

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE MEDICHE VETERINARIE**

Ciclo XXXI

Settore Concorsuale: 07/H4

Settore Scientifico Disciplinare: VET 08

**VALUTAZIONE DELL'EMOSTASI MEDIANTE
TROMBOELASTOMETRIA (ROTEM®) DURANTE LA
RIANIMAZIONE FLUIDA CON AMIDO IDROSSIETILICO 130/0,4
(VOLUVEN®) O SOLUZIONE SALINA IPERTONICA 7,5% IN
CANI CON DILATAZIONE/TORSIONE GASTRICA**

Presentata da: Dott. Stefano Calipa

Coordinatore Dottorato

Chiar.mo Prof. Arcangelo Gentile

Supervisore

Dott. Francesco Dondi

Esame finale anno 2019

ABSTRACT

Stato dell'arte

Le soluzioni colloidali (ad esempio: HES, *hydroxyethyl starch* 130/0,4) o cristalloidali (ad esempio: HS, *hypertonic saline* 7,5%) vengono impiegate comunemente nella rianimazione fluida del paziente critico, sia in ambito umano che veterinario, nonostante tali fluidi non siano esenti da complicazioni. In letteratura umana e veterinaria vengono riportati diversi effetti avversi in seguito alla somministrazione di colloidali sintetici come: il danno renale, le reazioni allergiche e le alterazioni emostatiche (Cotton *et al*, 2006; Ekseth *et al*, 2002; Mortier *et al*, 2005). Quest'ultime rivestono un notevole interesse scientifico e gli studi effettuati in vitro (Falco *et al*, 2012; Morris *et al*, 2015) hanno dimostrato come i colloidali sintetici interferiscano con i fisiologici meccanismi dell'emostasi, in parte tramite un effetto aspecifico legato al grado di emodiluzione, ma in parte tramite un effetto colloidale indotto esercitato sulla funzionalità piastrinica, sulle proteine della coagulazione e sul processo della fibrinolisi (Sybille A. Kozek-Langencker, 2009). Anche l'utilizzo di cristalloidali ipertonici ha comportato un'alterazione dell'emostasi in vitro potenzialmente conseguente all'interferenza dell'iperosmolarità sulla funzionalità piastrinica oltre alla compromissione dell'attività dei fattori della coagulazione, della formazione della fibrina e della resistenza del coagulo (Wilder *et al*, 2002; Tan *et al*, 2002; Wurlod *et al*, 2015; Adamik *et al*, 2015). Inoltre, tale effetto sulla coagulazione è risultato essere correlato alla dose e all'osmolarità della soluzione (Wang *et al*, 2017). A tale proposito è necessario l'esecuzione di studi in vivo per verificare se queste alterazioni coagulative abbiano anche un riscontro clinico.

Scopo dello studio

Lo scopo di questo studio è quello di valutare l'impatto emostatico, mediante l'impiego della tromboelastometria (ROTEM®) e di test coagulativi di routine (tempo di protrombina, tempo di

tromboplastina parziale attivata, fibrinogeno), della somministrazione per via endovenosa di un bolo di HES (10 ml/Kg) confrontato con un bolo di HS (4 ml/Kg), durante la rianimazione fluida di cani affetti da sindrome dilatazione/torsione gastrica (GDV, *Gastric Dilatation Volvulus*).

Materiali e metodi

I soggetti inclusi sono stati suddivisi, in modo randomizzato, al fine di ricevere un bolo di HES a 10 ml/Kg o un bolo di HS a 4 ml/Kg per 15 minuti. I campioni ematici sono stati raccolti all'ammissione (T0) e alla fine del bolo (T1) al fine di valutare l'impatto delle due soluzioni sull'emostasi e sulla rianimazione fluida.

Risultati

Lo studio ha incluso 13 cani nel gruppo HES e 10 cani nel gruppo HS. Le due popolazioni di studio all'ammissione non hanno presentato differenze statisticamente significative per quanto riguarda i parametri clinici e clinico-patologici.

Per quanto riguarda la valutazione emostatica, all'ammissione tutti i cani hanno presentato tracciati ROTEM classificabili come normali, tranne 1/13 cani che è risultato ipercoagulabile e 2/13 cani che sono risultati ipocoagulabili.

Nel gruppo rianimato mediante HES le differenze statisticamente significative tra T0 e T1 sono state: aumento di CFT (P=0,046) con riduzione di MCF (P=0,002) nel profilo ex-TEM, diminuzione di MCF (P=0,012) nel profilo fib-TEM e riduzione del fibrinogeno (P<0,001).

Nel gruppo rianimato mediante HS le differenze statisticamente significative tra T0 e T1 sono state: aumento di CT (P=0,049) e CFT (P=0,02) con riduzione di MCF (P=0,032) e angolo α (P=0,037) nel profilo ex-TEM, riduzione dell'angolo α (P=0,036) nel profilo in-TEM, riduzione di MCF (P=0,017)

nel profilo fib-TEM, riduzione di MCE piastrinico ($P=0,021$), riduzione del fibrinogeno ($P=0,028$) e aumento del PT ($P=0,004$).

Nonostante tali risultati siano indicativi di una tendenza all'ipocoagulabilità, i valori medi delle variabili ROTEM sono risultate all'interno degli intervalli di riferimento in entrambi i gruppi e tali alterazioni non sono risultate associate a sanguinamenti clinicamente rilevanti nella nostra popolazione di studio.

Conclusioni

L'utilizzo della tromboelastometria ha permesso di evidenziare la precocità di questa tecnica nel rilevare alterazioni emostatiche rispetto ai test coagulativi di routine. L'importanza clinica delle alterazioni emostatiche evidenziate in seguito alla somministrazione di HES e HS, indipendentemente dal meccanismo che le ha indotte, rimane discutibile in quanto i valori medi ottenuti risultano comunque all'interno dell'intervallo di riferimento e non sono stati evidenziati sanguinamenti clinicamente rilevanti. Per questo motivo, sono necessari ulteriori studi per confermare la sicurezza della somministrazione di HES o HS a dosi incrementali e per periodi di tempo più prolungati durante la rianimazione fluida di pazienti critici.

INDICE

Introduzione	1
---------------------	----------

PARTE COMPILATIVA

CAPITOLO I

Fluidoterapia e rianimazione fluida	5
1.1 Distribuzione dei fluidi corporei	5
1.2 Finalità terapeutiche della fluidoterapia	7
1.3 Vie di somministrazione delle soluzioni fluide e loro complicazioni	8
1.4 Soluzioni cristalloidali	11
1.4.1 Cristalloidi isotonici	12
1.4.2 Cristalloidi ipotonici	12
1.4.3 Cristalloidi ipertonici	13
1.4.4 Complicazioni delle soluzioni cristalloidali	15
1.5 Soluzioni colloidali	17
1.5.1 Colloidi sintetici	18
1.5.1.1 Amidi idrossietilici	19
1.5.1.2 Destrani	21
1.5.1.3 Gelatine	22
1.5.2 Colloidi naturali	22
1.5.3 Effetti collaterali colloidali sintetici	24
1.6 Impiego delle soluzioni colloidali e cristalloidali nella rianimazione fluida	28

CAPITOLO II

Emostasi	31
2.1 Emostasi primaria	32
2.2 Emostasi secondaria	33
2.2.1 Modello della cascata coagulativa	33
2.2.2 Modello cellulare della coagulazione	35
2.3 Fibrinolisi	37
2.4 Valutazione dell'emostasi primaria	38
2.5 Valutazione dell'emostasi secondaria	42
2.6 Valutazione della fibrinolisi	46
2.7 Test viscoelastici: tromboelastometria e tromboelastografia	49
2.7.1 Applicazione test viscoelastici in medicina umana	54
2.7.2 Applicazione test viscoelastici in medicina veterinaria	55
2.7.3 Vantaggi dei test viscoelastici	57
2.7.4 Limiti dei test viscoelastici	57
2.8 Alterazioni emostatiche associate all'utilizzo di soluzioni cristalloidali e colloidali sintetiche	58
2.8.1 Studi condotti in medicina umana	58
2.8.2 Studi condotti in medicina veterinaria	66

	CAPITOLO III	
Dilatazione/torsione gastrica		73
3.1 Introduzione		73
3.2 Patogenesi		74
3.3 Fisiopatologia		75
3.4 Segni clinici		80
3.5 Diagnosi		81
3.6 Trattamento		84
3.7 Prognosi		86
	PARTE SPERIMENTALE	
	CAPITOLO IV	
Obiettivi dello studio		91
	CAPITOLO V	
Materiali e metodi		93
5.1 Criteri di inclusione e selezione dei pazienti		93
5.2 Metodologia e tecnica dell'esperimento		93
5.3 Determinazioni, metodica di prelievo, processazione e analisi dei campioni		95
5.4 Analisi statistica		98
	CAPITOLO VI	
Risultati ottenuti		99
6.1 Popolazione selezionata e dati epidemiologici		99
6.2 Variabili cliniche e clinico-patologiche della popolazione randomizzata all'ammissione		103
6.3 Variabili cliniche e clinico-patologiche della popolazione randomizzata al termine della rianimazione fluida		108
6.4 Confronto dati clinici e clinico-patologici nelle due popolazioni di studio		112
6.5 Outcome della popolazione di studio		131
	CAPITOLO VII	
Discussioni		133
Conclusioni		139
Bibliografia		141

INTRODUZIONE

L'utilizzo dei cristalloidi e dei colloidi come fluidi d'elezione nella fluidoterapia rianimatoria del paziente umano e veterinario risulta ad oggi controverso. In particolare, gli studi condotti in medicina umana e in medicina veterinaria hanno messo in luce alcuni effetti avversi colloid-indotti, tra cui le alterazioni emostatiche e il danno renale (Cotton *et al*, 2006; Ekseth *et al*, 2002; Mortier *et al*, 2005). Gli studi presenti in letteratura sono stati effettuati con lo scopo di scindere gli effetti emostatici dati dall'emodiluizione, dagli effetti specifici propri di ogni fluido.

In questo lavoro, la sindrome dilatazione/torsione gastrica è stata utilizzata come modello sperimentale di studio per valutare l'impatto che una soluzione colloidale può avere sull'emostasi e sul ripristino della stabilità emodinamica, confrontata con una soluzione cristalloidale.

La sindrome dilatazione/torsione gastrica è una patologia frequente che colpisce i cani di taglia grande e gigante, caratterizzata da un'importante dilatazione dello stomaco e conseguente torsione che possono comportare una concomitanza di shock ipovolemico, distributivo ed endotossico. L'instabilità emodinamica dei pazienti richiede una fluidoterapia rianimatoria che può essere effettuata con l'utilizzo di soluzioni cristalloidali e colloidali (Broome e Walsh, 2003).

L'impatto emostatico dato dall'utilizzo di questi fluidi è stato indagato tramite l'utilizzo della tromboelastometria (ROTEM). La tromboelastometria permette la valutazione dell'intero processo coagulativo, dalla formazione del coagulo fino alla fase della fibrinolisi, includendo in tale valutazione sia il contributo della componente plasmatica che cellulare (Kol e Borjesson, 2010).

PARTE
COMPILATIVA

CAPITOLO I

Fluidoterapia e rianimazione fluida

1.1 Distribuzione dei fluidi corporei

L'acqua è l'elemento fondamentale per sostenere la vita assicurando tutte le funzioni metaboliche necessarie all'organismo. Gli squilibri idrici possono contribuire all'aumento della morbilità e mortalità per cui nel paziente critico devono essere rapidamente identificati e corretti. Un bilancio idrico negativo influisce sulla regolazione della temperatura corporea e sulla funzione neurologica, mentre gravi deficit possono comportare squilibri elettrolitici ed ipovolemia con conseguente inadeguata distribuzione di ossigeno a tessuti e organi, danno renale acuto e nei casi più gravi anche morte. Un bilancio idrico eccessivamente positivo può comportare alterazione della ventilazione e funzionalità polmonare, disfunzione gastroenterica e squilibri elettrolitici (Rudloff, 2015).

Al fine di assicurare un corretto apporto idrico nel paziente critico è fondamentale l'impiego della fluidoterapia per via endovenosa, la quale è al centro di continue ricerche e studi da diversi anni.

Sebbene quasi tutti i pazienti ricevano fluidi per via endovenosa durante la degenza in ospedale, il

dibattito sul tipo di soluzione e sulla quantità da somministrare rimane controversa. Inoltre, la maggior parte degli studi randomizzati controllati (RCT) pubblicati in letteratura sulla rianimazione fluida forniscono dati sui possibili effetti negativi di una soluzione e in quale contesto specifico deve essere evitata, ma i risultati spesso contraddittori e confusi di questi ampi

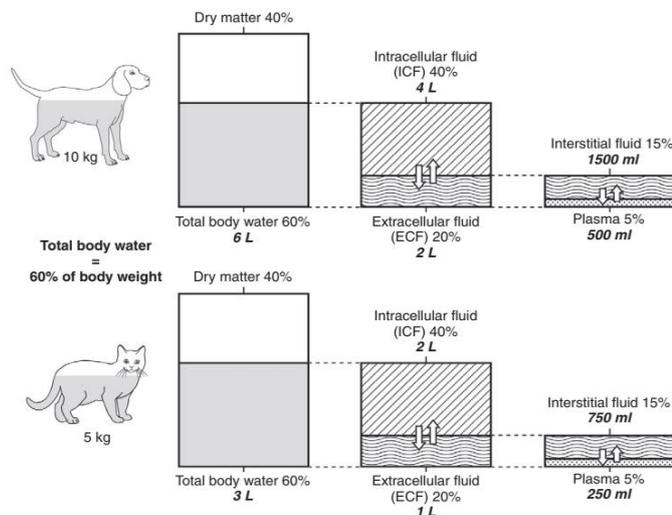


Figura 1-1 Acqua corporea totale (TBW, *total body water*), espressa come percentuale del peso corporeo, in un cane di 10 kg e in un gatto di 5 kg suddivisa nei diversi compartimenti (Wellman *et al*, 2006).

RCT riducono l'evidenza scientifica di tali dati nella pratica clinica quotidiana (Kampmeier *et al*, 2014).

Per comprendere a fondo i meccanismi di funzionamento delle diverse soluzioni impiegate in corso di rianimazione fluida è importante sapere che la maggior parte della componente liquida si trova nel compartimento intra-cellulare (ICF, *intracellular fluid*), il quale contiene approssimativamente il 66% del volume totale di

Extracellular fluid		Intracellular fluid
Na ⁺	145	12
K ⁺	4	140
Ca ²⁺	2.5	4
Mg ²⁺	1	34
Cl ⁻	110	4
HCO ₃ ⁻	24	12
HPO ₄ ²⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻	2	40
Protein ⁻	15 *	50

mEq/L
*0 in interstitial fluid, 15 in plasma

Figura 1-2 Valori medi delle concentrazioni di elettroliti nel liquido extracellulare e intracellulare (Wellman *et al*, 2006).

acqua (TBW, *total body water*) (0,4 L/Kg). Una membrana cellulare permeabile all'acqua, ma impermeabile alla maggior parte dei soluti, separa il comparto intracellulare da quello extracellulare, permettendo all'acqua di spostarsi liberamente da un comparto all'altro secondo gradiente osmotico. Quest'ultimo è regolato dalla concentrazione di sodio e potassio, dall'attività della pompa Na/K-ATPasi (la quale permette la fuoriuscita dalla cellula di tre ioni sodio in cambio di due ioni potassio che entrano). Il risultato di tale condizione comporta che a livello intracellulare si trovano soprattutto cationi di potassio, ma in misura minore anche di sodio e magnesio; mentre come anioni troviamo il fosfato e le cariche negative delle proteine intracellulari (Rudloff, 2015). Il compartimento extracellulare (ECF, *extracellular fluid*) comprende il rimanente 33% del TBW ed è a sua volta ripartito in due porzioni: intravascolare, che costituisce il 25% del volume extracellulare (8% del TBW), e interstiziale, rappresentante il 75% del volume extracellulare (25% del TBW) (Wellman *et al*, 2006). Nello spazio extracellulare troviamo come catione principale il sodio, mentre come anioni abbiamo cloro, bicarbonati e proteine plasmatiche cariche negativamente. L'endotelio dei vasi capillari separa il comparto interstiziale dal comparto vascolare per cui gli spostamenti dell'acqua avvengono seguendo la legge di Starling (Rudloff, 2015). Infine, esiste un altro compartimento, includibile in quello extracellulare, il compartimento transcellulare o terzo spazio che raccoglie i liquidi prodotti da cellule specializzate come il liquido cerebrospinale, la bile, il fluido sinoviale e le

secrezioni ghiandolari e respiratorie. Questo compartimento rappresenta l'1% del peso corporeo (circa il 2% del TBW) (Wellman *et al*, 2006).

1.2 Finalità terapeutiche della fluidoterapia

Prima di somministrare fluidi per via endovenosa, è fondamentale conoscere il deficit e il tipo di liquidi persi, la presenza di processi patologici sottostanti, lo stato di idratazione del paziente, la condizione del volume intravascolare, le alterazioni acido-base ed elettrolitiche, la capacità del paziente di trattenere i liquidi all'interno dello spazio intravascolare e determinare degli *endpoint* di rianimazione per il trattamento della disidratazione o dell'ipovolemia. Pertanto, gli obiettivi della fluidoterapia sono di ripristinare il deficit di fluido interstiziale, intracellulare e intravascolare, correggere gli squilibri acido-base ed elettrolitici, assicurare il normale TBW a fronte di una perdita eccessiva o di una mancata assunzione (Mazzaferro e Powell, 2013).

Le indicazioni per la somministrazione di fluidi per via parenterale includono (Mathews, 1998):

- espansione del volume intravascolare in condizioni in cui la riduzione di quest'ultimo provoca scarsa perfusione tissutale e ipossia (ad esempio: shock, ipovolemia e grave disidratazione);
- mantenimento della pressione oncotica in condizioni di ipoproteidemia e infiammazione (SIRS, sindrome da risposta infiammatoria sistemica), dove l'edema e la perdita di fluidi nel terzo spazio determinano anche scarsa perfusione tissutale e ipossia;
- reidratazione degli spazi interstiziale e intracellulare al fine di garantire il normale stato di idratazione, l'euvolemia e la normotensione;
- correzione di squilibri acido-base ed elettrolitici;
- utilizzo come supporto per farmaci;
- assicurare la pervietà dell'accesso endovenoso in potenziali situazioni di emergenza;
- trattamento di specifiche patologie mediche;

- supporto nutrizionale.

1.3 Vie di somministrazione delle soluzioni fluide e loro complicazioni

Le possibili vie parenterali di somministrazione della fluidoterapia comprendono: quella endovenosa, la sottocutanea ed infine quella intraossea.

La somministrazione di fluidi per via sottocutanea (ipodermoclisi) è una via comoda e poco costosa per la fluidoterapia di mantenimento nei pazienti che non necessitano di un accesso vascolare per altri scopi. Tale via di somministrazione deve essere impiegata in animali stabili dal punto di vista emodinamico in quanto la vasocostrizione periferica, in condizioni di shock, può limitare l'assorbimento dei liquidi per via sottocutanea. Il fluido somministrato deve essere il più possibile isotonico (da 200 a 400 mOsm) per limitare le possibili complicazioni. Anche se molti pazienti umani tollerano fluidi a basso contenuto di sodio, la composizione del fluido somministrato per via sottocutanea idealmente dovrebbe essere paragonabile a quella del liquido nel comparto extracellulare perché i fluidi senza elettroliti o ipertonici sono associati a tassi di complicazioni più alti (Arinzon *et al*, 2004). Nell'uomo, l'ipodermoclisi può essere integrata con potassio fino ad una concentrazione di 40 mEq/L e secondo alcuni autori (Sasson e Shvartzman, 2001) questa concentrazione è generalmente ben tollerata anche negli animali da compagnia. In quest'ultimi è meglio evitare la somministrazione per via sottocutanea di grandi volumi di fluidi a basso contenuto di sodio per impedire la comparsa di dolore, infiammazione o squilibri elettrolitici. Altre possibili complicazioni possono riguardare la comparsa di infezioni con conseguente cellulite sottocutanea e necrosi cutanea dovute a fluidi caustici, ipertonici o somministrati ad alta pressione in uno spazio sottocutaneo poco elastico. L'ipodermoclisi viene generalmente effettuata a livello di regione interscapolare, dove è abbondante il tessuto connettivo lasso. Il fluido da somministrare deve essere riscaldato fino a temperatura corporea per ridurre il fastidio al paziente e migliorare il flusso e l'assorbimento a livello locale. La

cute deve essere disinfettata mediante un batuffolo di cotone e alcool per assicurare la detersione dalla superficie e garantire un'adeguata tecnica asettica. Il fluido può essere somministrato mediante siringa e ago di 22 gauge di calibro nei piccoli animali o per via gravitazionale con l'utilizzo di deflussori e aghi da 18 a 20 gauge in animali di taglia grande (Hansen, 2006).

La somministrazione di fluidi per via intraossea consente l'accesso allo spazio vascolare periferico attraverso i capillari del sistema vascolare midollare. Tale via di somministrazione risulta essere un'eccellente alternativa a quella endovenosa nei neonati (nei quali l'accesso vascolare è tecnicamente difficile) o in animali in grave shock ipovolemico. La via intraossea è la più adatta per la somministrazione rapida in situazioni di emergenza di fluidi, emoderivati o farmaci (Hansen, 2006).

L'infusione di soluzioni fluide per via endovenosa è possibile solo mediante l'impiego di cateteri che possono essere utili anche come mezzo per la raccolta di campioni ematici, evitando così frequenti e scomode venipunzioni in animali in condizioni critiche. Nonostante i benefici del cateterismo endovenoso con la somministrazione di fluidi mediante tale via siano numerosi, esistono rischi intrinseci associati tale procedura, per cui occorre prestare attenzione per evitare potenziali complicazioni (Mazzaferro, 2008).

La prevenzione delle complicazioni indotte dalla procedura del cateterismo endovenoso inizia con un'attenta valutazione dell'animale e la selezione del sito adeguato. La contaminazione del punto di inserzione del catetere da parte di secreti ed escreti corporei dell'animale (urine, feci, ecc...), unitamente all'invasione da parte di microrganismi nosocomiali dell'ambiente ospedaliero, costituisce una potenziale fonte di infezione.

Negli animali affetti da coagulopatie (ad esempio: la coagulazione intravasale disseminata o l'intossicazione da rodenticidi), deve essere evitato l'impiego di cateteri venosi centrali di grosso calibro al fine di prevenire un'eccessiva emorragia nei siti di inserzione. Allo stesso modo, negli animali con condizioni ipercoagulabili (ad esempio: anemia emolitica immuno-mediata, iperadrenocorticismo, coagulazione intravasale disseminata, enteropatia proteino-disperdente,

nefropatia proteino-disperdente) il posizionamento di cateteri venosi centrali può favorire la formazione di trombi venosi.

Il catetere endovenoso deve essere inserito sempre mediante una scrupolosa tecnica asettica per ridurre il rischio di contaminazione batterica. Oltre all'animale stesso, una delle fonti più comuni di infezione indotta dalla procedura di cateterizzazione sono le mani e le attrezzature del personale ospedaliero. La pulizia delle mani dell'operatore effettuata in maniera corretta e accurata è di gran lunga una delle procedure più importanti da adottare per prevenire le infezioni correlate al cateterismo. In uno studio del 2007, l'incidenza della contaminazione batterica di cateteri endovenosi da parte di *Enterobacter spp.* è risultata significativamente ridotta in seguito all'adozione di corrette misure di asepsi da parte del personale dell'unità di terapia intensiva (Marsh-Ng *et al*, 2007). Dopo aver effettuato uno scrub accurato del sito di cateterizzazione con una soluzione di lavaggio antimicrobica, il personale ospedaliero deve indossare i guanti per ridurre il rischio di insorgenza di infezioni, in particolare negli animali immunodepressi. Nonostante vengano osservati in maniera scrupolosa i protocolli asettici, il sito di inserimento del catetere endovenoso deve essere valutato almeno una volta al giorno al fine di verificare l'insorgenza di problemi come: dolore in seguito ad iniezione, eritema, inspessimento delle pareti del vaso, presenza di calore o tendenza a non appoggiare l'arto di inserimento del catetere. Nel caso si osservi una di queste complicazioni o il paziente diventi ipertermico, il catetere deve essere rimosso e inviato per l'esame culturale batterico (Mazzafarro, 2008).

1.4 Soluzioni cristalloidali

Le soluzioni cristalloidali contengono elettroliti e altri soluti (con peso inferiore a 500 g/mole), sono in grado di entrare in tutti i compartimenti dell'organismo (attraversando liberamente l'endotelio vasale) ed esercitano i loro effetti principalmente sui comparti interstiziale e intracellulare. In relazione alla loro osmolarità e a quella plasmatica, sono classificati in isotonici, ipotonici ed ipertonici (DiBartola e Bateman, 2006).

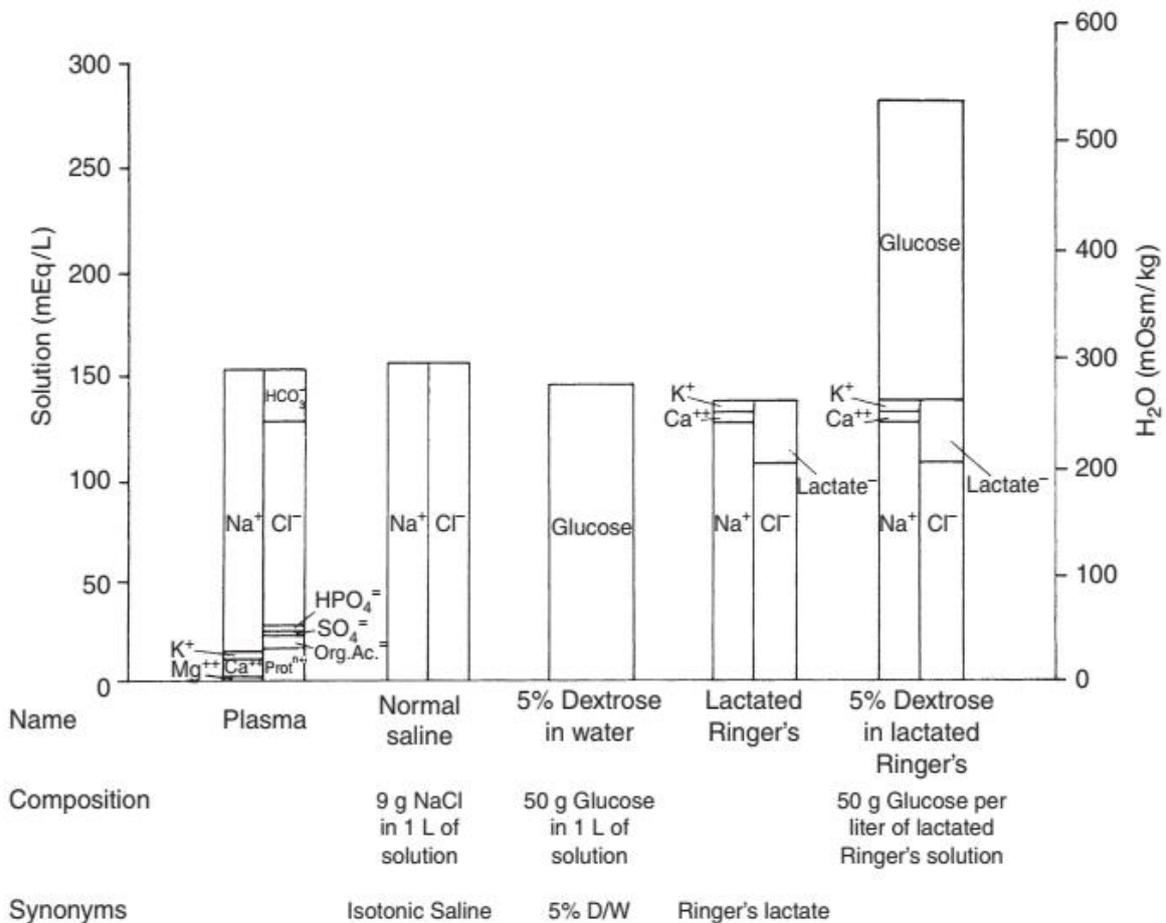


Figura 1-3 Confronto della composizione elettrolitica plasmatica con quella delle soluzioni cristalloidali comunemente utilizzate (DiBartola e Bateman, 2006).

1.4.1 Cristalloidi isotonici

In campo veterinario è disponibile un'ampia varietà di soluzioni cristalloidali. Idealmente, la scelta del tipo di soluzione da infondere deve essere basata sullo stato acido-base e la condizione elettrolitica del paziente. Le principali soluzioni cristalloidali isotoniche disponibili in commercio includono: sodio cloruro 0,9% (NaCl 0,9%), Ringer lattato e acetato, Plasma-Lyte A, Plasma-Lyte 148, Normosol-R. Tali composti vengono normalmente impiegati in condizioni di shock ipovolemico o di disidratazione, ovvero quando si vuole ottenere un'espansione dei compartimenti intravascolare ed interstiziale. Queste soluzioni possiedono un'osmolarità pari a 270-310 mOsm/L e una concentrazione di sodio simile a quella del plasma e dei fluidi extracellulari, di conseguenza non determinano uno spostamento significativo di fluidi tra il comparto intracellulare ed extracellulare. La presenza di sostanze tampone (come l'acetato, il gluconato e il lattato) nella composizione dei cristalloidi, garantisce l'effetto alcalinizzante di tali soluzioni grazie al metabolismo che comporta il consumo di ioni idrogeno e la formazione di bicarbonati. Il lattato viene metabolizzato a livello epatico, l'acetato a livello di muscolo scheletrico, mentre il gluconato nella maggior parte delle cellule dell'organismo. Le soluzioni cristalloidali perciò risultano i fluidi d'elezione in corso di una condizione metabolica di acidosi (Liu e Silverstein, 2015).

1.4.2 Cristalloidi ipotonici

Rispetto ai fluidi extracellulari e al plasma, l'osmolarità e la concentrazione di sodio dei fluidi ipotonici risulta notevolmente inferiore. L'acqua libera (tonicità 0 mOsm/L) è fortemente ipotonica rispetto al plasma (tonicità 300 mOsm/L) rendendola inutilizzabile da sola in quanto provoca una rapida e grave emolisi. L'aggiunta di destrosio al 5% (50 mg di destrosio/ml) rende la soluzione isoosmolare e porta la tonicità del fluido a un intervallo accettabile e sicuro. Il destrosio in questi fluidi viene rapidamente metabolizzato, ma non è sufficiente per soddisfare i fabbisogni metabolici

giornalieri di un animale. Le soluzioni ipotoniche si distribuiscono sia nel compartimento intracellulare che in quello extracellulare, vengono impiegate per ripristinare la quota di acqua libera e sono utili nel trattamento di animali con ipernatremia secondaria a perdita di fluidi ipotonici. L'elevato volume di distribuzione e il contenuto di acqua libera rendono le soluzioni ipotoniche la scelta più sicura per reidratare lentamente gli animali che possiedono una ridotta capacità di espellere il sodio in eccesso o di tollerare un elevato volume intravascolare (ad esempio, malattie renali e cardiache). Le soluzioni ipotoniche non dovrebbero mai essere utilizzate in bolo durante la rianimazione fluida per il ripristino del volume intravascolare perché sono inefficaci nell'espansione del volume intravascolare e possono causare edema cerebrale (Mazzaferro e Powell, 2013).

1.4.3 Cristalloidi ipertonici

Diversamente dalle soluzioni ipotoniche, l'elevata osmolarità e concentrazione di sodio delle soluzioni ipertoniche, come il cloruro di sodio al 7,5% (NaCl 7,5%), provoca uno spostamento di acqua libera dallo spazio intracellulare a quello extracellulare, espandendo il volume di quest'ultimo da 3 a 5 volte il volume somministrato. In seguito all'infusione di salina ipertonica, l'acqua si sposta dallo spazio interstiziale e intracellulare a quello intravascolare causando l'espansione di quest'ultimo a discapito dell'interstizio (Liu e Silverstein, 2015). L'infusione di soluzioni ipertoniche



Figura 1-4 Esempio di soluzione cristalloidale ipertonica (NaCl 7,5%).

deve essere presa in considerazione solo nei pazienti ipovolemici, ma adeguatamente idratati a livello interstiziale e intracellulare (deficit di fluido unicamente nel comparto intravascolare). L'effetto è di breve durata (circa 20-30 minuti) a meno che la soluzione salina ipertonica venga infusa assieme ad un colloide che trattiene il fluido all'interno dello spazio intravascolare. La soluzione ipertonica, oltre all'aumento del volume vascolare, presenta numerosi effetti benefici sul sistema cardiovascolare: migliora in modo transitorio

la gittata cardiaca e la perfusione tissutale mediante vasodilatazione arteriolare (diminuzione del postcarico), riduce il carico volumetrico (aumento del precarico) e l'edema endoteliale e infine possiede un debole effetto inotropo positivo (Bulger e Hoyt, 2012). L'iperosmolarità acuta può portare ad un'ipotensione derivante dall'inibizione a livello intracranico del centro vasomotorio o dagli effetti vasomotori periferici (bradicardia e vasodilatazione); perciò è importante non superare la velocità di infusione di 1 ml/kg/min. La soluzione ipertonica migliora la pressione di perfusione cerebrale nei pazienti con trauma cranico aumentando la pressione arteriosa media e diminuendo la pressione intracranica. Tale effetto si osserva anche nella somministrazione di un bolo di mannitolo con uguale osmolarità. La comparsa di ipernatremia è un potenziale effetto collaterale che limita l'impiego di dosi ripetute di soluzione salina ipertonica in modo sicuro. La somministrazione di 4 ml/kg di soluzione salina al 7,5% espande il volume intravascolare di 12-16 ml/kg, ma l'effetto ottenuto è transitorio a causa della redistribuzione fluida nello spazio interstiziale e della diuresi osmotica conseguente. Perciò, per stabilizzare un paziente affetto da shock ipovolemico o distributivo, sono necessari ulteriori volumi di cristalloidi, colloidi o emoderivati isotonici. La somministrazione ripetuta di soluzioni iperosmotiche può portare a emolisi e flebite (Mazzaferro e Powell, 2013).

1.4.4 Complicazioni delle soluzioni cristalloidali

L'impiego delle soluzioni cristalloidali può portare alla comparsa di complicazioni, tra cui quelle maggiormente riportate in letteratura sono le seguenti.

I principali svantaggi associati all'impiego di cristalloidi comprendono: la durata limitata dell'espansione del volume intravascolare e la maggiore propensione alla formazione di edema tissutale abbassando la pressione colloidale-osmotica plasmatica (COP), con conseguente alterato scambio di ossigeno cellulare, ridotta funzione enzimatica, gonfiore cellulare e lisi cellulare (Rudloff e Kirby, 2001). Inoltre, si può avere compromissione dello scambio gassoso a livello alveolare polmonare con comparsa di irrequietezza, secrezioni nasali sierose, tachipnea, tosse e crepiti polmonari (Mathews, 1998). Altre complicazioni includono aumento della traslocazione batterica dall'intestino e impatto negativo sulla guarigione delle ferite (Chan, 2008).

La somministrazione di fluidi contenenti precursori del bicarbonato come sostanze tamponi può risultare inappropriata in un paziente con alcalosi metabolica ipocloremica causata da un'ostruzione pilorica. In tale situazione la scelta più corretta è l'impiego di cloruro di sodio (NaCl) allo 0,9%, che contiene un'elevata concentrazione di cloro (154 mEq/L) e nessun precursore di bicarbonato. La somministrazione di NaCl 0,9%, tuttavia, può causare un ulteriore aumento della concentrazione di cloro sierico in un paziente che risulta già ipercloremico.

L'infusione di una soluzione senza precursori di bicarbonato (ad es. NaCl 0,9% o soluzione 5% destrosio) può esacerbare l'acidosi metabolica, sebbene nei pazienti con grave shock ipovolemico la somministrazione di questi fluidi può aiutare a ripristinare la perfusione e a correggere l'acidosi lattica mediante il ripristino di fluido nel comparto intravascolare. La somministrazione di Ringer lattato (che contiene calcio) può risultare inappropriata in un animale con ipercalcemia. Analogamente, la somministrazione di fluidi contenente potassio in un animale con grave iperkaliemia, pone tale paziente a rischio di un ulteriore aumento nella concentrazione di potassio sierico. In molti casi,

tuttavia, la somministrazione di fluidi per via endovenosa (indipendentemente dalla composizione) migliora la perfusione e permette la diluizione degli elettroliti sierici (Mazzaferro, 2008).

La somministrazione in bolo di elevati volumi di fluidi contenenti destrosio può comportare iperglicemia, che può peggiorare la prognosi negli animali con trauma cranico (Syring *et al*, 2001).

La somministrazione rapida di soluzioni ipotoniche, come destrosio al 5% in acqua, può causare potenzialmente un'emolisi intravascolare. Analogamente, una somministrazione troppo rapida di soluzioni ipertoniche possono indurre la crenazione dei globuli rossi. L'infusione di soluzione salina

ipertonica può anche essere

associata a ipotensione e

bradicardia vago-mediata,

per cui è controindicata negli

animali ipernatremici o

disidratati (Mathews, 1998).

I fluidi contenenti calcio non

devono essere somministrati

insieme a emocomponenti a

causa del rischio di

precipitazione del citrato di

calcio nella linea infusioneale.

Fluid	Indications	Relative Contraindications
Normosol-R	Replacement, metabolic acidosis, anorexia, vomiting, hypovolemic shock, diarrhea, renal failure	Hyperkalemia, metabolic alkalosis
PlasmaLyte-A	Replacement, metabolic acidosis, anorexia, vomiting, hypovolemic shock, diarrhea, renal failure	Hyperkalemia, metabolic alkalosis
0.9% NaCl	Replacement, hypovolemic shock, anorexia, vomiting, diarrhea, metabolic alkalosis, hyperkalemia, hypercalcemia acute hyponatremia, chronic hypernatremia, renal failure	Cardiac disease, liver disease, metabolic acidosis
LRS	Replacement, hypovolemic shock, vomiting, diarrhea, hypocalcemia, metabolic acidosis, renal failure	Hypercalcemia, hyperkalemia, lymphosarcoma, liver failure
D5W	Drug carrier, correction of hypernatremia and free water deficit, congestive heart failure	Does not provide sufficient calories to be used as a form of parenteral nutrition
0.45% NaCl + 2.5 dextrose	Maintenance, replacement of insensible losses, correction of free water deficit	Not to be used as a replacement fluid
Normosol-M	Replacement of insensible losses	Hyponatremia, not to be used as a replacement fluid
PlasmaLyte-M	Replacement of insensible losses	Hyponatremia, not to be used as a replacement fluid
3% NaCl	Intravascular volume expansion, hypovolemic shock	Interstitial dehydration, hypernatremia
7% NaCl	Intravascular volume expansion, hypovolemic shock	Interstitial dehydration, hypernatremia

Tabella 1-1 Indicazioni e controindicazioni relative all'utilizzo delle diverse soluzioni cristalloidali isotoniche, ipotoniche e ipertoniche (Mazzaferro e Powell, 2013).

1.5 Soluzioni colloidali

I colloidi sono soluzioni ad elevato peso molecolare (>10.000 Da) limitate nel comparto plasmatico di pazienti con endotelio intatto ed esercitano il loro effetto primario nel compartimento intravascolare (DiBartola e Bateman, 2006). Le soluzioni colloidali sintetiche contengono particelle colloidali sospese in cristalloidi isotonici (Liu e Silverstein, 2015). In virtù della loro maggiore dimensione molecolare e in assenza di un' aumentata permeabilità vascolare, le molecole colloidali sono trattenute all'interno del letto vascolare in misura maggiore rispetto ai cristalloidi, aumentando la viscosità del sangue e la pressione colloido-osmotica (COP). Di conseguenza, anche piccoli volumi di colloidi comportano un' espansione del volume plasmatico superiore rispetto ai cristalloidi (Hughes e Boag, 2006). Queste soluzioni vengono impiegate nei pazienti che richiedono espansione del volume intravascolare per aumentare o mantenere la pressione di perfusione o la pressione oncotica quando i cristalloidi da soli non sono sufficienti. Questa caratteristica rende i colloidi utili nella rianimazione volumetrica intravascolare, in particolare nei pazienti con ipoalbuminemia e/o aumentata permeabilità vascolare.

Le soluzioni colloidali trovano impiego solitamente in pazienti (Mathews, 1998):

- ipovolemici e ipoalbuminemici;
- traumatizzati e ipovolemici;
- ipovolemici con edema cerebrale o polmonare;
- ipotesi e in stato di shock oppure con perdite nel terzo spazio (ascite, edema periferico).

Le soluzioni colloidali disponibili in commercio includono colloidi naturali (albumina, plasma e sangue intero) e colloidi sintetici (amidi idrossietilici, gelatine, emoglobina polimerizzata e destrani) (Liu e Silverstein, 2015).

1.5.1 Colloidi sintetici

Le soluzioni colloidali sintetiche disponibili in commercio contengono grosse molecole di colloidi sospese in un cristalloide isotonico al fine di mantenere un'adeguata espansione del comparto intravascolare. La velocità di infusione nel trattamento dello shock è di 10-20 ml/kg nel cane e di 5-10 ml/kg nel gatto, in forma di boli incrementali somministrati in 10-20 minuti; nei pazienti gravemente ipoalbuminemici vengono somministrati in infusione continua al dosaggio di 0,5-2 ml/kg/h (Balakrishnan e Silverstein, 2015). I colloidi sintetici più comunemente utilizzati in tutto il mondo si dividono in tre gruppi principali: i derivati dell'amido idrossietilico (*hetastarch*, *tetrastarch*, e *pentastarch*), i destrani e le gelatine (Hughes e Boag, 2006). L'eliminazione delle molecole colloidali di basso peso molecolare avviene attraverso la filtrazione glomerulare, mentre quelle ad elevato peso molecolare vengono eliminate nella bile oppure immagazzinate nel tessuto o ancora scomposte in particelle più piccole dal sistema monocita-macrofago (Rudloff e Kirby, 2001).

Fluid	pH	Na ⁺ (mEq/L)	Cl ⁻ (mEq/L)	K ⁺ (mEq/L)	Ca ⁺⁺ (mEq/L)	Mg ⁺⁺ (mEq/L)	Buffer	Colloid Osmotic Pressure (mm Hg)
Isotonic replacement crystalloid								
Plasmalyte-A	7.4	140	98	5	0	3	Acetate/gluconate	0
Normosol-R	5.5-7.0	140	98	5	0	3	Acetate/gluconate	0
Lactated Ringer's solution	6.5	130	109	4	3	0	Lactate	0
0.9% sodium chloride	5.0	154	154	0	0	0	None	0
Colloid								
Natural								
Whole blood	Variable	140	100	4	0	0	None	20
Plasma	Variable	140	110	4	0	0	None	20
Synthetic								
6% hetastarch	5.5	154	154	0	0	0	None	32
10% pentastarch	5.0	154	154	0	0	0	None	25
Dextran-40	3.5-7.0	154	154	0	0	0	None	40
Dextran-70	3.0-7.0	154	154	0	0	0	None	40
Stroma-free hemoglobin							Lactate	
Oxyglobin	7.8	150	118	4	1.4	0		20-25

Tabella 1-2 Caratteristiche dei cristalloidi e colloidi utilizzati durante la rianimazione fluida (Rudloff e Kirby, 2001).

