți în practica de zi cu zi și realizarea unui profil hemostatic al pacientului cu sepsis în stadiu incipient prin coroborarea informațiilor obținute prin metode diagnostice diferite. Un alt obiectiv al lucrării a fost studiul fibrinolizei în cazul pacienților septici, folosind atât parametrii clasici tromboelastometrici, dar și parametrii obținuți pe baza curbei vitezei de formare a cheagului. Având în vedere aplicabilitatea practică a rezultatelor obținute, studiul de față a urmărit de asemenea evaluarea utilității unor parametrii hemostatici pentru predicția prognosticului pe termen scurt în cazul pacienților cu sepsis sau soc septic, ca și utilitatea parametrilor furnizați de tromboelastometria

rotațională pentru predicția diagnosticului de coagulare intravasculară diseminată. Un alt obiectiv cu implicații practice al studiului a fost evaluarea utilității unor parametrii tromboelastometrici calculați în predicția prognosticului pe termen scurt pentru anumite subgrupuri de pacienți aparent similari conform rezultatelor testelor standard de coagulare și conform parametrilor tromboelastometrici standard.

Metodologie generală a cercetării

În această lucrare am alcătuit trei loturi de studiu: un lot de studiu care a inclus pacienții cu sepsis și tumori maligne solide abdomino-pelvine, al doilea lot de studiu format din pacienți diagnosticați cu sepsis sau șoc septic fără patologie malignă și un al treilea lot de studiu ce a inclus pacienți cu tumori solide maligne abdomino-pelvine fără semne clinice sau paraclinice de infecție. Au fost excluși din studiu pacienții cu vârsta sub 18 ani, femeile însărcinate, pacienții diagnosticați cu afecțiuni hematologice, boală renală cronică, ciroză hepatică, pacienții cu tratament antiagregant plachetar sau anticoagulant sau tratament cu viză hemostatică în ultimele 7 zile preincludere în studiu.

Pe lângă datele demografice, microbiologice și markerii folosiți pentru monitorizarea sindromului inflamator-infecțios, au fost înregistrate în studiu scorurile calculate pentru evaluarea disfuncțiilor de organ și pentru diagnosticul coagulării intravasculare diseminate. Pentru investigarea hemostazei, fiecărui pacient inclus în studiu i s-au recoltat probe de sânge pentru efectuarea hemoleucogramei și testelor standard de coagulare și pentru determinarea nivelurilor plasmatiche ale factorilor de coagulare, inhibitorilor și D-dimerilor, precum și pentru efectuarea tromboelastometriei rotaționale. Recoltarea probelor a fost realizată în primele 24-36 de ore de la diagnosticul de șoc septic sau sepsis pentru pacienții incluși în primele două loturi de studiu. S-a urmărit în acest fel o standardizare a momentului recoltării probelor pentru evaluarea hemostazei și includerea unor pacienți aflați în stadii precoce de sepsis. Tromboelastometria rotațională a inclus 4 teste efectuate simultan pentru fiecare pacient: EXTEM (pentru analiza căii extrinseci a coagulării, având ca activator specific factorul tisular), INTEM (pentru analiza căii intrinseci a coagulării, având ca activator specific acidul elagic), FIBTEM (pentru analiza capacității polimerizării fibrinei, având ca activator factorul tisular și aditiv cytochalazina D care blochează interacțiunea dintre fibrin/fibrinogen și plachete, eliminând astfel componenta plachetară din cheagul rezultat), APTEM (pentru analiza și diagnosticul diferențial al fibrinolizei, având ca activator factorul tisular și aditiv acidul tranexamic pentru inhibarea activității fibrinolitice din probă).

Un nou parametru (t-AUCi) reprezentând durata părții descendente a curbei vitezei de formare a cheagului în EXTEM a fost calculat folosind formula $t-AUCi = CT + (t-MCF) - (t-MaxVel)$. De asemenea, pentru fiecare pacient a fost calculată viteza de formare a cheagului folosind amplitudinea sau elasticitatea în diferite momente ale măsurătorii în scopul evaluării complexe a cineticii formării cheagului, după metode descrise în alte studii anterior publicate[9, 10].

Rezultate si discuții

Analiza caracteristicilor pacienților din cele trei loturi de studiu

În lotul 1 de studiu au fost incluși 57 de pacienți cu diagnosticul de sepsis cu minim două disfuncții de organ sau șoc septic aflați în primele 30 de zile după intervenție chirurgicală pentru tumoră malignă solidă abdominală sau pelvină. Analizând caracteristicile generale ale lotului 1 se observă ușoara predominanță a pacienților de sex masculin și a localizării colo-rectale a tumorii maligne; valoarea medie a scorului SOFA a fost de 10.18 puncte, o valoare apropiată de limita de 11 puncte asociată unei mortalități ridicate. Pacienții din lotul 1 prezintă anemie, trombocitopenie și valori crescute ale timpului de protrombină, INR și aPTT. Nivelurile plasmatice ale factorilor de coagulare II, V, VII, X și inhibitorilor (proteina C, S, antitrombina) sunt reduse, aceste rezultate fiind de asemenea în concordanță cu date din literatură[4]. Rezultatele tromboelastometriei rotaționale arată o prelungire a clotting time (CT) semnificând o alterare a inițierii coagulării doar în 25% din cazuri. Prin comparație, testele standard de coagulare care de asemenea reflectă etapa de inițiere a coagulării sunt prelungite în 85% din cazuri pentru pacienții din lotul 1.

În lotul 2 de studiu au fost incluși 40 de pacienți cu sepsis cu minim două disfuncții de organ sau șoc septic fără patologie malignă asociată. Ca și în lotul 1, se poate observa o predominanță a pacienților de sex masculin, însă vârsta medie este mai mare decât pentru pacienții din lotul 1 de studiu. Valoarea medie a scorului SOFA pentru pacienții din lotul 2 este, de asemenea ridicată- 10.57 puncte, corespunzând unei mortalități ridicate. Ca și pacienții din lotul 1, pacienții din lotul 2 prezintă de asemenea modificări ale hemostazei întâlnite frecvent în sepsis- trombocitopenie, prelungirea timpilor de coagulare și niveluri plasmatice scăzute ale factorilor de coagulare și inhibitorilor. Rezultatele tromboelastometriei rotaționale indică o afectare a fazei de inițiere a coagulării doar în 37.5% dintre pacienții lotului 2.