1.5.1.1 Amidi idrossietilici

Le molecole di amido idrossietilico (HES, *hydroxyethyl starches*) sono polimeri ramificati del glucosio derivati dall'idrolisi dell'amilopectina. Quest'ultima dal punto strutturale è molto simile al glicogeno e contiene catene corte di glucosio con legami α -1,4 connesse ad altre catene mediante legami α -1,6. Le soluzioni di amido risulterebbero instabili se iniettate poiché vengono idrolizzate rapidamente dalle amilasi plasmatiche, perciò la modifica chimica è necessaria per resistere alla degradazione e aumentare la persistenza intravascolare (Hughes e Boag, 2006). Gli amidi idrossietilici si classificano in base alla loro concentrazione nella soluzione, al peso molecolare, al grado di sostituzione dei gruppi idrossile (-OH) con gruppi idrossietilici (-OCH₂CH₂OH) e al sito della sostituzione dei gruppi idrossietilici (posizione C2 piuttosto che C6). Gli amidi idrossietilici che possiedono un'emivita più lunga presentano: un elevato peso molecolare, un grado di sostituzione maggiore e un elevato rapporto C2:C6 (Mizzi *et al*, 2011). Le molecole di amido più piccole (<50.000 Da) vengono filtrate attraverso i glomeruli e rapidamente eliminate causando una diuresi osmotica transitoria. I colloidi nelle urine comportano un aumento della viscosità e del peso specifico al rifrattometro. Le molecole di amido a più elevato peso molecolare, vengono metabolizzate lentamente in molecole più piccole e successivamente sono degradate dal sistema reticoloendoteliale (fegato, milza e linfonodi). Gli amidi idrossietilici vengono metabolizzati a livello ematico anche dall'amilasi. Se le molecole colloidali penetrano nello spazio interstiziale, specialmente nei pazienti con aumentata permeabilità vascolare, successivamente tornano nella circolazione ematica attraverso i linfatici o inglobate dai macrofagi. I reni costituiscono la via principale per l'escrezione dei colloidi di amido sintetico (Smart *et al*, 2009).



Figura 1-5 Esempio di amido idrossietilico (Voluven®, *hydroxyethyl starches* 130/0,4).

I termini "*hetastarch*", "*pentastarch*" e "*tetrastarch*" vengono utilizzati per descrivere le diverse preparazioni a base di amido idrossietilico. La famiglia HES è descritta più precisamente in base al loro peso molecolare e al loro grado di sostituzione (per esempio: HES 450/0,7 o HES 130/0,4). Il rapporto di sostituzione C2/C6 è un'altra importante caratteristica farmacologica che può essere utilizzata per descriverli (Westphal, 2009).

- **Hetastarch**: in commercio sono disponibili due forme di *hetastarch* al 6%, l'*Hextend* e l'*Hespan* a seconda che il colloide sia sospeso rispettivamente in soluzione elettrolitica o NaCl 0,9%. Se viene somministrato ad una velocità superiore a 20 ml/kg/giorno l'*hetastarch* può causare un prolungamento dei tempi di coagulazione (Balakrishnan e Silverstein, 2015). Uno studio condotto su 4 cani ha dimostrato come l'infusione di *hetastarch* a 20 ml/kg determini immediatamente un incremento del volume ematico pari a 27,2%, che aumenta a 36,8% dopo 30 minuti, per poi ridursi al 26,6% dopo quattro ore dall'inizio dell'infusione (Silverstein *et al*, 2005).
- **Tetrastarch**: possiede un peso molecolare ed un grado di sostituzione dei gruppi idrossietilici inferiore rispetto all'*hetastarch*, presentando anche una minore incidenza di coagulopatie (Cotton *et al*, 2006). Il più utilizzato in medicina umana è il *Voluven* e, recentemente, è stato approvato per l'impiego anche nei piccoli animali (*Vetstarch*), ma per provarne la sua efficacia e sicurezza sono necessari ulteriori studi (Balakrishnan e Silverstein, 2015). Il *Voluven* ha un peso molecolare di 130 kDa e possiede un effetto maggiore di espansione del volume plasmatico rispetto all'*hetastarch*; uno studio ha dimostrato che esso può espandere il volume plasmatico fino al 100% per un periodo di tempo dalle 4 alle 6 ore (Waitzinger *et al*, 1999).
- **Pentastarch**: è un prodotto derivante dall'*hetastarch*, ma con particelle a peso molecolare più basso e in numero maggiore rispetto a quest'ultimo. Si trova in commercio negli Stati Uniti come soluzione al 6% e al 10% in salina isotonica, ma non è stato ancora approvato per l'uso clinico anche se in alcune parti del mondo viene utilizzato per la sua proprietà colloidale di espansore del volume plasmatico (Silverstein *et al*, 2015). Il *pentastarch* possiede una capacità di espansione

volumetrica maggiore rispetto all'*hetastarch*, aumentando di 1,5 volte il volume infuso (Strauss *et al*, 2002).

1.5.1.2 Destrani

I destrani sono polimeri del glucosio sintetizzati da *Leuconostoc Mesenteroids* (ceppo B12) che crescono in un mezzo di saccarosio. I destrani sono idrolizzati a destrano 70 (peso molecolare di 70 KDa) e destrano 40 (peso molecolare di 40 KDa). Le frazioni di destrano con un peso molecolare inferiore vengono eliminate per via renale in quanto il valore soglia di peso molecolare per l'eliminazione dei destrani attraverso questa via è di circa 55 KDa. La distribuzione a livello plasmatico delle frazioni di destrano variano nel tempo a causa della rapida eliminazione delle frazioni più piccole e dell'eliminazione più lenta di quelle grandi. L'escrezione dei destrani è significativamente ridotta nei pazienti con compromissione renale. La soluzione di destrano è ipertonica e ogni grammo di destrano espande il compartimento vascolare di 25 ml. Destrano 40 e, in misura minore, destrano 70 riducono la viscosità del sangue migliorando la microcircolazione e l'ossigenazione dei tessuti. A causa della sua maggiore viscosità, il destrano può causare danno renale precipitando a livello dei tubuli renali nei pazienti con grave disidratazione o compromessa perfusione renale. Per ovviare a questo effetto avverso si dovrebbero somministrare contemporaneamente dei cristalloidi. Le alterazioni emostatiche causate dai destrani sono multifattoriali e principalmente correlate a una riduzione dell'adesione e dell'aggregazione piastrinica. Destrano 70 può comportare una coagulopatia più grave rispetto al destrano 40 e i problemi emostatici si verificano più facilmente nei pazienti trombocitopenici e nei pazienti iperazotemici a causa della disfunzione piastrinica uremica (Mathews, 1998). Queste soluzioni non sono più disponibili in commercio per il rischio di sviluppo di danni renali acuti e reazioni allergiche nei pazienti umani, (Silverstein e Santoro-Beer, 2015).

1.5.1.3 Gelatine

Le gelatine sono soluzioni ottenute dall'idrolisi del collagene bovino e successivamente legate all'urea. Sono utilizzate nella fluidoterapia rianimatoria per la loro capacità di espandere il volume intravascolare. Tra le complicazioni maggiormente osservate nell'utilizzo di queste soluzioni vi è l'anafilassi, la comparsa di una coagulopatia diluizionale durante l'infusione con elevati volumi, ma non è stato segnalato alcun difetto indipendente nell'emostasi. Infine l'utilizzo delle gelatine può incrementare il rischio di comparsa di danno renale acuto. Se paragonata ad un cristalloide, la quantità di soluzione da infondere per ottenere lo stesso effetto risulta essere maggiore, rendendone l'utilizzo più costoso (Moeller *et al*, 2016).

1.5.2 Colloidi naturali

Gli emocomponenti naturali sono costituiti sia da albumina allogenica (canina o felina) che da albumina umana. L'albumina contribuisce in gran parte al mantenimento della COP negli animali; altre funzioni fisiologiche essenziali riguardano la guarigione delle ferite, la coagulazione e l'eliminazione dei radicali liberi. Inoltre, l'albumina costituisce un supporto per molteplici substrati tra cui ormoni, bilirubina, acidi grassi, cationi bivalenti, tossine e farmaci. Il plasma fresco congelato fornisce tutti i fattori della coagulazione e le proteine plasmatiche, mentre il plasma che rimane a temperatura ambiente per più di 8 ore o che viene conservato congelato per più di 1 anno perde i fattori di coagulazione labili e viene identificato come plasma congelato. Quest'ultimo fornisce proteine plasmatiche e i fattori della coagulazione II, VII, IX e X. Il criosurnatante è la porzione superficiale del plasma fresco parzialmente scongelato dopo una centrifugazione (5000 giri per 7 minuti) e contiene albumina, globuline, antitrombina, proteina C, proteina S e fattori di coagulazione II, VII, IX, X, XI, XII. La restante porzione è il crioprecipitato che è ricco di fibrinogeno, fibronectina, fattore VIII e fattore di von Willebrand. La trasfusione di sangue intero fornisce piastrine e globuli

rossi oltre alle proteine plasmatiche e ai fattori della coagulazione (Benjamin e McLaughlin, 2012). Per il supporto della pressione colloidale-osmotica, il plasma iso-oncotico è meno efficace delle soluzioni ipertoniche di amido sintetico. Al fine di aumentare l'albumina plasmatica del ricevente di 1 g/dl, è richiesta una quantità di plasma approssimativamente da 40 a 50 ml/kg (Hughes e Boag, 2006). Il sovraccarico volumetrico è una delle complicazioni più importanti da tenere in considerazione quando si somministrano elevati volumi di plasma. Le trasfusioni di plasma effettuate con lo scopo di fornire i fattori di coagulazione e l'albumina, possono essere utilizzate in aggiunta ai colloidi di amido sintetico per aumentarne il potere colloidale-osmotico negli animali con coagulopatie e ipoalbuminemia. I pazienti che si presentano sia anemici che ipoprotidemici, possono giovare dalla somministrazione di trasfusioni di sangue intero. Tutti gli emocomponenti presentano alcuni rischi per quanto riguarda le reazioni trasfusionali, oltre alle proprietà immunomodulatorie. Si consiglia perciò una somministrazione lenta, da 2 a 4 ore, in pazienti stabili per monitorare attentamente i segni di una reazione trasfusionale avversa o di un sovraccarico volumetrico. L'utilizzo dell'albumina nell'ambito della fluidoterapia rianimatoria nel paziente umano in corso di grave sepsi e shock settico è ad oggi ampiamente dibattuto e rimane controverso (Delaney *et al*, 2011). L'uso dell'albumina nel cane è tipicamente riservato a soggetti gravemente ipoalbuminemici (<1 g/dl) in seguito a traumi, sepsi, interventi chirurgici o shock settico. La forma di albumina comunemente utilizzata nel cane è l'albumina umana al 25%, poiché quella canina specie-specifica, non è sempre disponibile. Trow *et al* nel 2008 hanno dimostrato come l'utilizzo dell'albumina umana al 25% in cani critici comporti un incremento dei livelli di albumina, delle proteine totali e della pressione colloidale-osmotica (Trow *et al*, 2008). L'albumina umana e quella canina possiedono un'omologia pari solo al 79% (Gentilini *et al*, 2005). Il suo utilizzo ha posto il dubbio sul rischio della possibile comparsa di reazioni di ipersensibilità (immediate o anche ritardate nel tempo) e di reazioni anafilattiche. Per questo motivo, in letteratura veterinaria, sono stati eseguiti numerosi studi retrospettivi che hanno dimostrato che le reazioni avverse sono rare se utilizzata una volta sola nel paziente critico (Mathews e Barry, 2005; Martin *et al*, 2008). Seppur l'utilizzo dell'albumina sia strettamente riservato al paziente

ipoalbuminemico, e l'ipoalbuminemia sia associata ad una prognosi sfavorevole, gli effetti del suo utilizzo sulla mortalità nei piccoli animali rimangono ad oggi sconosciuti (Balakrishnan e Silverstein, 2015).

L'ossiglobina è una soluzione colloidale con peso molecolare medio di 200 kDa (intervallo di peso molecolare da 64 a 500 kDa), isosmotica (300 mOsm/kg) e ipertonotica (COP di 43 mmHg). Dopo la somministrazione di ossiglobina si osserva un aumento del precarico e della gittata cardiaca. Tuttavia, l'effetto emodinamico dell'ossiglobina è complicato dal suo effetto di spiazzamento dell'ossido nitrico. Normalmente, quest'ultimo ha un effetto vasodilatatore, ma la vasocostrizione periferica successiva alla diminuzione dell'ossido nitrico con la terapia con ossiglobina può compromettere la perfusione tissutale e il rilascio di ossigeno. Inoltre, la risposta regolatoria locale al miglioramento dell'ossigenazione tissutale può anche portare alla vasocostrizione periferica dopo somministrazione di ossiglobina. L'effetto collaterale più rilevante dell'ossiglobina è il sovraccarico volumetrico. L'emivita dell'ossiglobina è dose-dipendente e varia da 18 a 43 ore dopo l'infusione da 10 a 30 ml/kg (Elmer *et al*, 2012).

1.5.3 Effetti collaterali colloidali sintetici

Gli effetti avversi dell'utilizzo di soluzioni colloidali sintetiche, sono stati correlati alla dose cumulativa e non alla dose infusa nell'arco delle 24 ore. Gli effetti indesiderati segnalati nella somministrazione di HES comprendono: sovraccarico volumetrico, danno renale acuto (AKI, *Acute Kidney Injury*), effetti proinfiammatori, reazioni allergiche e coagulopatie (Glover *et al*, 2014).

Danno renale: i colloidali sintetici sono eliminati principalmente per via renale per cui si devono utilizzare con cautela nei pazienti con oliguria a meno che quest'ultima sia conseguente ad una condizione di ipovolemia o ipotensione. Questi prodotti non devono essere somministrati in pazienti anurici o con insufficienza cardiaca congestizia a causa del rischio di sovraccarico volumetrico.

L'associazione tra uso di colloidi sintetici e riduzione della funzionalità renale è stata riportata in pazienti umani trattati con colloidi sintetici e, più frequentemente, questa osservazione è stata associata all'uso di destrano 40. Una riduzione del GFR (*Glomerular Flow Rate*) è stata osservata anche nei pazienti umani chirurgici e traumatizzati che ricevevano colloidi sintetici (Boldt, 2002). Tuttavia, una revisione della *Cochrane* ha concluso che nei pazienti chirurgici e traumatizzati non vi è alcuna differenza in termini di rischio di sviluppo di danno renale e necessità di dialisi in pazienti trattati con HES o altri fluidi, ma nonostante ciò, esistono pochi studi per confermare in modo assoluto l'associazione di rischio. D'altra parte, la somministrazione di HES in pazienti settici ha rivelato un aumento del 55% del rischio di sviluppo di danno renale e un aumento del 59% del rischio di trattamento dialitico, ma i prodotti con peso molecolare e grado di sostituzione più bassi risulterebbero più sicuri (Dart *et al*, 2010). Quando la pressione oncotica è normale la somministrazione di colloidi deve essere effettuata con cautela perché un'elevata pressione oncotica può causare disfunzione renale. In medicina umana, il concetto di insufficienza renale iperoncotica è stato proposto sulla base dell'osservazione che la disfunzione renale si associa a un aumento parallelo della pressione oncotica plasmatica, che risulta sufficiente nell'opporsi alla pressione di filtrazione all'interno della capsula di Bowman. Questa evenienza è stata osservata con destrano, amido idrossietilico, gelatina e albumina iperoncotica; pertanto, nessuna specifica soluzione colloidale di per sé è direttamente nefrotossica. Siccome tale problema è stato identificato prevalentemente nei pazienti sottoposti a trapianto renale e/o in quelli con sepsi, si consiglia di valutare attentamente il volume di colloide somministrato insieme ad un quantitativo di cristalloide necessario per il fabbisogno minimo giornaliero di acqua (Roche e James, 2009). Uno studio nel 2012 ha evidenziato un danno renale nel 70% dei pazienti riceventi una fluidoterapia a base di HES 130/0,4 (Bayer *et al*, 2012). Nel 2013 una review della *Cochrane* sottolinea che tutti i prodotti HES aumentano il rischio di AKI e RRT (*Renal Replacement Therapy*) in tutte le popolazioni di pazienti, per cui non è stato ancora determinato un volume sicuro per qualsiasi soluzione di HES. Nella maggior parte delle situazioni cliniche è probabile che questi rischi superino i benefici e al posto dei colloidi sintetici

vengono impiegate terapie sostitutive (Mutter *et al*, 2013). Infine l'ultima review della *Cochrane* nel 2018 conclude che l'impiego di amidi, destrani, albumina o FFP (*Fresh Frozen Plasma*) (moderata evidenza scientifica) o gelatine (bassa evidenza scientifica), rispetto ai cristalloidi non incide in maniera significativa sulla mortalità. L'utilizzo di amidi sintetici aumenta in piccola misura la necessità di trasfusioni di sangue e RRT (moderata evidenza scientifica) mentre l'albumina o il FFP incidono in piccola parte o per niente sulla necessità del trapianto renale (bassa evidenza scientifica) (Lewis *et al*, 2018).

Il meccanismo con cui le soluzioni colloidali sintetiche provochino un danno renale acuto non è del tutto chiaro, ma sono state avanzate tre ipotesi. La prima ipotesi sostiene che i colloidali causino un danno renale acuto ipertonico in quanto un aumento della COP intravascolare a causa delle molecole colloidali osmoticamente attive non filtrate, accoppiate ad una bassa pressione di perfusione renale nelle arteriole glomerulari, possa provocare un'alterazione delle forze colloidale-osmotiche intraglomerulari, comportando una riduzione o cessazione della filtrazione glomerulare. Si ipotizza inoltre che la funzione escretoria renale sia ulteriormente compromessa dalla perdita dell'ultrafiltrato attraverso l'epitelio tubulare danneggiato (Ragaller *et al*, 2001). Un altro meccanismo prevede che gli HES siano responsabili di un danno a livello tubulare a causa dell'infiltrazione dei macrofagi nell'interstizio tubulare renale determinando un'alterazione della funzione cellulare (Huter *et al*, 2009). Il terzo meccanismo è legato al fenomeno della “nefrosi osmotica”, per cui gli HES vengono “fagocitati” a livello di cellule epiteliali tubulari all'interno di lisosomi i quali, contenendo enzimi digestivi, determinano delle vacuolizzazioni che causano un'alterazione della funzionalità cellulare (Dickenmann *et al*, 2008).

In letteratura veterinaria, uno studio retrospettivo nel 2016 ha analizzato 201 cani ammessi al reparto di terapia intensiva: i soggetti che all'ammissione presentavano livelli sierici di creatinina nella norma, sono stati trattati nelle 24 ore successive o con cristalloidi o con colloidali (HES 130/0,4) o con entrambe le soluzioni. Il dosaggio di colloidale impiegato è risultato più basso rispetto alla dose

giornaliera massima raccomandata nel paziente umano. Successivamente è stata misurata la creatinina sierica ogni giorno per un periodo di 12 settimane, senza rilevare differenze statisticamente significative tra i tre gruppi. Le motivazioni di tale risultato potrebbero essere ascrivibili ad una maggior capacità dell' α -amilasi plasmatica canina di eliminare HES o ad un diminuito accumulo di HES nel rene del cane rispetto a quanto accade nell'uomo (Yzova *et al*, 2016). Un recente studio su un numero limitato di cani sottoposti a chirurgia addominale d'urgenza, ha evidenziato una correlazione tra l'aumento di un biomarker indicativo di danno renale acuto e la somministrazione di HES (Cortellini *et al*, 2015).

Reazioni anafilattiche: data la somiglianza tra la molecola di HES e il glicogeno, le reazioni anafilattiche attribuibili agli amidi idrossietilici risultano rare in tutte le specie. Tuttavia, la sindrome dei macrofagi schiumosi e il prurito refrattario ad insorgenza ritardata sono complicazioni riportate negli esseri umani e sono peculiari dei colloidi a base di amido idrossietilico. Nessuno di questi effetti avversi è stato riportato in medicina veterinaria. La sindrome del macrofago schiumoso (*hydrops lysosomal generalisatus*) è una malattia acquisita da accumulo lisosomiale che è stata segnalata nelle persone, in particolare in quelle che richiedono la plasmateresi cronica e che utilizzano HES come diluente (Glover *et al*, 2014).

Deposito tissutale: un altro effetto collaterale, sebbene ancora scarsamente documentato, connesso alla natura estranea dei colloidi sintetici è il deposito tissutale conseguente all'influenza sulla clearance metabolica (Barron *et al*, 2004). Nel plasma l'HES viene metabolizzato dall'enzima α -amilasi, il quale non è presente a livello cellulare. L'acido α -glucosidasi è l'enzima lisosomiale che scinde l'amido e i disaccaridi in glucosio, ma il processo di trasformazione di HES a livello lisosomiale rimane ad oggi sconosciuto. Gli studi condotti si sono concentrati sul deposito tissutale dato dagli amidi idrossietilici sia in ambito umano che veterinario. Tramite analisi bioptiche e necroscopiche si è evidenziato che i colloidi sintetici tendono a depositarsi nelle cellule epiteliali, mesenchimali (cheratinociti), endoteliali, del parenchima epatico, muscolari striate, di Schwann dei

nervi periferici e del midollo osseo (il quale è dimostrato essere sede di deposito solo nell'uomo). L'accumulo è associato a effetti collaterali quali: danno renale, epatopatia, interessamento del midollo osseo e prurito (Wiedermann e Joannidis, 2014). Uno studio condotto nel 2000 ha mostrato come i pazienti sviluppassero prurito nonostante venisse infusa una dose di colloidali sintetiche inferiore a 20 ml/kg (considerata come dose massima raccomandata) (Morgan e Berridge, 2000).

Per quanto concerne gli effetti dei colloidali sintetiche sulla coagulazione, saranno tema di discussione nel capitolo sulla coagulopatia colloidale-indotta.

1.6 Impiego delle soluzioni colloidali e cristalloidi nella rianimazione fluida

Alcuni studi hanno valutato i continui cambiamenti del volume ematico in risposta alla somministrazione di fluidi utilizzando come sistema di monitoraggio il valore dell'ematocrito. In uno studio del 2005, sono stati inclusi 4 cani sani ed ognuno di questi ha ricevuto per via endovenosa boli da 80 ml/kg di soluzione salina allo 0,9% (S), 4 ml/kg di soluzione salina al 7,5% (HS), 20 ml/kg di destrano 70 (D), 20 ml/kg di *hetastarch* (HES) o nessun bolo di fluidi (C, gruppo controllo) in occasioni separate. I fluidi sono stati somministrati alla velocità di 150 ml/min nei gruppi S, D e HES e a 1 ml/kg/min nel gruppo HS. Le variazioni del volume ematico sono state misurate ogni 20 secondi per 240 minuti utilizzando come sistema di monitoraggio l'ematocrito. I risultati suggeriscono che la somministrazione rapida di soluzione salina a dosi clinicamente rilevanti porta ad aumento immediato, ma transitorio del volume ematico a causa della rapida redistribuzione del fluido. Nonostante un aumento della volemia pari a quasi 3 volte il volume somministrato, per un periodo di tempo ridotto, la soluzione ipertonica ha comportato l'aumento più basso del volume ematico post-infusione tra tutte le soluzioni. I colloidali sintetiche aumentano la volemia in quantità superiore rispetto a quella infusa e l'effetto persiste per un periodo di tempo più lungo rispetto a quello osservato dopo la somministrazione di cristalloidi, ma l'incremento massimo della volemia è risultato

significativamente inferiore rispetto a quello dopo infusione di soluzione salina (Silverstein *et al*, 2005).

Un altro studio ha confrontato gli effetti della somministrazione di volumi uguali di cristalloidi isotonici e colloidali sintetici su variabili emodinamiche e di laboratorio in cani sani e in cani con infiammazione sistemica. In tale analisi sono stati inclusi 16 Beagle adulti, randomizzati prima a ricevere lipopolisaccaride (LPS, 5 g/kg, IV) o un uguale volume di soluzione placebo (0,9% di NaCl, IV). I cani successivamente sono stati randomizzati in 2 gruppi sottoposti a rianimazione con 40 ml/kg IV di soluzione cristalloidale isotonica (0,9% di NaCl) o di soluzione colloidale sintetica (*tetrastarch*). Dopo un periodo di 14 giorni di washout, lo studio è stato ripetuto in modo tale che i cani ricevessero il trattamento opposto (LPS o placebo) e la stessa quantità di fluidoterapia rianimatoria. Sono stati monitorati i parametri vitali (frequenza cardiaca e pressione arteriosa) e sono stati raccolti campioni ematici per PCV, proteine totali plasmatiche (TPP), lattati e pressione colloidale osmotica (COP). I cani sani (placebo) hanno presentato riduzioni simili in PCV e TPP dopo la somministrazione di entrambe le tipologie di fluido. La somministrazione di *tetrastarch* è stata associata a un aumento maggiore della frequenza cardiaca, della pressione arteriosa sistolica e media. I cani con infiammazione sistemica hanno avuto aumenti simili di pressione sistolica e riduzioni simili in PCV, TPP e lattati dopo la somministrazione di entrambi i tipi di fluidi. La somministrazione di *tetrastarch* ha causato un aumento immediato della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa media rispetto alla soluzione salina NaCl 0,9%. In tutti i cani, la somministrazione di NaCl allo 0,9% ha ridotto la COP mentre la somministrazione di *tetrastarch* ne ha comportato un aumento. Riassumendo, la rianimazione con volumi uguali di NaCl 0,9% e *tetrastarch* ha causato cambiamenti simili nelle variabili emodinamiche e di laboratorio in cani con infiammazione sistemica indotta da LPS; tuttavia, aumenti maggiori di frequenza cardiaca e pressione arteriosa sono stati registrati nelle prime 2 ore dopo la somministrazione di *tetrastarch* rispetto a NaCl 0,9% (Gauthier *et al*, 2014).

Uno studio, ma in vivo, ha confrontato l'utilizzo di emoglobina bovina (Hb-200) e di 6% *hetastarch* 450/0,7 (HES 450/0,7) in soluzione salina allo 0,9% durante la rianimazione fluida di 20 cani con dilatazione/torsione gastrica (GDV). I pazienti a cui è stata diagnosticata una GDV e che hanno presentato parametri di perfusione alterati, hanno ricevuto inizialmente un bolo per via endovenosa di soluzione cristalloide isotonica (15 ml/kg) e successivamente sono stati randomizzati per ricevere Hb-200 (N=10) o HES 450/0,7 (N=10). La soluzione cristalloide isotonica bilanciata è stata infusa in bolo (10-20 ml/kg IV) assieme a boli di 5 ml/kg IV di Hb-200 o HES al fine di raggiungere gli obiettivi prefissati per la rianimazione. La rianimazione fluida è stata definita efficace nel caso siano stati raggiunti almeno 2 su 3 dei seguenti criteri: tempo di riempimento capillare 1-2 secondi, colore della mucose rosa, buona qualità del polso femorale, frequenza cardiaca (HR) ≤ 150 bpm, pressione arteriosa sistolica indiretta (SBP) >90 mmHg. Rispetto al gruppo HES, il gruppo Hb-200 ha richiesto meno colloide (4,2 ml/kg contro 18,4 ml/kg) e cristalloide (31,3 ml/kg contro 48,1 ml/kg) per raggiungere gli endpoints di rianimazione. Il tempo di rianimazione è risultato significativamente inferiore nel gruppo Hb-200 (12,5 minuti contro 52,5 minuti). Gli autori concludono che i cani con GDV che hanno ricevuto Hb-200 durante la rianimazione fluida iniziale, hanno richiesto volumi più piccoli sia di cristalloidi che di colloidi e hanno raggiunto la stabilità emodinamica più rapidamente dei cani trattati con HES 450/0,7 (Haak *et al*, 2012).

CAPITOLO II

Emostasi

L'emostasi è un complesso processo di interazioni regolate temporalmente tra l'endotelio della parete vasale e le piastrine circolanti, il fattore tissutale associato alla membrana (TF) e le proteine plasmatiche procoagulanti, anticoagulanti e fibrinolitiche (Versteeg *et al*, 2013). In condizioni normali, l'equilibrio emostatico favorisce le reazioni anticoagulanti che mantengono il sangue in una condizione fluida in modo che possa scorrere nel comparto intravascolare. Le lesioni a livello di parete vascolare spostano questo equilibrio al fine di favorire l'attivazione di fattori piastrinici e procoagulanti che esitano nella generazione della trombina (fattore IIa), la quale a sua volta porta alla formazione di coaguli di fibrina e alla cessazione della perdita ematica. I cicli di retroazione mediati dalla trombina attivano simultaneamente le proteine anticoagulanti che limitano la formazione del coagulo e, con le successive azioni della via fibrinolitica, promuovono la dissoluzione del coagulo e la guarigione delle ferite (Brooks e Catalfamo, 2013).

L'emostasi può essere suddivisa in due fasi distinte ma sovrapposte: **emostasi primaria**, che comporta l'interazione tra le piastrine e l'endotelio dei vasi con conseguente formazione di un tappo piastrinico ed **emostasi secondaria**, costituita da un sistema di reazioni proteolitiche che coinvolgono i fattori della coagulazione determinando la generazione di polimeri di fibrina che stabilizzano il tappo piastrinico al fine di formare un trombo maturo. Questi processi avvengono contemporaneamente e in condizioni fisiologiche i normali meccanismi di regolazione intrinseca contengono la formazione di trombi sia temporalmente che spazialmente. La **fibrinolisi** è la dissoluzione del coagulo di fibrina al fine di ripristinare la pervietà vascolare. Il delicato equilibrio tra reazioni proteolitiche e inibitorie dell'emostasi e la fibrinolisi può essere interrotto per difetti intrinseci o acquisiti, provocando sanguinamento anormale (Hackner e Rousseau, 2015).

2.1 Emostasi primaria

Le piastrine svolgono un ruolo dominante nell'emostasi primaria, vengono richiamate dal fattore tissutale (fattore III della coagulazione, unico fattore non presente nel torrente circolatorio) a livello del sito vascolare lesionato ed attivate (Hackner e Rousseau, 2015). Nel sito della lesione si legano rapidamente, cambiano forma e diffondono ancorandosi saldamente alle proteine subendoteliali esposte (Stegner e Nieswandt, 2011). L'adesione piastrinica richiede la presenza del fattore di von Willebrand (VWF) e l'esposizione del collagene e di altre proteine adesive nella matrice subendoteliale (Gibbins, 2004). Agenti agonisti come trombina, collagene, adenosina difosfato (ADP), trombossano e serotonina si legano ai loro recettori sulla membrana piastrinica attivando vie di segnalazione intracellulare che portano all'attivazione piastrinica (Abrams, 2005). Le piastrine attivate legano fibrinogeno e VWF, si aggregano tra loro e rilasciano il contenuto di granuli che supportano la formazione di un tappo piastrinico stabile e sufficiente a controllare l'emorragia in piccoli vasi e capillari. Il processo è regolato da inibitori rilasciati dalle piastrine attivate ed espressi sulla superficie delle cellule endoteliali vicine (Ruggeri, 2003). I difetti emostatici primari comprendono: trombocitopenia, disfunzione piastrinica e malattia di von Willebrand (VWD).

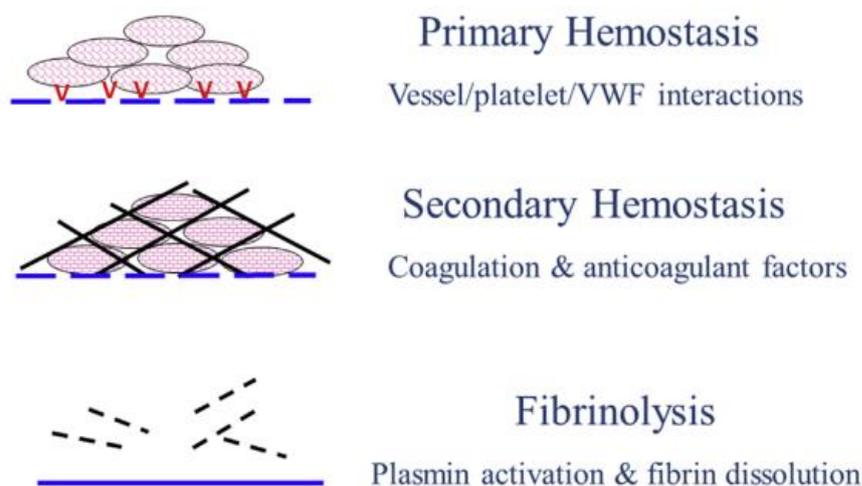


Figura 2-1 Le tre fasi dell'emostasi. L'**emostasi primaria** coinvolge le piastrine e il fattore di von Willebrand (VWF) nel sito di lesione vascolare e comporta la formazione di un aggregato piastrinico. L'**emostasi secondaria** si riferisce alle reazioni della cascata coagulativa che generano un reticolato di fibrina e un tappo emostatico stabile. Nel processo della **fibrinolisi**, la plasmina degrada gradualmente il coagulo maturo per ristabilire il flusso ematico dopo la guarigione del vaso (Brooks e Catalfamo, 2013).

2.2 Emostasi secondaria

L'emostasi secondaria è innescata dall'esposizione del fattore tissutale nei siti di lesione dei vasi e sostenuta dalle proprietà procoagulanti delle piastrine che favoriscono la formazione di fibrina. Queste proprietà includono: rilascio di polifosfati (Muller *et al*, 2009), esternalizzazione della membrana di amminofosfolipidi (Clark *et al*, 2013) e diffusione di vescicole di membrana denominate piastrine microparticelle (PMP) (Italiano *et al*, 2010). Le piastrine procoagulanti e le PMP forniscono punti di ancoraggio fisiologici per l'assemblaggio di complessi fattori della coagulazione calcio-dipendenti, che generano una grande quantità di trombina, la quale scinde il fibrinogeno plasmatico solubile per formare un coagulo di fibrina reticolato stabile (Brooks & Catalfamo, 2013).

2.2.1 Modello della cascata coagulativa

La concezione tradizionale dell'emostasi si basa sul modello della cascata coagulativa che consiste in una sequenza di reazioni enzimatiche, in cui gli enzimi scindono i substrati per generare il successivo enzima della cascata. La maggior parte delle reazioni della cascata si verificano sulla superficie della membrana fosfolipidica e richiedono il calcio. Questo modello è

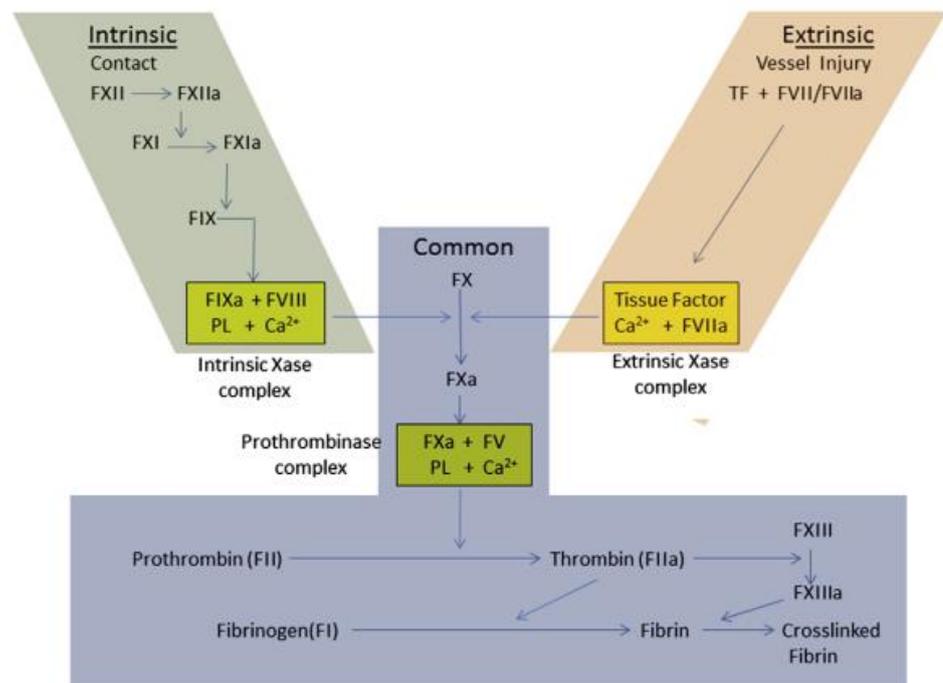


Figura 2-2 Modello della cascata coagulativa (Brooks e Catalfamo, 2013).

diviso in due percorsi: la via "*estrinseca*", avviata dal fattore tissutale (TF) e quella "*intrinseca*", attivata attraverso il contatto del fattore XII. La prima via è localizzata all'esterno della comparto ematico (o estrinseco), mentre la seconda è localizzata all'interno del comparto ematico (o intrinseco). Questi due percorsi convergono in una via comune di generazione della trombina e formazione della fibrina (Smith, 2009). Sebbene questo modello sia valido per l'interpretazione dei tradizionali test della coagulazione in vitro, non risulta adeguato per spiegare i meccanismi della coagulazione in vivo (Hoffman e Monroe, 2001). Ad esempio, le deficienze del fattore XII causano un prolungamento dei tempi della coagulazione, ma non determinano una tendenza al sanguinamento; al contrario, le deficienze isolate della via intrinseca, come l'emofilia, determinano un sanguinamento clinicamente evidente nonostante la via estrinseca sia intatta.

Il modello a cascata è risultato utile per far progredire la comprensione di come avvengono in vitro a livello plasmatico le fasi enzimatiche della coagulazione. La conoscenza della dipendenza dal calcio del processo coagulativo, ha permesso di prevenire l'attivazione della coagulazione nella raccolta ematica utilizzando provette con chelanti del calcio. La descrizione del modello a cascata ha permesso l'interpretazione clinicamente utile dei test di laboratorio nella valutazione delle anomalie plasmatiche della coagulazione. Nello specifico, le deficienze nella via estrinseca o comune sono identificate usando il tempo di protrombina (PT), mentre le carenze nella via intrinseca o comune sono identificate con il prolungamento del tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT). La descrizione del modello a cascata ha inoltre consentito l'isolamento e lo studio di fasi specifiche nel processo coagulativo dipendenti dalle proteine, portando a una migliore comprensione delle proprietà dei singoli complessi enzimatici (Brooks e Catalfamo, 2013).

2.2.2 Modello cellulare della coagulazione

La comprensione dell'importanza del ruolo delle cellule nel processo emostatico ha consentito una conoscenza maggiore dei meccanismi dinamici attraverso i quali può verificarsi la coagulazione nel sistema vascolare. Il modello cellulare della coagulazione incorpora inoltre il concetto che alcune proteasi della coagulazione, pur essendo in grado di partecipare alla cascata enzimatica dell'emostasi, possono avere ruoli anche al di fuori della coagulazione, come nell'infiammazione, nella funzione della parete dei vasi e nella proliferazione cellulare (Smith, 2009). Il modello cellulare della coagulazione descrive le interazioni fisiologiche tra cellule endoteliali, cellule portatrici di fattore tissutale, piastrine e matrice subendoteliale che promuove la formazione di fibrina (Hoffman e Monroe, 2001). Questo modello illustra: il ruolo chiave del complesso TF-Fattore VIIa come iniziatore in vivo della coagulazione, l'amplificazione della generazione di trombina da parte delle piastrine e le azioni opposte della trombina nel promuovere e inibire la coagulazione.

Il modello cellulare della coagulazione riflette più accuratamente la coagulazione in vivo (Hoffman e Monroe, 2001). Questo modello include due punti chiave fondamentali: il primo che il fattore tissutale è l'iniziatore fisiologico primario della coagulazione, il secondo che la coagulazione è localizzata e controllata da superfici cellulari (Furie e Furie 2008). Il processo coagulativo avviene in tre fasi sovrapposte: iniziazione (su cellule portatrici di fattore tissutale), amplificazione e propagazione (sulle piastrine). La fase di iniziazione è la via indotta dal fattore tissutale (estrinseca) che

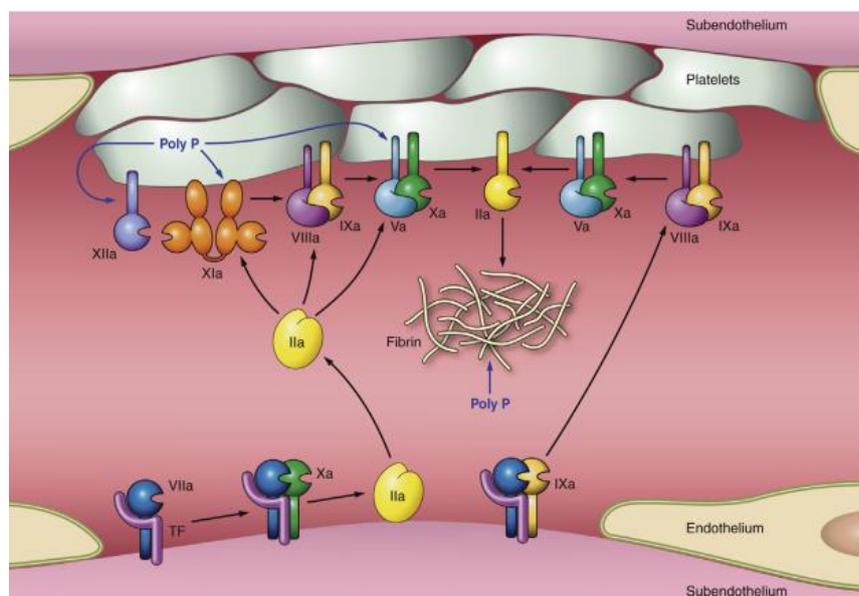


Figura 2-3 Modello cellulare della coagulazione (Brooks e Catalfamo, 2013).

genera piccole quantità di trombina. Il fattore tissutale è una proteina di membrana espressa su cellule endoteliali, fibroblasti e altre cellule extravascolari in condizioni fisiologiche. La coagulazione inizia quando il danno vascolare o l'infiammazione consente il contatto tra il plasma e le cellule portatrici di fattore tissutale. Il fattore plasmatico VII della coagulazione si lega al fattore tissutale e viene attivato generando piccole quantità di trombina che, a sua volta, attivano piastrine che vanno ad aderire al sito di danno vascolare. Durante la fase di attivazione, le piastrine attivate portano all'attivazione dei cofattori V e VIII legati alle loro superfici. In questo modo, la trombina amplifica il segnale iniziale agendo sulle piastrine al fine di indurre la formazione del complesso procoagulante. Durante la fase di propagazione, i complessi vengono assemblati sulla superficie della piastrina attivata e si verifica una generazione di trombina su larga scala. Ciò favorisce la formazione della trombina necessaria per produrre grandi quantità di fibrina. I monomeri di fibrina vengono quindi complessati per formare polimeri di fibrina e di conseguenza un trombo stabile (Hackner e Rousseau, 2015).

2.3 Fibrinolisi

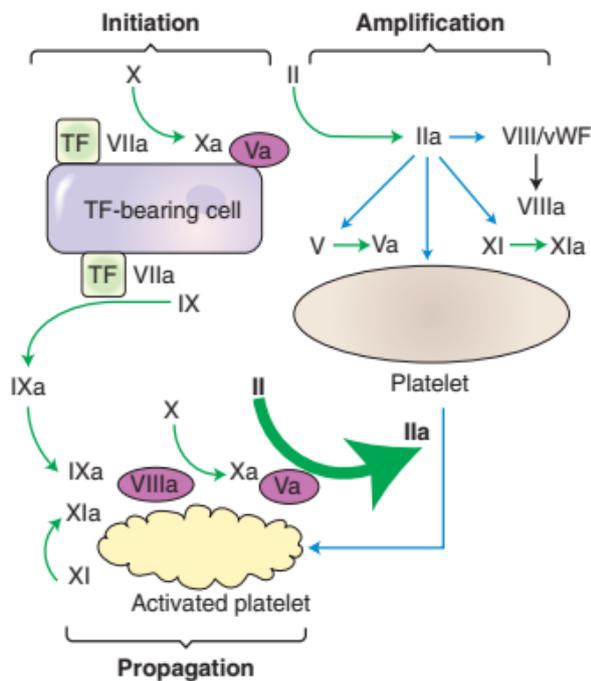


Figura 2-4 Modello cellulare della formazione della fibrina. Tale modello tiene conto del contributo delle varie superfici cellulari nella formazione della fibrina (Brooks e Catalfamo, 2013).

Il danno tissutale e vascolare inducono l'attivazione della coagulazione e della fibrinolisi. La trombina è l'enzima terminale della cascata coagulativa, mentre la plasmina è l'enzima responsabile della fibrinolisi. L'attivatore del plasminogeno tissutale (tPA) è l'iniziatore principale della fibrinolisi intravascolare e, quando legato alla fibrina, il tPA è altamente efficace nell'attivare il pro-enzima plasminogeno per formare la plasmina, indirizzando così la fibrinolisi sul coagulo di

fibrina. I livelli circolanti di tPA riflettono la secrezione dall'endotelio vascolare, la clearance da parte del fegato e la sua inibizione da parte dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno di tipo 1 (PAI-1). La plasmina degrada il reticolato di fibrina in una serie di passaggi di clivaggio che generano i prodotti intermedi di degradazione della fibrina (FDP) e frammenti terminali D-dimeri. La plasmina libera circolante viene rapidamente degradata dalle proteasi inibitrici dall'antiplasmina. Le condizioni patologiche associate a fibrinolisi disregolata e segni di emorragia comprendono: trauma grave, cirrosi epatica e coagulazione intravasale disseminata (CID) (Brooks e Catalfamo, 2013).

2.4 Valutazione dell'emostasi primaria

I test diagnostici a disposizione per la valutazione dell'emostasi primaria sono:

- ✓ conta piastrinica;
- ✓ tempo di sanguinamento della mucosa buccale;
- ✓ test di funzionalità piastrinica;
- ✓ fattore di von Willebrand.

Stima piastrinica: la valutazione della conta piastrinica è fondamentale nella diagnosi di una patologia dell'emostasi primaria. La trombocitopenia può essere dovuta a una diminuzione nella produzione piastrinica, a una ridotta sopravvivenza media piastrinica, alla perdita di piastrine dalla circolazione sistemica o ad altre eziologie indotte da farmaci (Sié e Steib, 2006). La conta piastrinica automatizzata può essere determinata mediante un analizzatore di laboratorio commerciale. Tuttavia, errori di microaggregazione in vitro, campionamento di scarsa qualità, presenza di piastrine giganti, frammenti di globuli rossi o di leucociti o l'agglutinazione indotta dall'EDTA, sono comuni e possono sovrastimare o sottostimare la conta piastrinica automatizzata (Taylor, 2003). Nei gatti gli eritrociti e le piastrine potrebbero sovrapporsi portando ad una riduzione artificiale del numero di piastrine sui contatori automatici. La conta piastrinica manuale può essere eseguita mediante la valutazione di uno striscio ematico periferico utilizzando sangue in EDTA o campioni freschi. Se si utilizza sangue EDTA, gli strisci dovrebbero essere fatti entro 4 ore dalla raccolta ematica nelle provette conservate a temperatura ambiente per prevenire la distorsione della morfologia cellulare. Dopo aver allestito e colorato lo striscio ematico mediante colorazione di Wright (o un'altra equivalente), viene valutata al microscopio ad alto ingrandimento (100X) un'area del vetrino in cui i globuli rossi si toccano, ma non si sovrappongono. Ogni piastrina osservata al microscopio equivale a $15 \times 10^3 / \mu\text{L}$ piastrine. Pertanto, la media piastrinica in 5 campi può essere moltiplicata per $15 \times 10^3 / \mu\text{L}$ in modo da ottenere la stima

piastrinica. Mediante lo striscio ematico è possibile valutare: l'aggregazione piastrinica, la morfologia e la conta piastrinica per verificare l'accuratezza del conteggio effettuato mediante analizzatore automatico (Herring e McMichael, 2012).

Tempo di sanguinamento della mucosa buccale (BMBT): la valutazione del tempo di sanguinamento della mucosa buccale viene utilizzato in vivo come test di screening della funzionalità piastrinica, delle anomalie dell'integrità vascolare e della malattia di von Willebrand (vWD); tale test non presenta influenze dovute ad alterazioni dell'emostasi secondaria (Brooks e Catalfamo, 1993). Le pratiche di standardizzazione del test BMBT hanno migliorato la metodologia, ma nonostante questi cambiamenti l'applicazione clinica di questo test è ancora controversa in termini di utilità per diagnosi, prognosi e monitoraggio terapeutico del paziente. Esistono molteplici limiti nel test BMBT tra cui: la dipendenza dell'operatore, la scarsa riproducibilità e la mancanza di sensibilità nel rilevare disturbi emorragici lievi (Sié e Steib, 2006). I cani che presentano grave azotemia, trombocitopenia, vWD tipo II o tipo III e quelli in terapia con farmaci come aspirina o antinfiammatori non steroidei hanno mostrato tempi di sanguinamento persistentemente prolungati (Herring e McMichael, 2012). Il BMBT viene anche utilizzato nello screening preoperatorio di pazienti considerati a rischio di vWD o altre trombocitopenie in quanto è in grado di predire possibili rischi di sanguinamento chirurgico (Sato *et al*, 2000). Il test ha limitazioni significative in quanto è influenzato dall'ematocrito, dalla viscosità del sangue e presenta una variabilità inter- e intraoperatoria apprezzabile (fino a 2 minuti). Per valutare il BMBT esiste in commercio un dispositivo (*SurgiCutt, ITC, Edson, NJ; Simplet II, Organon Teknika, Austria*) con 2 lame caricate a molla che incidono la mucosa orale del labbro superiore tenendo il paziente in decubito sternale o laterale con una striscia di garza che circonda il mascellare. Il labbro superiore viene ribaltato per esporre la mucosa orale e il dispositivo viene posizionato contro la superficie buccale per produrre 2 incisioni di uguale profondità (1 mm ciascuna). Il dispositivo deve essere utilizzato in un'area senza vasi visibili e inclinata per permettere il deflusso del sangue verso la cavità orale. Il sangue viene raccolto con della carta da filtro

posizionata sotto le incisioni in modo da non interferire con l'emostasi primaria. Il tempo di sanguinamento è determinato dal tempo che intercorre tra le incisioni della mucosa e la cessazione del sanguinamento (Forsythe e Willis, 1989).

Test funzionalità piastrinica: la diagnosi di trombocitopenia può essere effettuata mediante test di funzionalità piastrinica, purché la conta piastrinica sia normale. I test di funzionalità piastrinica comprendono: l'aggregometria piastrinica ad impedenza su sangue intero (WBA), l'aggregometria a trasmissione di luce, l'analizzatore della funzionalità piastrinica (PFA-100, *Dade-Behring, CA*) ed infine tutti i metodi di screening dell'emostasi primaria. Esistono anche adattamenti alla tecnologia della tromboelastografia che consentono di testare la disfunzione piastrinica (Chang *et al*, 2009). Le due tecniche di aggregometria piastrinica sono correlate bene l'una con l'altra, ma la WBA ad impedenza presenta diversi vantaggi, tra cui: analisi immediata, minima alterazione delle piastrine, tempo di processazione del campione ridotto e tempo inferiore per l'analisi (Dyszkiewicz-Korpanty *et al*, 2005). Per la WBA è stata recentemente sviluppata una tecnica di aggregometria a elettrodi multipli rapida e automatizzata (*Multiplate Dynabyte Informations Systeme GmbH, Monaco, Germania*), che potenzialmente ha un'applicabilità clinica diretta (Marschner *et al*, 2012). Tuttavia, poiché i test di aggregometria piastrinica sono laboriosi, costosi e richiedono personale tecnicamente qualificato per il funzionamento, sono disponibili principalmente nel contesto della ricerca. Il PFA-100 è un test in vitro che misura il tempo di cessazione del flusso ematico (*closure time*) attraverso l'apertura di una membrana di nitrocellulosa in condizioni di elevato stress da taglio (Favaloro, 2008). La membrana è rivestita di collagene e adrenalina o adenosina-5-difosfato (ADP), ma nei cani la cartuccia di collagene/ADP presenta una sensibilità più elevata (Mischke e Keidel, 2003). Un'elevata sollecitazione al taglio in condizioni di flusso standard determinano l'adesione, l'attivazione e l'aggregazione delle piastrine formando un tappo piastrinico stabile all'apertura. Il sangue intero viene raccolto con anticoagulante (citrato di sodio) e tenuto a temperatura ambiente senza centrifugazione prima dell'analisi. Il test deve essere effettuato tra i 15 minuti e le 5 ore successive al prelievo del campione (Favaloro, 2008). I vantaggi del PFA-100 includono: semplicità, accuratezza,

interpretazione rapida dei risultati e riproducibilità. L'aggregazione piastrinica responsabile del tempo di chiusura al flusso dipende dal numero e dalla funzionalità piastrinica oltre che dal fattore di von Willebrand (vWF) (Sié e Steib, 2006). Il test è influenzato da condizioni preanalitiche come: il ritardo nell'elaborazione del campione che aumenta il tempo necessario all'analisi, la concentrazione di citrato di sodio del campione, le deficienze piastriniche, l'alterazione del valore ematocrito e l'effetto di alcuni farmaci (Favaloro, 2008). Un risultato normale del tempo di chiusura PFA-100 può escludere con maggior sicurezza un grave disturbo della funzionalità piastrinica o una grave carenza del fattore di von Willebrand, ma non sarebbe in grado di escludere completamente forme più lievi di queste malattie. Il test ha una sensibilità del 95,7% e una specificità del 100% nei cani che usano la cartuccia di collagene/ADP (Callan e Giger, 2001).

Fattore di von Willebrand (vWF): il vWF è una glicoproteina plasmatica multimerica che funge da collegamento tra piastrine e subendotelio esposto. I multimeri ad alto peso molecolare di vWF sono responsabili dell'adesione e dell'aggregazione piastrinica (Callan *et al*, 2005). Le carenze in vWF o la perdita dei multimeri ad alto peso molecolare si traducono in un'adesione piastrinica difettosa e segni clinici di sanguinamento. Nel cane sono stati identificati tre tipi di vWD. Il tipo 1 è caratterizzato da un deficit quantitativo parziale di vWF con livelli adeguati di concentrazione e funzione delle proteine. Il vWD tipo 2 è caratterizzato da difetti qualitativi nella struttura e nella funzione del vWF, spesso associati a carenza proteica. In medicina umana, il sottotipo 2A si riferisce alla specifica mancanza di multimeri vWF ad alto peso molecolare. Ad oggi, il sottotipo 2A è l'unica variante tipo 2 identificata nei cani. Il sottotipo 2B descrive un'aumentata affinità di legame del vWF a GpIb piastrinica; mentre il sottotipo 2N è associato ad alterato legame vWF-fattore VIII. Il tipo 3 di vWD, è la forma clinicamente più grave in quanto è caratterizzato dall'assenza virtuale di vWF plasmatico (<1% vWF) (Brooks e Catalfamo, 2013).

La concentrazione e la funzionalità del vWF dovrebbero essere valutate per aiutare a distinguere tra questi varianti. Il test dell'antigene vWF (vWF:Ag) si effettua mediante un test ELISA, o in

alternativa, un test automatizzato con immunodosaggio delle particelle che misura la concentrazione della proteina vWF nel campione. L'ELISA è il test più comunemente utilizzato in medicina veterinaria in quanto risulta rapido, sensibile e riproducibile; utilizza anticorpi anti-vWF per quantificare l'antigene vWF. L'antigene vWF felino può essere valutato con un ELISA configurato con anticorpi monoclonali anti-canino vWF. Il test vWF:Ag è utile per identificare i pazienti con vWD di tipo III, ma in alcuni individui con vWD tipo I i risultati possono essere indeterminati (riportando valori >70% [>70 U/dl] come negativi per vWD, mentre valori <50% [<50 U/dl] positivi per vWD). I pazienti con vWD di tipo II hanno una deficienza qualitativa di vWF e quindi non possono essere identificati mediante questo test. La determinazione della funzionalità del vWF è il secondo passo nella diagnosi appropriata di vWD. Storicamente, il test del cofattore *ristocetin* (vWF:RCo) è stato utilizzato per questo scopo, ma i suoi limiti hanno portato all'impiego di un altro test, il test del legame con il collagene (vWF:CBA). Il test vWF:CBA misura la quantità di vWF legata al collagene, con preferenza per i multimeri ad alto peso molecolare. Risulta più efficace nel rilevare vWD di tipo II e, in combinazione con il test vWF:Ag, può aiutare a distinguere tra vWD tipo I e tipo II. Il rapporto di vWF:Ag con vWF:CBA nei pazienti normali e con vWD di tipo I è ≤ 1 mentre nei pazienti con vWD tipo II il rapporto è compreso tra 2 e 8,38 (Burgess *et al*, 2009).

2.5 Valutazione dell'emostasi secondaria

Per quanto riguarda la valutazione dell'emostasi secondaria i test a disposizione comprendono:

- ✓ tempo di protrombina (PT);
- ✓ tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT);
- ✓ tempo di coagulazione attivato (ACT).

Tempo di protrombina (PT): per valutare la via estrinseca e parte di quella comune dell'emostasi secondaria si ricorre alla misurazione del tempo di protrombina; tale test è correlato alla funzionalità dei fattori VII, X, V, II (protrombina) e I (fibrinogeno). Per effettuare il test, il sangue viene raccolto in una provetta che utilizza citrato di sodio come anticoagulante e analizzato mediante analizzatore automatico. La metodica prevede l'aggiunta al plasma citrato di una miscela esogena di tromboplastina, fosfolipidi e calcio (Sié e Steib, 2006). La tromboplastina interagisce e attiva il fattore VII e questo complesso a sua volta attiva il fattore X. Quest'ultimo, attivato in presenza del fattore V, di fosfolipidi e di calcio, converte la protrombina (II) in trombina (IIa), con conseguente formazione di fibrina. Il PT è il tempo trascorso dall'aggiunta di calcio e tromboplastina nel campione alla formazione dei primi filamenti di fibrina visibili. Questo test è utile come screening, ma presenta una bassa sensibilità nel rilevare le anomalie dei singoli fattori (Herring e McMichael, 2012).

Il PT risulta prolungato in pazienti con deficienza o disfunzione del fattore VII: insufficienza epatica, coagulazione intravasale disseminata, somministrazione di anticoagulanti (eparina), ipofibrinogenemia o disfibrinogenemia. I fattori della coagulazione dipendenti dalla vitamina K (II, VII, IX e X) hanno emivite variabili (41; 6,2; 13,9 e 16,5 ore rispettivamente). In seguito all'ingestione di rodenticidi anticoagulanti o alla carenza di vitamina K, l'esaurimento del fattore VII, a causa della sua breve emivita, determina un prolungamento del PT, ma è il consumo della protrombina (II) che comporta lo sviluppo di un'emorragia clinica (Pachtinger *et al*, 2008).

Tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT): per valutare la via intrinseca (fattori VIII, IX, XI, XII, precallieina e chininogeno ad alto peso molecolare [HMWK]) e quella comune (fibrinogeno, protrombina, fattori V e X) si ricorre al tempo di tromboplastina parziale attivata, ma tale test non valuta i fattori VII e XIII (Sié e Steib, 2006). L'aPTT risulta più sensibile del tempo di coagulazione attivato (ACT) e non è influenzato dai disturbi emostatici primari. I test coagulativi automatizzati forniscono risultati di aPTT quando il sangue viene raccolto in provette di citrato di sodio. L'aPTT viene avviato mediante l'impiego di un attivatore del sistema di contatto dei fosfolipidi che facilitano

l'attivazione dei fattori XII e XI da parte della precallecreina e del HMWK. Il campione viene quindi ricalcificato per indurre la formazione del coagulo di fibrina (Dudek *et al*, 2011). L'aPTT è il tempo che intercorre tra l'aggiunta di calcio e la comparsa dei filamenti di fibrina. Un valore di aPTT anormale, con una conta piastrinica ed un PT normali, potrebbe indicare: problema ai fattori VIII (emofilia A), IX (emofilia B), XII (deficit di fattore Hageman), carenza di fattori XI, II, V, X, terapia con eparina, malattia epatocellulare, carenza di HMWK e precallecreina, ipofibrinogenemia, disfibrinogenemia o CID. Tali alterazioni si evidenziano per lo più in condizioni ereditarie e alcune di esse hanno predisposizione di razza, ad eccezione del fattore VIII e del fattore IX. Le carenze dei fattori di contatto (XII, precallecreina e HMWK) sono spesso benigne e, nonostante l'aPTT sia elevato, non è previsto alcun sanguinamento clinico. In particolare, il deficit del fattore Hageman (XII) è stato documentato nei gatti ed è caratterizzato da un aumento dell'aPTT con PT e conta piastrinica normale. In tali pazienti non è stato osservato un sanguinamento clinicamente evidente (Herring e McMichael, 2012).

Tempo di coagulazione attivato (ACT): per fornire una valutazione in vitro delle vie intrinseca e comune, in stretta correlazione con l'aPTT, si può ricorrere ad un test semplice, rapido e poco costoso: il tempo di coagulazione attivato. Quest'ultimo valuta tutti i fattori di coagulazione clinicamente significativi, ad eccezione del fattore VII. Diversamente dall'aPTT, l'ACT può essere moderatamente prolungato nei pazienti con grave trombocitopenia e alcune trombopatie. L'ACT è il tempo impiegato per rilevare la presenza di un coagulo di fibrina in un campione di sangue intero dopo l'attivazione mediante contatto. Viene impiegato come strumento di screening in condizioni come il sanguinamento clinico da rodenticidi o altre cause di carenza di vitamina K, morso di vipera, emofilia, epatopatie, monitoraggio di terapie anticoagulanti e CID (See *et al*, 2009). Il test ACT originale utilizzava delle provette *Becton Dickinson* commercializzate che contenevano terra diatomacea inerte come stimolante per l'attivazione del fattore XII, ma ne è stata interrotta la commercializzazione dal produttore. In alternativa, la provetta MAX-ACT (*Helena Laboratories, Beaumont, TX*) è stata recentemente validata nei cani e gatti sani. Quest'ultima contiene 3 iniziatori del fattore di attivazione

XII (celite, caolino e perle di vetro), nonché un magnete progettato per il rilevamento automatico della formazione di coaguli (See *et al*, 2009). Uno studio pilota in medicina veterinaria ha valutato una versione manuale di questo test utilizzando come endpoint l'aderenza del magnete al coagulo. Le provette MAX-ACT devono essere mantenute a temperatura ambiente (non preriscaldate) e conservate verticalmente prima dell'uso. Queste provette non contengono un vuoto e quindi è necessaria la raccolta ematica mediante siringhe e venipuntura diretta o dal catetere. La provetta viene immediatamente riempita con 0,5 ml di sangue intero, agitata delicatamente per miscelare il campione e collocata a bagnomaria a 37 °C per 30 secondi. Successivamente, viene rimossa dal bagno ogni 5-10 secondi e osservata per la formazione di coaguli; a tale scopo, la provetta viene anche ruotata di almeno 90° per rilevare qualsiasi movimento del magnete prima di reimmetterla nuovamente nel bagno d'acqua. Il test si conclude quando la formazione del coagulo è completa, valutata mediante la rotazione della provetta di 180° senza movimento del magnete (See *et al*, 2009). L'esatta sensibilità e specificità del test e la convalida della sua affidabilità clinica non sono state determinate, pertanto questo test deve essere usato solo come screening in pazienti con sospetto di coagulopatia (Herring e McMichael, 2012).

2.6 Valutazione della Fibrinolisi

I test impiegati nella valutazione del processo di fibrinolisi sono:

- ✓ misurazione del fibrinogeno;
- ✓ misurazione dei D-dimeri;
- ✓ misurazione dei prodotti di degradazione della fibrina;
- ✓ tempo di trombina.

Misurazione del fibrinogeno: il fibrinogeno è una glicoproteina plasmatica solubile, sintetizzata nel fegato ed è un marker della via comune (Ameri *et al*, 2011). La sua biosintesi aumenta durante l'infiammazione, lo stress o l'infezione a causa della risposta di fase acuta, ma risulta aumentato anche in corso di disseminazione tumorale, gravidanza e nell'uomo aumenta con l'età e nel sesso femminile (Blombäck, 1996). I difetti nel fibrinogeno possono essere qualitativi (disfibrinogenemia) o quantitativi (ipofibrinogenemia o iperfibrinogenemia), oppure congeniti o acquisiti (in caso di emodiluzione, perdita di sangue, CID o sepsi). Altre cause di carenza di fibrinogeno includono: danno epatico con ridotta sintesi, trasfusioni massive che comportano una coagulopatia da diluizione e terapia trombolitica (Herring e McMichael, 2012). I test per valutare la fibrinogenemia includono il metodo Clauss, il fibrinogeno derivato dal dosaggio PT, test immunologici, analisi dell'antigene del fibrinogeno e metodo gravimetrico. La tecnica più utilizzata per determinare la concentrazione di fibrinogeno è il metodo Clauss, un dosaggio funzionale basato sul tempo per la formazione di coaguli di fibrina dopo l'aggiunta di trombina in eccesso (Ameri *et al*, 2011).

Misurazione dei D-dimeri: i D-dimeri sono prodotti di degradazione reticolati formati dall'azione della plasmina sulla fibrina reticolata insolubile. Possiedono un'emivita di circa 5 ore e riflettono una fibrinolisi recente o in corso (Stokol, 2003). I D-dimeri possono essere aumentati durante qualsiasi malattia che si traduca nella generazione e degradazione della fibrina e sono più comunemente

associati a CID e stati di malattia tromboembolica, ma non sono specifici per questi disturbi (Griffin, 2003). Nella specie canina, i D-dimeri sono aumentati dopo procedure chirurgiche e in condizioni patologiche come anemia emolitica immuno-mediata (IMHA), danno epatico e renale, insufficienza cardiaca, neoplasie o emorragia interna (Nelson e Andreasen, 2003). I dosaggi dei D-dimeri sono metodi immunologici disponibili in commercio e utilizzano anticorpi monoclonali contro l'epitopo del D-dimero. Questi anticorpi sono specifici per i monomeri reticolati e non hanno alcuna reattività crociata con frammenti che derivano dalla degradazione del fibrinogeno o della fibrina solubile non reticolata. Questi test sono eseguiti su plasma citrato e i metodi disponibili includono test di agglutinazione (granuli di lattice, globuli rossi o immunoturbidimetrici) o test ELISA (Stokol, 2003).

Misurazione dei prodotti di degradazione della fibrina (FDP): i prodotti di degradazione della fibrina sono creati dall'azione della plasmina quando lisa il fibrinogeno formando i monomeri di fibrina solubili e la fibrina reticolata insolubile. Tali prodotti indicano l'attivazione della plasmina e non sono specifici per la degradazione della fibrina reticolata. Elevate quantità di FDP sono state associate più comunemente con CID, specialmente se accompagnati da aumenti di PT, aPTT e riduzione del numero di piastrine, dell'attività antitrombinica e della concentrazione di fibrinogeno. Tuttavia, aumenti di FDP sono stati osservati anche in pazienti canini con emorragia cerebrale, tossicità da warfarin, danno epatico, trombosi, anemia emolitica immuno-mediata, neoplasia, pancreatite, dilatazione/torsione gastrica, colpo di calore, grave emorragia interna, trauma, sepsi, nefropatia proteino-disperdente, iperadrenocorticismo e insufficienza cardiaca cronica (Boisvert *et al*, 2001). I FDP sono misurati commercialmente mediante test di agglutinazione al lattice a livello di siero o plasma. I dosaggi dei FDP sierici utilizzano anticorpi policlonali che si incrociano con fibrinogeno intatto. Sebbene il test sia facile da utilizzare e interpretare, risulta costoso e richiede una provetta specifica e un periodo di incubazione prima di processare il campione. Il test dei FDP plasmatici può essere utilizzato per aggirare alcuni di questi difetti poiché utilizzano anticorpi monoclonali che non cross-reagiscono con il fibrinogeno. Questi test sono relativamente poco costosi,

facilmente interpretabili, richiedono un solo campione di sangue citrato e possiedono una sensibilità migliore rispetto al dosaggio sierico (Herring e McMichael, 2012).

Tempo di trombina (TT): il tempo di trombina è un test surrogato per il fibrinogeno perchè riflette la reattività del fibrinogeno alla trombina esogena ed è anche sensibile alla presenza di inibitori come l'eparina nel plasma. In questo test, la trombina scinde il fibrinogeno nei suoi fibrinopeptidi A e B per formare monomeri di fibrina che si polimerizzano nel coagulo di fibrina. Il TT è rapido e facile da eseguire. Il metodo manuale prevede di immettere 0,2 ml di plasma povero di piastrine in una provetta di vetro, riscaldare a 37 °C e aggiungere 0,2 ml di trombina umana o bovina. Successivamente viene misurato il tempo di formazione del coagulo e, se prolungato, può essere conseguente ad un difetto congenito o acquisito, quantitativo (deficit di fibrinogeno) o qualitativo (disfunzione fibrinogenica). Il TT risulta aumentato con: utilizzo di anticoagulanti come l'eparina, aumento dei FDP, ipoalbuminemia, carenza fattore XIII e amiloidosi (Herring e McMichael, 2012).

2.7 Test viscoelastici: tromboelastometria e tromboelastografia

La tromboelastografia (TEG) e la tromboelastometria rotazionale (ROTEM) sono strumenti per la valutazione della coagulazione mediante un software associato, progettati per visualizzare e misurare la cinetica e le proprietà di trazione nella formazione del coagulo con un



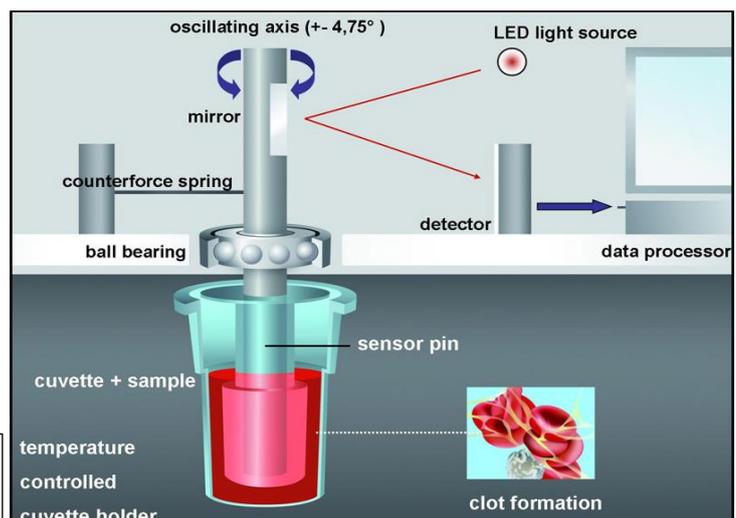
Figura 2-5 Esempio di tromboelastografo (a sinistra) e tromboelastometro (a destra).

campione di sangue intero. Questi test riflettono il contributo della componente cellulare nella formazione del coagulo e caratterizzano le variazioni nella forza e nella stabilità di quest'ultimo che si verificano dopo la formazione iniziale della fibrina (Kol e Borjesson, 2010). Oltre ad una rappresentazione grafica qualitativa, il software dello strumento esegue misurazioni dirette e calcoli per descrivere i diversi parametri nella formazione del coagulo e nella successiva lisi.

La tromboelastometria è influenzata da variabili preanalitiche e analitiche come: il tempo intercorso dal prelievo, la temperatura a cui viene stoccato il campione ematico e la composizione del reagente-innesco. Per l'interpretazione del test è necessario conoscere il valore della conta piastrinica, dell'ematocrito e della concentrazione di fibrinogeno del paziente. Condizioni di trombocitopenia



Figura 2-6 Meccanismo di funzionamento tromboelastometro (ROTEM).



(conta piastrinica <50000 piastrine/ mm^3), ematocrito elevato e fibrinogeno ridotto producono coaguli con qualità relativamente scarsa, caratterizzati da un prolungato tempo di formazione e una ridotta forza del coagulo (condizione indicativa di ipocoagulabilità). Al contrario, ematocrito basso e iperfibrinogenemia tipicamente generano tracciati con tempo di formazione del coagulo ridotto ed elevata resistenza alla trazione, indicativi di una condizione di ipercoagulabilità (Brooks e Catalfamo, 2013).

L'analisi viscoelastica (TEG o ROTEM) deve essere eseguita su sangue intero in provette contenenti anticoagulante come citrato di sodio (al 3,2% o 3,8%), entro 30 minuti dal prelievo. La TEG misura le proprietà fisiche del coagulo attraverso una tazza cilindrica (*cup*) riscaldata a 37 °C che oscilla a cicli di 10 secondi. Un perno (*pin*) è sospeso nella tazza e ne monitora il movimento mediante un filo di torsione a cui è collegato. Quando il coagulo inizia a formarsi, si creano dei filamenti di fibrina tra il perno e la parete interna della tazza che applicano una forza al perno la quale viene trasmessa al filo di torsione e convertita in un segnale elettrico. Quando inizia la lisi del coagulo, i legami tra il perno e il coagulo si rompono con conseguente diminuzione del movimento del perno. Un trasduttore elettrico-meccanico converte le variazioni di trazione esercitate dal coagulo sul perno in un segnale elettrico che viene visualizzato sotto forma di tracciato. Il tromboelastometro (ROTEM) ha un meccanismo di funzionamento simile alla TEG, ma diversamente da quest'ultima la tazza (*cup*) è ferma ed il perno (*pin*) oscilla. Altra differenza tra i due strumenti risiede nel fatto che il tromboelastografo dispone di 2 canali per l'analisi che possono essere utilizzati contemporaneamente per duplicare il campionamento o per l'utilizzo con reagenti diversi, mentre il ROTEM possiede 4 canali utilizzabili simultaneamente. Inoltre, il ROTEM è dotato di una pipetta elettronica che consente di dispensare il campione (McMichael e Smith, 2011). Il TEG utilizza reagenti a base di

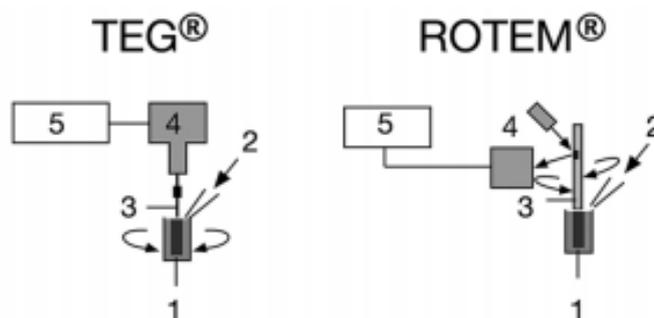


Figura 2-7 Differente meccanismo di funzionamento tra tromboelastografo (a sinistra) e tromboelastometro (a destra) (Thiruvankatarajan *et al.*, 2014).

caolino, eparina e un reagente rapido (r-TEG) che include una miscela di caolino e fattore tissutale; mentre il ROTEM utilizza un attivatore di contatto del fattore tissutale, un reagente che comprende il fattore tissutale e un inibitore piastrinico per la valutazione qualitativa del fibrinogeno, una miscela di fattore tissutale e aprotonina per il rilevamento della fibrinolisi maggiore ed infine un attivatore di contatto con eparinasi per il monitoraggio della terapia con eparina (Kol e Borjesson, 2010).

I tracciati per TEG e ROTEM sono simili, tuttavia è importante notare che la nomenclatura e gli intervalli di riferimento sono diversi per ciascun dispositivo. I parametri ottenuti da questi dispositivi e le loro interpretazioni sono illustrati nella **figura 2-8**.

- ✓ R (*reaction time*) o CT (*clotting time*): rappresenta il tempo, espresso in secondi, che intercorre tra l'inizio del processo coagulativo e la formazione del primo coagulo misurabile (2 mm); valuta l'attività dei fattori VIII, IX, XI e XII della coagulazione (Morris *et al*, 2016).
- ✓ K o CFT (*clot formation time*): rappresenta il tempo, espresso in secondi, affinché il coagulo si ingrandisca da un'ampiezza di 2 mm a quella di 20 mm; riflette l'attivazione delle piastrine e la formazione della fibrina (McMichael e Smith, 2011).

- ✓ Angolo α (*alpha*): è l'angolo formato con la tangente alla curva nel punto in cui viene raggiunto il CFT ed evidenzia la velocità e la cinetica di formazione della fibrina e del suo reticolato (Kol e Borjesson, 2010). I valori K e α non sono specifici e sono associati alla concentrazione e funzionalità piastrinica, al

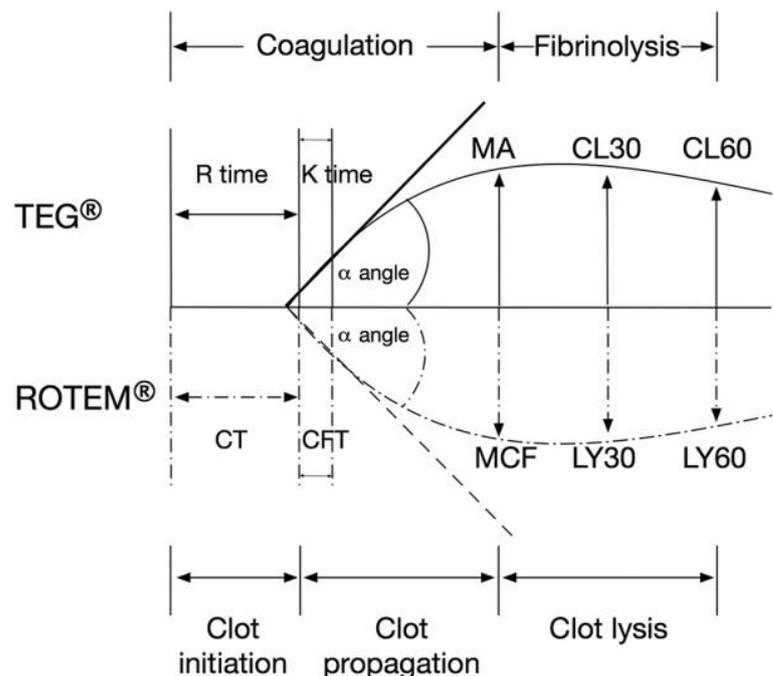


Figura 2-8 Esempio di curva tromboelastografica (sopra) e tromboelastometrica (sotto) (Thiruvekatarajan *et al*, 2014).

fibrinogeno, all'attività dei fattori II e VIII della coagulazione, alla formazione della trombina e all'ematocrito (Morris *et al*, 2016).

- ✓ MA o MCF (*maximum clot firmness*): è la massima ampiezza, espressa in millimetri, raggiunta durante l'analisi e rappresenta la forza massima del coagulo. Tale parametro è influenzato dall'attivazione delle piastrine, dalla formazione della fibrina, dall'ematocrito e dalla funzionalità del fattore XIII della coagulazione (McMichael e Smith, 2011).
- ✓ CL30, CL60 o LY30, LY60: costituiscono gli indici di lisi del coagulo e valutano la percentuale di lisi a 30 o 60 minuti. Alte percentuali di lisi indicano un'aumentata fibrinolisi e contrazione piastrinica (McMichael e Smith, 2011).
- ✓ G (*shear elastic modulus*): rappresenta la coagulazione in toto e dipende solo da MA e perciò risulta influenzato dalle stesse variabili (McMichael e Smith, 2011).

Un parametro calcolato è l'MCE piastrinico (*platelet contribution to maximum clot elasticity*), che valuta il contributo piastrinico all'elasticità del coagulo e si ottiene con il seguente calcolo (Solomon *et al*, 2015):

$$\text{MCE}_{\text{piastrinico}} = \text{MCE}_{\text{extem}} - \text{MCE}_{\text{fibtem}}$$

$$[\text{MCE} = (\text{MCF} * 100) / (100 - \text{MCF})]$$

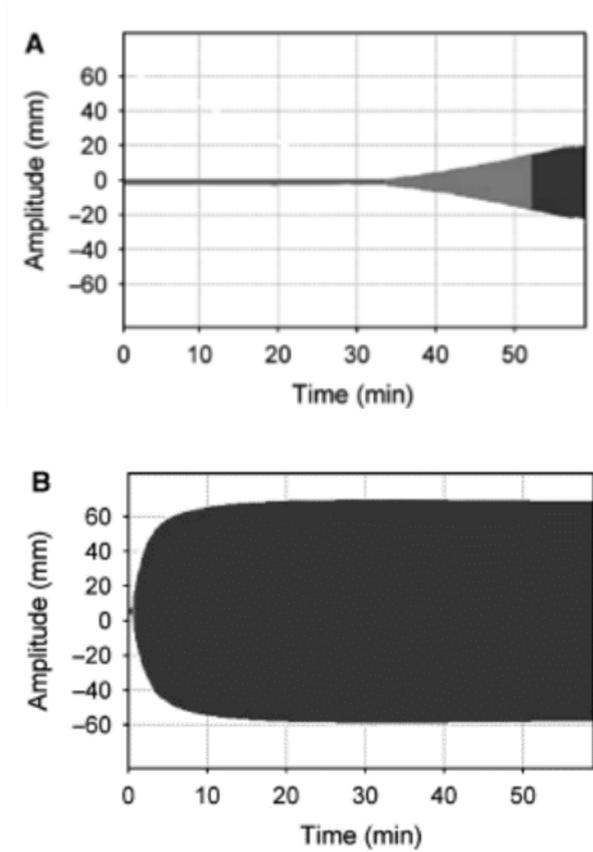


Figura 2-9 Tracciati ROTEM anormali. **(A)** Una condizione di ipocoagulabilità costituita da un prolungamento del tempo di coagulazione (CT) e del tempo di formazione del coagulo (CFT), ma da una riduzione della forza massima del coagulo (MCF). **(B)** Una condizione di ipercoagulabilità costituita da ridotto CT e CFT, aumento dell'angolo α e del MCF (McMichael e Smith, 2011).

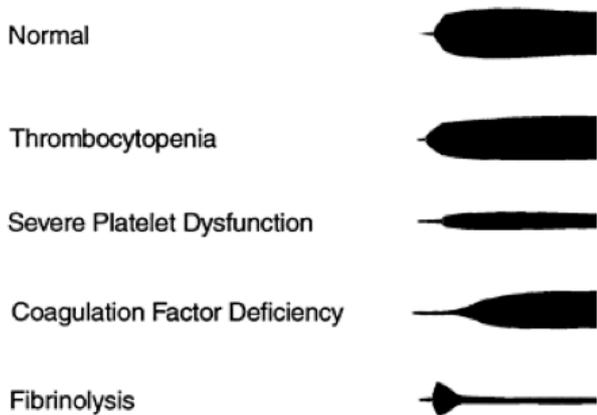


Figura 2-10 Trombocitopenia, farmaci antiplastrinici o disturbi della funzione piastrinica sopprimono l'MCF. Le carenze dei fattori della coagulazione o la terapia con eparina prolungano il CT e il CFT e riducono l'angolo α . La fibrinolisi si evidenzia con un tracciato ristretto che segue la normale coagulazione e si riflette in un aumento della LY30 (*American Society for Clinical Laboratory Science – Indiana*).

2.7.1 Applicazioni test viscoelastici in medicina umana

In medicina umana, TEG e TEM trovano applicabilità nella gestione di pazienti traumatizzati e chirurgici, per il monitoraggio della terapia con eparina e in condizioni di trombofilia. Il tracciato TEG viene utilizzato per valutare l'assetto emostatico e per prevedere i requisiti trasfusionali precoci nei pazienti traumatizzati. La tromboelastografia attivata dal fattore tissutale, commercializzata come *RapidTEG*, viene utilizzata in pronto soccorso come strumento diagnostico precoce nei pazienti traumatizzati con sospetta coagulopatia. Alcuni studi presenti in letteratura hanno evidenziato come sia più sensibile rispetto ai test coagulativi di routine (ad esempio: PT e aPTT) nell'identificare stati ipercoagulabili nei pazienti traumatizzati (Park *et al*, 2009). In uno studio condotto su pazienti sottoposti a intervento di bypass cardiopolmonare, la comparsa di sanguinamento post-operatorio è risultato predittivo in modo più accurato mediante TEG (87%) rispetto ai test coagulativi convenzionali (51%) o all'ACT (30%). La TEG è stata utilizzata per valutare la terapia con FVIIa nei pazienti chirurgici, per monitorare l'emostasi durante trapianto di fegato e chirurgia cardiaca e per limitare l'utilizzo di emocomponenti non necessari (Pivalizza e Escobar, 2008). Inoltre, la TEG si è dimostrata utile nel valutare la necessità di terapia antifibrinolitica in pazienti sottoposti a trapianto di fegato. Il valore MA registrato dalla TEG è risultato predittivo per le complicazioni trombotiche postoperatorie nei pazienti chirurgici (McMichael e Smith, 2011). L'eparinasi è stata utilizzata con la TEG per identificare un'alterazione emostatica in pazienti sottoposti a terapia eparinica (Royston e Kier, 2001). In un altro studio la TEG ha permesso di evidenziare la dissoluzione del coagulo prima che si verificassero cambiamenti nelle concentrazioni plasmatiche di fibrinogeno (McMichael e Smith, 2011).

L'analisi mediante ROTEM ha aiutato la diagnosi precoce di anomalie coagulative nei pazienti traumatizzati (Ruggeri *et al*, 2007). Uno studio ha dimostrato il valore prognostico della tromboelastometria in pronto soccorso e il CFT è risultato essere il parametro con valore predittivo maggiormente negativo anche se gli altri parametri ROTEM risultano normali o difficilmente

associati a disturbi emostatici (Schochl *et al*, 2009). L'analisi ROTEM è stata impiegata per valutare il rischio di sanguinamento nei pazienti sottoposti a bypass cardiopolmonare (Reinhöfer *et al*, 2008). Al di fuori del setting chirurgico, l'analisi mediante ROTEM è stata utilizzata per testare l'assetto coagulativo di soggetti con diabete di tipo II (Yürekli *et al*, 2006). Uno studio su pazienti affetti da neoplasie, ha evidenziato una correlazione significativa tra valori coagulativi standard e risultati ROTEM (Akay *et al*, 2009). La tecnica tromboelastometrica viene anche impiegata per monitorare la terapia con fibrinogeno concentrato nell'ipofibrinogenemia (Kalina *et al*, 2008) e per valutare l'emostasi neonatale (Cvirn *et al*, 2008). In uno studio prospettico di coorte effettuato su pazienti settici, i tracciati ROTEM si sono mostrati utili nel predire l'outcome (Daudel *et al*, 2008) e come guida nell'approccio trasfusionale di pazienti cardiopatici (Reinhöfer *et al*, 2008). Il ROTEM viene utilizzato anche per monitorare la capacità dell'eparina a basso peso molecolare (LMWH) nell'inibire la formazione di coaguli in pazienti sottoposti ad angioplastica e stenting per malattia dell'arteria carotidea (Konstantinidis *et al*, 2007).