În lotul 3 de studiu au fost incluși 43 de pacienți neinfecțati diagnosticati cu tumori maligne solide abdominale sau pelvine, programați pentru intervenție chirurgicală electivă. Incluziunea lotului 3 în studiu a fost făcută cu scopul de a avea un lot control pentru studiul modificărilor hemostazei care apar la pacienții cu cancer și sepsis. Pacienții din lotul 3 prezintă anemie, însă nu și trombocitopenie. Majoritatea pacienților au prezentat rezultate normale ale testelor standard de coagulare și tromboelastometriei rotaționale.

Compararea testelor standard de coagulare cu parametrii tromboelastometrici

Analiza comparativă a testelor standard de coagulare și a parametrilor corespunzători tromboelastometrici a fost efectuată folosind datele de la toți pacienții incluși în studiu (n=140). Rezultatele au arătat o corelație semnificativă între fibrinogenul plasmatic măsurat folosind metoda Clauss și amplitudinea cheagului în FIBTEM. De asemenea, amplitudinea cheagului măsurată în INTEM și EXTEM a fost corelată semnificativ statistic cu numărul de trombocite și cu nivelul fibrinogenului plasmatic în populația studiată. Rezultatele studiului nostru au arătat că, deși există corelații semnificative între PT/INR și CT în EXTEM și de asemenea între aPTT și CT în INTEM, totuși valorile prelungite peste limita normalului ale testelor standard de coagulare sunt identificate într-un număr mare de pacienți în special din loturile de pacienți septici în timp ce valori anormale ale CT în EXTEM sau INTEM sunt depistate într-un număr mult mai redus de pacienți. Compararea dintre testele standard de coagulare și parametrii derivați tromboelastometrici calculați pe baza primei derivate a curbei de formare a cheagului în EXTEM arată o bună corelație între viteza maximă, AUC (care reflectă fermitatea totală a cheagului) și fibrinogenul plasmatic, dar și cu numărul de trombocite. Timpul necesar până la atingerea vitezei maxime (t-MaxVel) a demonstrat în studiul nostru o corelație semnificativă statistic cu timpul de protrombină și valoarea INR, dar nu și cu numărul de trombocite și valoarea fibrinogenului plasmatic.

Studiul parametrului calculat t-AUCi

Noul parametru calculat în acest studiu, t-AUCi, reprezintă durata porțiunii descendente a curbei vitezei. Parametrul calculat a dovedit o corelație semnificativă statistic cu indicii tromboelastometrici de liză a cheagului, însă nu și cu nivelul plasmatic al D-dimerilor. Valorile t-AUCi prezintă o corelație directă cu indicele de liză (LI) măsurat la 30,45 sau 60 de minute și inversă cu ML. Astfel, valorile crescute ale t-AUCi sunt asociate unei fibrinolize reduse a cheagului. Pacienții fără liza cheagului la 30,45 sau 60 minute (LI=100%) prezintă valori semnificativ mai mari ale t-AUCi comparativ cu pacienții la care

există un grad de liză (LI <100%). Acest parametru calculat este o variabilă numerică continuă, în timp ce indicii de liză a cheagului sunt non-parametrici și prezintă o paletă redusă de valori posibile în general și cu atât mai mult în cazul pacienților cu un grad redus de fibrinoliză.

Studiul modificărilor hemostazei la pacienții cu sepsis și cancer comparativ cu pacienții cu cancer

Pacienții cu sepsis și cancer (lotul 1) au prezentat trombocitopenie, teste standard de coagulare prelungite și niveluri plasmaticice ale factorilor de coagulare și inhibitorilor reduse comparativ cu pacienții neinfecțati cu cancer (lotul 3). Aceste diferențe sunt similare cu rezultatele descrise în literatură pentru pacienții septici[11]. Parametrii tromboelastometrici standard și derivați au arătat o întârziere a inițierii coagulării pentru lotul de pacienți septici comparativ cu pacienții neinfecțati din lotul 3, însă fazele ulterioare ale coagulării-propagarea și stabilizarea cheagului- nu prezintă diferențe semnificative între cele două grupuri. Rezultatele studiului nostru au arătat că liza cheagului este redusă la 45 și 60 minute în lotul de pacienți cu sepsis comparativ cu lotul control. Un nivel redus al fibrinolizei la pacienții septici a fost demonstrat și în alte studii publicate anterior[12].

Parametrul calculat t-AUCi a avut o valoare semnificativ mai prelungită la pacienții cu sepsis (lotul 1) comparativ cu grupul control (lotul 3), în concordanță cu nivelul redus al fibrinolizei demonstrat la pacienții cu sepsis. Velocitățile calculate pe baza amplitudinii și elasticității arată diferențe semnificative între loturi după un interval de 30 minute de la începerea reacției. Pacienții din lotul 1 prezintă velocități mai crescute de formare a cheagului după acest interval de timp comparativ cu pacienții din lotul 3. Cu toate acestea, velocitățile calculate nu depășesc atingerea întârziată a velocității maxime depistată prin parametrii calculați de software datorită faptului că viteza a fost calculată pentru anumite puncte în timp pentru care valoarea amplitudinii cheagului a fost disponibilă. Astfel prin utilizarea velocităților calculate pe baza amplitudinii și elasticității prin metoda descrisă anterior nu se poate preciza exact momentul atingerii velocității maxime, în schimb aceasta din urmă este calculată de software-ul aparatului ROTEM Delta, ceea ce justifică utilizarea ambelor metode. Faptul că după 30 de minute viteza de formare a cheagului devine mai scăzută pentru pacienții din lotul 3 poate semnifica fibrinoliză deja inițiată care va limita creșterea amplitudinii pentru pacienții din lotul 3. Faptul că pacienții din lotul 3 prezintă mai devreme negativarea velocităților comparativ cu pacienții din lotul 1 semnifică de asemenea liza

cheagului care determină scaderea amplitudinii. Explicarea acestor diferențe între curbele velocităților prin diferențele legate de fibrinoliză între cele două grupuri este confirmată de faptul că aceste diferențe nu se mențin când efectul fibrinolizei este înlăturat, prin studiul canalului APTEM. Folosind curbele velocităților, fibrinoliza mai redusă a pacienților din lotul 1 este evidențiată după doar 30 minute de la începerea reacției, în timp ce folosind parametrii standard de liză acest lucru a fost posibil doar după 45 minute de la începerea reacției.

Studiul modificărilor hemostazei la pacienții cu sepsis și cancer comparativ cu pacienții cu sepsis

Testele standard de coagulare sunt prelungite pentru ambele loturi de pacienți. Din rezultatele noastre, prelungirea PT și aPTT este mai marcată în cazul pacienților din lotul 1, iar nivelul fibrinogenului este mai redus însă doar modificarea aPTT este semnificativă statistic. Nivelurile plasmatice ale factorilor de coagulare, inhibitorilor și D-dimerilor și parametrii standard ai tromboelastometriei rotaționale nu prezintă diferențe semnificative între cele două loturi. De asemenea, analiza parametrilor calculați pe baza primei derivate a curbei de formare a cheagului din EXTEM nu arată diferențe semnificative între cele două grupuri.

Comparația velocităților calculate folosind amplitudinea și elasticitatea

Rezultatele comparației dintre viteza pe baza amplitudinii și cea pe baza elasticității în EXTEM arată pentru loturile 1 și 3 momente diferite în care este atins punctul de viteză maximă, acesta apărând mai devreme pentru amplitudine și ulterior pentru elasticitate. O explicație plauzibilă este dată de relația non liniară dintre amplitudine și elasticitate și de posibila creștere marcată a elasticității doar după ce amplitudinea a atins o anumită valoare. Pentru lotul 2 atingerea unui punct maxim al vitezei este simultană pentru curbele pe baza amplitudinii și elasticității. O posibilă explicație poate fi dată de potențialul hemostatic mai crescut al pacienților din acest lot conducând mai repede la atingerea unor amplitudini pentru care elasticitatea să prezinte valori ridicate. Dinamica formării cheagului și efectul lizei sau retracției plachetare au fost studiate folosind vitezele de formare a cheagului calculate pe baza amplitudinii și elasticității în canalele EXTEM, APTEM și FIBTEM. Pentru loturile de pacienți cu sepsis (lotul 1 și lotul 2), curba velocităților nu este diferită în EXTEM comparativ cu APTEM, acest rezultat confirmând o liză redusă sau absentă a cheagului pentru această populație. Negativarea velocităților

semnifică reducerea amplitudinii sau a elasticității și este simultană și egală în EXTEM și APTEM, datorându-se retracției cheagului mediată de plachete. Velocitatea constantă cu valoarea 0 din FIBTEM confirmă această posibilitate. Spre deosebire de pacienții cu sepsis, în lotul de pacienți neinfecțați (lotul 3), cinetica formării cheagului este diferită în canalele EXTEM și APTEM. De observă astfel o reducere a velocităților calculate în EXTEM și FIBTEM comparativ cu APTEM după 45 minute de reacție pentru velocitățile calculate folosind amplitudinea și mai devreme pentru cele calculate folosind elasticitatea. Acest rezultat este explicat prin liza cheagului care nu se produce în APTEM datorită inhibării fibrinolizei în acest canal.

Utilitatea parametrilor hemostazei în evaluarea severității bolii și a prognosticului pe termen scurt în cazul pacienților cu sepsis sau șoc septic

În studiul nostru am analizat valoarea parametrilor înregistrați pentru predicția mortalității pe parcursul internării în Terapie Intensivă pentru pacienții cu sepsis. Scorul SOFA și scorul JAAM DIC au dovedit o corelație semnificativă cu prognosticul pacienților. Dintre testele standard de coagulare doar pentru valoarea aPTT au existat diferențe semnificative statistic între pacienții care au decedat și cei care au supraviețuit pe parcursul internării în Terapie Intensivă. Dintre parametrii trombelastometrici standard, amplitudinea redusă a cheagului în EXTEM și INTEM și prelungirea clotting time și clot formation time pentru canalul INTEM au fost asociate cu un prognostic nefavorabil. Acest rezultat este concordantă cu valoarea aPTT prelungită la pacienții care au decedat. Parametrii calculați de software-ul aparatului pe baza primei derivate de formare a cheagului în EXTEM nu relevă diferențe semnificative între pacienții decedați și cei supraviețuitori la externarea din Terapie Intensivă. Compararea parametrilor de liză a cheagului relevă tendința de inhibare a lizei în grupul de pacienți care nu au supraviețuit, însa singurul dintre indicii tromboelastometrici de liză care prezintă diferențe semnificative statistic este maximum lysis. Parametrul calculat t-AUCi demonstrează o bună corelație cu prognosticul pacienților, prezentând valori semnificativ mai crescute pentru pacienții cu evoluție nefavorabilă. O observație interesantă a studiului nostru este ca parametrul calculat t-AUCi are cea mai bună capacitate de predicție a evoluției pacientului pe parcursul internării în Terapie Intensivă comparativ cu ceilalți parametrii testați, conform rezultatelor analizei ROC.

Parametrii calculați din prima derivată a curbei ROTEM prezintă diferențe semnificative în funcție de diagnosticul de coagulare intravasculară diseminată (DIC),

pacienții cu DIC având viteza maximă de formare a cheagului mai redusă și un timp mai îndelungat necesar pentru atingerea vitezei maxime comparativ cu pacienții fără DIC. De asemenea, aria de sub curba vitezei de formare a cheagului (AUC), care reprezintă un parametru global al formării și rezistenței cheagului (numit în literatură total thrombus formation) este semnificativ redusă la pacienții cu DIC. Parametrii de liză a cheagului și parametrul calculat t-AUCi nu prezintă diferențe semnificative statistice între pacienții cu DIC și cei fără DIC. Cei mai buni parametri pentru identificarea pacienților septici cu coagulare intravasculară diseminată sunt elasticitatea maximă a cheagului, AUC și amplitudinea maximă a cheagului în INTEM sau EXTEM, conform rezultatelor analizei ROC efectuate. Rezultatele studiului nostru arată că valori ale MCF sub 63 mm, ale AUC sub 6173 sau a elasticității maxime sub 158 identifică cu sensibilitate și specificitate de peste 70% pacienții cu DIC. Folosirea acestor parametri obținuți din analiza ROTEM la includerea pacienților în studiu permite identificarea rapidă a pacienților cu o probabilitate mare de a avea coagulare intravasculară diseminată.