2.7.2 Applicazioni test viscoelastici in medicina veterinaria

In medicina veterinaria sono stati riportati i valori normali per la tromboelastografia in animali sani (Wiinberg *et al*, 2005) e, più specificatamente, in levrieri (Vilar *et al*, 2008), cavalli (Epstein *et al*, 2009) e gatti (Marschner *et al*, 2010). In letteratura vi sono anche gli intervalli di riferimento per la TEG attivata da caolino nel cane (Bauer *et al*, 2009). Infine sono stati riportati i risultati TEG nei cani con disturbi emostatici (Wiinberg *et al*, 2009), coagulazione intravasale disseminata (Wiinberg *et al*, 2008), enterite parvovirale (Otto *et al*, 2000), neoplasia (Kristensen *et al*, 2008), anemia emolitica immuno-mediata (IMHA) (Sinnott e Otto, 2009) e per quelli ricoverati nell'unità di terapia intensiva (ICU) (Wagg *et al*, 2009). Negli studi su cani con parvovirus e CID, la tromboelastografia ha identificato una condizione di ipercoagulabilità in entrambe le popolazioni di pazienti. In uno studio su 27 cani ricoverati in ICU confrontati con 31 cani sani, il 52% dei cani malati ha presentato tracciati

TEG anormali. I cani presentanti una condizione d'ipercoagulabilità, hanno mostrato aumenti significativi nelle concentrazioni di D-dimeri e fibrinogeno e sono state identificate correlazioni significative tra MA e la concentrazione di fibrinogeno e tra R e PT (Wagg *et al*, 2009). In una popolazione di levrieri a riposo, tutti i valori eccetto R e CL60 sono risultati significativamente diversi rispetto a quelli riscontrati in cani di altre razze (Vilar *et al*, 2008). I risultati TEG dei levrieri sono risultati indicativi di stati ipocoagulabili e possono spiegare la maggiore tendenza di questa razza a sanguinare dopo interventi chirurgici. I test coagulativi convenzionali (PT, aPTT, ACT e D-dimeri) e la tromboelastografia effettuati su più campioni dello stesso gruppo di cani sono stati confrontati settimanalmente per più di 5 settimane consecutive ed è stato riscontrato un elevato grado di variabilità tra i test coagulativi standard rispetto alle misurazioni TEG (Wiinberg *et al*, 2007). Inoltre, è stata studiata la capacità della TEG attivata dal fattore tissutale di identificare le alterazioni emostatiche nel sangue intero di cani sottoposti a terapie anticoagulanti con dosaggi differenti di eparina a basso peso molecolare (LMWH); tale tecnica è risultata promettente nella valutazione clinica del dosaggio di LMWH (Jessen *et al*, 2008). L'effetto di LMWH sull'emostasi è stato riportato anche sui gatti valutati mediante TEG (Alwood *et al*, 2007).

L'analisi ROTEM è stata validata su campioni di sangue citrato di cavalli al fine di stabilire gli intervalli di riferimento (Junge *et al*, 2016). Inoltre è stata validata anche su campioni di sangue citrato o sangue intero di cane utilizzando i reagenti INTEM ed EXTEM; nel 2012 Falco *et al* hanno ricercato gli intervalli di riferimento della tromboelastometria per il cane nella casistica della loro struttura, al fine di valutare in un secondo momento gli effetti in vitro indotti dell'emodiluizione con HES 130/0,4 (Falco *et al*, 2012). Ad oggi tale tecnologia si sta applicando ad altre specie animali e in popolazioni con diverse patologie (McMichael e Smith, 2011).

2.7.3 Vantaggi dei test viscoelastici

Gli strumenti viscoelastici offrono diversi vantaggi tra cui: la valutazione su sangue intero senza necessità di processazione del campione, tempi rapidi nella risposta in quanto la maggior parte delle informazioni pertinenti sono disponibili entro 30 minuti e la capacità di rilevare condizioni di ipercoagulabilità. Il vantaggio maggiore però è dato dalla possibilità di valutare il contributo della componente cellulare, oltre a quella plasmatica, nell'emostasi; tale aspetto è probabilmente molto più rilevante dal punto di vista clinico rispetto ai test coagulativi di routine che valutano solo i componenti della porzione plasmatica (McMichael e Smith, 2011).

2.7.4 Limiti dei test viscoelastici

Le caratteristiche del campione analizzato insieme ad altri additivi impattano in maniera importante sull'interpretazione dei risultati. Interpretare i risultati della TEG senza considerare le caratteristiche e le procedure di processazione del campione o l'impiego degli attivatori della coagulazione che potrebbero influire sui risultati è paragonabile a riportare i risultati dei test coagulativi senza specificare quale test è stato effettuato (McMichael e Smith, 2011). Inoltre, le variazioni dell'ematocrito influenzano i risultati dei test viscoelastici perchè con valori di HCT aumentato o ridotto si ottengono tracciati che indicano rispettivamente stati ipocoagulabili o ipercoagulabili (McMichael *et al*, 2016). Tali effetti sono stati riportati sia in studi su diluizioni in vitro che in vivo su animali con anemia o eritrocitosi, ma rimane ignoto se questo sia conseguente all'effetto in vivo della massa eritrocitaria sull'emostasi o semplicemente un artefatto della tecnica viscoelastica. Gli strumenti adottati per la valutazione dell'emostasi su sangue intero richiedono un volume ematico definito, ma differenze ampie nell'ematocrito comportano variazioni importanti nel volume plasmatico caricato nella tazza, con un marcato impatto sulla quantità totale di proteine della coagulazione valutate nel test. Pertanto, l'HCT è un importante fattore da tenere presente

nell'interpretazione dei risultati dei test viscoelastici. I cani affetti da IMHA, neoplasie o malattie croniche sono spesso anemici per cui questi soggetti sono caratterizzati da uno stato ipercoagulabile all'analisi TEG. Infine i test viscoelastici sono stati progettati per essere eseguiti entro pochi minuti dal prelievo su sangue intero e non processato (McMichael e Smith, 2011).

2.8 Alterazioni emostatiche associate all'utilizzo di soluzioni cristalloidali e colloidali sintetiche

L'impatto sulla coagulazione esercitato dalle soluzioni cristalloidali è dovuto principalmente alla diluizione dei fattori della coagulazione e alla riduzione della viscosità ematica (Cotton *et al*, 2006). Le soluzioni colloidali interferiscono con i fisiologici meccanismi dell'emostasi, in parte tramite un effetto aspecifico legato al grado di emodiluzione, ma in parte tramite l'effetto esercitato sulla funzionalità piastrinica, sulle proteine della coagulazione e sul sistema della fibrinolisi (Ekseth *et al*, 2002; Mortier *et al*, 1997). In medicina umana sono stati condotti numerosi studi sull'impatto delle soluzioni cristalloidali e colloidali riguardo l'emostasi, con l'evidenza di effetti diversi a seconda del tipo di fluido utilizzato; in medicina veterinaria la letteratura al riguardo è ancora carente. Ad oggi, gli studi condotti in vitro al fine di comprendere se le alterazioni riscontrate in umana siano le stesse anche in veterinaria, risultano esigui e quelli effettuati in vivo sono ancora meno numerosi.

2.8.1 Studi condotti in medicina umana

Tra gli studi sulle soluzioni colloidali, una review del 2001 si è prefissata come obiettivo quello di confrontare gli effetti di diverse soluzioni colloidali sull'emostasi e sulla perdita ematica postoperatoria in base ai dati forniti dagli articoli pubblicati su tale argomento. In conclusione, si evince che tutte le soluzioni colloidali sintetiche (destrano, gelatina e amido idrossietilico) possono indurre una diminuzione specifica del fattore di von Willebrand e del fattore VIII della coagulazione.

L'emostasi risulta più compromessa in caso di utilizzo di destrano e amido idrossietilico ad alto peso molecolare, entrambi associati anche ad una maggiore perdita ematica postoperatoria. Gli effetti di HES sulla coagulazione risultano dipendere dal suo peso molecolare e dal suo tasso di sostituzione. Si sono riscontrati effetti avversi nell'impiego di HES ad alto peso molecolare, mentre quelli a peso molecolare medio (MMW) con alto grado di sostituzione (HES 200/0,62) ed elevato rapporto di idrossietilazione C2/C6 (HES 200/0,5/13) sono lentamente degradabili e alterano la coagulazione solo dopo ripetute somministrazioni. L'HES 200/0,5/6 è rapidamente degradabile e le gelatine sembrano non compromettere l'emostasi. Tuttavia, sulla base della letteratura revisionata, tutti i colloidi artificiali potrebbero potenzialmente indurre una maggiore tendenza al sanguinamento dopo l'infusione di elevati volumi, specialmente se somministrati in pazienti con forme lievi di malattia di von Willebrand. In tali circostanze, è consigliato prendere in considerazione soluzioni alternative come i cristalloidi, il plasma o l'albumina (DeJonge & Levi, 2001).

I destrani provocano importanti effetti sulla coagulazione; l'esecuzione di test viscoelastici hanno evidenziato un'inibizione delle interazioni trombina-fibrinogeno che comportano un'alterazione nella formazione del coagulo di fibrina. I destrani comportano anche l'alterazione della funzionalità piastrinica andando ad impattare sulla reattività di quest'ultime o sulle glicoproteine IIb-IIIa (localizzate sulla superficie piastrinica e con funzione di legare il fibrinogeno) (DeJonge & Levi, 2001). Infine, è stato dimostrato che i destrani esercitano la loro influenza anche sul fattore di von Willebrand e sul fattore VIII della coagulazione, con effetto direttamente proporzionale al loro peso molecolare (Battle *et al*, 1985).

Le soluzioni a base di gelatina vengono spesso somministrate nella pratica clinica, ma non è noto se la somministrazione combinata di colloidi e/o cristalloidi influenzi l'emostasi. Uno studio ha diluito il sangue del 20%, 40% e 60% con Ringer lattato (RL), gelatina (Gelofusina[®]), 6% HES 130/0,4 (Voluven[®]) e 6% HES 200/0,5 (IsoHes[®]), nonché con combinazioni di queste soluzioni in rapporto 1:1 (gelatina:RL; 6% HES 130/0,4:RL; 6% HES 200/0,5:RL; 6% HES 130/0,4:gelatina; 6% HES

200/0,5:gelatina). In seguito, l'emostasi è stata valutata mediante tromboelastografia (ROTEG) misurando il tempo di coagulazione (CT), il tempo di formazione del coagulo (CFT) e la massima forza del coagulo (MA). Da quest'analisi si è evinto che RL possiede il minor impatto sull'emostasi e che la gelatina somministrata da sola ha compromesso la coagulazione in misura significativamente inferiore rispetto alla somministrazione da solo di ciascun HES di peso molecolare medio. In conclusione, le soluzioni colloidali a base di gelatina combinata con 6% HES 200/0,5 o 6% HES 130/0,4 comportano una tendenza all'ipocoagulabilità inferiore rispetto a 6% HES 200/0,5 o 6% HES 130/0,4 somministrati da soli (Fries *et al*, 2002).

L'impatto sulla coagulazione degli amidi idrossietilici viene studiato da diverso tempo; già nel 1997 si è evidenziato come i colloidi sintetici siano implicati come causa di coagulopatia quando somministrati in grandi quantità. Uno studio ha misurato l'effetto in vitro di un'importante emodiluzione (50%) sull'emostasi valutata mediante tromboelastografia. I campioni di sangue sono stati prelevati da 11 pazienti di grado ASA 1 prima dell'induzione dell'anestesia per chirurgia elettiva. Ogni campione è stato simultaneamente testato con quattro preparati diversi: sangue non diluito (campione di controllo), sangue diluito con amido idrossietilico 6%, sangue diluito con gelatina fluida modificata 4%, sangue diluito con destrano 40 10%. I risultati hanno evidenziato una diminuzione significativa del tempo di reazione (RT, *reaction time*) nelle preparazioni trattate con amido idrossietilico 6% e gelatina fluida modificata 4%, che riflette l'attivazione della formazione iniziale di fibrina. Inoltre, è stato osservato un significativo aumento del tempo di formazione del coagulo (CFT, *clot formation time*) nelle preparazioni trattate con 6% di amido idrossietilico, con una significativa diminuzione della velocità di formazione del coagulo e dell'ampiezza massima (MA, *maximum amplitude*) nel campione diluito con amido idrossietilico al 6%. Il tempo di formazione del coagulo, la velocità di formazione del coagulo e l'ampiezza massima non sono cambiati nel campione diluito con gelatina fluida modificata al 4% (Mortier *et al*, 1997).

Nel 2002, Strauss *et al* hanno valutato le caratteristiche e l'impatto emostatico di *hetastarch* e *pentastarch* concludendo che le conseguenze sulla coagulazione non sono le medesime in quanto essi possiedono peso molecolare differente; nello specifico, *pentastarch* con peso molecolare basso viene metabolizzato più rapidamente dell'*hetastarch* (che possiede peso molecolare maggiore) per cui il primo determina delle alterazioni emostatiche meno significative rispetto al secondo. Per questo motivo, gli autori consigliano di preferire l'utilizzo del *pentastarch*. Le alterazioni emostatiche riscontrate hanno riguardato un aumento della tromboplastina parziale, un calo del fattore di von Willebrand e del fattore VIII della coagulazione (Strauss *et al*, 2002).

Sempre nel 2002, uno studio *in vitro* ha misurato l'impatto dell'emodiluizione da lieve a grave mediante l'uso della trombelastografia. Sono stati prelevati campioni ematici da 12 volontari sani e suddivisi in sette aliquote. Un' aliquota non è stata diluita ed è stata impiegata come controllo; le altre sei sono state diluite con soluzione salina 0,9%, Ringer acetato, albumina al 4%, destrano 70, 6% e 10% di HES alla diluizione del 10%, 20%, 40%, 50% e 60%. Nelle diluizioni basse e medie di tutte le soluzioni testate è stata riscontrata un'aumentata attività della coagulazione. Per i cristalloidi e l'albumina, la diluizione ha dovuto superare il 50% prima che la coagulazione fosse alterata, mentre si è sviluppata una coagulopatia con l'utilizzo di destrano e HES a diluizioni inferiori (Ekseth *et al*, 2002).

Una review del 2004 ha valutato il grado di sicurezza nell'utilizzo di colloidali evidenziando la comparsa di effetti avversi basati sul confronto di studi controllati, studi di coorte, studi di farmacovigilanza e meta-analisi. Dalle conclusioni degli autori si evince che la somministrazione di colloidali artificiali è associata a coagulopatia e sanguinamento clinicamente evidente, ma più frequentemente nei pazienti sottoposti a chirurgia cardiaca e trattati con amido idrossietilico (Barron *et al*, 2004).

L'impatto sulla coagulazione data dai colloidali sintetici è stato valutato anche in campo pediatrico umano, ma i dati disponibili nei bambini sono inconcludenti per il 6% HES 130/0,4 e non esistono

dati per le soluzioni a base di gelatina. In uno studio, che ha preso in considerazione un totale di 42 bambini (3-15 kg) sottoposti a intervento chirurgico e assegnati in modo casuale a ricevere 15 ml/kg di soluzione a base di gelatina al 5% o soluzione di albumina al 4% o soluzione di amido idrossietilico 130/0,4 al 6%, sono stati eseguiti test coagulativi di routine e valutazione tromboelastometrica (ROTEM). Successivamente alla somministrazione del colloide, i risultati dei test coagulativi di routine sono cambiati in modo significativo e sono risultati comparabili in tutti i gruppi, sebbene i valori temporali di tromboplastina parziale attivata (aPTT) siano aumentati maggiormente nel gruppo trattato con gelatina e HES. I tempi di coagulazione sono rimasti invariati nei bambini che hanno ricevuto albumina o gelatina, ma i valori ottenuti dal ROTEM sono risultati significativamente alterati in tutti i gruppi. In seguito alla somministrazione di soluzione colloidale a base di gelatina o di albumina, il valore mediano della consistenza del coagulo si è ridotto significativamente, ma rimane nell'intervallo di riferimento. Conseguentemente alla somministrazione di HES, il tempo di coagulazione (CT) è aumentato significativamente e il tempo di formazione del coagulo (CFT), l'angolo alfa (α), la forza massima del coagulo (MCF) e la polimerizzazione del fibrinogeno/fibrina sono risultati compromessi in maniera significativa in misura maggiore rispetto all'albumina o alla gelatina, raggiungendo valori mediani al di sotto dell'intervallo di riferimento (Haas *et al*, 2007).

Un altro studio ha confrontato in vitro gli effetti dell'emodiluzione sull'emostasi con una soluzione bilanciata al 6% di HES 130/0,42 (HES_{BAL}), una soluzione salina al 6% di HES 130/4 (HES_{SAL}), una soluzione di Ringer lattato bilanciato (RL) e una soluzione salina al 4% di gelatina (GEL). I campioni ematici sono stati ottenuti da 10 volontari maschi sani e diluiti con le soluzioni di prova del 33% e 66%. La qualità della formazione del coagulo è stata misurata usando due test viscoelastici: SONOCLOT™ e ROTEM™. Dei 16 parametri misurati dai dispositivi viscoelastici, sono state rilevate 3 differenze statisticamente significative rispetto al basale per RL, ma 11 per GEL, 10 per HES_{SAL} e 11 per HES_{BAL} nel gruppo con emodiluzione al 33% (P=0,01). Confrontando le diverse soluzioni, si evince una differenza statisticamente significativa tra cristalloidi e colloidali, ma nessuna tra GEL e HES. Nel gruppo con diluizione del 66%, gli effetti sulla coagulazione sono aumentati

rispetto al gruppo con diluizione del 33%; mentre non sono state riscontrate differenze tra prodotti HES bilanciati e non bilanciati e nel riscontro dell'alterazione della coagulazione dovuta all'emodiluizione tra i due test viscoelastici. Gli autori concludono che sia ROTEM™ che SONOCLOT™ sono test sensibili nel rilevare alterazioni dell'emostasi dovute all'emodiluizione e che l'impatto sulla coagulazione è inferiore con l'utilizzo di cristalloidi rispetto ai colloidali, mentre gli effetti di GEL e HES sono simili. Infine, non è stata riscontrata nessuna differenza tra HES 130/0,42 bilanciato e HES 130/0,4 non bilanciato (Casutt *et al*, 2010).

Ulteriori studi in vitro hanno confermato quanto visto fino ad ora; in particolare valutando l'effetto dell'emodiluizione di diverse soluzioni colloidali si è osservato come le alterazioni emostatiche causate dall'emodiluizione siano multifattoriali e interessano sia la componente cellulare che plasmatica della coagulazione. L'HES 130/0,4 possiede l'effetto più deleterio sui parametri emostatici. L'impiego di concentrati dei fattori della coagulazione non ha migliorato l'interazione piastrinica, ma ha mostrato effetti favorevoli sull'emostasi misurata mediante TEM. Il fibrinogeno ha migliorato in particolare i parametri TEM senza aumentare la produzione di trombina, suggerendo che questo concentrato può aiutare a preservare le capacità coagulative durante l'emodiluizione senza aumentare il rischio protrombotico (Caballo *et al*, 2013). La coagulopatia indotta in vitro da soluzioni colloidali a base di gelatina è risultata reversibile in misura significativamente maggiore rispetto alla coagulopatia indotta da HES (Kind *et al*, 2013).

Tra gli studi in vivo sull'impatto emostatico delle soluzioni colloidali, nel 2014 Skhirtladze *et al* hanno assegnato, in maniera randomizzata, 240 pazienti sottoposti a chirurgia cardiaca elettiva a ricevere fino a 50 ml/kg/giorno di albumina umana (HA, *human albumin*), amido idrossietilico (HES) o Ringer lattato (RL) come fluido di infusione principale nel periodo perioperatorio. L'outcome primario è stato l'applicazione di un drenaggio toracico per 24 ore, ma sono state valutate anche le trasfusioni ematiche, le variabili tromboelastometriche, il bilancio idrico nel periodo perioperatorio, la funzionalità renale, la mortalità, l'unità di terapia intensiva e la degenza ospedaliera. La mediana

della perdita ematica complessiva non era diversa tra i gruppi (HA: 835 ml, HES: 700 ml e RL: 670 ml). Tuttavia, il 35% dei pazienti con RL ha richiesto trasfusione ematica rispetto al 62% nel gruppo HA e al 64% nel gruppo HES. Il bilancio idrico totale nel periodo perioperatorio è risultato meno positivo nel gruppo HA [6,2 (2,5) litri] rispetto ai gruppi HES [7,4 (3,0) litri] e RL [8,3 (2,8) litri] ($P=0,0001$). Entrambe le soluzioni colloidali hanno influenzato la coagulazione (in particolare la forza del coagulo) e hanno causato lievi aumenti della creatinina sierica. In conclusione gli autori hanno evidenziato che, nonostante la stessa perdita ematica dai drenaggi toracici, l'infusione di entrambe le soluzioni colloidali hanno impattato sull'emostasi inducendo una maggiore emodiluzione, che è risultata associata a una maggiore necessità di trasfusione di prodotti ematici rispetto al solo utilizzo di cristalloidi (Skhirtladze *et al*, 2014).

Un trial clinico randomizzato, ha valutato se la somministrazione di amido idrossietilico 130/0,4 influisse sull'emostasi comportando perdita ematica perioperatoria. In questo studio, in maniera randomizzata, 16 pazienti hanno ricevuto una soluzione di Ringer lattato e 17 hanno ricevuto HES 130/0,4. Nei pazienti trattati con HES 130/0,4, la trombelastografia ha indicato una riduzione della forza del coagulo e la valutazione della perdita ematica perioperatoria era 2,2 litri contro 1,4 litri nei pazienti trattati rispettivamente con HES 130/0,4 o Ringer lattato. I pazienti nel gruppo Ringer lattato, tuttavia, hanno ricevuto un'infusione quantitativamente superiore rispetto a quelli nel gruppo HES 130/0,4. Non vi è stata alcuna differenza significativa tra i 2 gruppi per quanto riguarda la frequenza di reinterventi o la durata della degenza ospedaliera, ma l'impiego di HES 130/0,4 è risultato sia più costoso che meno efficace rispetto all'utilizzo del solo Ringer lattato. Gli autori concludono che la somministrazione di HES 130/0,4 ha ridotto la forza del coagulo e che l'emorragia perioperatoria è aumentata di oltre il 50%, mentre la somministrazione di soluzione cristalloidale (Ringer lattato) ha comportato un bilancio idrico positivo 2,5 volte maggiore a fine intervento (Rasmussen *et al*, 2014).

Schramko *et al*, comparando l'utilizzo di Ringer acetato e amido idrossietilico 6% in 50 pazienti, non hanno rilevato differenze nella valutazione dei parametri coagulativi misurati tramite ROTEM, ma

hanno evidenziato una maggiore necessità di utilizzo di emoderivati con l'infusione di colloidi sintetici (Schramko *et al*, 2015).

Una review del 2015 ha indagato se gli effetti collaterali della fluidoterapia sono clinicamente rilevanti nei pazienti (con e senza manifestazioni emorragiche) e se la coagulopatia indotta dalla fluidoterapia è un fattore di rischio per l'anemia, la trasfusione ematica e la mortalità. Il rischio dose-dipendente della coagulopatia diluizionale varia tra le diverse soluzioni colloidali (destrano>hetastarch>pentastarch>tetrastarch>gelatine>albumina). Mediante tromboelastometria rotazionale (ROTEM) o trombelastografia (TEG), è possibile valutare il deterioramento non solo della forza del coagulo ma anche dell'interazione piastrinica. La somministrazione di fibrinogeno concentrato può essere considerata in caso di sanguinamento grave indotto da una rilevante coagulopatia diluizionale. L'infusione di dosi mirate di gelatina e *tetrastarch* sembrano non avere alcun effetto avverso sull'anemia e sulle trasfusioni di sangue allogenico (Kozek-Langenecker, 2015).

Una recente review condotta da Bignami *et al* ha preso in considerazione 14 lavori pubblicati negli anni tra il 2006 e il 2016 con il fine di valutare il ruolo esercitato da cristalloidi e colloidi sul processo emostatico in pazienti sottoposti a diverse tipologie di chirurgie cardiache. Tale studio conclude che non esiste un'evidenza significativa che preveda di non utilizzare i colloidi in corso di chirurgie cardiache per quanto riguarda il rischio di coagulopatie e danno renale (Bignami *et al*, 2017).

Sempre nel 2017, uno studio con lo scopo di identificare, mediante tromboelastometria, se la salina ipertonica 3% e il mannitolo (20%) potevano influenzare la coagulazione, in pazienti con trauma cranico moderato (TBI), ha concluso che l'utilizzo di salina ipertonica al 3% e mannitolo al 20%, per il controllo dell'ipertensione intracranica, non ha effetti significativi sull'emostasi. Pertanto, la soluzione iperosmotica è sicura e non aumenta il rischio di risanguinamento intracranico (Wang *et al*, 2017).

Infine l'ultima review condotta in questo ambito per conto della *Cochrane*, ha valutato l'effetto dell'impiego di soluzioni colloidali rispetto ai cristalloidi nel paziente critico che richiede

rianimazione fluida, trasfusione ematica o terapia sostitutiva renale (RRT) e le eventuali reazioni avverse (in particolare: reazioni allergiche, prurito, eruzioni cutanee). L'utilizzo di amidi, destrani, albumina, plasma fresco congelato o gelatine, rispetto ai cristalloidi incide in maniera quasi nulla sulla mortalità. Gli amidi aumentano leggermente la necessità di trasfusioni ematiche e di trapianti renali, mentre l'albumina o il plasma fresco congelato non incidono sulla necessità di terapia sostitutiva renale (Lewis *et al*, 2018).

2.8.2 Studi condotti in medicina veterinaria

In medicina veterinaria gli studi riguardanti tale argomento risultano più esigui e la maggior parte sono costituiti da test condotti in vitro. Nel 2012 Falco *et al* hanno valutato l'impatto emostatico in vitro dell'emodiluzione su sangue canino sia con amido idrossietilico a basso peso molecolare (HES 130/0,4) che con soluzione salina (NaCl) allo 0,9%, entrambe in due diluizioni standard (1:4 e 1:10), mediante l'uso della tromboelastometria. In tale studio non sono state osservate differenze statisticamente significative tra i valori TEM dei campioni di controllo e i campioni diluiti con soluzione salina (rapporto 1:10 e 1:4); al contrario, è stata osservata una tendenza all'ipocoagulabilità nei campioni trattati con HES 130/0,4 con effetti più gravi nella diluizione 1:4 rispetto alla diluizione 1:10. Le alterazioni hanno riguardato principalmente il tempo di inizio coagulazione (CT) e il tempo di formazione del coagulo (CFT). Gli autori concludono che la diluizione di sangue canino con HES 130/0,4 provoca un pattern tromboelastometrico indicativo di ipocoagulabilità e questo effetto sembra derivare da un'alterazione dose-dipendente nella concentrazione di fibrinogeno e dall'inibizione della funzionalità piastrinica (Falco *et al*, 2012).

Uno studio condotto su animali in vivo ha valutato l'effetto di un singolo bolo per via endovenosa di soluzione cristalloidale o colloidale sull'emostasi, mediante l'utilizzo della tromboelastometria rotazionale (ROTEM[®]) su 32 suinetti anestetizzati a cui è stato infuso in maniera randomizzata (n=8

per gruppo) un bolo a 20 ml/Kg di soluzione salina (NS), 4% gelatina, 5% albumina o 6% HES 130/0,4 in un periodo di tempo di 2 minuti. La coagulazione è stata valutata 1 minuto prima e 1 minuto dopo la somministrazione dei fluidi. Dai risultati, è stato osservato che tutti i fluidi causano un significativo indebolimento della forza del coagulo; l'HES e la gelatina hanno mostrato un impatto significativamente maggiore sul tempo di formazione del coagulo e nella massima forza del coagulo rispetto all'albumina e alla soluzione salina. La compromissione della polimerizzazione della fibrina è risultata più marcata dopo la somministrazione di HES rispetto a tutti gli altri fluidi. In conclusione, dopo un moderato ma rapido aumento della volemia, le soluzioni colloidali HES e gelatina compromettono la coagulazione in misura maggiore rispetto all'albumina o alla soluzione salina, mentre non sono state evidenziate differenze statisticamente significative tra i due colloidali artificiali (Mauch *et al*, 2012).

Un altro studio, condotto in vivo sempre su suini, ha valutato se in caso di trauma cranico e shock emorragico la rianimazione con soluzione salina (NS), colloidali (*Hextend* [HEX]) e plasma fresco congelato (FFP) è associata a effetti differenti sulla coagulazione. In conclusione, la rianimazione con NS è associata ad una precoce attivazione della coagulazione, della terapia anticoagulante naturale e dei sistemi endoteliali, rispetto a HEX e FFP (Dekker *et al*, 2014).

Al fine di valutare l'impatto emostatico dell'*hetastarch* 670/0,75 conseguente alla sua somministrazione in infusione continua (CRI, *constant rate infusion*) sulla funzionalità piastrinica del cane e sulla comparsa di sanguinamenti clinicamente evidenti, Helmbold *et al* hanno sottoposto 8 cani in CRI a 1 ml/kg/h e 2 ml/kg/h per 24 ore con questo colloide. La funzionalità piastrinica e il tempo di chiusura piastrinica (CT, *closure time*) sono stati valutati mediante un analizzatore con cartucce di collagene adenosina difosfato (ADP, *adenosine diphosphate*). Le misurazioni del CT sono state eseguite all'inizio dell'infusione di *hetastarch* e 6, 12 e 24 ore dopo. Tale studio ha evidenziato che l'*hetastarch* 670/0,75 quando utilizzato in CRI a 1 e 2 ml/kg/h per 24 ore, prolunga il CT in cani

sani a 6, 12 e 24 ore. Il valore mediano di CT ha superato l'intervallo di riferimento solo dopo 24 ore a 2 ml/kg/h (Helmbold *et al*, 2014).

L'impatto sull'emostasi da parte dei colloidi sintetici è stata studiata anche in corso di patologie che possono indurre una risposta infiammatoria sistemica (SIRS). A questo scopo 16 beagle sono stati randomizzati in 2 gruppi sottoposti a rianimazione fluida con 40 ml/kg IV di NaCl 0,9% o *tetrastarch* dopo somministrazione di lipopolisaccaride (LPS) o un uguale volume di placebo. In seguito ad un periodo washout di 14 giorni, lo studio è stato ripetuto in modo tale che i cani ricevessero il trattamento opposto (LPS o placebo), ma la stessa rianimazione fluida. I campioni di sangue sono stati raccolti a 0, 1, 2, 4 e 24 ore dalla rianimazione fluida per la misurazione delle variabili coagulative. La somministrazione in bolo di *tetrastarch* in cani con SIRS ha provocato un'ipocoagulabilità transitoria caratterizzata da un prolungamento del tempo di tromboplastina parziale attivata, una ridotta velocità e forza di formazione del coagulo e una malattia di von Willebrand acquisita di tipo 1 (Gauthier *et al*, 2015).

Un altro studio si è prefissato come scopo quello di confrontare gli effetti in vitro sull'emostasi e sulla funzionalità piastrinica di due soluzioni cristalloidali (mannitolo al 20% e ipertonica salina al 3%) su sangue intero di 15 cani sani, diluito con soluzione salina 0,9%, mannitolo 20% e ipertonica salina 3% in rapporti di 1:16 e 1:8. I risultati ottenuti hanno mostrato che sia il mannitolo che la soluzione ipertonica influenzano la funzionalità piastrinica e la coagulazione in modo dose-dipendente. Gli effetti più pronunciati sono stati osservati dopo diluizioni elevate con mannitolo, che ha comportato riduzione dell'aggregazione piastrinica, del tempo di formazione del coagulo, della forza del coagulo e della formazione di fibrina in modo significativamente maggiore rispetto alla soluzione ipertonica (Adamik *et al*, 2015).

Nello stesso anno, uno studio in vitro su sangue canino ha valutato gli effetti emostatici indotti dalle soluzioni ipertoniche e dai colloidi confrontati con la soluzione salina. A tale scopo sono stati inclusi 21 cani adulti, i cui campioni ematici sono stati diluiti con: soluzione salina, soluzione salina

ipertonica al 7,2% insieme ad amido idrossietilico al 6% con peso molecolare medio di 200 kDa e sostituzione molare di 0,4 (HH), soluzione salina ipertonica 7,2% (HS), amido idrossietilico (HES) 130/0,4 o amido idrossietilico 600/0,75 con rapporti di 1:22 e 1:9, soluzione salina insieme a HES in rapporto 1:3. La coagulazione è stata analizzata utilizzando la tromboelastometria rotazionale e la funzionalità piastrinica è stata valutata mediante un analizzatore piastrinico (CT_{PFA} , *closure time*). Dai risultati si evince che le soluzioni ipertoniche influenzano la funzionalità piastrinica e l'emostasi in misura maggiore rispetto alla soluzione salina e all'HES. Nelle diluizioni elevate, l'HES influenza significativamente la coagulazione, ma in misura non superiore rispetto alla soluzione fisiologica a diluizioni clinicamente rilevanti (Wurlod *et al*, 2015).

Nel 2016 Albrecht *et al* hanno valutato gli effetti in vitro dell'emodiluizione con Ringer acetato e 6% HES 130/0,42 su 24 campioni di sangue intero felino mediante tromboelastometria rotazionale. L'emodiluizione in vitro del sangue felino con HES causa una piccola, ma significativa compromissione dell'emostasi, con un effetto significativamente maggiore sulla coagulazione rispetto al Ringer acetato (Albrecht *et al*, 2016).

Uno studio simile è stato condotto su 6 cani, con lo scopo di valutare gli effetti dell'emodiluizione in vitro di Ringer lattato (LRS), *hetastarch* (HES) e plasma fresco congelato (FFP) sulla coagulazione utilizzando la tromboelastografia attivata da caolino. Anche in questo caso l'emodiluizione in vitro su sangue intero con LRS e HES ma non con FFP ha prodotto effetti significativi sulla coagulazione, con effetto più marcato da parte di HES (Morris *et al*, 2016).

Un recente studio in vitro ha valutato l'emostasi primaria e secondaria in seguito alla diluizione di sangue intero canino con amido idrossietilico (HES) 130/0,4 e HES 670/0,75, evidenziando che l'emodiluizione con soluzioni colloidali sintetiche comporta alterazioni nell'emostasi primaria e secondaria a differenza di quanto succede con la soluzione cristalloidale, ma non sono state evidenziate differenze tra le due diverse soluzioni HES (Griego-Valles *et al*, 2017).

Un altro studio condotto da Yozova *et al*, ha confrontato gli effetti emostatici di mannitolo 20% e salina ipertonica 7,2% su sangue intero mediante tromboelastometria rotazionale (ROTEM®) e analizzatore della funzionalità piastrinica (PFA®) in 30 cani con sospetta ipertensione intracranica. Gli autori concludono che l'utilizzo delle dosi attualmente raccomandate di mannitolo e salina ipertonica non differiscono nei loro effetti sulla coagulazione e sulla funzionalità piastrinica nei cani con sospetta ipertensione intracranica. Inoltre, non è stata rilevata alcuna compromissione significativa della coagulazione su sangue intero dopo il trattamento con entrambe le soluzioni, ma al contrario è stata riscontrata una compromissione della funzionalità piastrinica di breve durata (Yozova *et al*, 2017).

Nello stesso anno, Reuteler *et al* hanno valutato gli effetti dell'amido idrossietilico al 6% (130/0,42) in soluzione tampone con elettrolitica bilanciata (HES-BAL) o salina (HES-SAL) sulla funzionalità piastrinica e sulla coagulazione di 37 cani sottoposti ad anestesia generale per artroscopia o studi di imaging. I cani hanno ricevuto un bolo endovenoso a 15 ml/kg di HES-SAL (n=13), HES-BAL (n=14) o una soluzione modificata di Ringer (n=10) nell'arco di 30-40 minuti. L'emostasi è stata indagata utilizzando un analizzatore automatico della funzionalità piastrinica e la tromboelastometria. I campioni sono stati analizzati prima della somministrazione di fluidi (T0), 5 minuti (T1) e 3 ore (T2) dopo la somministrazione del bolo. Dai risultati ottenuti si evince che la somministrazione di un singolo bolo a 15 ml/kg di 6% HES 130/0,42 determina nel cane una compromissione significativa, ma di breve durata della funzionalità piastrinica e della coagulazione (Reuteler *et al*, 2017).

Tra gli studi più recenti, quello di Seshia *et al*, si è prefissato lo scopo di determinare se la fluidoterapia rianimatoria influisce sull'emostasi, mediante analisi tromboelastometrica. A tale fine sono stati inclusi 6 cani sani a cui è stata somministrata per via endovenosa in maniera randomizzata soluzione colloidale, cristalloidale e salina ipertonica a dosi terapeutiche. I prelievi ematici sono stati effettuati nell'immediato post-trattamento e dopo 1, 4 e 8 ore dall'infusione. In conclusione, dosi clinicamente rilevanti di fluidi somministrati durante la rianimazione hanno determinato una

riduzione della forza del coagulo nella via intrinseca, misurata mediante ROTEM, ma le alterazioni riportate in questo studio non dovrebbero però comportare un sanguinamento clinicamente evidente (Seshia *et al*, 2018).

Infine, un altro studio recente si è posto come obiettivo principale quello di valutare mediante la tromboelastometria gli effetti dell'amido idrossietilico 130/0,4 somministrato a velocità costante di infusione di 1 ml/kg/h o 2 ml/kg/h per 24 ore sull'emostasi di 20 cani ipoalbuminemici (albumina <2 g/dl). I prelievi ematici sono stati effettuati prima dell'infusione (T0) e dopo 24 ore dall'inizio dell'infusione (T1); l'assetto emostatico è stato valutato mediante test coagulativi di routine (tempo di protrombina, tempo di tromboplastina parziale attivato e fibrinogeno) e analisi ROTEM (in-TEM[®], ex-TEM[®] e fib-TEM[®]). I risultati suggeriscono che HES 130/0,4 somministrato in CRI non comporta ipocoagulabilità nei cani ipoalbuminemici (Botto *et al*, 2018).

CAPITOLO III

Dilatazione/torsione gastrica

3.1 Introduzione

Nella casistica afferente in pronto soccorso, i cani affetti da dilatazione/torsione gastrica costituiscono un ottimo esempio di paziente critico ed instabile dal punto di vista emodinamico, che richiede una stabilizzazione immediata ed in cui la fluidoterapia rianimatoria è di vitale importanza. La sindrome da dilatazione/torsione gastrica è una condizione patologica associata a un'elevata morbilità e mortalità nei cani di razza grande e gigante. Tale patologia comprende la dilatazione gastrica acuta (GD, *gastric dilatation*), la dilatazione gastrica acuta con volvolo gastrico (GDV, *gastric dilatation-volvulus*) e il volvolo gastrico cronico (cGV, *chronic gastric volvulus*) (Brockman *et al*, 1995), ma la GDV è la più frequente e quella documentata in letteratura in maniera più accurata. La comprensione in maniera approfondita della patogenesi, della fisiopatologia e delle caratteristiche cliniche di questa sindrome è fondamentale per saper gestire al meglio la condizione critica in cui si trova l'animale.

3.2 Patogenesi

La patogenesi della GDV è complessa e multifattoriale, con importanti influenze genetiche e ambientali. Tale patologia colpisce cani di taglia grande e gigante, sebbene sia stata riscontrata anche in cani di taglia piccola, gatti e altri piccoli mammiferi. Le razze canine maggiormente predisposte sono: l'Alano, il Pastore Tedesco, il Weimaraner, il San Bernardo, il Setter Gordon, il Setter Irlandese e il Barbone. La maggior parte dei cani con GDV è costituita da soggetti adulti e anziani (Sharp, 2015). Tra i fattori genetici e ambientali che contribuiscono allo sviluppo della GDV vi sono: l'alimentazione con un numero ridotto di pasti e di abbondante quantità, la voracità nell'assunzione del

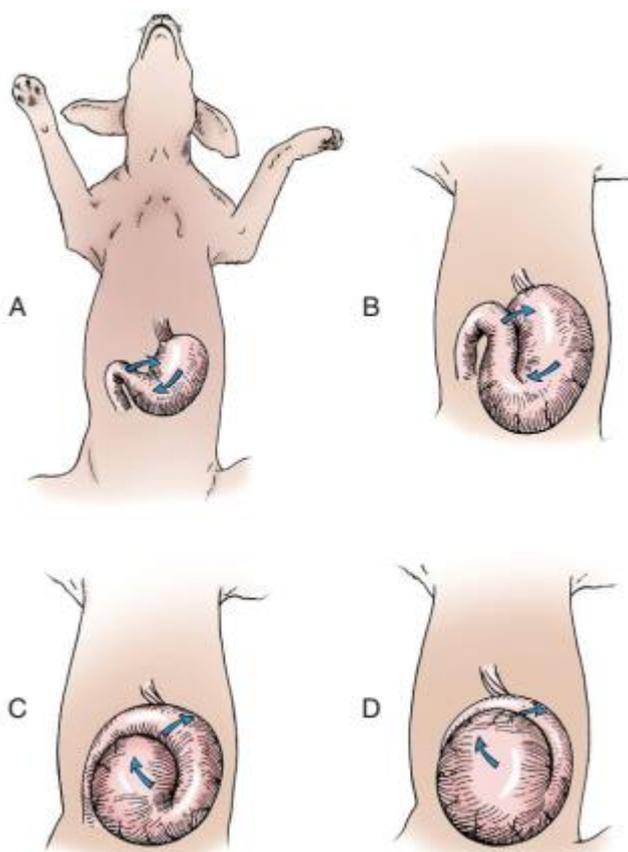


Figura 3-1 Rotazione dello stomaco durante la dilatazione/torsione gastrica. **A**, il piloro si muove ventralmente e verso la parete sinistra del corpo. **B**, lo stomaco diventa più disteso mentre la rotazione continua. **C**, stomaco con una torsione di 180 gradi, il piloro si trova a sinistra della linea mediana, craniale al corpo dello stomaco. Questa posizione comporta una piega nello stomaco. **D**, la distensione gastrica continua a peggiorare con il tempo poiché il deflusso dei gas dallo stomaco è impedito in entrambe le direzioni (Slatter DH, *Textbook of small animal surgery*, III edizione, St Louis, 2003, Saunders/Elsevier).

cibo, il temperamento aggressivo o pauroso, l'alimento secco e di piccole dimensioni, la lassità dei legamenti epatogastrici e l'esercizio fisico o stress intenso dopo il pasto (Cornell, 2012).