Pentru pacienții septici diagnosticați cu coagulare intravasculară diseminată folosind scorul JAAM DIC, parametrul t-AUCi și valoarea scorului SOFA sunt corelate cu un prognostic nefavorabil. Pacienții care au decedat în cursul internării în Terapie Intensivă au prezentat valori ale scorului SOFA și ale t-AUCi semnificativ mai mari comparative cu cei care au supraviețuit. Conform analizei ROC, parametrul t-AUCi are o valoare superioară comparativ cu scorul SOFA pentru predicția evoluției pacienților septici cu DIC. Folosind aceste rezultate, folosirea datelor din tromboelastometria efectuată la includerea în studiu a permis identificarea pacienților cu probabilitate crescută de evoluție nefavorabilă în două etape- identificarea pacienților cu probabilitate ridicată de DIC folosind MCE, AUC sau MCF și ulterior pentru aceștia diferențierea celor cu risc mare de deces pe parcursul internării în Terapie Intensivă folosind parametrul calculat t-AUCi.

Pornind de la premiza că indicii tromboelastometrici de liză a cheagului sunt o măsură non-parametrică care poate avea un număr limitat de valori, am căutat alți parametri pentru caracterizarea suplimentară a pacienților identici din punct de vedere al lizei cheagului. În studiul nostru am analizat pacienții care prezintă absența lizei cheagului la 45 și 60 minute pentru a găsi alți parametri care să permită diferențierea acestor pacienți. Având în vedere că absența lizei cheagului este în general asociată unui prognostic negativ, este extrem de importantă identificarea pacienților cu cel mai mare risc pentru o evoluție nefavorabilă. Rezultatele noastre au arătat că parametrul t-AUCi a fost singurul corelat cu evoluția

pacienților pe parcursul internării în Terapie Intensivă atât pentru grupul de pacienți cu absența lizei la 45 de minute, cât și pentru cei cu absența lizei la 60 de minute. În concluzie, acest parametru poate servi la diferențierea pacienților care prezintă absența lizei cheagului, fiind identici din punct de vedere al indicilor de liză tromboelastometrici. Analiza curbelor ROC pentru acest parametru a arătat ca valori mai mari decât 1928 secunde prezintă sensibilitate și specificitate 78% și 67% și respectiv 97% și 67 % pentru pacienții cu absența lizei cheagului la 45 și respectiv 60 de minute.

Concluzii și contribuții personale

Lucrarea de față este prima lucrare existentă în literatura de specialitate care a realizat o evaluare complexă a hemostazei în cazul pacienților cu sepsis și a celor care asociază sepsis și patologie malignă cu ajutorul testelor standard de coagulare, a parametrilor standard și a parametrilor derivați tromboelastometrici.

Elemente inovative aduse de lucrarea de față:

- Demonstrarea existenței unor corelații semnificative între testele standard de coagulare și parametrii derivați tromboelastometrici calculați pe baza primei derivate a curbei de formare a cheagului.
- Elaborarea unui nou parametru numit t-AUC_i care reprezintă durata porțiunii descendente a curbei velocității de formare a cheagului și este corelat cu parametrii tromboelastometrici standard utilizați pentru diagnosticul și cuantificarea fibrinolizei.
- Caracterizarea complexă a procesului dinamic al coagulării folosind velocitățile de formare a cheagului calculate pe baza amplitudinii și elasticității
- Utilitatea noului parametru calculat t-AUC_i pentru identificarea pacienților cu risc ridicat pentru evoluție nefavorabilă din lotul de pacienți septici dar și din anumite subgrupuri de pacienți septici cum sunt cei diagnosticați cu coagulare intravasculară diseminată sau cei care nu prezintă la evaluarea tromboelastometrică liza cheagului la 45 sau 60 minute.

Bibliografie

- [1] Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M. Sepsis, thrombosis and organ dysfunction. *Thrombosis research* 2012;129(3):290-5.
- [2] Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie* 2010;30(1):10-2, 4-6.
- [3] Allen KS, Sawheny E, Kinasewitz GT. Anticoagulant modulation of inflammation in severe sepsis. *World journal of critical care medicine* 2015;4(2):105-15.
- [4] Collins PW, Macchiavello LI, Lewis SJ, Macartney NJ, Saayman AG, Luddington R, et al. Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *British journal of haematology* 2006;135(2):220-7.
- [5] Chowdary P, Saayman AG, Paulus U, Findlay GP, Collins PW. Efficacy of standard dose and 30 ml/kg fresh frozen plasma in correcting laboratory parameters of haemostasis in critically ill patients. *British journal of haematology* 2004;125(1):69-73.
- [6] Görlinger K, Dirkmann D, Hanke AA. Rotational Thromboelastometry (ROTEM®). In: Gonzalez E, Moore HB, Moore EE, editors. *Trauma Induced Coagulopathy*. Cham: Springer International Publishing; 2016, p. 267-98.
- [7] Fiusa MM, Carvalho-Filho MA, Annichino-Bizzacchi JM, De Paula EV. Causes and consequences of coagulation activation in sepsis: an evolutionary medicine perspective. *BMC medicine* 2015;13:105.
- [8] Scarlatescu E, Tomescu D, Arama SS. Review. Anticoagulant Therapy in Sepsis. The Importance of Timing. *The Journal of Critical Care Medicine* 2017;3(2).
- [9] Faraoni D, Fenger-Eriksen C, Gillard S, Willems A, Levy JH, Van der Linden P. Evaluation of dynamic parameters of thrombus formation measured on whole blood using rotational thromboelastometry in children undergoing cardiac surgery: a descriptive study. *Paediatric anaesthesia* 2015;25(6):573-9.
- [10] Faraoni D, Van der Linden P, Ducloy-Bouthors AS, Goobie SM, DiNardo JA, Nielsen VG. Quantification of Fibrinolysis Using Velocity Curves Measured with Thromboelastometry in Children with Congenital Heart Disease. *Anesthesia and analgesia* 2015;121(2):486-91.
- [11] Andersen MG, Hvas CL, Tonnesen E, Hvas AM. Thromboelastometry as a supplementary tool for evaluation of hemostasis in severe sepsis and septic shock. *Acta anaesthesiologica Scandinavica* 2014;58(5):525-33.
- [12] Adamzik M, Eggmann M, Frey UH, Gorlinger K, Brocker-Preuss M, Marggraf G, et al. Comparison of thromboelastometry with procalcitonin, interleukin 6, and C-reactive protein as diagnostic tests for severe sepsis in critically ill adults. *Critical care* 2010;14(5):R178.