3.3 Fisiopatologia

La distensione gastrica produce effetti importanti sul sistema cardiovascolare sia a livello locale che sistemico. La pressione all'interno dello stomaco (che può raggiungere 80 mmHg) e la rotazione gastrica causano un'ostruzione dei vasi intra-addominali (vena cava caudale, vena porta e vene spleniche) con compromissione cardiovascolare, riduzione della portata e distribuzione di ossigeno nei tessuti (DO_2) e comparsa delle manifestazioni cliniche di shock per ridotto ritorno venoso con conseguente diminuzione della gittata cardiaca e della pressione arteriosa media. La riduzione della DO_2 ha effetti multisistemici tra cui cardiovascolare, respiratorio, neurologico, gastrointestinale e renale (Sharp, 2015).

L'alterazione dello stato acido-base si riscontra frequentemente in cani con GDV. Le anomalie principali possono includere: grave acidosi metabolica iperlattacemica (risultante da una bassa DO_2), alcalosi metabolica ipocloremica (derivante dal sequestro dell'acido cloridrico a livello gastrico) e acidosi respiratoria (risultante dall'ipoventilazione e dall'ipercapnia). In seguito al possibile sviluppo di disturbi primari concomitanti e opposti, il pH ematico può risultare normale. L'ipokaliemia può essere secondaria a diversi eventi patofisiologici come: la somministrazione di elevate quantità di fluidi a basso contenuto di potassio, il sequestro di questo elettrolita nello stomaco o la perdita attraverso il vomito o la lavanda, l'alcalosi metabolica ipocloremica con spostamento transcellulare di potassio, l'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone e l'ingresso a livello intracellulare di potassio catecolamina-indotto (Sharp, 2015). Quando il flusso ematico è gravemente compromesso, anche gli strati più elastici dello stomaco possono diventare necrotici e le tensioni di ossigeno possono ridursi anche a livello duodenale, digiunale, pancreatico ed epatico (Broome e Walsh, 2003). All'interno della parete gastrica, i capillari sono collassati conseguentemente alla pressione che si viene a creare e ciò comporta necrosi della mucosa gastrica. L'aumento della pressione intragastrica associata all'ipotensione sistemica determina in alcuni casi la necrosi della parete gastrica a tutto spessore. L'avulsione dell'arteria splenica e/o di quelle corte gastriche

contribuiscono allo sviluppo della necrosi della parete dello stomaco (Cornell, 2012). Di conseguenza, la gravità della dilatazione gastrica, il grado e la durata del volvolo possono contribuire al rischio di sviluppo di necrosi della parete. La riduzione del flusso ematico gastrico e l'ostruzione venosa si manifestano inizialmente con edema ed emorragia della mucosa, sottomucosa e sierosa gastrica. La suscettibilità della mucosa al danno da ipoperfusione può essere esacerbata dall'ambiente acido del lume gastrico e dalle sue elevate esigenze metaboliche. La necrosi gastrica nei cani con GDV si localizza più comunemente nel fondo gastrico e successivamente progredisce al corpo dello stomaco fino ad avere necrosi del cardias come risultato dell'occlusione vascolare diretta. La grave compromissione della parete gastrica, se non trattata tempestivamente, porta alla necrosi e perforazione della stessa, con conseguente peritonite (Sharp, 2015).

In corso di GDV, anche il flusso ematico intestinale risulta compromesso come conseguenza della compressione diretta sulla vena porta e della riduzione della gittata cardiaca. Attraverso i modelli sperimentali di GDV è stata documentata la lesione dei villi intestinali e la compromissione della

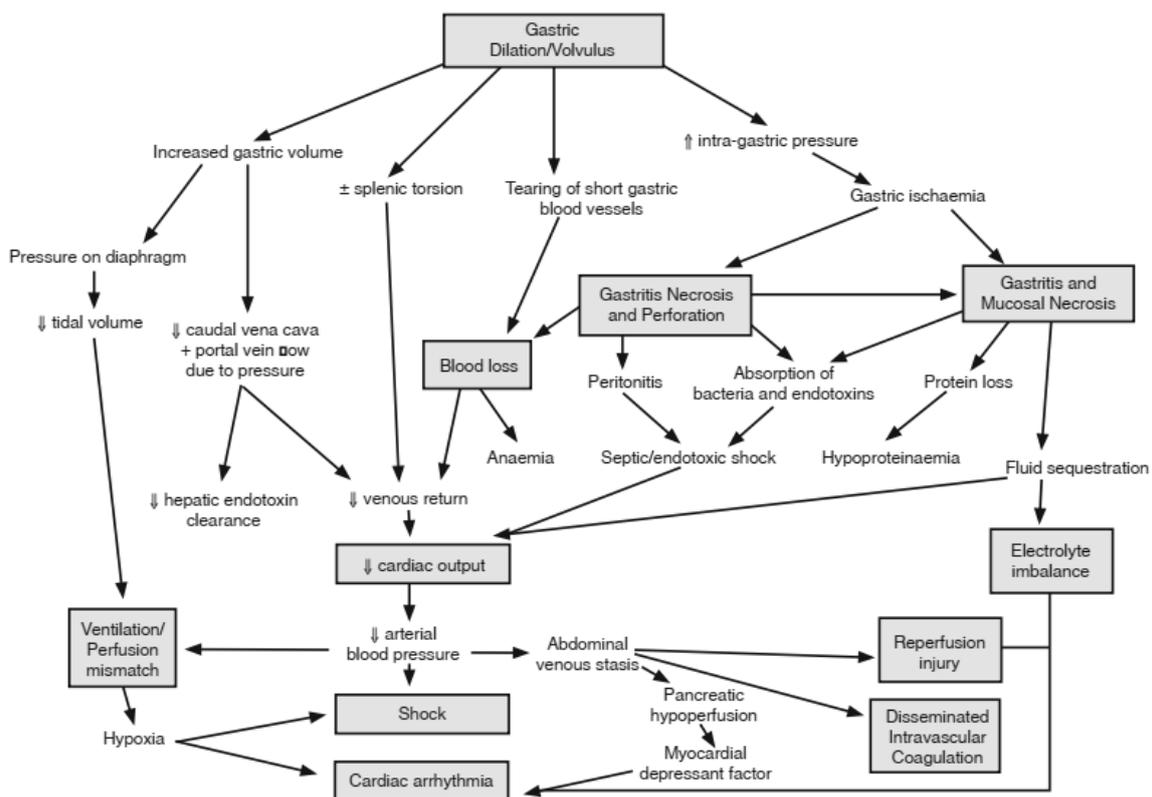


Figura 3-2 Patofisiologia della dilatazione/torsione gastrica (GDV) (Broome e Walsh, 2003).

barriera mucosale, comportando traslocazione batterica e aumento delle concentrazioni circolanti di lipopolisaccaride, che a loro volta possono contribuire allo sviluppo di un'infezione sistemica (Sharp, 2015). L'endotossemia svolge un ruolo importante nella fisiopatologia della GDV, poiché l'ostruzione linfatica impedisce il loro rilascio nei linfocentri e il ridotto flusso ematico epatico riduce la clearance epatica di batteri ed endotossine (Broome e Walsh, 2003). A causa della stretta associazione anatomica tra stomaco e milza, la compromissione splenica è frequente nei cani con GDV ed è associata ad una prognosi peggiore. L'avulsione vascolare splenica, la trombosi intravascolare con infarti e la torsione splenica sono stati riportati in corso di GDV, perciò è importante la valutazione intraoperatoria della milza e l'eventuale splenectomia. La compromissione respiratoria è una complicazione comune e multifattoriale nei cani con GDV. La distensione gastrica e l'aumento della pressione intraddominale riducono il volume toracico totale, compromettendo la normale escursione diaframmatica e possono provocare il collasso parziale di lobi polmonari con conseguente riduzione del volume tidale e alterazione del rapporto ventilazione/perfusione (V/Q). Come conseguenza, la frequenza e lo sforzo respiratorio aumentano, ma questi meccanismi compensatori possono risultare inadeguati portando allo sviluppo di ipercapnia e ipossiemia (Cornell, 2012). Un altro fattore che può contribuire alla compromissione respiratoria e alla mortalità nei pazienti con GDV è lo sviluppo della polmonite da aspirazione (polmonite *ab ingestis*). L'aspirazione del contenuto faringeo in fase preoperatoria e la conseguente polmonite subclinica, può contribuire alla morbilità e alla mortalità postoperatoria. Per questo motivo, nella gestione di questi pazienti, deve essere presa in considerazione l'esecuzione di radiografie toraciche ed eventualmente l'utilizzo di una copertura antibiotica specifica (Sharp, 2015).

I cani con GDV sono affetti da una combinazione di shock ipovolemico, ostruttivo, distributivo e cardiogeno. L'ipovolemia trova giustificazione nella perdita del volume intravascolare che può verificarsi come conseguenza dei fluidi accumulati nel tratto gastroenterico o nel terzo spazio, oppure conseguentemente ad emorragia addominale; tutto ciò è aggravato dal fatto che l'ostruzione al

deflusso gastrico impedisce l'assunzione orale di acqua. La perdita ematica associata alla GDV è in genere relativamente scarsa e si verifica solitamente per rottura di piccoli vasi gastrici conseguenti al volvolo gastrico con sviluppo di emoaddome visibile in sede intraoperatoria. La raccolta ematica a livello splancnico e l'ipertensione portale possono contribuire alla perdita di fluidi nel terzo spazio e all'edema interstiziale (Sharp e Rozanski, 2014). Lo shock ostruttivo è dovuto alla marcata dilatazione gastrica che determina la compressione delle grosse vene intraddominali, tra cui la vena porta, le vene spleniche e la vena cava caudale. Di conseguenza, il ritorno venoso al cuore risulta compromesso con riduzione della gittata cardiaca ed aumento della frequenza cardiaca per compensazione (Sharp e Rozanski, 2014). Lo shock distributivo è conseguente alla diminuzione del ritorno venoso e aumento della pressione venosa intraddominale che si traducono in un accumulo di sangue a livello splancnico. L'alterazione della circolazione ematica a livello splenico tende a provocare congestione splenica e splenomegalia. La vasodilatazione splancnica è probabilmente esacerbata anche dalla produzione di ossido nitrico (un potente vasodilatatore endogeno), con ulteriore e conseguente vasodilatazione periferica e congestione ematica a livello splancnico (Sharp e Rozanski, 2014). Lo shock cardiogeno solitamente si verifica a seguito del ridotto ritorno venoso associato a una diminuzione della gittata cardiaca dovuta all'acidosi, all'ischemia miocardica, al fattore depressivo miocardico e alle aritmie cardiache. Quest'ultime sono prevalentemente di origine ventricolare e si verificano nel 42% dei cani con GDV in genere 12-36 ore dopo l'insorgenza dei segni clinici (Broome e Walsh 2003). I fattori implicati nello sviluppo delle aritmie cardiache sono diversi. Il flusso ematico coronarico in corso di GDV risulta ridotto del 50% e le lesioni istologiche compatibili con l'ischemia miocardica, evidenziate in modelli di GDV sperimentale e spontanea, possono determinare foci ectopici di attività elettrica. Anche le sostanze cardio-stimolanti circolanti, come l'adrenalina, e le sostanze cardio-inibenti, come le citochine proinfiammatorie (*tumor necrosis factor α* e l'interleuchina 1), rivestono un ruolo importante nello sviluppo di aritmie. In caso di sospetta lesione miocardica, le troponine cardiache solitamente risultano elevate nei cani con GDV e

sono associate alla gravità delle alterazioni all'ECG e all'outcome. (Sharp, 2015). Le concentrazioni più elevate di troponina si raggiungono tra le 48 e le 72 ore post intervento chirurgico (Cornell, 2012).

Il danno da ri-perfusione è documentato nella fisiopatologia della dilatazione/torsione gastrica ed è associato al riposizionamento dello stomaco e al ripristino del normale flusso ematico (Cornell, 2012).

L'ischemia locale porta all'attivazione della cascata dell'acido arachidonico e al rilascio di mediatori pro-infiammatori. Durante la ri-perfusione, i radicali liberi dell'ossigeno sono generati dalla xantina ossidasi e da altri enzimi e questi, insieme ai mediatori pro-infiammatori, vengono rilasciati nella circolazione inducendo danni a livello sistemico. Il danno al sistema vascolare locale, conseguente all'ischemia e alle endotossine, può indurre lo sviluppo della coagulazione intravasale disseminata (CID), una volta ristabilita la perfusione (Broome e Walsh, 2003). Per questo motivo, i fattori potenzialmente favorevoli allo sviluppo della CID includono: la stasi ematica a livello di vena cava caudale, vena porta o circolazione splancnica, l'ipossia tissutale, l'acidosi, l'infiammazione sistemica, l'endotossinemia e la potenziale sepsi (Sharp, 2015).

Il potenziale rischio di sviluppo di danno renale nel periodo postoperatorio in cani con GDV ha ricevuto meno attenzione rispetto alle altre disfunzioni d'organo annotate in precedenza. Due recenti studi in cani con GDV hanno documentato il danno renale acuto (AKI, *Acute Kidney Injury*) in 9 su 112 (8%) pazienti (Bruchim *et al*, 2012) e 3 su 130 (2,3%) pazienti (Buber *et al*, 2007). Questi autori hanno definito l'AKI come un aumento della concentrazione sierica di creatinina superiore a 2 mg/dl dopo 24 ore di fluidoterapia per via endovenosa e dopo avere risolto le componenti pre- e post-renale dell'azotemia (Bruchim *et al*, 2012) (Buber *et al*, 2007). In entrambi gli studi, lo sviluppo di AKI è risultato essere un fattore di rischio significativo per l'outcome. I potenziali meccanismi del danno renale sono: l'ipopperfusione tissutale globale dovuta allo shock, la risposta infiammatoria sistemica (SIRS, *Systemic Inflammatory Response Syndrome*) e le complicazioni tromboemboliche (in particolare microtrombosi renale). Infine, i trattamenti impiegati nei cani con GDV possono

esacerbare il danno renale (per esempio l'utilizzo di colloidali sintetici utilizzati in fase di rianimazione fluida) (Sharp e Rozanski, 2014).

3.4 Segni clinici

I segni clinici della dilatazione/torsione gastrica comprendono: distensione addominale, conati di vomito infruttuosi, irrequietezza e ipersalivazione. All'esame fisico la sintomatologia varia in base alla gravità della condizione clinica e allo stato di shock al momento della presentazione. Alcuni animali inizialmente mostrano un evidente disagio e possono assumere l'atteggiamento a "preghiera", ma con la progressione della distensione gastrica possono verificarsi: decubito, depressione e coma. La frequenza respiratoria può risultare aumentata come meccanismo compensatorio per la compromissione respiratoria e l'acidosi (Broome e Walsh, 2003). Gli animali in shock compensato possono presentare mucose congeste e tachicardia con polso periferico debole; mentre i segni di shock scompensato includono mucose pallide, bradicardia, estremità fredde, depressione del sensorio e ipotermia. La distensione addominale con suono timpanico alla percussione si rinviene nella maggior parte dei casi. La splenomegalia può essere percepita alla palpazione addominale ed è secondaria alla congestione venosa della milza causata dall'ostruzione al deflusso venoso conseguente al possibile malposizionamento. In quest'ultimo caso, la milza può diventare necrotica per cui si rende necessaria la splenectomia. In rari casi, si può sviluppare una dilatazione gastrica cronica e intermittente con torsione parziale. I segni clinici di quest'ultima condizione includono: perdita di peso cronica e periodi intermittenti di disagio/fastidio addominale, gonfiore, conati di vomito infruttuosi (Cornell, 2012).

3.5 Diagnosi

La diagnosi di GDV viene generalmente effettuata mediante radiografia addominale con decubito laterale destro; tale posizionamento consente di differenziare la GD semplice dalla GDV e di escludere altre condizioni patologiche. Nella proiezione laterale destra, in un cane con GDV il piloro si muove in senso craniale e dorsale ed è separato da una radiopacità simile ai tessuti molli dal fondo dello stomaco formando il cosiddetto segno di compartimentalizzazione (doppia bolla a forma di C o segno di Popeye, **figura 3-3**). Diversamente, in un cane con solo dilatazione gastrica il piloro giace ventrale al fondo gastrico. Se la proiezione laterale destra non è del tutto chiara, a causa per esempio del malposizionamento gastrico, una proiezione dorso-ventrale o ventro-dorsale può aiutare a delineare la posizione gastrica. Nella proiezione dorso-ventrale, in cani con GDV il piloro si trova a sinistra della linea mediana, diversamente da cani con semplice dilatazione in cui il piloro si trova a destra della linea mediana. Il posizionamento ventro-dorsale può comportare però un'ulteriore compromissione cardiovascolare e può predisporre allo sviluppo di polmonite *ab ingestis* se il cane rigurgita o vomita (Sharp, 2015).

La presenza di pneumoperitoneo può suggerire la presenza di necrosi gastrica con possibile perforazione della parete dello stomaco, ma l'aria può anche essere introdotta in maniera iatrogena quando si effettua la gastrocentesi per la stabilizzazione d'emergenza del paziente prima che vengano eseguite le radiografie (Cornell, 2012). Nei cani con GDV è



Figura 3-3 Radiografia addominale latero-laterale destra. In corso di GDV, il piloro si sposta in posizione craniale ed è separato da una radiopacità simile ai tessuti molli dal corpo dello stomaco. Inoltre, in questo esempio, l'aumento di volume della milza è evidente e le superfici sierose dello stomaco, dell'intestino tenue e del diaframma sono ben definite, indicando la presenza di pneumoperitoneo (Sharp, 2015).

indicato effettuare anche radiografie toraciche al fine di rilevare segni che possono far supporre lo sviluppo di una polmonite *ab ingestis* (specialmente nei soggetti ipossiemicici), la presenza di una malattia polmonare o cardiaca concomitante oppure come controllo metastasi (Sharp, 2015).

Nella stabilizzazione emodinamica del paziente, un database laboratoristico minimo dovrebbe includere la valutazione di: *Packed Cell Volume* (PCV), proteine totali (TP) e lattatemia. Il PCV e le TP possono essere aumentati a causa dell'emoconcentrazione e l'iperlattatemia è indice del grave deficit di perfusione sistemica (Sharp, 2015). Le concentrazioni di lattati nel plasma sono utili per valutare la perfusione sistemica, l'efficacia della rianimazione e come marker prognostico per l'outcome (Cornell, 2012). Uno studio ha riportato che 36 su 40 (90%) cani con concentrazioni iniziali di lattati <9,0 mmol/L sono sopravvissuti rispetto ai 13 su 24 (54%) cani con concentrazioni iniziali di lattati >9,0 mmol/L. All'interno del gruppo di pazienti con concentrazioni iniziali di lattati >9,0 mmol/L, sono state messe in relazione con la sopravvivenza: la risposta alla terapia rianimatoria (valutata mediante concentrazione di lattati post-trattamento), la variazione assoluta della concentrazione di lattati e la variazione percentuale della concentrazione di lattati. I tassi di sopravvivenza sono risultati significativamente inferiori nei cani con concentrazioni di lattati post-trattamento superiori a 6,4 mmol/L (23%), variazioni assolute della lattatemia di 4 mmol/L o inferiori (10%) e variazione percentuale della lattatemia del 42,5% o inferiori (15%) (Zacher *et al*, 2010). Un secondo studio effettuato nel 2011 su 84 cani con diagnosi di GDV, ha correlato la lattatemia iniziale di 6,0 mmol/L con la presenza di necrosi macroscopicamente evidente della parete gastrica e la sopravvivenza globale in cani che presentano GDV; inoltre ha identificato il valore di lattati all'ammissione predittivo per l'outcome. I risultati non hanno evidenziato una relazione statisticamente significativa del valore di lattati all'ammissione ≥ 6 mmol/L con la sopravvivenza e la presenza di necrosi macroscopica della parete gastrica. Diversamente, si è dimostrato che un valore iniziale di lattatemia >2,9 mmol/L è predittivo per la necrosi gastrica, mentre se la concentrazione di lattati è <4,1 mmol/L l'outcome risulta favorevole alla dimissione. In questa popolazione di studio, 40/84 (48%) cani hanno presentato un valore di lattatemia all'ammissione aumentato (>2,5 mmol/L)

per cui è stato rivalutato entro 12 ore dalla presentazione e 37/40 (93%) sono sopravvissuti (il 70% di quest'ultimi ha presentato una riduzione della lattatemia del 50% nelle 12 ore) e 3/40 (8%) cani sono morti (la loro lattatemia non si è ridotta del 50% rispetto al valore iniziale). In conclusione si evince che una concentrazione di lattati all'ammissione di 6,0 mmol/L in cani con GDV non è predittiva di sviluppo di necrosi macroscopica della parete gastrica, né indicativa per la sopravvivenza. Una riduzione della concentrazione plasmatica dei lattati del 50% entro 12 ore è associata ad una prognosi favorevole (Green *et al*, 2011). Uno studio più recente eseguito su 78 cani con dilatazione/torsione gastrica, ha determinato la correlazione tra concentrazione dei lattati e dell'eccesso di basi (BE, *base excess*) all'ammissione, mettendo in relazione tali variabili con la presenza di necrosi gastrica e l'outcome. La necrosi gastrica è stata identificata in 12 cani al momento dell'intervento chirurgico e in 4 cani in necropsia; 65 (83%) cani sono sopravvissuti alla dimissione, mentre 13 (17%) sono morti o sono stati sottoposti ad eutanasia. Dei 65 soggetti sopravvissuti e 8 deceduti sottoposti a intervento chirurgico, la necrosi gastrica è stata riscontrata rispettivamente in 8 e 4 cani. Tramite l'analisi della curva di ROC (*Receiver Operating Characteristic*), un valore cutoff iniziale di lattati di 7,4 mmol/L presenta un'accuratezza dell'82% come predittore di necrosi gastrica (sensibilità 50%, specificità 88%) e dell'88% come predittore dell'outcome (sensibilità 75%, specificità 89%). L'eccesso di basi è risultato essere un parametro non correlato né allo sviluppo di necrosi gastrica, né per l'outcome. In conclusione, nei cani con GDV la concentrazione dei lattati alla presentazione possiede un buon valore predittivo per necrosi gastrica ed outcome. Tuttavia, nonostante la correlazione tra l'eccesso di basi e la concentrazione plasmatica di lattati all'ammissione, il BE non possiede valore prognostico né per la necrosi gastrica, né per l'outcome (Santoro Beer *et al*, 2013).

Una volta stabilizzato il paziente, l'esecuzione dell'esame emocromocitometrico completo e del profilo biochimico devono essere eseguiti per valutare la condizione metabolica generale del cane. Le alterazioni ematologiche che si possono riscontrare in corso di GDV possono includere

emoconcentrazione, leucocitosi dovuta alla risposta infiammatoria sistemica o alla possibile complicazione settica sottostante e trombocitopenia conseguente al consumo e/o perdita di piastrine. Per questo motivo, in previsione della procedura chirurgica, è utile la valutazione dell'assetto emostatico del paziente (Sharp, 2015). La disfunzione coagulativa viene determinata sulla base di una o più alterazioni dell'emostasi primaria (per esempio: trombocitopenia), dell'emostasi secondaria (per esempio: prolungamento dei tempi di coagulazione) e della fibrinolisi (per esempio: elevate concentrazioni dei prodotti di degradazione della fibrina e D-dimeri). Alcuni cani con GDV possono presentare uno stato ipocoagulabile conseguente al consumo di piastrine e fattori della coagulazione in corso di CID. La presenza di 3 o più parametri della coagulazione alterati (trombocitopenia, prolungato tempo di protrombina o di tromboplastina parziale attivata, ipofibrinogenemia, concentrazione elevata dei prodotti di degradazione della fibrina e riduzione di antitrombina), sono suggestivi di CID, la quale risulta correlata allo sviluppo di necrosi gastrica e morte (Sharp e Rozanski, 2014). Le alterazioni biochimiche possono includere aumento delle transaminasi epatiche, elevati livelli di azoto ureico e creatinina, iperbilirubinemia e ipokaliemia (Broome e Walsh, 2003).

3.6 Trattamento

Il principale obiettivo nel trattamento iniziale della dilatazione/torsione gastrica è quello di garantire la stabilità emodinamica del paziente. La rianimazione fluida comporta la somministrazione di grandi volumi di cristalloidi isotonici (con o senza colloidi isotonici sintetici), ricordando però che la componente distributiva e/o ostruttiva dello shock non si risolve completamente fino a quando la dilatazione/torsione gastrica non viene risolta. In caso di ipotensione persistente, anche dopo la rianimazione fluida, può rendersi necessario l'impiego della terapia vasopressoria. Inoltre, deve essere monitorato continuamente il tracciato elettrocardiografico (ECG) per evidenziare la comparsa di eventuali disturbi del ritmo come le aritmie (tipicamente ventricolari) che devono essere trattate se impattano sulla gittata cardiaca e sulla perfusione sistemica. Le indicazioni per attuare una terapia

antibatterica includono: evidenza di polmonite *ab ingestis*, possibile traslocazione batterica dal tratto gastroenterico, procedura chirurgica e anestesiológica prolungate con complicazioni intraoperatorie (ipotensione, evidenza di perforazione gastrica o intestinale con contaminazione dell'addome da parte del contenuto gastrico e/o intestinale) (Sharp, 2015).

Affinchè il paziente possa affrontare la procedura anestesiológica e chirurgica nelle migliori condizioni emodinamiche, è fondamentale migliorare l'attività cardiovascolare eliminando anche la componente ostruttiva e distributiva dello shock. Per ottenere questo risultato è necessario effettuare una decompressione gastrica mediante centesi gastrica e/o sondaggio oro-gastrico, con conseguente riduzione della compressione sugli organi e vasi addominali. Entrambe queste procedure migliorano la funzionalità cardio-respiratoria, ma possono rappresentare un ulteriore insulto cardiovascolare conseguente al danno da ri-perfusione (Sharp, 2015). La decompressione gastrica è ottenuta mediante intubazione oro-gastrica e ciò è possibile dopo la somministrazione di analgesici, l'induzione anestesiológica e l'intubazione oro-tracheale. Nel caso in cui il tubo oro-gastrico non riesca a passare il cardias, è necessario effettuare una gastrocentesi mediante l'introduzione di un ago di grosso calibro nello stomaco attraverso la parete addominale. Questa procedura deve essere effettuata in maniera asettica nell'area che mostra la più elevata sonorità timpanica. Se l'intervento è stato eseguito con successo, il contenuto gastrico gassoso uscirà dal foro creato. Le complicazioni conseguenti a questo intervento sono la lacerazione splenica e la perforazione gastrica (Broome e Walsh, 2003), ma le probabilità che si verifichino risultano minime (Goodrich *et al*, 2013).

Una volta stabilizzato il paziente, è necessario riposizionare lo stomaco per via chirurgica valutando le condizioni dell'organo data l'ipoperfusione; inoltre è possibile asportare la milza, se necessario, ed effettuare una gastropessi preventiva. Studi recenti hanno dimostrato che il tasso di mortalità tende a diminuire in maniera importante se il paziente viene portato in chirurgia il prima possibile dopo la stabilizzazione emodinamica. Uno studio ha evidenziato un'aumentata probabilità di morte postoperatoria in caso sia stata effettuata la splenectomia, per presenza di torsione splenica, e la

gastrectomia, per presenza di necrosi della parete (Mackenzie *et al*, 2010). Nelle successive 48-72 ore post-operatorie, è necessario supportare il paziente mediante un'adeguata fluidoterapia per sostenere l'importante perdita di fluidi che il paziente ha subito in cavità peritoneale e nel tratto gastroenterico. Devono essere valutati frequentemente colore delle mucose, tempo di riempimento capillare, output urinario, pressione arteriosa ed elettrocardiogramma. Nel caso si presentino aritmie, con impatto sull'emodinamica del paziente, è necessario iniziare una terapia antiaritmica (Sharp, 2015). Se il paziente presenta nausea è raccomandato l'utilizzo di farmaci antiemetici come maropitant e/o metoclopramide, quest'ultimo possiede anche effetto di regolatore della motilità gastroenterica. A causa della compromissione della mucosa gastrica è preferibile non utilizzare farmaci antiinfiammatori non steroidei, ma somministrare dei protettori mucosali come ad esempio inibitori di pompa protonica (Omeprazolo), inibitori dei recettori H₂ dell'istamina (Famotidina) oppure agenti che fungono da protettori della mucosa gastrica (Sucralfato). L'impiego di una terapia antibatterica è consigliato in seguito all'intervento chirurgico ed in particolar modo nel caso sia stata effettuata una gastrotomia o gastrectomia per necrosi e/o perforazione gastrica con conseguente contaminazione dell'addome da parte del contenuto gastroenterico (Broome e Walsh, 2003).

3.7 Prognosi

La prognosi risulta peggiore se le condizioni dello stomaco e della milza rendono necessaria l'esecuzione di una gastrectomia parziale e/o di una splenectomia. Nello specifico, il tasso di mortalità di pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica è del 15%, ma aumenta al 35% se viene eseguita la gastrectomia e al 32% se viene eseguita la splenectomia; nel caso vengano effettuate entrambe il tasso di mortalità raggiunge il 55% (Mackenzie *et al*, 2010). Il valore della lattatemia all'ammissione e la sua rivalutazione in corso di rianimazione fluida (una riduzione >43-50% entro le 12 ore è considerata un fattore prognostico positivo) può essere un utile fattore prognostico per l'outcome

(Zacher *et al*, 2010; Green *et al*, 2011). Infine, lo sviluppo di aritmie cardiache, CID e peritonite settica sono associate ad un outcome peggiore (Broome e Walsh, 2003).

PARTE
SPERIMENTALE

CAPITOLO IV

Obiettivi dello studio

L'obiettivo principale di questo studio sperimentale è quello di valutare l'impatto emostatico dato dalla somministrazione di colloidali sintetici durante la rianimazione fluida nel paziente critico, confrontando i dati ottenuti con quelli di un'uguale popolazione rianimata con cristalloidi. Il modello di studio è rappresentato da cani affetti da sindrome dilatazione/torsione gastrica in corso di shock, sottoposti a rianimazione fluida con soluzione colloidale sintetica (Voluven, *Hydroxyethyl starch* 130/0,4) o soluzione cristalloidale ipertonica (NaCl 7,5%, salina ipertonica al 7,5%). Inoltre, in tale studio è stata valutata e confrontata l'efficacia della rianimazione fluida, in termini di ripristino della stabilità emodinamica, delle due diverse soluzioni. Di tutti i pazienti inclusi nello studio sono stati raccolti dati anamnestici e parametri clinici e laboratoristici prima e dopo la fluidoterapia rianimatoria. L'impatto sulla coagulazione è stato valutato mediante test coagulativi standard (PT, aPTT e fibrinogeno) e test viscoelastico (ROTEM). I dati sono stati successivamente analizzati al fine di ricercare parametri statisticamente significativi.

CAPITOLO V

Materiali e metodi

5.1 Criteri di inclusione e selezione dei pazienti

Trattandosi di uno studio multicentrico, sono stati inclusi i pazienti giunti presso l'Ospedale Veterinario Universitario del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna e l'Ospedale Veterinario Universitario del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Torino nel periodo compreso tra ottobre 2015 e maggio 2017. Il protocollo di studio è stato approvato dal Comitato Bioetico dell'Università di Torino (protocollo numero 47077). I criteri stabiliti per l'inclusione dei pazienti nello studio vertono su anamnesi e sintomi clinici riferibili ad una dilatazione/torsione gastrica, in presenza di parametri clinici indicativi di shock:

- ✓ tempo di riempimento capillare (TRC) <1 secondo o >2 secondi;
- ✓ mucose pallide o congeste;
- ✓ polso femorale debole o assente;
- ✓ frequenza cardiaca >120 battiti per minuto.

5.2 Metodologia e tecnica dell'esperimento

All'arrivo del paziente in pronto soccorso sono stati raccolti anamnesi riguardante l'assunzione di farmaci o la presenza di stati patologici concomitanti e parametri clinici tra cui frequenza cardiaca e auscultazione cardiaca, frequenza respiratoria e auscultazione polmonare, valutazione del polso metatarsale, misurazione della pressione arteriosa, esecuzione dell'elettrocardiogramma, misurazione della temperatura rettale, valutazione del colore delle mucose e del tempo di riempimento capillare. Per avvalorare il sospetto clinico di dilatazione/torsione gastrica, si effettua esame ecografico addominale in urgenza, valutando principalmente stomaco e milza per evidenziare eventuali segni di

perforazione gastrica. Contestualmente ad una prima valutazione clinica, vengono inseriti due cateteri endovenosi, uno per ogni vena cefalica, al fine di somministrare in modo separato cristalloidi e colloidi. Prima dell'esecuzione della fluidoterapia rianimatoria si effettuano i prelievi ematici iniziali (T0), dalle cui matrici raccolte si eseguono:

- ✓ esame emogasanalitico venoso;
- ✓ misurazione di PCV, piastrine, proteine totali, albumina;
- ✓ esame coagulativo allargato (PT, aPTT, fibrinogeno);
- ✓ esame tromboelastometrico (ROTEM);
- ✓ misurazione della pressione colloidio-osmotica (COP).

Vengono costituiti due gruppi di pazienti che ricevono, in maniera randomizzata, soluzione salina ipertonica (NaCl 7,5%) o Voluven (*hydroxyethyl starch* 130/0,4). In entrambi i gruppi, la rianimazione fluida inizia con la somministrazione di un primo bolo di Ringer lattato a 15 ml/kg in 15 minuti, seguito nel gruppo colloidi da un bolo di Voluven da 10 ml/kg in 15 minuti, mentre nel gruppo ipertonica da un bolo di NaCl 7,5% da 4 ml/kg in 15 minuti. Al termine di tale rianimazione fluida, si effettuano i prelievi ematici (T1) da cui si esegue:

- ✓ esame emogasanalitico venoso;
- ✓ misurazione di PCV, piastrine, proteine totali, albumina;
- ✓ esame coagulativo allargato (PT, aPTT, fibrinogeno);
- ✓ esame tromboelastometrico (ROTEM);
- ✓ misurazione della pressione colloidio-osmotica (COP).

Contestualmente alla raccolta delle matrici, si rivalutano i parametri clinici del paziente al fine di comprendere se è stata raggiunta la stabilità emodinamica o se il paziente si presenta ancora instabile e richieda ulteriore supplemento di fluidi. Nel caso in cui il paziente non soddisfi i criteri prefissati elencati sopra, a discrezione del medico curante, sono stati somministrati boli di fluidi fino a quando il cane non avesse raggiunto la stabilità emodinamica.

Al termine della rianimazione fluida è stata calcolata, in entrambi i gruppi sperimentali, l'entità della variazione del volume ematico espresso in % secondo la formula riportata in letteratura (Silverstein *et al*, 2005):

$$\text{Variazione del volume ematico (\%)} = [(PCV T0/PCV T1)-1]*100$$

In aggiunta, è stata valutata l'efficienza dell'espansione volumetrica della fluidoterapia impostata e somministrata secondo la seguente formula (Silverstein *et al*, 2005):

$$\text{Efficienza dell'espansione volumetrica (\%)} =$$

$$[\text{volemia totale (ml)} * \text{variazione del volume ematico (\%)}] / \text{volume di fluidi infusi (ml)}$$

In tale formula, come volemia totale si considera un valore di 80 ml/kg che rappresenta il volume ematico medio di un cane sano.

5.3 Determinazioni, metodica di prelievo, processazione e analisi dei campioni

I soggetti inclusi nello studio dispongono di:

- ✓ esame emogasanalitico: pH, bicarbonati (HCO_3^-), pressione parziale dell'anidride carbonica (pCO_2), pressione parziale dell'ossigeno (pO_2), *anion gap* (AG), *base excess* (BE), osmolarità (Osm), potassio (K^+), sodio (Na^{++}), cloro (Cl^-), calcio (Ca^{++}), glucosio (Glu), lattati (Lac);
- ✓ profilo coagulativo comprendente: tempo di protrombina (PT), tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT), fibrinogeno;
- ✓ esame tromboelastometrico comprendente: *clotting time* (CT), *clot formation time* (CFT), angolo alpha (α), *maximum clot firmness* (MCF);
- ✓ valutazione di PCV (*Packed Cell Volume*), piastine, proteine totali e albumina plasmatiche, pressione colloidale-osmotica (COP).

I prelievi ematici sono stati eseguiti attraverso provette con sistema a vuoto VACUTEST[®] e Sarstedt[®] così da poter ottenere:

- ✓ 1 aliquota di sangue in eparina calcica 50 U.I.;
- ✓ 1 aliquota di sangue in K₃EDTA;
- ✓ 2 aliquote di sangue senza anticoagulante, con gel separatore, in modo da ottenere il siero;
- ✓ 2 aliquote di sangue con Na-citrato al 3,2%;
- ✓ 1 aliquota di sangue in provetta con litio-eparina liofilizzata con gel separatore.

I campioni ottenuti in provetta Sarstedt[®] eparina calcica sono stati processati entro 15 minuti dal prelievo per l'esecuzione dell'esame emogasanalitico venoso Radiometer Copenhagen ABL 800 FLEX.

I campioni ottenuti in provetta VACUTEST[®] K₃EDTA sono stati processati entro un'ora dal prelievo per l'esecuzione dell'esame emocromocitometrico tramite il conta globuli automatico Siemens ADVIA[®] 2120. I campioni in K₃EDTA sono stati sottoposti ad agitazione tramite Vortex (Reamix 2789) prima delle determinazioni analitiche.

Gli strisci ematici eseguiti a fresco e colorati con la colorazione May-GrünWald-Giemsa (Merk[®]) sono stati esaminati al microscopio al fine di valutare la morfologia eritrocitaria, la morfologia e la formula differenziale leucocitaria, la stima e la morfologia piastrinica nonché l'eventuale presenza di aggregati.

Il sangue raccolto in provette da siero (VACUTEST[®] con “*gel clotting activator*”) è stato immediatamente posto in termoblocco (THERMOBLOC, FALC) a 37°C e lasciato per 30 minuti. La separazione del siero è stata ottenuta attraverso centrifugazione per 10 minuti a 3000×g. Tutte le determinazioni sono il risultato di metodiche installate sull'analizzatore automatico OLYMPUS AU 400 precedentemente validate per il cane.

Il sangue in Na-citrato raccolto con VACUTEST[®] (provette allestite con Na-citrato 3,2%) è stato processato entro 30 minuti dal prelievo. La separazione del plasma citrato è stata ottenuta attraverso centrifugazione per 10 minuti a 3000×g. Il surnatante è stato successivamente prelevato con pipette monouso, evitando lo strato eritrocitario sottostante, al fine di ottenere un campione di plasma povero di piastrine. Il plasma è stato utilizzato per la determinazione del fibrinogeno plasmatico attraverso metodiche installate sull'analizzatore automatico OLYMPUS AU 400 precedentemente validate per il cane. Il plasma è stato inoltre utilizzato per la determinazione del tempo di protrombina (PT sec) e di tromboplastina parziale attivata (aPTT sec) mediante l'analizzatore SEAC Clot 2S.

Il sangue in Na-citrato raccolto con VACUTEST[®] (provette allestite con Na citrato 3,2%) è stato utilizzato entro 30 minuti dal prelievo per l'analisi tromboelastometrica mediante lo strumento ROTEM[®]. Tale analisi prevede l'utilizzo dei seguenti reagenti (Bruno *et al*, 2015):

- ✓ star-TEM 10 (0,2 mol/L CaCl₂, tampone, 0,1% di sodio; conservato in fiala di vetro);
- ✓ in-TEM (tromboplastina parziale con fosfolipidi derivanti da encefalo di coniglio, acido ellagico, tampone; conservato in fiala di vetro);
- ✓ ex-TEM (fattore tissutale ricombinante e fosfolipidi, inibitore eparinico; conservato e tamponato in fiala di vetro);
- ✓ fib-TEM (soluzione con Cytochalasina D/DMSO con 0,2 mol/L CaCl₂, tampone; conservato in fiala di vetro).

Le misurazioni sono state eseguite presso il laboratorio del Servizio di Patologia Clinica Veterinaria (SEPAC VET) del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Alma Mater Studiorum - Università di Bologna e presso il Servizio di Patologia Clinica Veterinaria del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Torino.

5.4 Analisi statistica

I dati sono stati raccolti in un database ad hoc e analizzati mediante il software medico Stata 14.2. La normalità della distribuzione dei dati è stata testata mediante test di Shapiro-Wilk. Per verificare l'assenza di differenze tra i due gruppi di trattamento, quando i dati risultano distribuiti normalmente è stato eseguito il test t-Student, altrimenti è stato utilizzato il test Wilcoxon. Per valutare la differenza delle variabili nei diversi tempi sperimentali (T0 e T1) se i dati risultano distribuiti normalmente, è stata utilizzata l'Anova per dati accoppiati, altrimenti è stato utilizzato il test Wilcoxon per dati accoppiati. I test Anova o Friedmann sono stati utilizzati per valutare le differenze tra i gruppi nei due tempi consecutivi.

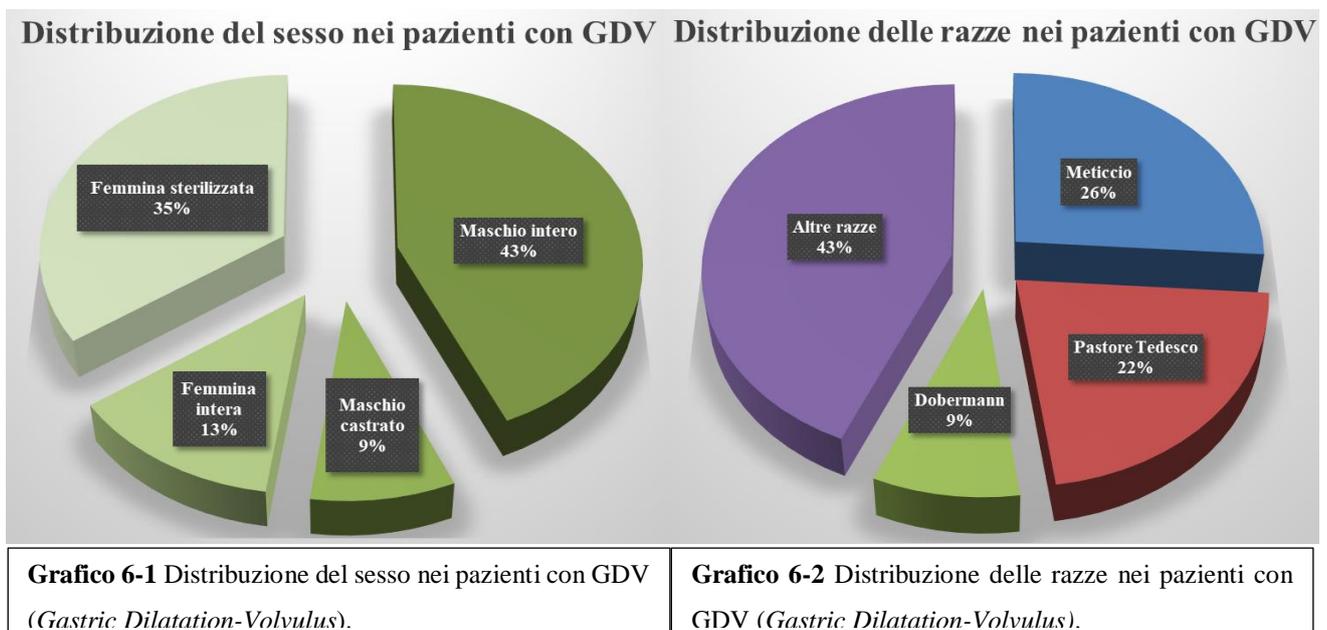
E' stata considerata statisticamente significativa una $P < 0,05$.

CAPITOLO VI

Risultati ottenuti

6.1 Popolazione selezionata e dati epidemiologici

Nel periodo oggetto di studio sono stati reclutati 26 cani con dilatazione/torsione gastrica (GDV, *Gastric Dilatation-Volvulus*): 13 nel gruppo trattato con HES (HES, *Hydroxyethyl starch*, Voluven[®]) e 13 nel gruppo trattato con HS (HS, *hypertonic solution*, NaCl 7,5%). Tre casi sono stati esclusi nel gruppo HS a causa di motivi tecnici (due per malfunzionamento del ROTEM durante l'analisi ed uno perchè il paziente è deceduto prima della fine del protocollo). I cani inclusi nello studio sono divisi in base al sesso in 10 maschi interi e 2 castrati, 3 femmine intere e 8 sterilizzate (**grafico 6-1**); in base alla razza in 6 cani meticci, 5 Pastori Tedeschi, 2 Dobermann e 10 di altre razze (**grafico 6-2**). L'età dei soggetti inclusi varia da 1 a 14 anni (**grafico 6-3**) mentre il peso corporeo oscilla tra 17 e 61 Kg (**grafico 6-4**).



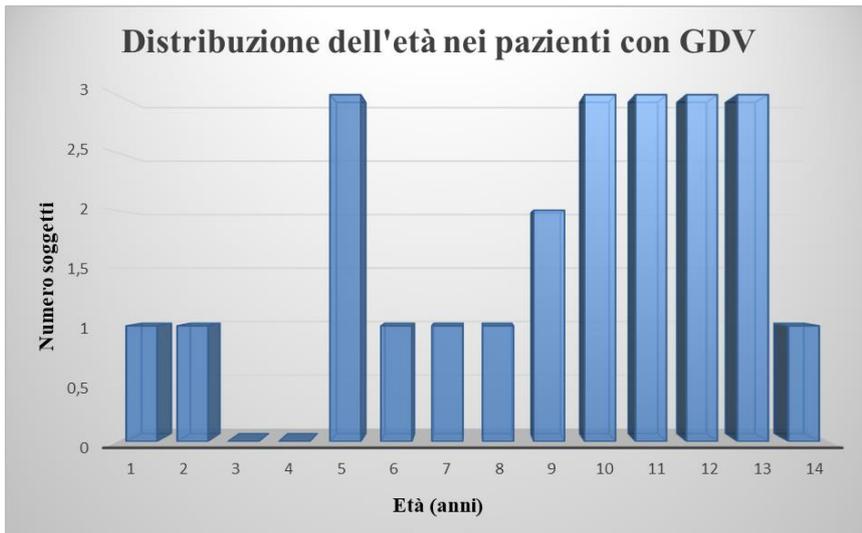


Grafico 6-3 Distribuzione dell'età nei pazienti con GDV (*Gastric Dilatation-Volvulus*).

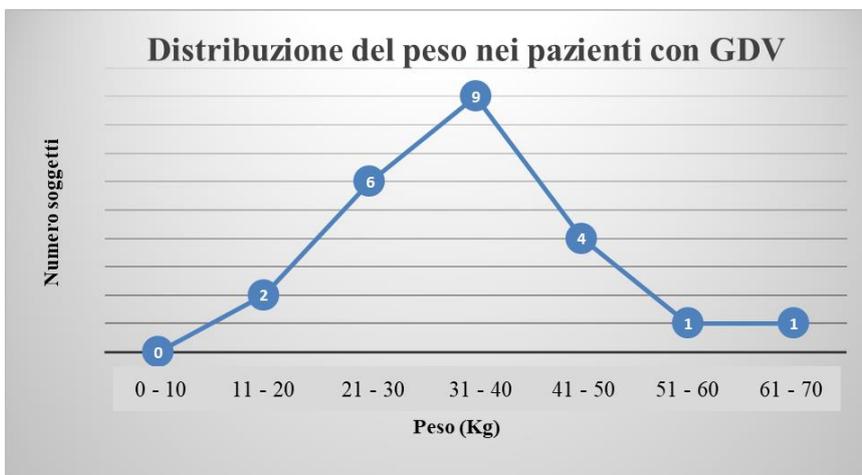


Grafico 6-4 Distribuzione del peso nei pazienti con GDV (*Gastric Dilatation-Volvulus*).

In base alla randomizzazione, 13 soggetti hanno ricevuto durante la rianimazione fluida colloidali e i restanti 10 hanno ricevuto cristalloidi ipertonici.

Il gruppo colloidali è composto da 7 femmine (2 intere e 5 sterilizzate) e 6 maschi (5 interi e 1 castrato) (**grafico 6-5**), l'età mediana è di 10 anni (min 1 - max 13) (**grafico 6-7**), il peso mediano è di 35 Kg (min 17 - max 55) (**grafico 6-8**) e le razze incluse sono: Bloodhound (n=1), Boxer (n=1), Chow Chow (n=1), Segugio (n=1), Corso (n=1), Pastore di Pirenei (n=1), Dobermann (n=2), Meticcio (n=2) e Pastore tedesco (n=3) (**grafico 6-6**).

Il gruppo ipertonica è costituito da 4 femmine (1 intera e 3 sterilizzate) e 6 maschi (5 interi e 1 castrato) (**grafico 6-5**), l'età mediana è di 10,5 anni (min 2 - max 14) (**grafico 6-7**), il peso mediano è di 37 Kg (min 20 - max 61) (**grafico 6-8**) e le razze incluse sono: Bull Mastiff (n=1), Alano (n=1), Leonberger (n=1), Pit bull (n=1), Pastore Tedesco (n=2) e Meticcio (n=4) (**grafico 6-6**).

Distribuzione del sesso nel gruppo HES Distribuzione del sesso nel gruppo HS

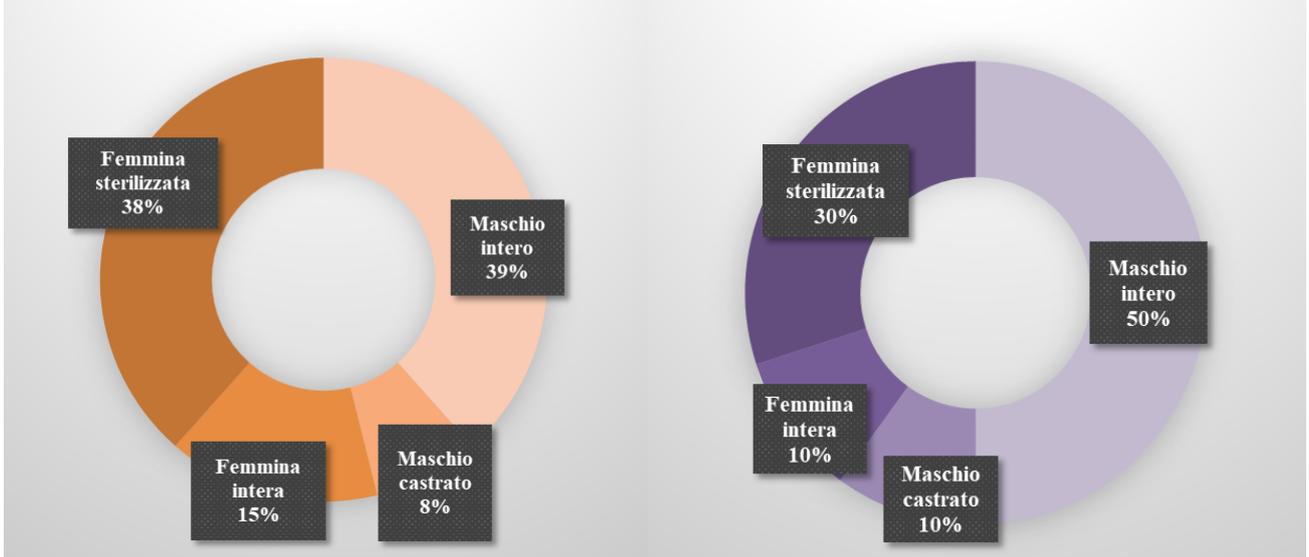


Grafico 6-5 Distribuzione del sesso nei due gruppi di trattamento (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Volugen*; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

Distribuzione delle razze nel gruppo HES Distribuzione delle razze nel gruppo HS



Grafico 6-6 Distribuzione delle razze nei due gruppi di trattamento (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Volugen*; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

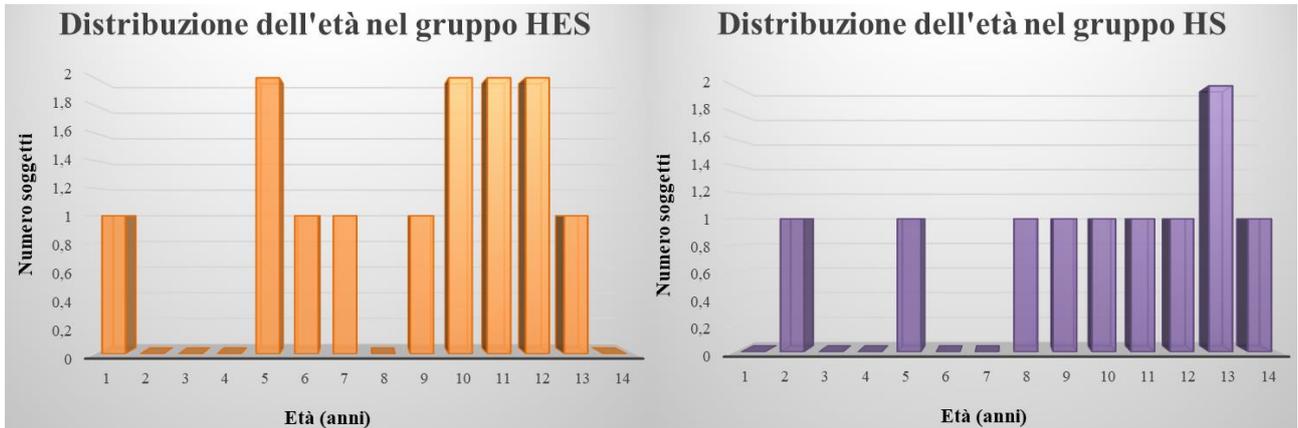


Grafico 6-7 Distribuzione dell'età nei due gruppi di trattamento (HES: *Hydroxyethyl starch 130/0,4, Voluven*; HS: *hypertonic solution, NaCl 7,5%*).

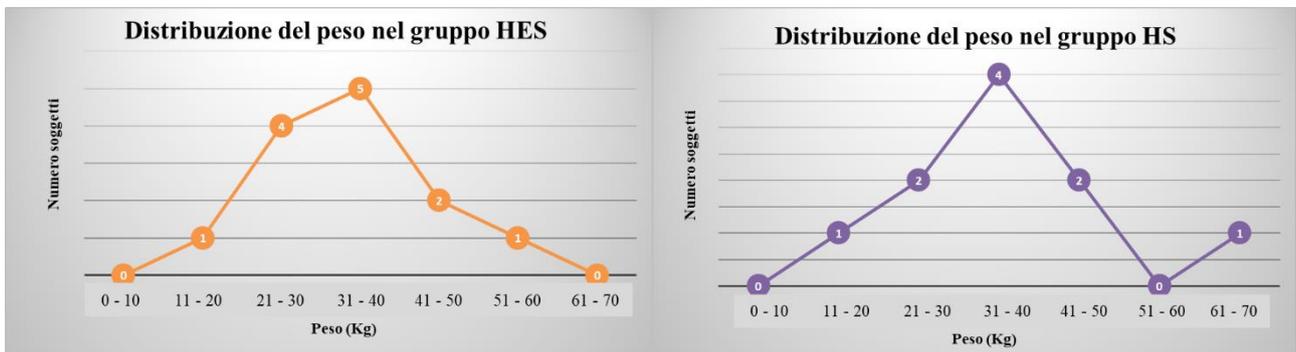


Grafico 6-8 Distribuzione del peso nei due gruppi di trattamento (HES: *Hydroxyethyl starch 130/0,4, Voluven*; HS: *hypertonic solution, NaCl 7,5%*).

6.2 Variabili cliniche e clinico-patologiche della popolazione randomizzata all'ammissione

All'ammissione, nel gruppo HES: 1/13 (8%) cani si presenta anemico (PCV <37%), 2/13 (15%) risultano trombocitopenici (piastrine <128x10³/ml), 7/13 (54%) hanno livelli di albumina al di sotto dell'intervallo di riferimento (ALB <3 g/L) e 5/13 (38%) hanno una lattatemia >6 mmol/L. Nessun paziente possiede PT o aPTT al di sopra dell'intervallo di riferimento e il livello di fibrinogeno è ridotto (<1,45 g/L) in 1/13 (8%) e aumentato (>3,85 g/L) in 1/13 (8%). Il valore mediano dell'APPLE fast è di 24 (min 18 - max 41). Di seguito, da **tabella 6-1** a **tabella 6-4** sono riportate le indagini cliniche e clinico-patologiche eseguite all'ammissione (T0) in Pronto Soccorso dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica randomizzati nel gruppo HES.

Parametri clinici e clinico-patologici T0 - HES							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
Peso (Kg)		35,5	35	17	55	10,26	0,9045
Età (aa)		8,62	10	1	13	3,55	0,4063
FC (bpm)	60 - 100	154,62	150	72	260	49,34	0,4697
FR (apm)	12 - 18	68	40	20	240	62,92	0,0005
TRC (s)	1 - 2	1,65	1,5	0,5	4	0,6	0,0696
Temperatura (°C)	38 - 39	38,33	38,2	37,2	39,7	0,7	0,1425
APPLE score (fast)	< 22	25,77	24	18	41	7,62	0,2158
PCV (%)	37 - 55	47,92	50	30	65	9,2	0,9502
Piastrine (x10 ³ /ml)	128 - 543	215,15	168	88	624	146,42	0,0003
Proteine totali (g/dl)	5,6 - 7,6	7,09	6,5	5,8	9,2	1,19	0,3555
Albumina (g/dl)	2,8 - 3,7	3,09	2,9	2,4	3,9	0,44	0,6744
COP 1 (mmHg)	15,3 - 26,3	20,27	20	16,7	24,4	2,43	0,6731
COP 2 (mmHg)	15,3 - 26,3	20,78	20,7	17,5	24,8	2,5	0,3775

Tabella 6-1 Risultati dei parametri clinici e clinico-patologici all'ammissione (T0) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Voluven*; FC: frequenza cardiaca; bpm: battiti per minuto; FR frequenza respiratoria; apm: atti per minuto; TRC: tempo di riempimento capillare; APPLE: *Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation*; PCV: *Packed Cell Volume*; COP: pressione colloidale-osmotica).

Emogasanalisi venosa T0 - HES							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
pH	7,39 - 7,44	7,32	7,33	7,22	7,39	0,07	0,2424
Bicarbonati (mmol/L)	20,8 - 24,2	20,66	21,5	13	27	4,84	0,6505
pCO ₂ (mmHg)	33,6 - 41,2	43,24	42	27,7	74	12,84	0,076
Base excess (mmol/L)	-2 - +2	-3,86	-2,4	-15	4,3	6,76	0,4008
Potassio (mmol/L)	3,2 - 5	3,88	3,9	3,4	4,6	0,4024	0,579
Sodio (mmol/L)	143 - 154	145,96	146	134	154	5,34	0,4518
Cloro (mmol/L)	108 - 118	111,15	114	82	119	9,55	<0,0001
Calcio (mmol/L)	1,22 - 1,35	1,33	1,32	1,14	1,6	0,1	0,0098
Glucosio (mg/dl)	70 - 125	147,31	125	50	266	63,73	0,6598
Lattati (mmol/L)	< 2,5	5,85	3,9	2,6	14,8	3,86	0,1181

Tabella 6-2 Risultati dei parametri dell'emogasanalisi venosa all'ammissione (T0) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Voluven*; pCO₂ pressione parziale anidride carbonica).

Coagulativo T0 - HES							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
PT (s)	8 - 10	13,55	8	6,1	79	19,72	<0,0001
aPTT (s)	12 - 16	21,44	12,5	9	135	34,15	<0,0001
Fibrinogeno (mg/dl)	150 - 450	249,31	243	129	404	82	0,7612

Tabella 6-3 Risultati dei parametri dell'esame coagulativo all'ammissione (T0) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Voluven*; PT: tempo di protrombina; aPTT: tempo di tromboplastina parziale attivata).

ROTEM T0 - HES							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
In-TEM CT (s)	126 - 363	190,62	163	127	365	72,56	0,0062
In-TEM CFT (s)	47 - 224	169,38	118	40	535	139,8	0,0025
In-TEM MCF (mm)	50 - 75	56,77	55	33	73	11,26	0,4809
In-TEM alpha (°)	55 - 81	64,54	67	37	82	14,13	0,4479
Ex-TEM CT (s)	29 - 92	59,62	47	30	169	39,7	0,0002
Ex-TEM CFT (s)	54 - 275	135,38	102	44	365	92,65	0,0044
Ex-TEM MCF (mm)	36 - 73	62,69	62	39	89	12,47	0,5108
Ex-TEM alpha (°)	47 - 79	67,54	73	33	83	15,13	0,0351
Fib-TEM CT (s)	14 - 102	46,25	50,5	28	59	11,08	0,1701
Fib-TEM MCF (s)	6 - 26	12,77	12	5	33	7,58	0,0035
MCE platelet	50 - 235	200,85	156	59	760	176,49	<0,0001

Tabella 6-4 Risultati dei parametri dell'esame tromboelastometrico (ROTEM) all'ammissione (T0) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Voluven*; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; Fib-TEM: fibrinogeno funzionale; CT: *clotting time*; CFT: *clot formation time*; MCF: *maximum clot firmness*; MCE: *maximum clot elasticity*).

All'ammissione, nel gruppo HS: nessun cane presenta anemia (PCV <37%), 1/10 (10%) risulta trombocitopenico (piastrine <128x10³/ml), 5/10 (50%) possiede un valore di albumina al di sotto dell'intervallo di riferimento (<3 g/L) e 5/10 (50%) hanno una lattatemia >6 mmol/L. Nessuno ha evidenziato PT o aPTT al di sopra dell'intervallo di riferimento e il livello di fibrinogeno è risultato basso (<1,45 g/L) in 1/10 (10%). Il valore medio dell'APPLE fast è di 22,5 (min 10 - max 40). Di seguito, da **tabella 6-5** a **tabella 6-8** sono riportate le indagini cliniche e clinico-patologiche eseguite all'ammissione (T0) in Pronto Soccorso dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica randomizzati nel gruppo HS.

Parametri clinici e clinico-patologici T0 - HS							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
Peso (Kg)		36,7	37	20	61	12,28	0,6247
Età (aa)		9,7	10,5	2	14	3,83	0,3129
FC (bpm)	60 - 100	179,2	180	120	212	26,7	0,1126
FR (apm)	12 - 18	48,4	40	32	120	26,23	<0,0001
TRC (s)	1 - 2	2,25	2	1	3	0,72	0,6882
Temperatura (°C)	38 - 39	38,49	38,85	36,2	39,4	1,09	0,0699
APPLE score (fast)	< 22	23,9	22,5	10	40	8,53	0,5505
PCV (%)	37 - 55	44,3	43,5	39	51	3,8	0,9613
Piastrine (x10 ³ /ml)	128 - 543	255,1	239,5	104	456	106,5	0,7761
Proteine totali (g/dl)	5,6 - 7,6	7,05	7,35	5,2	8,9	1,25	0,6632
Albumina (g/dl)	2,8 - 3,7	2,76	2,95	1,9	3,4	0,51	0,5218
COP 1 (mmHg)	15,3 - 26,3	20,47	20,9	15,7	23,8	2,58	0,7653
COP 2 (mmHg)	15,3 - 26,3	20,7	21	15,8	23,7	2,53	0,5679

Tabella 6-5 Risultati dei parametri clinici e clinico-patologici all'ammissione (T0) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo ipertonica (HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; FC: frequenza cardiaca; bpm: battiti per minuto; FR frequenza respiratoria; apm: atti per minuto; TRC: tempo di riempimento capillare; APPLE: *Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation*; PCV: *Packed Cell Volume*; COP: pressione colloidale-osmotica).

Emogasanalisi venosa T0 - HS							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
pH	7,39 - 7,44	7,27	7,31	7,11	7,39	0,09	0,5109
Bicarbonati (mmol/L)	20,8 - 24,2	18,07	18,35	10,5	23,5	4,22	0,7373
pCO ₂ (mmHg)	33,6 - 41,2	41,55	40,75	24,9	75,6	13,56	0,0016
Base excess (mmol/L)	-2 - +2	-7,71	-6,9	-15,1	-1,2	4,68	0,6306
Potassio (mmol/L)	3,2 - 5	3,63	3,6	2,9	4,3	0,45	0,8837
Sodio (mmol/L)	143 - 154	145,1	147	134	153	5,51	0,37
Cloro (mmol/L)	108 - 118	115,8	116	107	130	7,11	0,6107
Calcio (mmol/L)	1,22 - 1,35	1,22	1,22	1,11	1,37	0,08	0,8459
Glucosio (mg/dl)	70 - 125	146,9	139	85	279	54,08	0,0048
Lattati (mmol/L)	< 2,5	6,62	5,95	3,2	11,9	3,22	0,4125

Tabella 6-6 Risultati dei parametri dell'emogasanalisi venosa all'ammissione (T0) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo ipertonica (HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; pCO₂ pressione parziale anidride carbonica).

Coagulativo T0 - HS							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
PT (s)	8 - 10	9,38	6,9	6,3	30,6	7,45	<0,0001
aPTT (s)	12 - 16	12,51	11,25	8,9	20	3,92	0,3242
Fibrinogeno (mg/dl)	150 - 450	167,7	190,5	30	280	86,55	0,398

Tabella 6-7 Risultati dei parametri dell'esame coagulativo all'ammissione (T0) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo ipertonica (HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; PT: tempo di protrombina; aPTT: tempo di tromboplastina parziale attivata).

ROTEM T0 - HS							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
In-TEM CT (s)	126 - 363	172,7	169,5	134	220	23,89	0,4797
In-TEM CFT (s)	47 - 224	89,5	88	58	160	29,94	0,0205
In-TEM MCF (mm)	50 - 75	60,9	61,5	50	72	6,47	0,9792
In-TEM alpha (°)	55 - 81	73,2	73,5	62	79	5,14	0,1535
Ex-TEM CT (s)	29 - 92	45,7	39,5	30	70	14,77	0,3418
Ex-TEM CFT (s)	54 - 275	91,2	84,5	56	152	28,71	0,2403
Ex-TEM MCF (mm)	36 - 73	65,4	65	54	81	8,63	0,702
Ex-TEM alpha (°)	47 - 79	73,3	74,5	60	82	6,29	0,2619
Fib-TEM CT (s)	14 - 102	45,6	38,5	32	73	14,35	0,3947
Fib-TEM MCF (s)	6 - 26	15,6	14	10	24	5,42	0,3392
MCE platelet	50 - 235	191,1	162,5	100	409	93,2	0,0161

Tabella 6-8 Risultati dei parametri dell'esame tromboelastometrico (ROTEM) all'ammissione (T0) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo ipertonica (HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; Fib-TEM: fibrinogeno funzionale; CT: *clotting time*; CFT: *clot formation time*; MCF: *maximum clot firmness*; MCE: *maximum clot elasticity*).

Tra i due gruppi all'ammissione (T0) non sono state evidenziate differenze statisticamente significative in età, peso corporeo, PCV, proteine totali e albumina sieriche, PT, aPTT, fibrinogeno, piastrine, lattati, sodio, cloro, APPLE (fast) score e valori ROTEM. Inoltre, tutti i cani hanno tracciati ROTEM classificabili come normali, tranne 3 cani nel gruppo HES in quanto 1/13 è risultato ipercoagulabile e 2/13 sono risultati ipocoagulabili. Entrambi i cani ipocoagulabili hanno presentato PT e aPTT normali, piastrinopenia e una riduzione del fibrinogeno (**tabella 6-21**).

6.3 Variabili cliniche e clinico-patologiche della popolazione randomizzata al termine della rianimazione fluida

Al termine della rianimazione fluida, sono stati rivalutati i parametri clinici e clinico-patologici di entrambe le popolazioni di studio. I risultati di tali rilievi sono riportati di seguito, da **tabella 6-9** a **tabella 6-16**.

Parametri clinici e clinico-patologici T1 - HES							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
FC (bpm)	60 - 100	137,69	132	76	200	36,28	0,9918
FR (apm)	12 - 18	55,08	36	12	160	46,1	0,0045
TRC (s)	1 - 2	1,46	1,5	1	2	0,38	0,5951
Temperatura (°C)	38 - 39	38,2	38	36,9	39,6	0,63	0,2624
PCV (%)	37 - 55	40,46	40	28	48	5,11	0,0495
Proteine totali (g/dl)	5,6 - 7,6	5,69	5,5	4	7,6	1,09	0,7526
Albumina (g/dl)	2,8 - 3,7	4,43	2,3	1,3	3,1	8	<0,0001
COP 1 (mmHg)	15,3 - 26,3	20,38	20,1	18	22,9	1,54	0,493
COP 2 (mmHg)	15,3 - 26,3	20,63	20,2	18,6	22,4	1,33	0,1905

Tabella 6-9 Risultati dei parametri clinici e clinico-patologici dopo la rianimazione fluida (T1) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Voluven*; FC: frequenza cardiaca; bpm: battiti per minuto; FR frequenza respiratoria; apm: atti per minuto; TRC: tempo di riempimento capillare; PCV: *Packed Cell Volume*; COP: pressione colloidale-osmotica).

Emogasanalisi venosa T1 - HES							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
pH	7,39 - 7,44	7,33	7,35	7,16	7,4	0,07	0,0827
Bicarbonati (mmol/L)	20,8 - 24,2	21,17	21,5	15	28,2	4,09	0,89
pCO ₂ (mmHg)	33,6 - 41,2	42,91	37,3	32,6	68,5	11,74	0,0277
Base excess (mmol/L)	-2 - +2	-3,47	-2,8	-11,7	5,5	5,23	0,9746
Potassio (mmol/L)	3,2 - 5	3,5	3,4	2,8	4,3	0,52	0,3363
Sodio (mmol/L)	143 - 154	144,62	145	134	151	4,57	0,2461
Cloro (mmol/L)	108 - 118	114,23	115	90	122	8,26	<0,0001
Calcio (mmol/L)	1,22 - 1,35	1,34	1,3	1,16	1,67	0,14	0,0075
Glucosio (mg/dl)	70 - 125	136,23	127	67	215	47,82	0,6405
Lattati (mmol/L)	< 2,5	3,45	2,7	1,4	7,1	1,95	0,3221

Tabella 6-10 Risultati dei parametri dell'emogasanalisi venosa dopo la rianimazione fluida (T1) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Voluven*; pCO₂ pressione parziale anidride carbonica).

Coagulativo T1 - HES							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
PT (s)	8 - 10	8,22	7,9	6,4	11,4	1,32	0,0913
aPTT (s)	12 - 16	12,56	12,4	8,5	19,8	2,64	0,0018
Fibrinogeno (mg/dl)	150 - 450	199,62	210	88	269	61,47	0,4876

Tabella 6-11 Risultati dei parametri dell'esame coagulativo dopo la rianimazione fluida (T1) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Voluvén*; PT: tempo di protrombina; aPTT: tempo di tromboplastina parziale attivata).

ROTEM T1 - HES							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
In-TEM CT (s)	126 - 363	154,92	151	113	223	33,96	0,4761
In-TEM CFT (s)	47 - 224	161,62	120	47	465	125,98	0,0059
In-TEM MCF (mm)	50 - 75	56,46	58	39	71	9,57	0,7326
In-TEM alpha (°)	55 - 81	65,54	68	36	81	13,65	0,1138
Ex-TEM CT (s)	29 - 92	55	46	26	110	25,79	0,061
Ex-TEM CFT (s)	54 - 275	167,31	130	51	463	136,42	0,009
Ex-TEM MCF (mm)	36 - 73	58,08	58	36	76	12,69	0,6434
Ex-TEM alpha (°)	47 - 79	64,31	65	38	83	13,33	0,4658
Fib-TEM CT (s)	14 - 102	77,92	44	27	473	119,58	<0,0001
Fib-TEM MCF (s)	6 - 26	10,85	10	4	23	5,64	0,1861
MCE platelet	50 - 235	147,08	128	52	287	71,82	0,6905

Tabella 6-12 Risultati dei parametri dell'esame tromboelastometrico (ROTEM) dopo la rianimazione fluida (T1) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, *Voluvén*; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; Fib-TEM: fibrinogeno funzionale; CT: *clotting time*; CFT: *clot formation time*; MCF: *maximum clot firmness*; MCE: *maximum clot elasticity*).

Parametri clinici e clinico-patologici T1 - HS							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
FC (bpm)	60 - 100	141,8	145	78	200	49,45	0,1232
FR (apm)	12 - 18	31	28	20	60	11,6	0,0012
TRC (s)	1 - 2	1,25	1	1	2	0,42	0,1412
Temperatura (°C)	38 - 39	37,9	38,05	35,6	39,3	1,12	0,4017
PCV (%)	37 - 55	35,9	37	28	42	4,82	0,5361
Proteine totali (g/dl)	5,6 - 7,6	5,94	6	4	7,5	1,05	0,7724
Albumina (g/dl)	2,8 - 3,7	2,39	2,5	1,6	3	0,45	0,6013
COP 1 (mmHg)	15,3 - 26,3	15,31	14,7	11,7	20,6	2,99	0,5475
COP 2 (mmHg)	15,3 - 26,3	15,54	15	11,8	21	3,11	0,5368

Tabella 6-13 Risultati dei parametri clinici e clinico-patologici dopo la rianimazione fluida (T1) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo ipertonica (HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; FC: frequenza cardiaca; bpm: battiti per minuto; FR frequenza respiratoria; apm: atti per minuto; TRC: tempo di riempimento capillare; PCV: *Packed Cell Volume*; COP: pressione colloidale-osmotica).

Emogasanalisi venosa T1 - HS							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
pH	7,39 - 7,44	7,25	7,28	7,15	7,33	0,06	0,4474
Bicarbonati (mmol/L)	20,8 - 24,2	17,84	18,55	12,5	23,3	3,6	0,6973
pCO ₂ (mmHg)	33,6 - 41,2	41,3	40,15	30,4	56,6	6,86	0,0872
Base excess (mmol/L)	-2 - +2	-8,23	-7,65	-14,8	-1,2	4,19	0,9653
Potassio (mmol/L)	3,2 - 5	3,21	3,15	2,7	3,7	0,33	0,6357
Sodio (mmol/L)	143 - 154	152,9	154	139	161	7,05	0,5481
Cloro (mmol/L)	108 - 118	125,5	128,5	109	139	10,6	0,4637
Calcio (mmol/L)	1,22 - 1,35	1,21	1,19	1,11	1,33	0,08	0,5898
Glucosio (mg/dl)	70 - 125	120,5	116	90	185	27,78	0,0312
Lattati (mmol/L)	< 2,5	5,26	4,95	2	10,7	2,9	0,6223

Tabella 6-14 Risultati dei parametri dell'emogasanalisi venosa dopo la rianimazione fluida (T1) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo ipertonica (HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; pCO₂ pressione parziale anidride carbonica).

Coagulativo T1 - HS							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
PT (s)	8 - 10	10,68	7,75	6,4	31,7	7,57	<0,0001
aPTT (s)	12 - 16	12,92	10,85	9,8	19	3,69	0,2922
Fibrinogeno (mg/dl)	150 - 450	127,6	150	30	212	67,57	0,4244

Tabella 6-15 Risultati dei parametri dell'esame coagulativo dopo la rianimazione fluida (T1) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo ipertonica (HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; PT: tempo di protrombina; aPTT: tempo di tromboplastina parziale attivata).

ROTEM T1 - HS							
Parametro	Intervallo di riferimento	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale
In-TEM CT (s)	126 - 363	187,1	190	155	230	25,21	0,7528
In-TEM CFT (s)	47 - 224	106,3	103,5	57	191	40,07	0,2028
In-TEM MCF (mm)	50 - 75	57,9	57	44	70	8,24	0,9006
In-TEM alpha (°)	55 - 81	70,6	70,5	60	78	5,99	0,659
Ex-TEM CT (s)	29 - 92	49,9	42	37	85	16,58	0,0859
Ex-TEM CFT (s)	54 - 275	110,3	119	62	148	29,28	0,6849
Ex-TEM MCF (mm)	36 - 73	59,9	57,5	52	74	7,42	0,1644
Ex-TEM alpha (°)	47 - 79	69,7	69,5	62	79	6,06	0,3815
Fib-TEM CT (s)	14 - 102	48	43,5	29	78	16,1	0,2207
Fib-TEM MCF (s)	6 - 26	12,8	11	7	25	5,51	0,0585
MCE platelet	50 - 235	144,3	124	101	261	53,88	0,0271

Tabella 6-16 Risultati dei parametri dell'esame tromboelastometrico (ROTEM) dopo la rianimazione fluida (T1) dei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo ipertonica (HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; Fib-TEM: fibrinogeno funzionale; CT: *clotting time*; CFT: *clot formation time*; MCF: *maximum clot firmness*; MCE: *maximum clot elasticity*).

6.4 Confronto dati clinici e clinico-patologici nelle due popolazioni di studio

Le variabili clinicamente significative dopo la rianimazione fluida nei due gruppi di trattamento (HES vs HS) sono riportate da **tabella 6-17** a **tabella 6-19**. La **tabella 6-20** indica la variazione percentuale del volume ematico e la conseguente espansione volumetrica data dalla fluidoterapia rianimatoria.

Al termine della rianimazione fluida (T1), nel gruppo HES, è stata evidenziata una diminuzione statisticamente significativa in PCV, proteine totali, albumina, lattati e potassio, ma un aumento statisticamente significativo del cloro; mentre nel gruppo HS, è stata riscontrata una diminuzione statisticamente significativa in PCV, proteine totali, albumina, lattati, potassio e pressione colloid-osmotica, ma un aumento statisticamente significativo del cloro e del sodio (**tabella 6-17** e **6-18**).

Al termine del bolo (T1), tra il gruppo HES e il gruppo HS non sono state riscontrate differenze nella variazione percentuale del volume ematico e dell'espansione volumetrica (**tabella 6-20**).

Per quanto riguarda il profilo emostatico, i risultati dell'esame ROTEM, del coagulativo standard e la conta piastrinica ottenuti nei due tempi (T0 vs T1) sono elencati nella **tabella 6-19**.

Le differenze statisticamente significative riscontrate nel gruppo HES tra T0 e T1 sono state un aumento di CFT ed una riduzione di MCF nel profilo ex-TEM, insieme ad una riduzione di MCF nel profilo fib-TEM. Non è stata evidenziata alcuna differenza tra la concentrazione di PT e aPTT prima e dopo il bolo, mentre è stata osservata una riduzione statisticamente significativa del fibrinogeno (**tabella 6-19**).

Nel gruppo HS le differenze statisticamente significative individuate tra T0 e T1 sono state un aumento di CT e CFT e una riduzione di MCF e α nel profilo ex-TEM, insieme a una riduzione di α nel profilo in-TEM, una riduzione di MCF nel profilo fib-TEM e una riduzione di MCE piastrinico. Nessuna differenza è stata evidenziata tra l'aPTT prima e dopo il bolo, mentre è stato riscontrato un aumento statisticamente significativo del PT e una riduzione del fibrinogeno (**tabella 6-19**).

HES														
Parametro	Intervallo di riferimento	T0						T1						P
		Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale	Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale	
PCV (%)	37 - 55	47,92	50	30	65	9,2	0,9502	40,46	40	28	48	5,11	0,0495	0,003
Proteine totali (g/dl)	5,6 - 7,6	7,09	6,5	5,8	9,2	1,19	0,3555	5,69	5,5	4	7,6	1,09	0,7526	0,0005
Albumina (g/dl)	2,8 - 3,7	3,09	2,9	2,4	3,9	0,44	0,6744	4,43	2,3	1,3	3,1	8	<0,0001	0,0002
Potassio (mmol/L)	3,2 - 5	3,88	3,9	3,4	4,6	0,4024	0,579	3,5	3,4	2,8	4,3	0,52	0,3363	0,0002
Cloro (mmol/L)	108 - 118	111,15	114	82	119	9,55	<0,0001	114,23	115	90	122	8,26	<0,0001	0,0005
Lattati (mmol/L)	< 2,5	5,85	3,9	2,6	14,8	3,86	0,1181	3,45	2,7	1,4	7,1	1,95	0,3221	0,0016

Tabella 6-17 Risultati dei parametri clinico-patologici statisticamente significativi tra T0 e T1 nei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide (HES: *Hydroxyethyl starch 130/0,4, Voluven*; PCV: *Packed Cell Volume*).

Parametro	Intervallo di riferimento	HS										P		
		T0					T1							
		Media	Mediana	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Distribuzione normale	Media	Mediana	Minimo	Massimo		Deviazione standard	Distribuzione normale
PCV (%)	37 - 55	44,3	43,5	39	51	3,8	0,9613	35,9	37	28	42	4,82	0,5361	0,0001
Proteine totali (g/dl)	5,6 - 7,6	7,05	7,35	5,2	8,9	1,25	0,6632	5,94	6	4	7,5	1,05	0,7724	0,0028
Albumina (g/dl)	2,8 - 3,7	2,76	2,95	1,9	3,4	0,51	0,5218	2,39	2,5	1,6	3	0,45	0,6013	0,0044
COP 1 (mmHg)	15,3 - 26,3	20,47	20,9	15,7	23,8	2,58	0,7653	15,31	14,7	11,7	20,6	2,99	0,5475	0,0001
COP 2 (mmHg)	15,3 - 26,3	20,7	21	15,8	23,7	2,53	0,5679	15,54	15	11,8	21	3,11	0,5368	0,0005
Potassio (mmol/L)	3,2 - 5	3,63	3,6	2,9	4,3	0,45	0,8837	3,21	3,15	2,7	3,7	0,33	0,6357	0,0021
Sodio (mmol/L)	143 - 154	145,1	147	134	153	5,51	0,37	152,9	154	139	161	7,05	0,5481	0,0008
Cloro (mmol/L)	108 - 118	115,8	116	107	130	7,11	0,6107	125,5	128,5	109	139	10,6	0,4637	0,0003
Lattati (mmol/L)	< 2,5	6,62	5,95	3,2	11,9	3,22	0,4125	5,26	4,95	2	10,7	2,9	0,6223	0,0009
TRC (s)	1 - 2	2,25	2	1	3	0,72	0,6882	1,25	1	1	2	0,42	0,1412	0,0002
FR (apm)	12 - 18	48,4	40	32	120	26,23	<0,0001	31	28	20	60	11,6	0,0012	0,0039

Tabella 6-18 Risultati dei parametri clinici e clinico-patologici statisticamente significativi tra T0 e T1 nei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo ipertonica (HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; PCV: *Packed Cell Volume*; COP: *pressioni colloid-osmotica*; TRC: *tempo di riempimento capillare*; FR *frequenza respiratoria*; apm: *atti per minuto*).

	Intervallo di riferimento	GRUPPO HES		GRUPPO HS	
		N=13		N=10	
ROTEM		T0	T1	T0	T1
In-TEM					
CT (s)	126 - 363	163 (127 - 365)	151 (113 - 223)	169,5 (134 - 220)	190 (155 - 240)
CFT (s)	47 - 224	118 (40 - 368)	120 (47 - 465)	88 (58 - 160)	103,5 (57 - 191)
MCF (mm)	50 - 75	55 (33 - 73)	58 (39 - 71)	61,5 (50 - 72)	57 (44 - 70)
Angolo α (°)	55 - 81	67 (37 - 82)	68 (36 - 81)	73,5 (62 - 79)	70,5* (60 - 78)
Ex-TEM					
CT (s)	29 - 92	47 (30 - 169)	46 (26 - 110)	39,5 (30 - 70)	42* (37 - 85)
CFT (s)	54 - 275	102 (44 - 365)	130* (51 - 463)	84,5 (56 - 152)	119* (62 - 148)
MCF (mm)	36 - 73	62 (39 - 89)	58* (36 - 76)	65 (54 - 81)	57,5* (52 - 74)
Angolo α (°)	47 - 79	73 (33 - 83)	65 (38 - 83)	74,5 (60 - 82)	69,5* (62 - 79)
Fib-TEM					
CT (s)	14 - 102	50,5 (28 - 59)	44 (27 - 473)	38,5 (32 - 73)	43,5 (29 - 78)
MCF (mm)	6 - 26	12 (5 - 33)	10* (4 - 23)	14 (10 - 24)	11* (7 - 25)
MCE _{piastrinico}	50 - 235	156 (59 - 760)	128 (52 - 287)	162,5 (100 - 409)	124* (101 - 261)
Parametri coagulativi routine					
PT (s)	8 - 10	8 (6,1 - 79)	7,9 (6,4 - 11,4)	6,9 (6,3 - 30,6)	7,75* (6,4 - 31,7)
aPTT (s)	12 - 16	12,5 (9 - 135)	12,4 (8,5 - 19,8)	11,25 (8,9 - 20)	10,85 (9,8 - 19)
Fibrinogeno (mg/dl)	150 - 450	243 (129 - 404)	210* (88 - 269)	190,5 (30 - 280)	150* (30 - 212)

Tabella 6-19 Risultati dei parametri ROTEM e coagulativi di routine tra T0 e T1 nei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nei due gruppi di trattamento (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; Fib-TEM: fibrinogeno funzionale; CT: *clotting time*; CFT: *clot formation time*; MCF: *maximum clot firmness*; MCE: *maximum clot elasticity*; PT: tempo di protrombina; aPTT: tempo di tromboplastina parziale attivato); *: differenze statisticamente significative tra T0 e T1 (P <0,05).