LISTA CU LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

1. **Scărlătescu E**, Lancé MD, White NJ, Aramă SS, Tomescu DR. Effects of malignancy on blood coagulation in septic intensive care patients Blood Coagul Fibrinolysis ISSN:0957-5235(ISI) 2018, Jan; 29(1): 92-96, DOI:10.1097/MBC.0000000000000680.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29095763>

2. **E. Scarlatescu**, D. Tomescu, S. Arama “Anticoagulant Therapy in Sepsis. The Importance of Timing” The Journal of Critical Care Medicine ISSN 2393-1817 (BDI) 2017;3(2)DOI:10.1515/jccm-2017-0011

<https://www.degruyter.com/view/j/jccm.2017.3.issue-2/jccm-2017-0011/jccm-2017-0011.xml>

3. **E.Scarlatescu**, D. Tomescu, S. Arama “Sepsis-associated coagulopathy” The Journal of Critical Care Medicine ISSN 2393-1817 (BDI) 2(2):156-163, 2016, DOI: 10.1515/jccm-2016-0024 <https://www.degruyter.com/view/j/jccm.2016.2.issue-4/jccm-2016-0024/jccm-2016-0024.xml>

LUCRĂRI PREZENTATE LA MANIFESTĂRI ȘTIINȚIFICE

1. **E. Scarlatescu**, D Tomescu, G Droc, S Arama “Coagulopathy assessment in sepsis and septic shock patients. An observational pilot study” lucrare prezentată la 62nd SSC Meeting of the ISTH, Mai 2016, Montpellier, Franța, rezumat publicat în Journal of Thrombosis and Haemostasis ISSN: 1538-7836 (ISI) 2016, 14(Suppl 1):37

2. **E Scarlatescu**, D Tomescu, G Droc, S Arama “Assessment of coagulopathy in cancer patients with severe sepsis or septic shock. a case-control pilot study” lucrare prezentată la 36th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine, Martie 2016, Bruxelles, Belgia, rezumat publicat în Critical Care ISSN: 1364-8535 (ISI) 2016, 20(Suppl 2): P053 DOI 10.1186/s13054-016-1208-6

UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY

„CAROL DAVILA” BUCHAREST

DOCTORAL SCHOOL

MEDICINE

*The complex assessment of coagulation disturbances
in early sepsis and their prognostic significance*

ABSTRACT OF THE DOCTORAL THESIS

Ph. D. Coordinator:

PROF. UNIV. DR. ARAMĂ ȘTEFAN SORIN

Ph. D. Student:

SCĂRLĂTESCU ECATERINA

2018

CONTENTS

Abbreviations used	3
Introduction.....	5
I. Current state of knowledge.....	10
1. General aspects of hemostasis physiology	10
1.1. Primary hemostasis.....	11
1.2. Secondary hemostasis.....	12
1.3. Fibrinolysis	16
1.4. The main anticoagulant mechanisms.....	17
2. Hemostasis testing.....	18
2.1 Standard coagulation tests.....	18
2.2 Viscoelastic tests.....	24
2.3 Thrombin generation tests.....	31
2.4 Platelet function tests.....	33
3. Hemostatic disturbances in sepsis.....	35
3.1. Coagulation activation.....	35
3.2. Dysfunction of anticoagulant mechanisms.....	38
3.3. Fibrinolytic impairment.....	39
3.4. Hemostasis assessment in septic patients.....	40
3.5. Terapii care vizează modificările hemostatice din sepsis.....	44
II. Personal contribution.....	48
4. Working hypothesis/objectives.....	48
5. General Methodology	50
6. Results.....	59
7. Discussions.....	130
8. Conclusions and innovative contributions of the thesis.....	149
References.....	154
Annexes.....	171

I. Current state of knowledge

Coagulation disturbances are frequent in septic patients, ranging from mild abnormalities of standard coagulation tests to the whole-spectrum of disseminated intravascular coagulation (DIC), contributing to the pathogenesis of organ dysfunctions in sepsis [1]. The relationship between inflammation and coagulation is bidirectional, as the inflammation contributes to the coagulation activation and the coagulation, once activated, modulates and enhances the inflammatory response[2, 3]. When the control mechanisms are overwhelmed, this vicious circle of inflammation and coagulation will lead to the uncontrolled activation of coagulation and decreased fibrinolysis, having as a result endothelial dysfunction, microvascular thrombosis and end-organ dysfunction[3].

In septic patients, the plasmatic levels of pro and anticoagulant factors are both decreased, though the levels are not so decreased to compromise hemostasis[4]. However, the global decrease of procoagulant factors leads to the prolongation of standard coagulation tests that only reflect the deficit of procoagulants and are not sensitive to the simultaneous decrease of anticoagulant factors. The standard coagulation tests (INR, PT, aPTT) are usually prolonged in critically-ill patients, suggesting hypocoagulability. Standard coagulation tests use plasma, thus they don't take into account the cellular component contribution to hemostasis and they cannot measure fibrinolytic activation. Standard coagulation tests measurement begins when activators are added to the plasma sample and end with the formation of soluble fibrin when only around 5% of the total amount of thrombin is generated. For all those reasons, the standard coagulation tests are not useful to reflect the complex hemostatic disturbances of septic patients, nor the bleeding or thrombotic risks in this patient population and the administration of plasma or factor concentrates with the purpose of correcting prolonged standard coagulation tests in septic patients before invasive procedures is not recommended and can be harmful[5]. Viscoelastic tests (rotational thromboelastometry, thromboelastography) are whole- blood global hemostatic assays, reflecting both the cellular and the plasmatic components of hemostasis. The use of different activators or additives to the samples allows the specific investigation of different parts of the hemostatic system[6]. Viscoelastic tests are also useful for the diagnosis of hyperfibrinolysis in clinical practice. The use of viscoelastic tests in septic patients allows a global evaluation of the hemostatic system closer to the in vivo situation, advantages already described in previously published research [4].