	Variazione volume ematico (%)		Efficacia espansione volumetrica (%)	
	HES	HS	HES	HS
N° casi	13	10	13	10
Mediana	20,59	19,72	74,12	93,39
Minimo	-6,67	7,5	-24	35,53
Massimo	44,44	45,71	160	216,54
P	0,2778		0,094	

Tabella 6-20 Risultati della variazione percentuale del volume ematico ed efficacia percentuale dell'espansione volumetrica nei pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica tra gruppo colloide ed ipertonica (HES: *Hydroxyethyl starch 130/0,4*, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

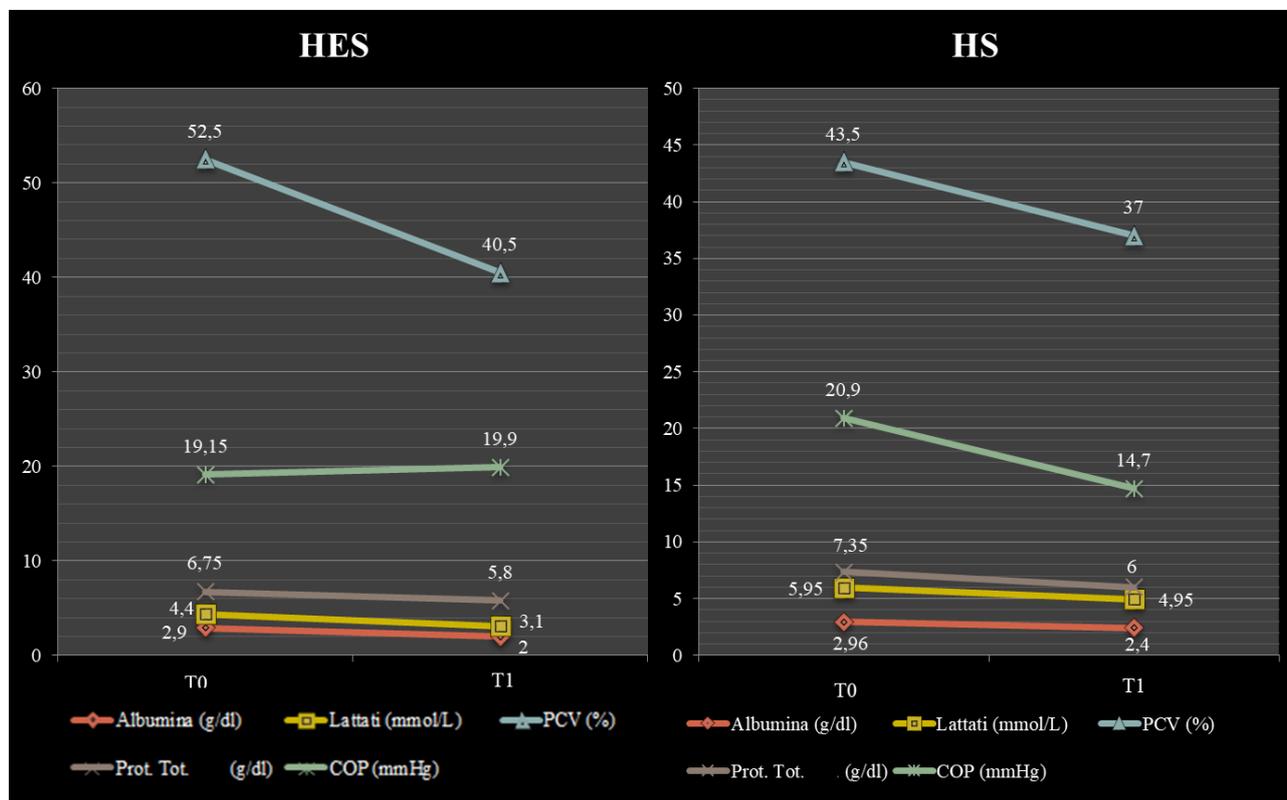


Grafico 6-1 Effetto della rianimazione nei due gruppi di trattamento sui parametri clinico-patologici (HES: *Hydroxyethyl starch 130/0,4*, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; PCV: *Packed Cell Volume*; Prot. Tot: Proteine totali sieriche; COP: pressione colloid-osmotica).

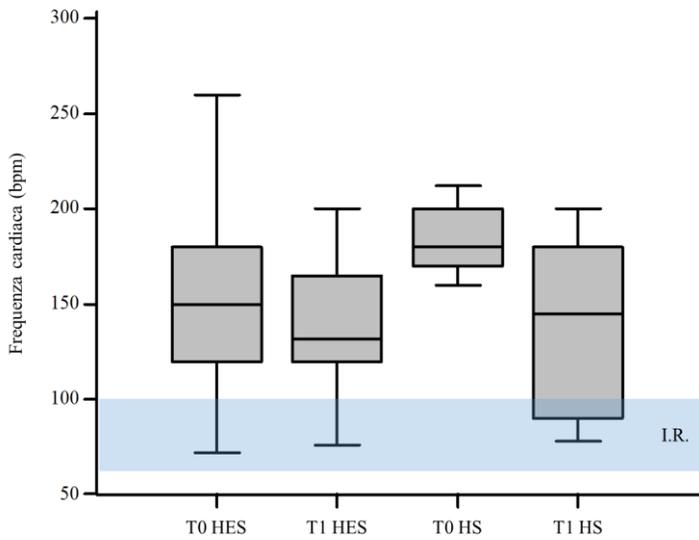


Grafico 6-2 Distribuzione dei valori del parametro frequenza cardiaca all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (bpm: battiti per minuto; I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

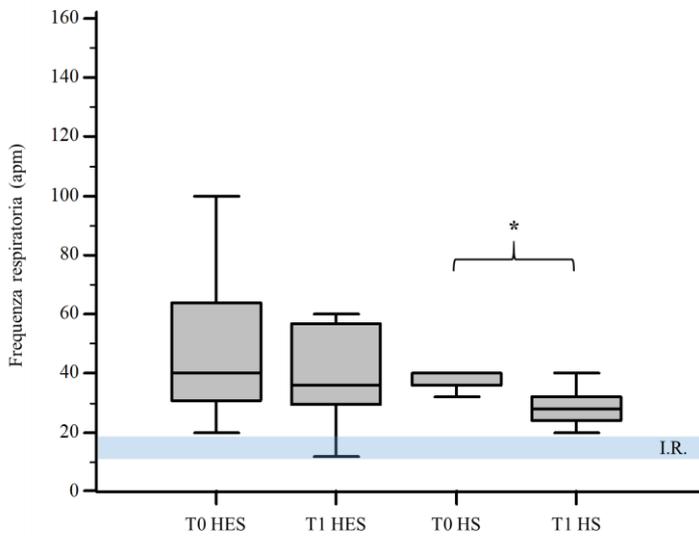


Grafico 6-3 Distribuzione dei valori del parametro frequenza respiratoria all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (apm: atti per minuto; I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: P < 0,05).

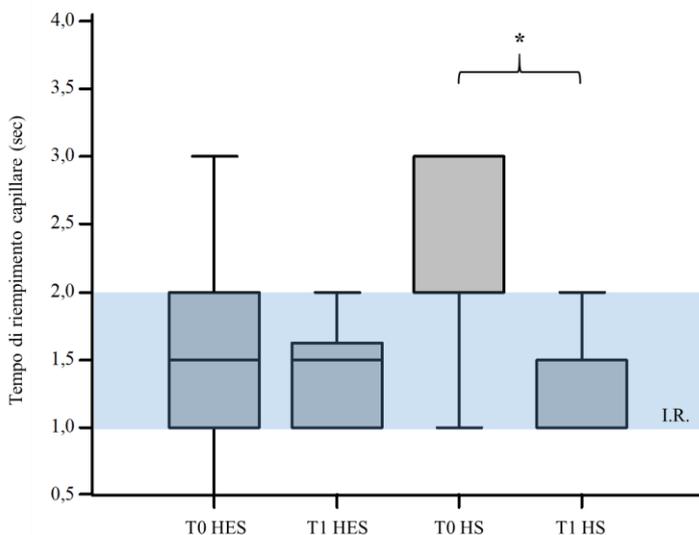


Grafico 6-4 Distribuzione dei valori del parametro tempo di riempimento capillare all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: P < 0,05).

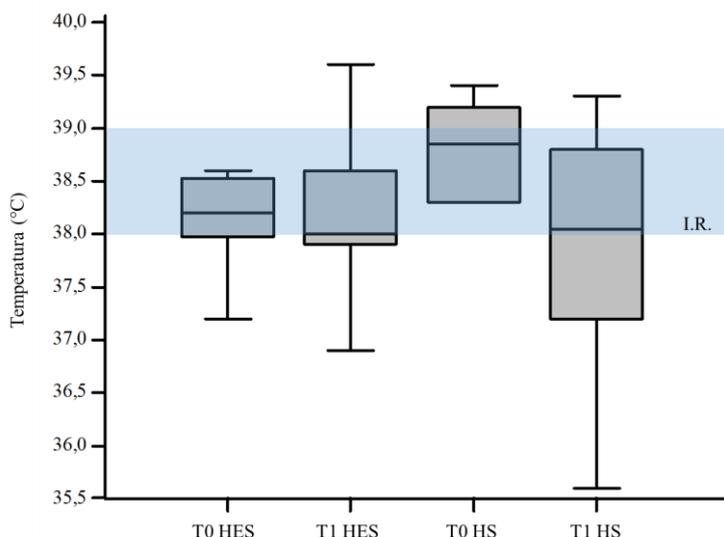


Grafico 6-5 Distribuzione dei valori del parametro temperatura all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

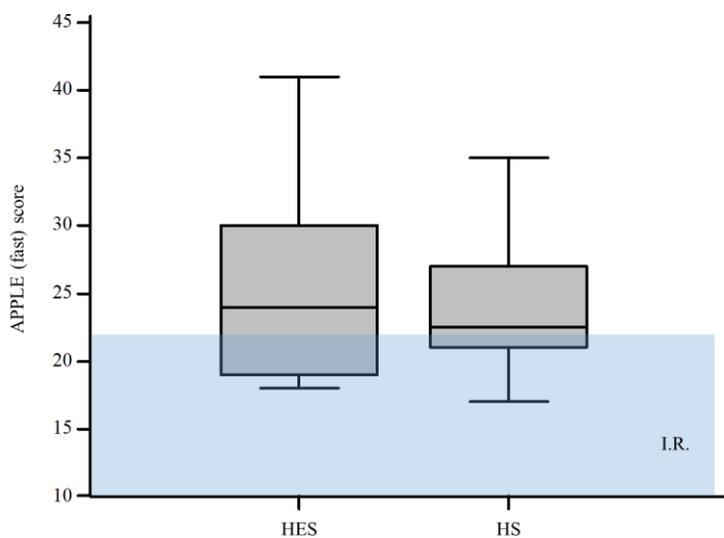


Grafico 6-6 Distribuzione dei valori del parametro APPLE (fast) score all'ammissione (T0) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

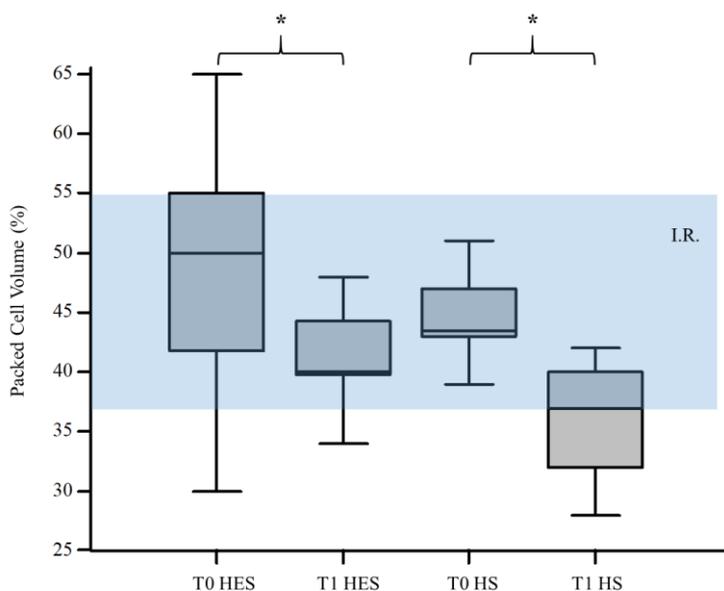


Grafico 6-7 Distribuzione dei valori del parametro *Packed Cell Volume* all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: P < 0,05).

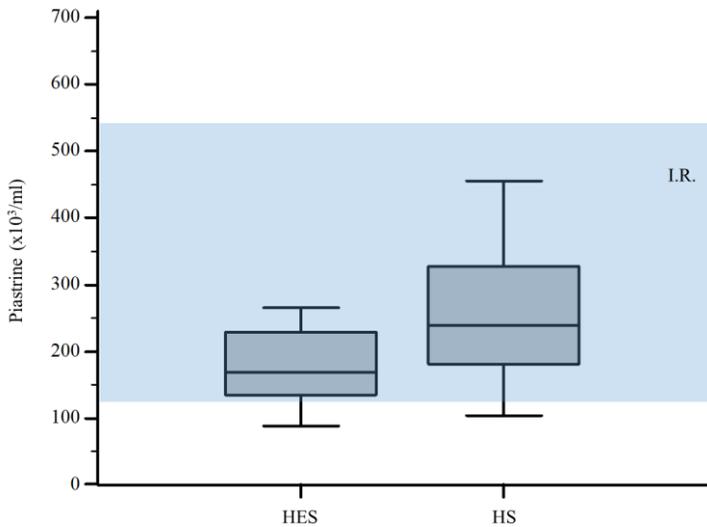


Grafico 6-8 Distribuzione dei valori del parametro piastrine all'ammissione (T0) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

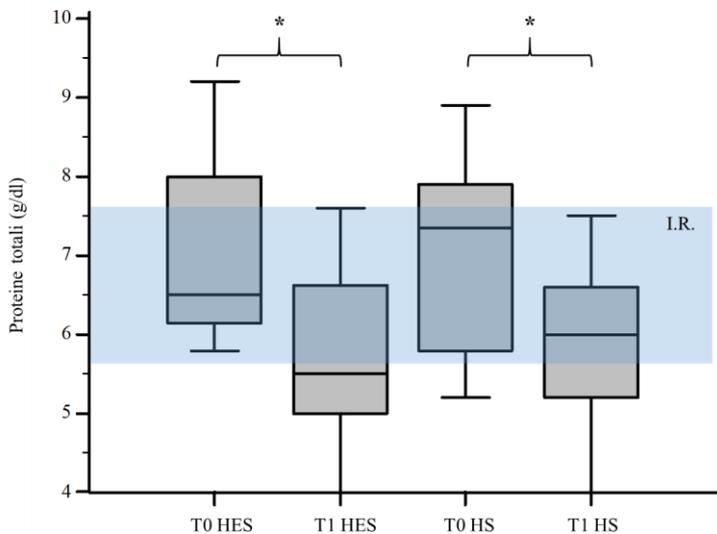


Grafico 6-9 Distribuzione dei valori del parametro proteine totali all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *; P <0,05).

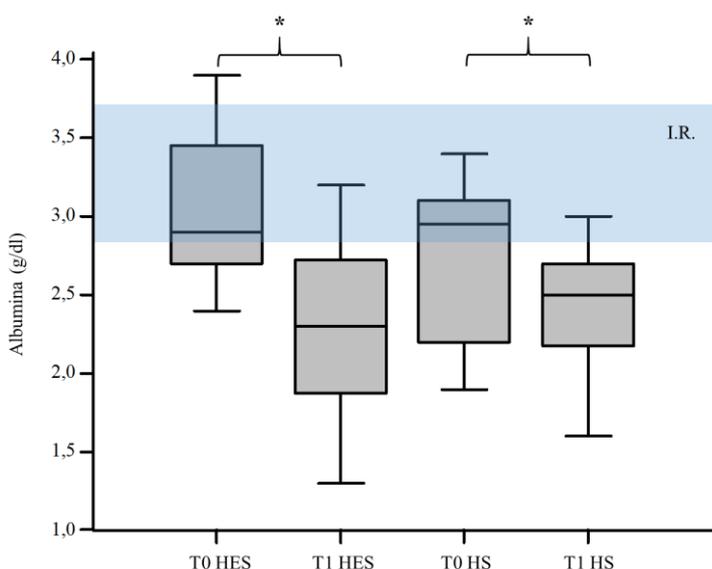


Grafico 6-10 Distribuzione dei valori del parametro albumina all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *; P <0,05).

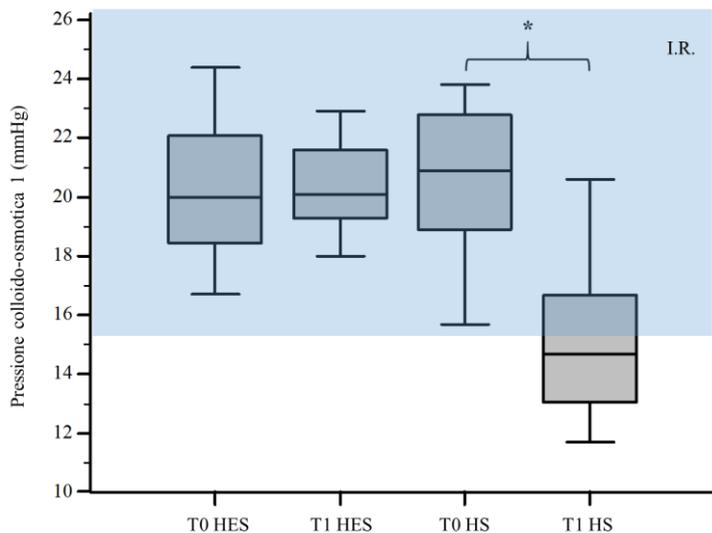


Grafico 6-11 Distribuzione dei valori del parametro pressione colloid-osmotica 1 all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: $P < 0,05$).

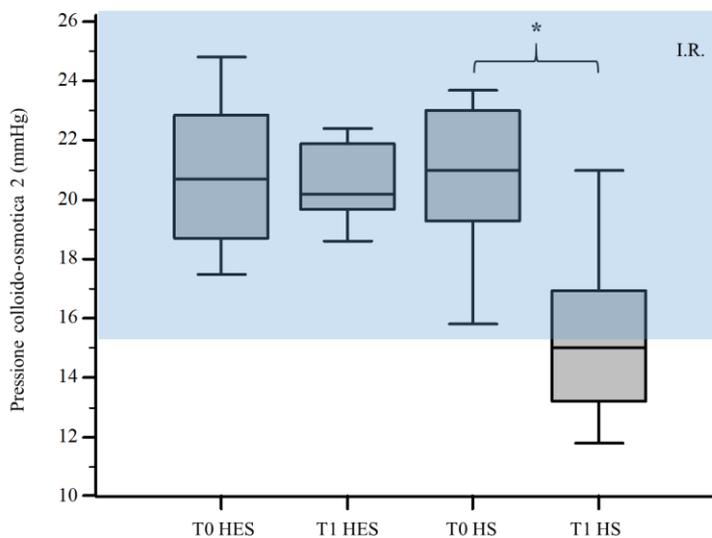


Grafico 6-12 Distribuzione dei valori del parametro pressione colloid-osmotica 2 all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: $P < 0,05$).

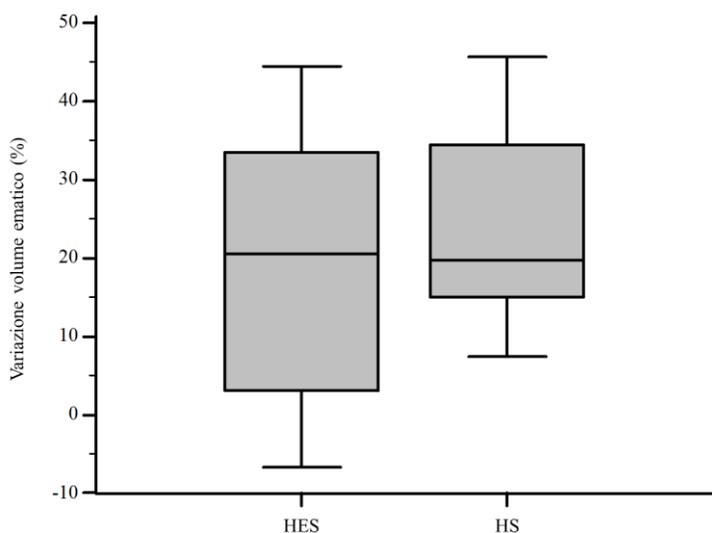


Grafico 6-13 Distribuzione dei valori del parametro variazione percentuale del volume ematico al termine della rianimazione fluida (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

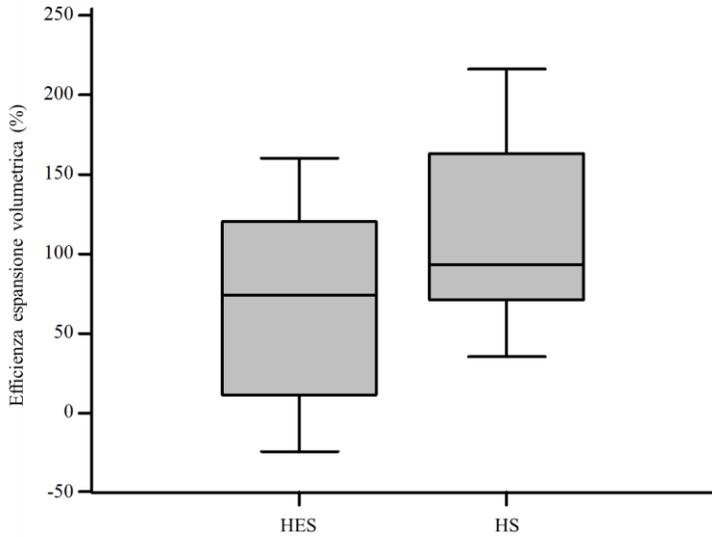


Grafico 6-14 Distribuzione dei valori del parametro efficienza percentuale dell'espansione volumetrica al termine della rianimazione fluida (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

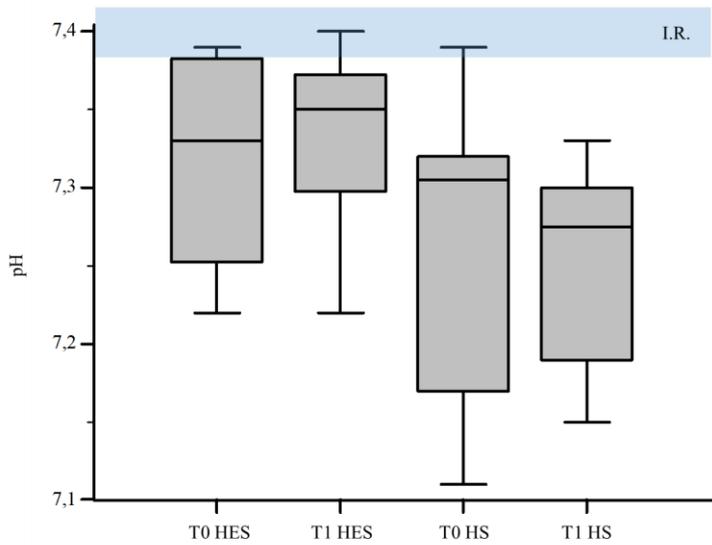


Grafico 6-15 Distribuzione dei valori del parametro pH all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

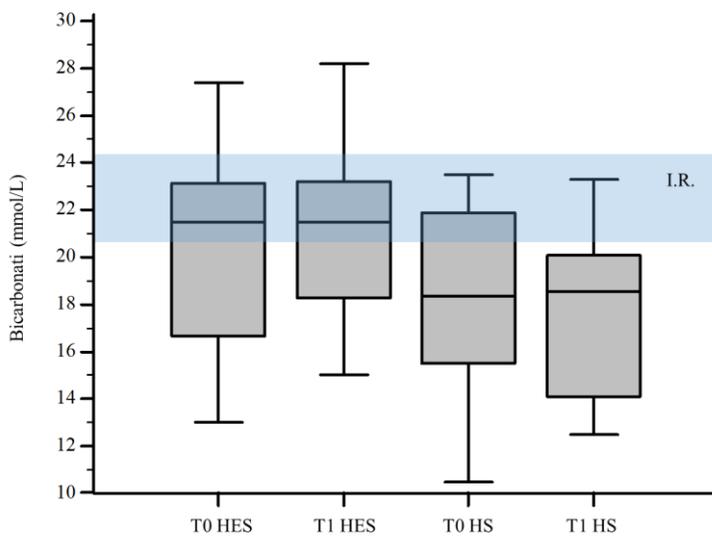


Grafico 6-16 Distribuzione dei valori del parametro bicarbonati all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

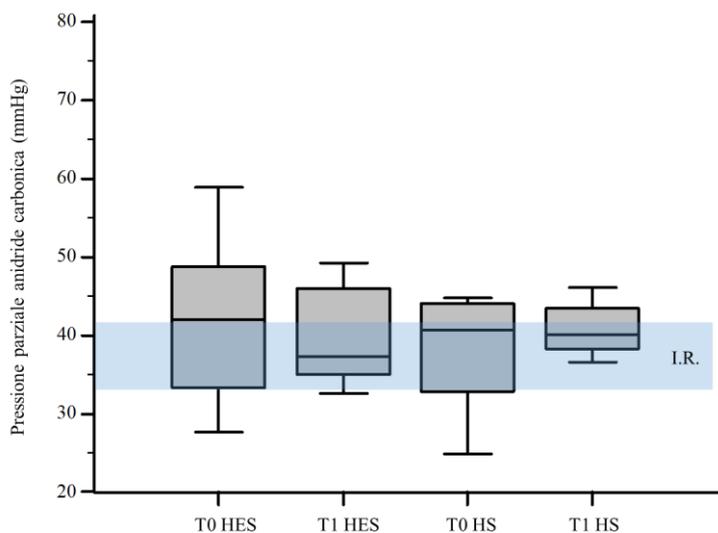


Grafico 6-17 Distribuzione dei valori del parametro pressione parziale di anidride carbonica all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

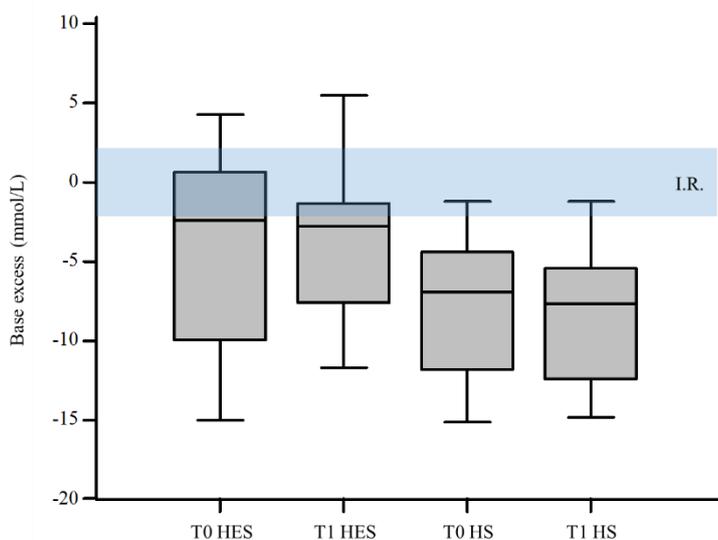


Grafico 6-18 Distribuzione dei valori del parametro *base excess* all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

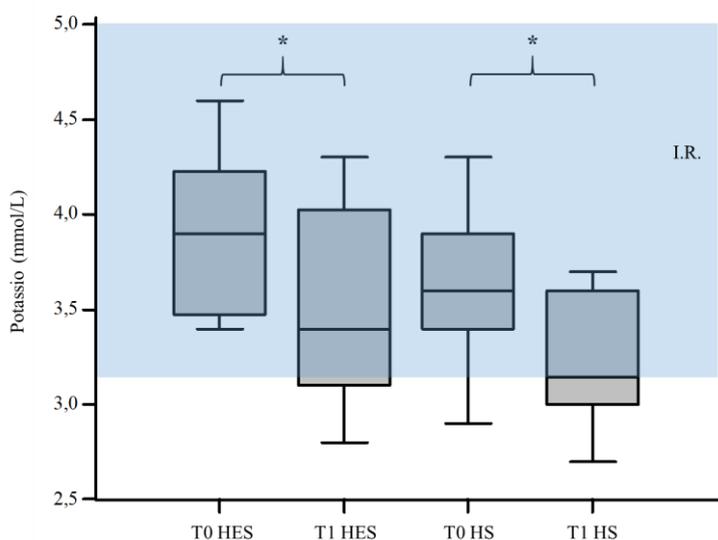


Grafico 6-19 Distribuzione dei valori del parametro potassio all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: $P < 0,05$).

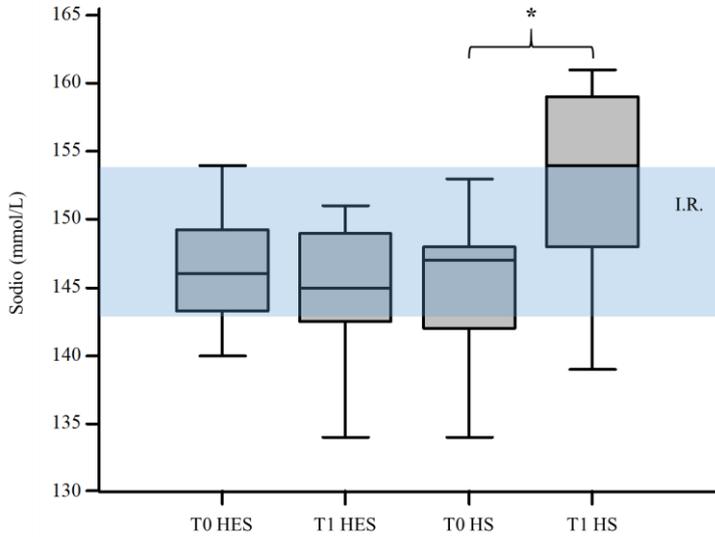


Grafico 6-20 Distribuzione dei valori del parametro sodio all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: P <0,05).

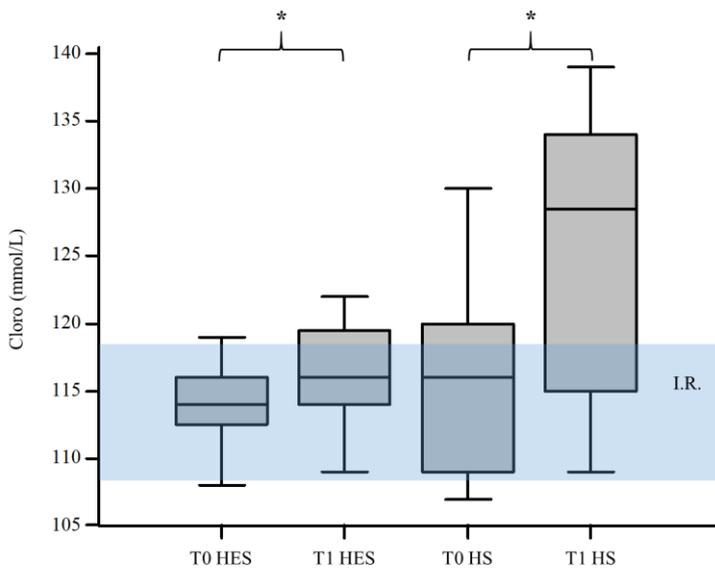


Grafico 6-21 Distribuzione dei valori del parametro cloro all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: P <0,05).

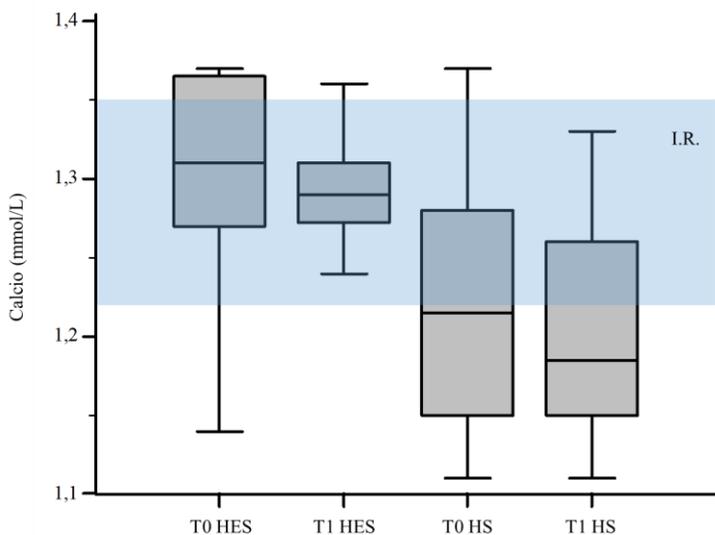


Grafico 6-22 Distribuzione dei valori del parametro calcio all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

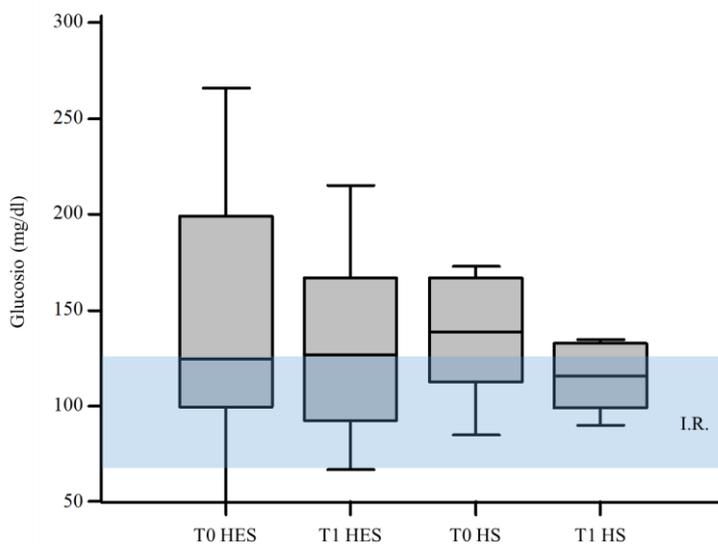


Grafico 6-23 Distribuzione dei valori del parametro glucosio all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

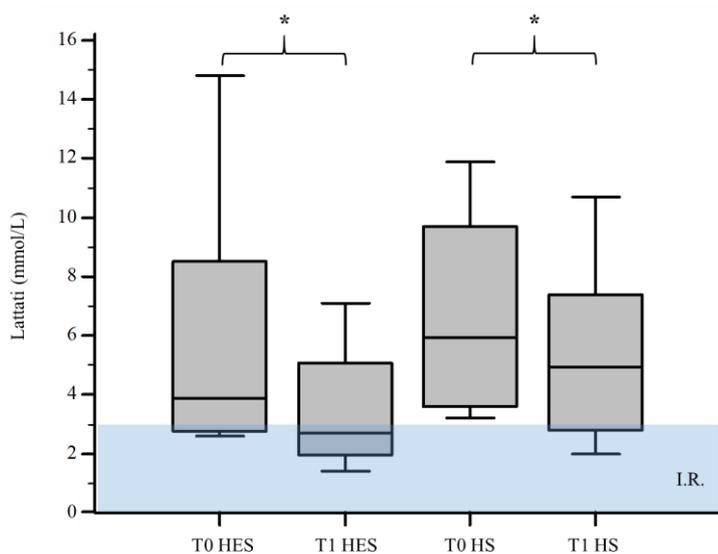


Grafico 6-24 Distribuzione dei valori del parametro lattati all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: P <0,05).

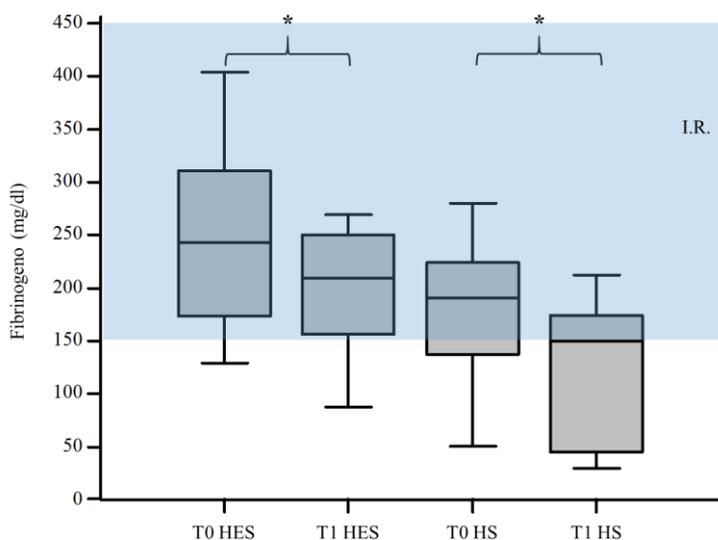


Grafico 6-25 Distribuzione dei valori del parametro fibrinogeno all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: P <0,05).

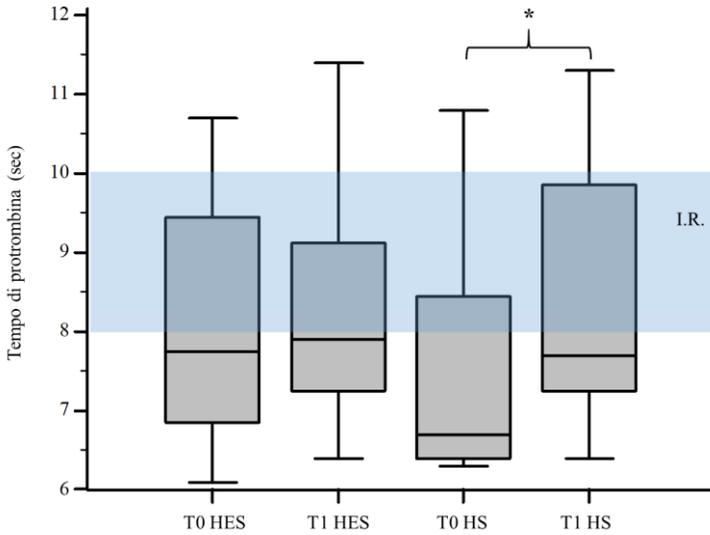


Grafico 6-26 Distribuzione dei valori del parametro tempo di protrombina all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; *: P <0,05).

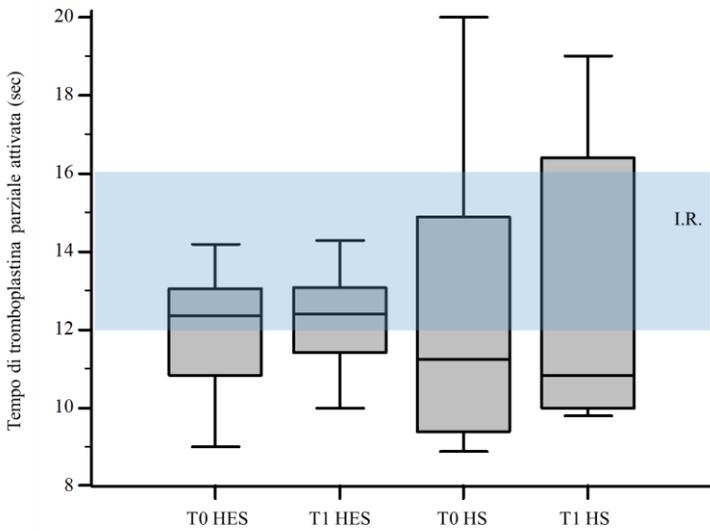


Grafico 6-27 Distribuzione dei valori del parametro tempo di tromboplastina parziale attivata all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

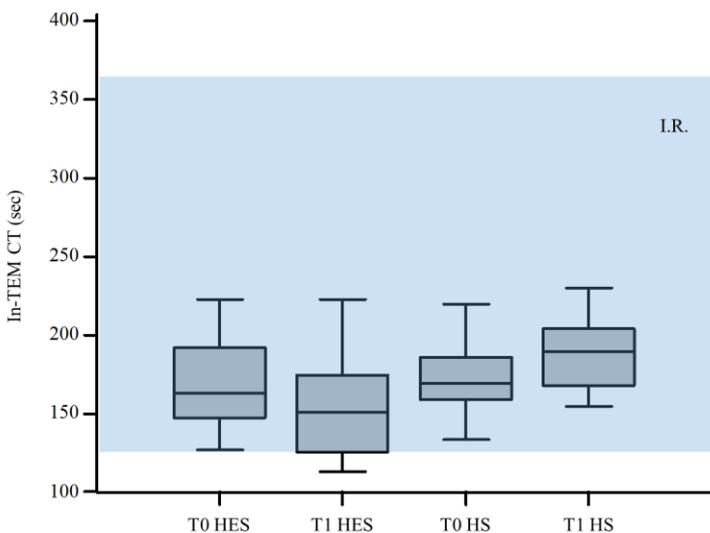


Grafico 6-28 Distribuzione dei valori del parametro In-TEM CT all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; CT: *clotting time*).

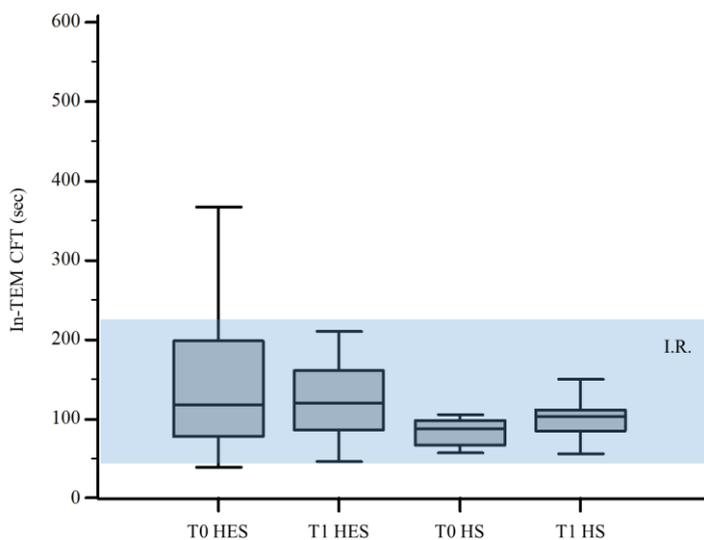


Grafico 6-29 Distribuzione dei valori del parametro In-TEM CFT all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; CFT: *clot formation time*).

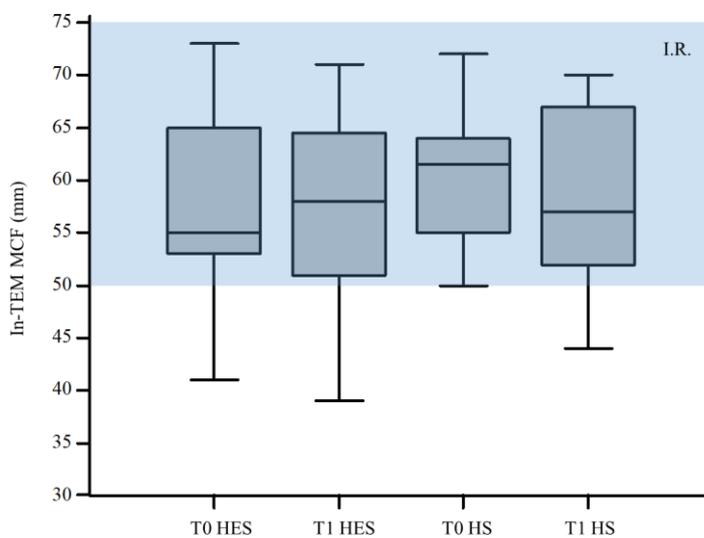


Grafico 6-30 Distribuzione dei valori del parametro In-TEM MCF all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; MCF: *maximum clot firmness*).