Organ dysfunctions in sepsis result from the interaction between inflammation and coagulation resulting in uncontrolled and disseminated coagulation activation accompanied by the inhibition of the anticoagulant and fibrinolytic mechanisms[1]. Anticoagulant therapies might represent a valuable option in selected septic patients. However, the correct choice of the drug and the identification of the therapeutic window which is the moment when the coagulation activation becomes a detrimental process are crucial [7, 8]. As a consequence, research on the hemostatic disturbances of septic patients is a very actual topic with important practical implications for the clinicians.

II. Personal contribution

Working hypothesis/ objectives

The purpose of this research was to describe the hemostatic profile of patients with sepsis and the effect of malignancy on the coagulation disturbances in sepsis. The objectives of the study were to compare the coagulopathy between septic patients and septic patients with solid malignancy and to summarize the findings obtained from different methods for the investigation of hemostasis in the early stages of sepsis. Another aim of the study was to assess the fibrinolytic activity of septic patients using the standard thromboelastometric parameters and the velocity curves of clot formation. In this study, the usefulness of different hemostatic parameters for the DIC diagnosis and for the outcome prediction at ICU discharge in the entire group of septic patients and in different subgroups of similar patients was also assessed.

General methodology

The patients included in the study formed three groups: the first group included septic patients with solid malignant tumors in the pelvis or abdomen, the second group included septic patients without cancer diagnosis and the third group included non-infected cancer patients. Patients under 18 years, pregnant women, patients with hematologic, renal or liver diseases were excluded from the study. The exclusion criteria also included the administration of anticoagulant or antiplatelet treatment or any procoagulant therapy in the last 7 days before study inclusion. Demographic data, the results of microbiologic tests and inflammatory markers, severity scores and DIC scores were recorded in the study. Hemostasis assessment included the results of the complete blood count, standard coagulation tests, the plasmatic concentration of procoagulant, anticoagulant factors and D-dimers and rotational thromboelastometry. The blood samples were drawn in the first 24 to

36 hours from the diagnosis of septic shock or sepsis with organ dysfunctions in order to study the early hemostatic disturbances of sepsis patients. Rotational thromboelastometry included 4 tests: EXTEM (for the study of the extrinsic pathway, activated with tissue factor), INTEM (for the study of the intrinsic pathway, activated by elagic acid), FIBTEM (for the study of fibrinogen/ fibrin polimerisation capacity), APTEM (for the assessment of fibrinolysis, activated by tissue factor, with an antifibrinolytic agent added in the sample). A new parameter (t-AUCi) reflecting the duration of the descending part of the velocity curve of clot formation was calculated by the formula: $t\text{-AUCi} = CT + (t\text{-MCF}) - (t\text{-MaxVel})$. For a dynamic assessment of the clot formation in septic patients, the velocity of clot formation using amplitude or elasticity was calculated in different time points of the measurement, as described in previously published studies[9, 10].

Results and discussions

Characteristics of patients included in the study

In the first group were included 57 patients diagnosed with sepsis with organ dysfunctions or septic shock in the first 30 days after surgery for solid cancer in the abdomen or pelvis. This patient group included more males than females and the majority of patients had colo-rectal cancer. SOFA score had a mean value of 10.18 points, close to the value of 11 points considered to be associated with increased mortality. Patients included in study group 1 had anemia, thrombocytopenia and prolonged INR, PT and aPTT. Plasmatic levels of coagulation factors and inhibitors were decreased, similar to other published research [4]. Rotational thromboelastometry revealed a prolonged clotting time in 25% of the patients included in the first group, while standard coagulation tests were prolonged in 85% of the cases. The second group included 40 patients diagnosed with sepsis with organ dysfunctions; similar to the first group, this group included also more males than females with a mean age higher than patients in the first group. SOFA score had a mean value of 10.57 points in this group, a value correlated with increased mortality. Similar to group 1, patients in group 2 also had hemostatic disturbances frequently found in critically ill patients- anemia, thrombocytopenia, prolonged standard coagulation tests and decreased plasmatic levels of coagulation factors and inhibitors. Rotational thromboelastometry revealed prolonged initiation of coagulation in 37.5% of the cases included in group 2. Study group 3 included 43 non-infected patients diagnosed with solid malign tumors in the abdomen or pelvis scheduled for elective surgery. This study group served as control for the assessment of

hemostatic disturbances found in septic patients with cancer. The majority of patients included in group 3 had anemia, normal platelet count and normal results of standard coagulation tests and rotational thromboelastometry.

Comparison of standard coagulation tests and corresponding thromboelastometry parameters

The results of standard coagulation tests and thromboelastometry parameters were compared for all the patients included in the study (n=140). The results revealed significant correlations between plasmatic fibrinogen assessed by Clauss assay and clot firmness in FIBTEM and between clot amplitude in EXTEM, INTEM with both platelet number and plasmatic fibrinogen. The results of PT/INR were correlated with CT in EXTEM and aPTT correlated with CT in INTEM, however prolonged standard coagulation tests were found in a larger number of patients than abnormal clotting times revealed by thromboelastometry. The comparison of standard coagulation tests and derived parameters from clot velocity curve in EXTEM revealed that the maximum velocity and AUC (reflecting total thrombus generation) correlated with plasmatic fibrinogen and with platelet number. Time to maximum clot velocity (t-MaxVel) was statistically significant correlated with prothrombin time and INR, but not with the plasmatic fibrinogen concentration or the platelet number.

Study of the calculated parameter t-AUCi

The newly calculated parameter t-AUCi equals the length of the descending part of the velocity curve of clot formation and it is a continuous numerical parameter as opposite to the clot lysis indices which are non-parametric variables with a limited range of values. The calculated parameter is correlated with the clot lysis indices, however the correlation with D-dimers is not statistically significant. The parameter t-AUCi values are increased in patients with decreased clot lysis revealed by thromboelastometric lysis indices. Patients without clot lysis at 30, 45 and 60 minutes have significantly higher t-AUCi values compared to patients with lysis.

The comparison of hemostasis between patients with sepsis and malignancy and non-infected cancer patients

Cancer patients with sepsis (group 1) had thrombocytopenia, prolonged standard coagulation tests and lower plasmatic levels of coagulation factors and inhibitors compared to non-infected patients with cancer (group 3). These results are similar to previously

published research in sepsis patients [11]. Standard and derived thromboelastometric parameters revealed a delayed initiation of coagulation in septic patients, however the latter phases- the propagation and stabilisation of the clot- are not significantly different between groups. The lysis at 45 and 60 minutes is reduced in group 1 patients compared to group 3. Lower fibrinolysis in sepsis was demonstrated in other studies[12]. The newly calculated parameter t-AUCi was statistically significant prolonged in sepsis patients with cancer (group 1) compared to no-infected cancer patient (group 3), in agreement with the decreased lysis demonstrated in sepsis. The velocities calculated using amplitude and elasticity reveal significant differences between the groups after 30 minutes of reaction, with patients in group 1 having increased velocities of clot formation compared to group 3 patients. However, the calculated velocities are not sensitive to detect the prolongation of the time necessary to reach the maximum velocity of clot formation, due to the methodology for assessing the velocities which are determined only for fixed time points. By using the velocities calculated based on amplitude or elasticity, the time to maximum velocity of clot formation cannot be determined, however, it is provided by the machine's software. The decrease of velocities after 30 minutes of reaction in group 3 patients might reveal the fibrinolytic process limiting the process of clot growth. The negative velocities found earlier in group 3 patients compared to group 1 patients also mean a decrease in clot amplitude probably due to clot lysis. This is confirmed by the lack of differences in the velocities curves between the groups in the APTTEM assay, where fibrinolysis is inhibited. Interestingly, using the calculated velocities, lower fibrinolysis in septic patients is revealed after 30 minutes of reaction, while using standard clot lysis parameters it is revealed only after 45 minutes from the start of the test.

The comparison of hemostasis between patients with sepsis and patients with sepsis and malignancy

Standard coagulation tests are prolonged in both groups of patients. Our results reveal increased values for PT and aPTT and lower fibrinogen levels in patients from group 1 compared to patients from group 2, however only the aPTT value is statistically significant prolonged. Plasmatic levels of coagulation factors, inhibitors and D-dimers and standard and derived rotational thromoelastometry parameters are similar between groups.

The comparison of velocities calculated using amplitude and elasticity

The comparison of the velocities calculated using amplitude and elasticity in patients included in group 1 and 3 reveal that maximal velocity was attained earlier for the amplitude curves compared to the elasticity curves. This finding could be explained by the non-linear relation between amplitude and elasticity and the possibility that elasticity grows faster after the amplitude reaches a certain value. For the patients in group 2 the maximal value is attained simultaneously for velocities calculated using amplitude and elasticity, explained by the increased hemostatic potential of patients in this group, reaching earlier increased amplitude values correlated with increased clot elasticity. The kinetics of clot formation, the lysis and platelet mediated clot retraction were studied using the velocities of clot formation calculated using amplitude and elasticity in EXTEM, APTEM and FIBTEM. In septic patients (groups 1 and 2), the velocity curve is similar in EXTEM and APTEM due to the decreased fibrinolytic activity. The negative values for velocities is attained simultaneously in EXTEM and APTEM and is explained by platelet mediated clot retraction. Patients included in group 3 had a different kinetics of clot formation in EXTEM and APTEM. In this group, the velocities calculated in EXTEM and FIBTEM are decreased compared to those calculated in APTEM after 45 minutes of reaction for amplitude and earlier for elasticity. This result is explained by clot fibrinolysis which is inhibited in APTEM due to antifibrinolytic additives.

The usefulness of thromboelastometric parameters for the severity assessment of the disease and for the outcome prediction in patients with sepsis

The usefulness of hemostatic parameters for the prediction of outcome at ICU discharge was analysed. SOFA score and JAAM DIC score were significantly correlated with patients' outcome. From the standard coagulation tests, only the aPTT was significantly prolonged in non-survivors compared to survivors. Non-survivors also demonstrated a decreased clot amplitude in EXTEM and INTEM and prolonged clotting time and clot formation time in INTEM. The derived parameters calculated by the machine's software were similar between survivors and non-survivors. Clot lysis indices reveal decreased lysis in non-survivors, but the results were statistically significant only for the maximum lysis, which was decreased in non-survivors. The calculated parameter t-AUCi had a statistically significant correlation with the patients' outcome, non-survivors having increased t-AUCi values compared to survivors. Interestingly, the parameter t-AUCi had the best prediction

capacity compared to other thromboelastometry parameters revealed by the use of ROC curves.

Parameters derived from the first derivative of the clot velocity curve are significantly different in patients with DIC, which have a lower value for the maximum velocity of clot formation and a longer time necessary to reach that maximum velocity compared to patients without DIC. The area under the clot formation velocity curve (AUC) which is a global parameter of clot formation and stabilization (total thrombus formation) is reduced in DIC patients. According to the ROC analysis, the best parameters for the prediction of DIC in septic patients are maximum clot elasticity, AUC and maximum clot firmness in EXTEM or INTEM. Our results reveal that clot firmness under 63 mm, AUC less than 6173 or clot elasticity lower than 158 identify DIC patients with sensitivity and specificity higher than 70%. Using the thromboelastometry parameters obtained at study inclusion allows the rapid identification of patients with high probability of developing DIC. For septic patients diagnosed with DIC according to the JAAM DIC score, the parameter t-AUCi and SOFA score correlate with mortality at ICU discharge. Non-survivors had increased t-AUCi value and SOFA score compared to survivors. According to ROC analysis, t-AUCi is better than SOFA score for outcome prediction in septic DIC patients. The use of the data from rotational thromboelastometry at study inclusion allowed the early identification of high-risk patients using a two-steps approach: the identification of patients with DIC using AUC, MCE or MCF and for this subgroup of DIC patients the identification of high-risk patients using the parameter t-AUCi.

As the clot lysis indices have a limited range of values, we studied other variables useful for a better characterization of patients with similar clot lysis indices. As lower clot fibrinolysis is associated with worse prognosis, the identification of parameters useful for outcome prediction is extremely important. Our results revealed that t-AUCi was the only parameter correlated with the patients' outcome at ICU discharge in the subgroups of patients without clot lysis at 45 and 60 minutes. This parameter proved useful to differentiate patients without clot lysis with similar results of the rotational thromboelastometry at study inclusion. ROC analysis revealed that t-AUC value higher than 1928 had sensitivity and specificity of 78% and 67% and respectively of 97% and 67% in patients without clot lysis at 45 and respectively 60 minutes.

Conclusions and innovative contributions of the thesis

The present study is the first to describe a complex assessment of hemostasis in patients with sepsis and in patients with sepsis and solid malign tumors using standard coagulation tests, standard and derived rotational thromboelastometry parameters.

Innovative contributions in the study:

- We demonstrated relevant correlations between the standard coagulation tests and calculated parameters from the first derivative of the clot formation curve on rotation thromboelastometry.
- We constructed a new parameter t-AUC_i equal to the descending part of the clot velocity curve which correlates with standard clot lysis parameters evaluated by rotation thromboelastometry.
- The complex assessment of clot kinetics using the clot velocities calculated using amplitude and elasticity from thromboelastometry.
- The usefulness of the new parameter t-AUC_i for outcome prediction in septic patients and in special patient subpopulations as the group of patients with DIC or the patients without clot lysis at 45 or 60 minutes on thromboelastometry.

References

- [1] Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M. Sepsis, thrombosis and organ dysfunction. *Thrombosis research* 2012;129(3):290-5.
- [2] Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie* 2010;30(1):10-2, 4-6.
- [3] Allen KS, Sawheny E, Kinasewitz GT. Anticoagulant modulation of inflammation in severe sepsis. *World journal of critical care medicine* 2015;4(2):105-15.
- [4] Collins PW, Macchiavello LI, Lewis SJ, Macartney NJ, Saayman AG, Luddington R, et al. Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *British journal of haematology* 2006;135(2):220-7.
- [5] Chowdary P, Saayman AG, Paulus U, Findlay GP, Collins PW. Efficacy of standard dose and 30 ml/kg fresh frozen plasma in correcting laboratory parameters of haemostasis in critically ill patients. *British journal of haematology* 2004;125(1):69-73.
- [6] Görlinger K, Dirkmann D, Hanke AA. Rotational Thromboelastometry (ROTEM®). In: Gonzalez E, Moore HB, Moore EE, editors. *Trauma Induced Coagulopathy*. Cham: Springer International Publishing; 2016, p. 267-98.
- [7] Fiusa MM, Carvalho-Filho MA, Annichino-Bizzacchi JM, De Paula EV. Causes and consequences of coagulation activation in sepsis: an evolutionary medicine perspective. *BMC medicine* 2015;13:105.
- [8] Scarlatescu E, Tomescu D, Arama SS. Review. Anticoagulant Therapy in Sepsis. The Importance of Timing. *The Journal of Critical Care Medicine* 2017;3(2).
- [9] Faraoni D, Fenger-Eriksen C, Gillard S, Willems A, Levy JH, Van der Linden P. Evaluation of dynamic parameters of thrombus formation measured on whole blood using rotational thromboelastometry in children undergoing cardiac surgery: a descriptive study. *Paediatric anaesthesia* 2015;25(6):573-9.
- [10] Faraoni D, Van der Linden P, Ducloy-Bouthors AS, Goobie SM, DiNardo JA, Nielsen VG. Quantification of Fibrinolysis Using Velocity Curves Measured with Thromboelastometry in Children with Congenital Heart Disease. *Anesthesia and analgesia* 2015;121(2):486-91.
- [11] Andersen MG, Hvas CL, Tonnesen E, Hvas AM. Thromboelastometry as a supplementary tool for evaluation of hemostasis in severe sepsis and septic shock. *Acta anaesthesiologica Scandinavica* 2014;58(5):525-33.
- [12] Adamzik M, Eggmann M, Frey UH, Gorlinger K, Brocker-Preuss M, Marggraf G, et al. Comparison of thromboelastometry with procalcitonin, interleukin 6, and C-reactive protein as diagnostic tests for severe sepsis in critically ill adults. *Critical care* 2010;14(5):R178.

PUBLICATIONS

1. **Scărlătescu E**, Lancé MD, White NJ, Aramă SS, Tomescu DR. Effects of malignancy on blood coagulation in septic intensive care patients Blood Coagul Fibrinolysis ISSN: 0957-5235 (ISI)2018, Jan; 29(1): 92-96, DOI:10.1097/MBC.0000000000000680. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29095763>

2. **E. Scarlatescu**, D. Tomescu, S. Arama “Anticoagulant Therapy in Sepsis. The Importance of Timing” The Journal of Critical Care Medicine ISSN 2393-1817 (BDI) 2017;3(2)DOI:10.1515/jccm-2017-0011 <https://www.degruyter.com/view/j/jccm.2017.3.issue-2/jccm-2017-0011/jccm-2017-0011.xml>

3. **E.Scarlatescu**, D. Tomescu, S. Arama “Sepsis-associated coagulopathy” The Journal of Critical Care Medicine ISSN 2393-1817 (BDI) 2(2):156-163, 2016, DOI: 10.1515/jccm-2016-0024 <https://www.degruyter.com/view/j/jccm.2016.2.issue-4/jccm-2016-0024/jccm-2016-0024.xml>

RESEARCH PRESENTED AT INTERNATIONAL MEETINGS

1. **E. Scarlatescu**, D Tomescu, G Droc, S Arama “Coagulopathy assessment in sepsis and septic shock patients. An observational pilot study” presented at the 62nd SSC Meeting of the ISTH, May 2016, Montpellier, Franța, abstract published in Journal of Thrombosis and Haemostasis ISSN: 1538-7836(ISI) 2016, 14(Suppl 1):37

2. **E Scarlatescu**, D Tomescu, G Droc, S Arama “Assessment of coagulopathy in cancer patients with severe sepsis or septic shock. a case-control pilot study” presented at the 36th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine, March 2016, Bruxelles, Belgium, abstract published in Critical Care ISSN: 1364-8535 (ISI) 2016, 20(Suppl 2): P053 DOI 10.1186/s13054-016-1208-6