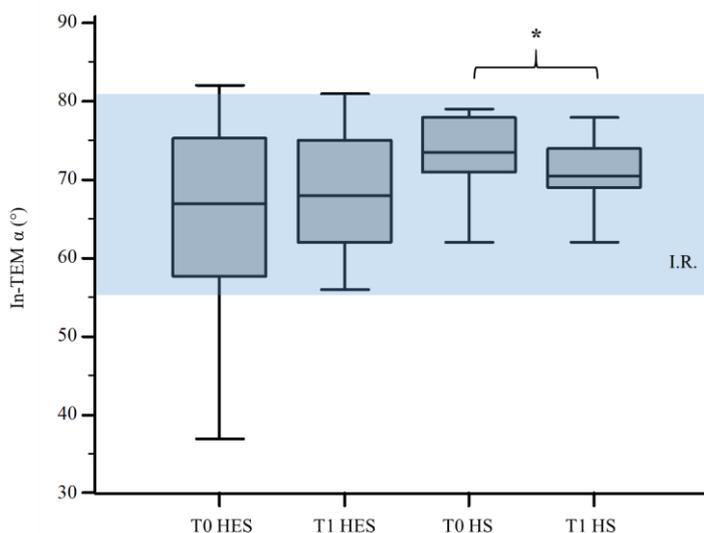


Grafico 6-31 Distribuzione dei valori del parametro In-TEM α all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; *: $P < 0.05$).

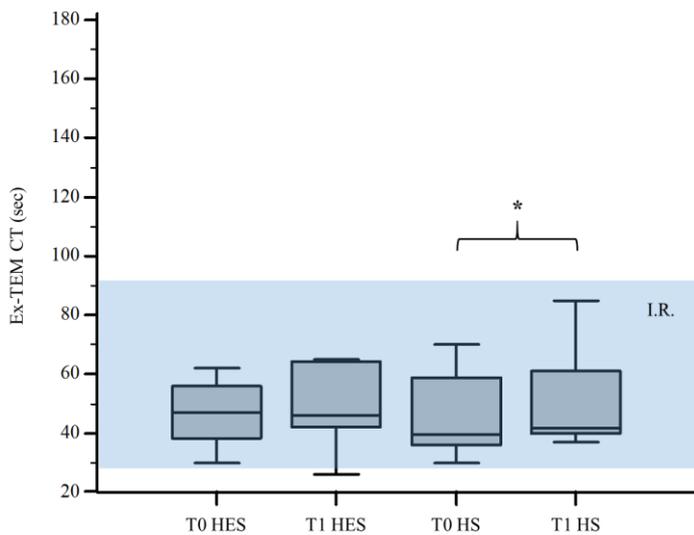


Grafico 6-32 Distribuzione dei valori del parametro Ex-TEM CT all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; CT: *clotting time*; *: P <0,05).

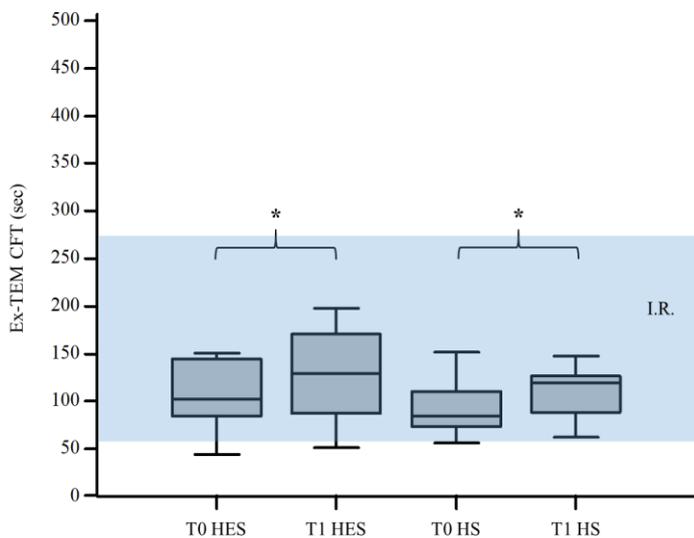


Grafico 6-33 Distribuzione dei valori del parametro Ex-TEM CFT all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; CFT: *clot formation time*; *: P <0,05).

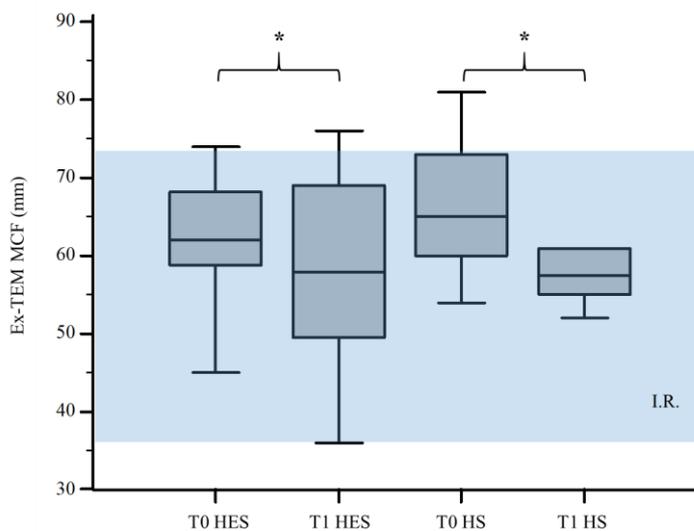


Grafico 6-34 Distribuzione dei valori del parametro Ex-TEM MCF all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; MCF: *maximum clot firmness*; *: P <0,05).

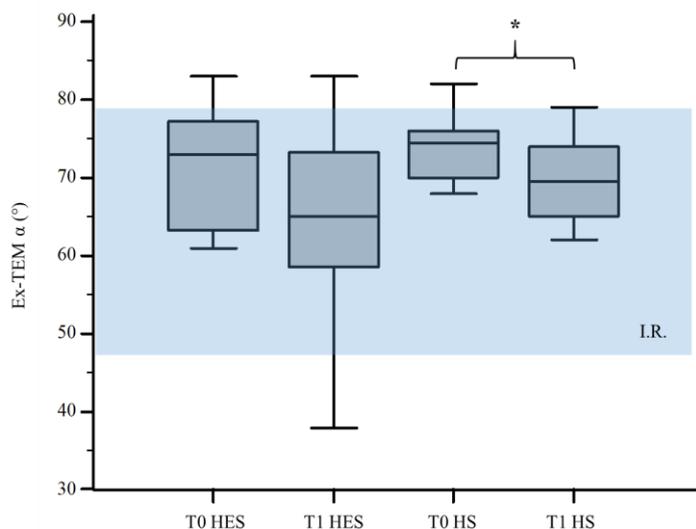


Grafico 6-35 Distribuzione dei valori del parametro Ex-TEM α all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; *: P <0,05).

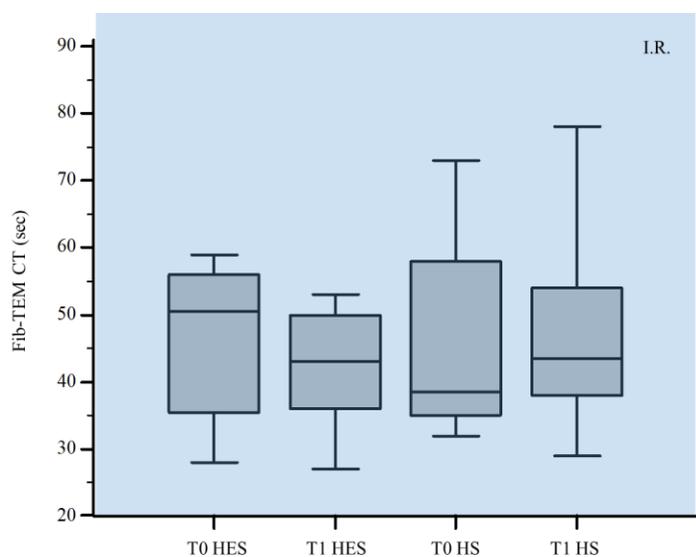


Grafico 6-36 Distribuzione dei valori del parametro Fib-TEM CT all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; Fib-TEM: fibrinogeno funzionale; CT: *clotting time*).

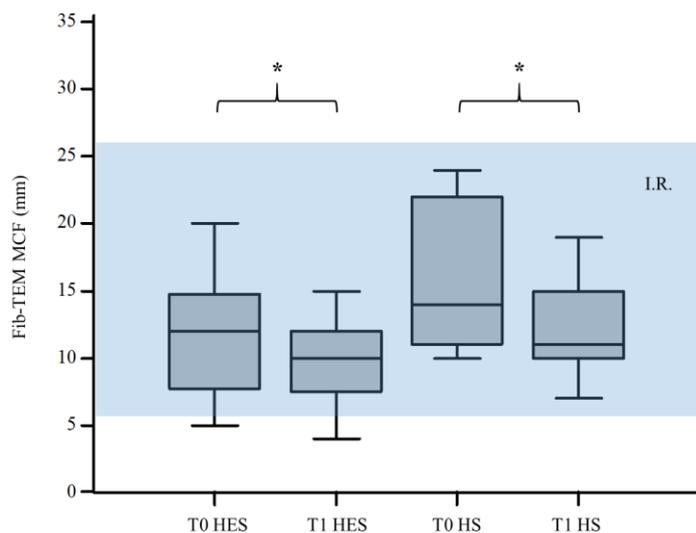


Grafico 6-37 Distribuzione dei valori del parametro Fib-TEM MCF all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; Fib-TEM: fibrinogeno funzionale; MCF: *maximum clot firmness*; *: P <0,05).

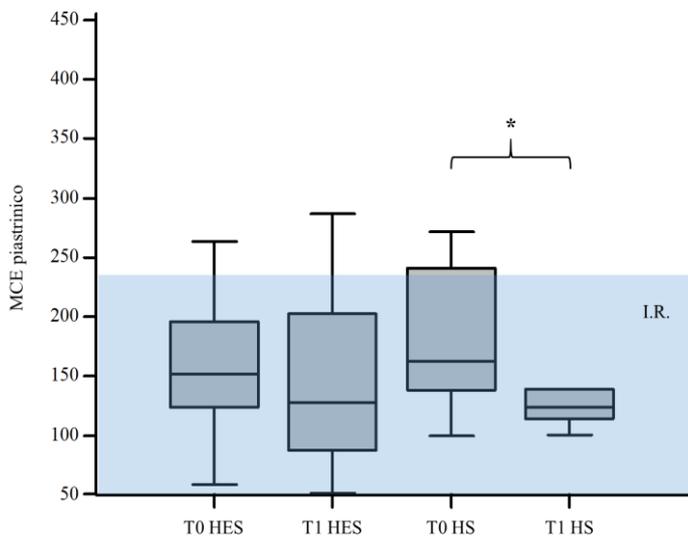


Grafico 6-38 Distribuzione dei valori del MCE piastrinico all'ammissione (T0) e in seguito alla fluidoterapia rianimatoria (T1) nella popolazione di studio randomizzata (HES vs HS). I box contengono i valori dal 1° al 3° quartile e la linea all'interno di essi rappresenta i valori mediani; i punti terminali della linea verticale mostrano dal 5° al 95° percentile; il rettangolo azzurro indica l'intervallo di riferimento della variabile considerata in uso per il cane (I.R.: intervallo di riferimento; HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%; MCE: *maximum clot elasticity*; *: P < 0,05).

Considerando i due cani ipocoagulabili al T1 (nel gruppo HES), i loro tracciati ROTEM sono indicativi di ipocoagulabilità già prima del bolo di HES, ma nel cane 1 si osserva un'ulteriore diminuzione del livello di fibrinogeno mentre nel cane 2 i valori di PT e aPTT aumentano al di sopra dell'intervallo di riferimento (**tabella 6-21**). In questi cani in sede intra e postoperatoria è stata osservata una tendenza al sanguinamento. Il cane 1 ha presentato emoaddome successivamente all'intervento chirurgico e l'emorragia, l'instabilità emodinamica e la coagulopatia sono state trattate con trasfusione di plasma fresco congelato. Il cane 2 ha presentato sanguinamento intra-operatorio, epistassi ed instabilità emodinamica durante la fase di risveglio dall'anestesia, ma i proprietari hanno rifiutato trattamenti successivi optando per l'eutanasia.

	Intervallo di riferimento	Gruppo HES					
		Paziente 1		Paziente 2		Paziente 3	
		T0	T1	T0	T1	T0	T1
ROTEM							
In-TEM							
CT (s)	126 - 363	140	127	182	223	141	113
CFT (s)	47 - 224	206	390	368	465	40	47
MCF (mm)	50 - 75	50	41	41	39	73	71
Angolo α (°)	55 - 81	59	42	41	36	82	81
Ex-TEM							
CT (s)	29 - 92	118	104	169	110	40	34
CFT (s)	54 - 275	295	463	365	455	44	51
MCF (mm)	36 - 73	45	36	39	37	89	76
Angolo α (°)	47 - 79	53	38	41	42	81	81
Fib-TEM							
CT (s)	14 - 102	59	85	57	473	37	27
MCF (mm)	6 - 26	5	4	5	4	33	23
MCE _{piastrinico}	50 - 235	77	52	59	55	760	287
Parametri coagulativi routine							
PT (s)	8 - 10	8,5	9,4	9,4	11,4	8	8,6
aPTT (s)	12 - 16	12	12,5	13,5	19,8	11,2	11,8
Fibrinogeno (mg/dl)	150 - 450	129	88	173	182	404	267
Piastrine ($\times 10^3$ /ml)	128 - 543	101		88		624	

Tabella 6-21 Risultati dei parametri ROTEM e coagulativi di routine tra T0 e T1 dei 3 pazienti con sindrome dilatazione/torsione gastrica arruolati nel gruppo colloide che hanno presentato alterazione dell'emostasi sia al T0 che al T1 (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4; In-TEM: via intrinseca della tromboelastometria; Ex-TEM: via estrinseca della tromboelastometria; Fib-TEM: fibrinogeno funzionale; CT: *clotting time*; CFT: *clot formation time*; MCF: *maximum clot firmness*; MCE: *maximum clot elasticity*; PT: tempo di protrombina; aPTT: tempo di tromboplastina parziale attivato); *: differenze statisticamente significative tra T0 e T1 (P <0,05).

6.5 Outcome della popolazione di studio

La nostra popolazione di studio ha presentato un outcome con 17/23 (74%) soggetti sopravvissuti e 6/23 (26%) soggetti deceduti (**grafico 6-39**).



Grafico 6-39 Outcome della popolazione di studio con sindrome dilatazione/torsione gastrica.

Nel gruppo HES sono sopravvissuti 11/13 (85%) soggetti, 4/13 (31%) hanno presentato necrosi gastrica in sede intraoperatoria di cui 3/13 (23%) hanno richiesto una gastrectomia e 2/13 (15%) sono stati sottoposti ad eutanasia per ragioni economiche (**grafico 6-40**). Nel gruppo colloidali 3/13 (23%) soggetti hanno presentato sanguinamenti clinicamente rilevanti in sede intraoperatoria, di cui 2/13 (15%) sono deceduti.

Nel gruppo HS sono sopravvissuti 6/10 (60%) soggetti, 1/10 (10%) ha presentato necrosi gastrica in sede intraoperatoria ed è stato sottoposto a gastrectomia e 4/10 (40%) sono stati sottoposti ad eutanasia per ragioni economiche (**grafico 6-40**). Nel gruppo cristalloidi nessuno dei soggetti inclusi ha presentato sanguinamenti patologici in sede intraoperatoria.

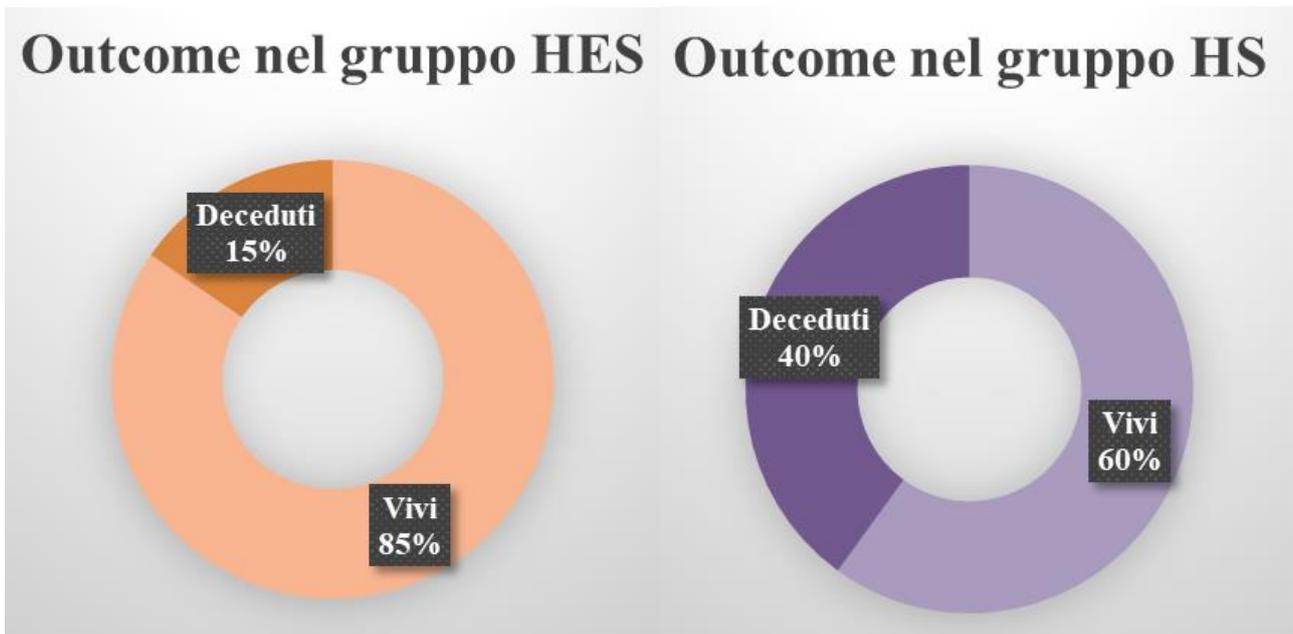


Grafico 6-40 Outcome della popolazione di studio con sindrome dilatazione/torsione gastrica divisi in base al gruppo di rianimazione fluida (HES: *Hydroxyethyl starch* 130/0,4, Voluven; HS: *hypertonic solution*, NaCl 7,5%).

CAPITOLO VII

Discussioni

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'impatto emostatico dell'utilizzo di colloidi sintetici nella rianimazione fluida del paziente critico confrontando i dati ottenuti con quelli di un'uguale popolazione rianimata mediante cristalloidi. A tale fine i soggetti inclusi nello studio sono stati assegnati, in maniera randomizzata, ad uno dei due protocolli di rianimazione (HES vs HS) come descritto precedentemente.

Dall'analisi statistica di tutti i parametri clinici e clinico-patologici all'ammissione, le due popolazioni (Voluven e NaCl 7,5%) sono risultate omogenee. Nella nostra popolazione di studio non sono state evidenziate correlazioni statisticamente significative tra sesso e sviluppo di GDV, ma è stata riscontrata una predisposizione per questa patologia nei cani di taglia grande e gigante con un peso corporeo medio di 36 Kg (mediana 35 Kg con minimo di 17 Kg fino ad un massimo di 61 Kg). Le razze maggiormente rappresentate sono risultate essere il Pastore Tedesco e il Dobermann ed i soggetti inclusi nella nostra analisi hanno un'età media di 9 anni (mediana 10 anni con minimo di 1 anno e un massimo di 14 anni). Tali dati corroborano quanto riportato in letteratura (Mackenzie *et al*, 2010), come anche il tasso di mortalità della nostra popolazione che è risultato essere del 26%, in linea con quanto descritto negli studi su morbilità e mortalità (Evans e Adams, 2010). Tale dato può risultare influenzato da variabili non dipendenti dalla patologia come il rifiuto al trattamento dettato dal proprietario per motivi economici o gestionali. I sintomi solitamente riportati dai proprietari sono risultati essere conati di vomito infruttuoso, dilatazione addominale e depressione del sensorio; all'ammissione in pronto soccorso tale sintomatologia si è presentata tanto più grave quanto maggiore è stato il tempo intercorso tra la comparsa dei sintomi e l'arrivo in struttura e ciò può risultare influenzato dalla mancata sorveglianza del proprietario a causa dello stile di vita del cane (outdoor). All'ammissione la maggioranza dei soggetti inclusi ha presentato alterazione dell'equilibrio acido-

base, iperlattatemia ed emoconcentrazione; questi riscontri sono in accordo con quanto riportato in letteratura (Broome e Walsh, 2003).

Indipendentemente dal protocollo utilizzato, la rianimazione fluida ha comportato un miglioramento della volemia e della perfusione riportando i parametri clinici alla normalità. In particolare al T1 è stata osservata una riduzione statisticamente significativa dei seguenti parametri: PCV (*packed cell volume*), proteine totali, albumina e lattatemia. Questi dati sono ulteriormente supportati dalla variazione percentuale del volume ematico che è risultata sovrapponibile nei due gruppi di trattamento. In aggiunta, i due differenti protocolli di rianimazione impiegati non hanno mostrato alcuna differenza statisticamente significativa in termini di efficienza dell'espansione volumetrica. La riduzione dei lattati ematici va ad avvalorare l'importanza della fluidoterapia nel ristabilire la volemia e la perfusione tissutale in un paziente con GDV. Tali considerazioni devono tenere conto però di alcuni limiti come: la soggettività nella misurazione di alcuni parametri clinici ed il fatto che alcuni di questi soggetti, a discrezione del medico, sono stati sottoposti a gastrocentesi o meno durante la rianimazione fluida. Tale procedura, come già dimostrato, migliora la condizione emodinamica del paziente per la riduzione della pressione intraddominale e garantisce un miglior ritorno venoso al cuore, ottenendo una stabilità emodinamica in minor tempo che con la sola fluidoterapia (Sharp, 2015).

Per quanto riguarda il confronto fra T0 e T1 dei due gruppi, non è stata evidenziata una riduzione della frequenza cardiaca significativa dal punto di vista statistico; questo dimostra che la tachicardia riconosce altre cause oltre l'ipovolemia, come il dolore. I nostri pazienti sono stati trattati, come da protocollo, con metadone a 0,2 mg/kg per via intramuscolare, ma tale analgesia potrebbe risultare insufficiente nel controllo del dolore per dose e via di somministrazione. Nel gruppo rianimato con ipertonica si è riscontrata un'alterazione statisticamente significativa tra T0 e T1 per quanto riguarda i valori di sodio, cloro e frequenza respiratoria. L'incremento della natremia e della cloremia sono valori attesi e conseguenti al tipo di cristalloide utilizzato in quanto possiede un'elevata

concentrazione di tali elettroliti; tuttavia queste alterazioni sono normalmente transitorie. Infine, per quanto riguarda la frequenza respiratoria, tale differenza durante la rianimazione non risulta significativa per lo scopo dello studio e può risultare impattata dalla soggettività del clinico.

Per quanto concerne il parametro della pressione colloidale, nel gruppo rianimato con soluzione colloidale non si è evidenziata una differenza statisticamente significativa della pressione colloidale pre e post rianimazione fluida, come invece è stato riscontrato nel gruppo ipertonica, in cui la pressione colloidale si è ridotta in maniera significativa. Questo risultato può essere imputabile al maggior potere colloidale del Voluven.

L'obiettivo principale di questo studio è quello di valutare l'impatto emostatico della somministrazione in bolo di colloidali sintetici durante la rianimazione fluida in cani affetti da GDV rispetto alla somministrazione di cristalloidi ipertonici.

La somministrazione di un bolo di amido idrossietilico 130/0,4 (gruppo HES) ha prodotto solo alterazioni minime nell'analisi ROTEM, mentre un bolo di soluzione ipertonica salina NaCl 7,5% (gruppo HS) ha comportato una tendenza all'ipocoagulabilità del profilo ex-TEM; tuttavia la rilevanza clinica di questi risultati è discutibile poiché i valori medi ottenuti dopo la rianimazione fluida (T1) rimangono all'interno dell'intervallo di riferimento. La valutazione dei parametri coagulativi standard non ha mostrato variazioni nel tempo di protrombina (PT) e tromboplastina parziale attivata (aPTT) nel gruppo HES, ma un aumento statisticamente significativo del PT è stato evidenziato nel gruppo HS (sempre però all'interno dell'intervallo di riferimento) e una diminuzione statisticamente significativa del livello di fibrinogeno in entrambi i gruppi (anch'esso però all'interno dell'intervallo di riferimento).

L'analisi tromboelastometrica nel gruppo HES ha mostrato un aumento statisticamente significativo del CFT e una riduzione del MCF nel profilo ex-TEM, con una diminuzione del MCF nel profilo fib-TEM. Queste alterazioni, osservate tra T0 e T1, sono indicative di una riduzione nella compattezza del coagulo e possono essere correlate a una riduzione della concentrazione di fibrinogeno e della

funzionalità piastrinica. Infatti nell'analisi ROTEM, i parametri CFT, angolo α e MCF, possono essere influenzati da alcune caratteristiche del campione quali: conta piastrinica, concentrazione di fibrinogeno ed ematocrito (McMichael e Smith, 2011). Una diminuzione del MCF sia nel profilo ex-TEM che fib-TEM, con un valore stazionario di MCE piastrinico, può suggerire che il principale determinante di questi cambiamenti al tracciato ROTEM sia dovuto alla riduzione del fibrinogeno.

In precedenza, solo tre studi in vivo hanno valutato i cambiamenti nell'emostasi dopo la somministrazione di HES 130/0,4. Reutler *et al*, dopo la somministrazione di un singolo bolo di HES (15 ml/kg in 30-40 minuti) in cani sottoposti ad anestesia generale, hanno ottenuto risultati ROTEM simili a quelli riportati nel nostro studio (aumento significativo del CFT nel profilo in-TEM e una diminuzione significativa del MCF nei profili ex-TEM, in-TEM e fib-TEM) (Reutler *et al*, 2017). Anche Gauthier *et al* hanno evidenziato una tendenza all'ipocoagulabilità all'esame tromboelastografico (aumento di K e riduzione di MA e angolo α), ma hanno somministrato un volume maggiore di colloide sintetico in bolo (40 ml/kg per 30 minuti) in cani con sindrome da risposta infiammatoria sistemica (Gauthier *et al*, 2015). Infine, Seshia *et al* hanno somministrato 20 ml/kg in 30 minuti di amido idrossietilico in cani sani, osservando una diminuzione del MCF nei profili in-TEM ed ex-TEM, ma in questo studio l'analisi ROTEM è stata eseguita 1 ora dopo la fine del bolo (Seshia *et al*, 2018).

Nel gruppo rianimato con soluzione cristalloidale ipertonica (HS), molteplici parametri ROTEM sono risultati diversi tra T0 e T1 come: un aumento statisticamente significativo dell'angolo α nel profilo in-TEM, una riduzione del MCF nel profilo fib-TEM ed un profilo ex-TEM indice di ipocoagulabilità. Inoltre, la diminuzione del MCE piastrinico è indicativo della riduzione dell'attività piastrinica. Un aumento del PT è stato riscontrato dopo la somministrazione del bolo HS, ma non del bolo HES. Risultati simili sono stati osservati da Seshia *et al* dopo la somministrazione di un bolo di HS da 5 ml/kg in 15 minuti in cani sani (Seshia *et al*, 2018).

Gli effetti della somministrazione di HS sull'emostasi potrebbero potenzialmente essere correlati a diversi fattori tra cui l'interferenza dell'iperosmolarità sulla funzionalità piastrinica oltre alla compromissione dell'attività dei fattori della coagulazione, della formazione della fibrina e della resistenza del coagulo (Wilder *et al*, 2002; Tan *et al*, 2002; Hanke *et al*, 2011). In uno studio, la somministrazione di HS in pazienti umani sottoposti a craniotomia o affetti da lesione cerebrale traumatica ha provocato solo cambiamenti minimi nel tracciato ROTEM (aumento del CFT in ex-TEM e diminuzione del CT in in-TEM) e l'effetto dell'HS sull'emostasi è risultato essere correlato alla dose e all'osmolarità (Wang *et al*, 2017).

Recenti studi veterinari in vitro e in vivo hanno dimostrato un effetto negativo dose-dipendente della soluzione ipertonica sull'emostasi canina (Wurlod *et al*, 2015; Adamik *et al*, 2015; Yozova *et al*, 2017). Negli studi in vitro in cui sono state effettuate diluizioni di sangue intero con HS, utilizzando HS a due differenti osmolarità (3% e 7,2%), è stata riportata una compromissione del CFT e del MCF nel profilo ex-TEM all'analisi ROTEM, ma tali risultati riflettono solo parzialmente gli effetti indotti in vivo, poichè viene valutato un sistema chiuso e statico (Wurlod *et al*, 2015; Adamik *et al*, 2015). Un recente studio in vivo in cui è stata valutata l'emostasi mediante tromboelastometria e la funzionalità piastrinica mediante PFA-100, in cani con ipertensione intracranica trattati con HS (NaCl 7,2%) o mannitolo, ha evidenziato che l'HS impatta sulla funzionalità piastrinica, ma nell'analisi ROTEM è stata osservata unicamente una riduzione del CT nel profilo fib-TEM (Yozova *et al*, 2017). La discrepanza tra questi risultati e quelli ottenuti dal nostro studio potrebbe essere dovuta alla diversa quantità di cristalloidi somministrata e alle differenze dei soggetti inclusi. Infatti, la nostra popolazione è costituita da pazienti con condizioni emodinamiche instabili, in stato di shock conseguente a ipovolemia, ipoperfusione e acidosi.

In seguito alla somministrazione di HS è stato riscontrato un aumento della natremia e una riduzione del pH (non statisticamente significativo, ma i valori sono risultati essere al di sotto dell'intervallo di riferimento), con conseguente peggioramento dell'acidosi e aumento dell'osmolarità (fattori che

potrebbero aver influito sulla coagulazione). Una diminuzione statisticamente significativa di PCV, proteine totali e albumina è stata riscontrata in entrambi i gruppi al T1, evidenziando un potenziale effetto di emodiluzione conseguente alla somministrazione sia di HES che di HS nella nostra popolazione. Il grado dell'emodiluzione è risultata simile nei due gruppi poiché PCV, proteine totali, albumina e variazione percentuale del volume ematico non sono risultati diversi nelle due popolazioni di studio a T1. La somministrazione concomitante di una soluzione cristalloidale isotonica (ad esempio Ringer lattato) durante la rianimazione fluida, potrebbe aver contribuito all'emodiluzione dei fattori della coagulazione e del fibrinogeno costituendo un potenziale limite del nostro studio.

Anche se l'emodiluzione potrebbe risultare la causa delle alterazioni emostatiche osservate, la variazione dei diversi parametri ROTEM nel gruppo HS, rispetto alle poche alterazioni del gruppo HES, supporta l'idea che l'influenza diretta dell'HS sulla coagulazione potrebbe essere maggiore dell'influenza di HES.

A differenza del PT e dell'aPTT, l'analisi ROTEM ha identificato due cani come ipocoagulabili al momento dell'inclusione. Dopo il bolo di HES, le alterazioni rilevate nei tracciati ROTEM sono risultate in peggioramento e i due pazienti hanno manifestato sanguinamenti clinici in sede intra o postoperatoria. In letteratura, gli studi che hanno valutato la coagulazione in cani con GDV hanno riportato anomalie emostatiche multiple all'ammissione, principalmente indicative di ipocoagulabilità, a causa del consumo dei fattori della coagulazione e delle piastrine, causati dalla CID (Millis *et al*, 1993; Bruchim *et al*, 2012). In questi studi, la coagulazione è stata esaminata mediante test coagulativi di routine, conta piastrinica, misurazione di antitrombina, D-dimeri e prodotti di degradazione della fibrina.

Il nostro studio presenta alcune limitazioni e la ridotta numerosità campionaria non permette di generalizzare i risultati ottenuti. Inoltre, non è stato costituito un gruppo di controllo trattato solo con cristalloidi isotonici al fine di determinare i cambiamenti nell'emostasi indotti dall'emodiluzione piuttosto che dall'effetto diretto di HES o HS. Inoltre, sarebbe stato utile disporre della conta

piastrinica anche a T1, per identificare una possibile influenza su alcuni parametri ROTEM come CFT, MCF e angolo α conseguenti alla riduzione del numero di piastrine, nonostante la misurazione del MCE piastrinico abbia permesso la valutazione della funzionalità piastrinica. Infine, sono stati valutati i cambiamenti emostatici avvenuti in seguito ad un bolo di HES o HS, ma non si conosce quale sia l'assetto emostatico al termine della rianimazione fluida o al raggiungimento della stabilità emodinamica.

Nonostante i risultati ottenuti da questo studio, rimane ancora sconosciuta la rilevanza clinica delle alterazioni emostatiche evidenziate all'analisi tromboelastometrica ed indotte dalla somministrazione di HES e HS in cani con GDV. Per questo motivo sono necessari ulteriori studi in cui vengono somministrati colloidali sintetici a dosi incrementali e per periodi di tempo più prolungati durante la rianimazione fluida di pazienti critici.

Conclusioni

L'utilizzo della tromboelastometria ha permesso di evidenziare la precocità di questa tecnica nel rilevare alterazioni emostatiche rispetto ai test coagulativi di routine. L'importanza clinica delle alterazioni emostatiche evidenziate in seguito alla somministrazione di HES e HS, indipendentemente dal meccanismo che le ha indotte, rimane discutibile in quanto i valori medi ottenuti risultano comunque all'interno dell'intervallo di riferimento e non sono stati evidenziati sanguinamenti clinicamente rilevanti. Per questo motivo, sono necessari ulteriori studi per confermare la sicurezza della somministrazione di HES o HS a dosi incrementali e per periodi di tempo più prolungati durante la rianimazione fluida di pazienti critici.

BIBLIOGRAFIA

[Abrams, 2005]

Charles S. Abrams. Intracellular signaling in platelets. *Current Opinion in Hematology*, 2005; 12(5): 401-405.

[Adamik *et al*, 2015]

Katja-Nicole Adamik, Emmanuelle Butty, Judith Howard. In vitro effects of 3% hypertonic saline and 20% mannitol on canine whole blood coagulation and platelet function. *BMC Veterinary Research*, 2015; 11: 242.

[Akay *et al*, 2009]

O. Meltem Akay, Zeki Ustuner, Zerrin Canturk, Fezan Sahin Mutlu, Zafer Gulbas. Laboratory investigation of hypercoagulability in cancer patients using rotation thrombelastography. *Medical Oncology*, 2009; 26(3): 358-364.

[Albrecht *et al*, 2016]

Nathalie A. Albrecht, Judith Howard, Alan Kovacevic, Katja N. Adamik. In vitro effects of 6% hydroxyethyl starch 130/0.42 solution on feline whole blood coagulation measured by rotational thromboelastometry. *BMC Veterinary Research*, 2016; 12(1): 155.

[Alwood *et al*, 2007]

Amy J. Alwood, Amanda B. Downend, Marjory B. Brooks, Kimberly A. Slensky, Julia A. Fox, Stephen A. Simpson, Lori S. Waddell, James E. Baumgardner, Cynthia M. Otto. Anticoagulant effects of low-molecular-weight heparins in healthy cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2007; 21(3): 378-387.

[Ameri *et al*, 2011]

Mehrdad Ameri, Henry A Schnaars, John R Sibley, David J Honor. Determination of plasma fibrinogen concentrations in Beagle dogs, Cynomolgus monkeys, New Zealand White rabbits, and Sprague–Dawley rats by using claus and prothrombin time–derived Assays. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 2011; 50(6): 864-867.

[Arinzon *et al*, 2004]

Zeev Arinzon, Jacob Feldman, Zeev Fidelman, Reuven Gepstein, Yitshal N. Berner. Hypodermoclysis (subcutaneous infusion) effective mode of treatment of dehydration in long-term care patients. *Archives of Gerontology Geriatrics*, 2004; 38(2): 167-173.

[Balakrishnan e Silverstein, 2015]

Anusha Balakrishnan, Deborah C. Silverstein. Shock fluids and fluid challenge. In: Deborah C. Silverstein, Kate Hopper. *Small Animal Critical Care Medicine*. Seconda edizione, Elseviers 2015. Capitolo 60: 321-326.

[Barron *et al*, 2004]

Michael E. Barron, Mahlon M. Wilkes, Roberta J. Navickis. A systematic review of the comparative safety of colloids. *Archives of Surgery*, 2004; 139(5): 552-563.

[Battle *et al*, 1985]

J. Battle, F. del Río, M. F. López Fernández, R. Martín, A. López Borrasca. Effect of dextran on factor VIII/von Willebrand factor structure and function. *Thrombosis and Haemostasis*, 1985; 54(3): 697-699.

[Bauer *et al*, 2009]

Natali Bauer, Oya Eralp, Andreas Moritz. Establishment of reference intervals for kaolin-activated thromboelastography in dogs including an assessment of the effects of sex and anticoagulant use. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2009; 21(5):641-648.

[Bayer *et al*, 2012]

Ole Bayer, Konrad Reinhart, Yasser Sakr, Bjoern Kabisch, Matthias Kohl, Niels C. Riedemann, Michael Bauer, Utz Settmacher, Khosro Hekmat, Christiane S. Hartog. Renal effects of synthetic colloids and crystalloids in patients with severe sepsis: a prospective sequential comparison. *Critical Care Medicine*, 2012; 39(6): 1335-1342.

[Benjamin e McLaughlin, 2012]

Richard John Benjamin and Lisa Swinton McLaughlin. Plasma components: properties, differences, and uses. *Transfusion*, 2012; 52(Suppl 1): 9S-19S.

[Bignami *et al*, 2017]

Elena Bignami, Marcello Guarnieri, Marco Gemma. Fluid management in cardiac surgery patients: pitfalls, challenges and solutions. *Minerva Anestesiologica*, 2017; 83(6): 638-651.

[Blombäck, 1996]

Birger Blombäck. Fibrinogen and fibrin-proteins with complex roles in hemostasis and thrombosis. *Thrombosis Research*, 1996; 83(1): 1-75.

[Boldt, 2002]

Joachim Boldt. Hydroxyethylstarch as a risk factor for acute renal failure: is a change of clinical practice indicated? *Drug Safety*, 2002; 25(12): 837-846.

[Botto *et al*, 2018]

Angelica Botto, Barbara Bruno, Cristiana Maurella, Fulvio Riondato, Alberto Tarducci, Giulio Mengozzi, Antonio Borrelli. Thromboelastometric assessment of hemostasis following hydroxyethyl starch (130/0.4) administration as a constant rate infusion in hypoalbuminemic dogs. *BMC Veterinary Research*, 2018; 14(1): 33.

[Buber *et al*, 2007]

Tali Buber, Joseph Saragusty, Eyal Ranen, Ana Epstein, Tali Bdolah-Abram, Yaron Bruchim. Evaluation of lidocaine treatment and risk factors for death associated with gastric dilatation and volvulus in dogs: 112 cases (1997–2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2007; 230(9): 1334-1339.

[Bulger e Hoyt, 2012]

Eileen M. Bulger, David B. Hoyt. Hypertonic resuscitation after severe injury: is it of benefit? *Advances in Surgery*, 2012; 46: 73-85.

[Brockman *et al*, 1995]

Brockman D.J., Washabau R.J., Drobatz K.J. Canine gastric dilatation/volvulus syndrome in a veterinary critical care unit: 295 cases (1986-1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1995; 207(4): 460-464.

[Brooks e Catalfamo, 1993]

Marjory B. Brooks, James L. Catalfamo. Buccal mucosa bleeding time is prolonged in canine models of primary hemostatic disorders. *Thrombosis and Haemostasis*, 1993; 70(5): 777–780.

[Brooks e Catalfamo, 2013]

Marjory B. Brooks, James L. Catalfamo. Current diagnostic trends in coagulation disorders among dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 2013; 43(6): 1349–1372.

[Broome e Walsh, 2003]

CJ Broome, VP Walsh. Gastric dilatation-volvulus in dogs. *New Zealand Veterinary Journal*, 2003; 51(6): 275-283.

[Bruchim *et al*, 2012]

Yaron Bruchim, Srugo Itay, Ben-Halevy Shira, Efrat Kelmer, Yudelecitch Sigal, Aroch Itamar, Segev Gilad. Evaluation of lidocaine treatment on frequency of cardiac arrhythmias, acute kidney injury, and hospitalization time in dogs with gastric dilatation volvulus. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2012; 22(4): 419-427.

[Bruno *et al*, 2015]

Barbara Bruno, Cristiana Maurella, Sara Falco, Alberto Tarducci, Renato Zanatta, Paola Gianella, Antonio D'Angelo, Lisa Piras, Andrea Di Bella, Antonio Borrelli. Assessment of coagulation utilizing thromboelastometry in dogs undergoing orthopedic surgery. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2015; 25(3): 358-363.

[Burgess *et al*, 2009]

Hilary J. Burgess, J. Paul Woods, Anthony C.G. Abrams-Ogg, R. Darren Wood. Evaluation of laboratory methods to improve characterization of dogs with von Willebrand disease. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 2009; 73(4): 252-259.

[Caballo *et al*, 2013]

Carolina Caballo, Gines Escolar, Maribel Diaz-Ricart, Irene Lopez-Vílchez, Miguel Lozano, Joan Cid, Marcos Pino, Joan Beltrán, Misericordia Basora, Arturo Pereira, Ana M. Galan. Impact of experimental haemodilution on platelet function, thrombin generation and clot firmness: effects of different coagulation factor concentrates. *Blood Transfusion*, 2013; 11(3): 391-399.

[Callan e Giger, 2001]

Mary Beth Callan, Urs Giger. Assessment of a point-of-care instrument for identification of primary hemostatic disorders in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 2001; 62(5): 652-658.

[Calla *et al*, 2005]

Mary Beth Callan, Urs Giger, James L. Catalfamo. Effect of desmopressin on von Willebrand factor multimers in Doberman Pinschers with type 1 von Willebrand disease. *American Journal of Veterinary Research*, 2005; 66(5): 861-867.

[Casutt *et al*, 2010]

M. Casutt, A. Kristoffy, G. Schuepfer, D. R. Spahn, C. Konrad. Effects on coagulation of balanced (130/0.42) and non-balanced (130/0.4) hydroxyethyl starch or gelatin compared with balanced Ringer's solution: an in vitro study using two different viscoelastic coagulation tests ROTEM™ and SONOCLOT™. *British Journal of Anaesthesia*, 2010; 105(3): 273-281.

[Chan, 2008]

Daniel L. Chan. Colloids: current recommendations. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 2008; 38(3): 587-593.

[Chang *et al*, 2009]

Yao-Wen Chang, Chang-Hui Liao, Yuan-Ji Day. Platelet function analyzer (PFA-100®) offers higher sensitivity and specificity than thromboelastography (TEG®) in detection of platelet dysfunction. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, 2009; 47(3): 110-117.

[Clarke *et al*, 2013]

Stephen R. Clark, Christopher P. Thomas, Victoria J. Hammond, Maceler Aldrovandi, Gavin W. Wilkinson, Keith W. Hart, Robert C. Murphy, Peter W. Collins, Valerie B. O'Donnell. Characterization of platelet aminophospholipid externalization reveals fatty acids as molecular determinants that regulate coagulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013; 110(15): 5875-5880.

[Cornell, 2012]

Karen Cornell. Stomach. In Karen M. Tobias & Spencere A. Johnston. *Veterinary Surgery Small Animal*. Prima edizione, Elsevier 2012. Capitolo 91: 1484-1512.

[Cortellini *et al*, 2015]

S. Cortellini, L. Pelligand, H. Syme, Y.M. Chang, and S. Adamantos. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in dogs with sepsis undergoing emergency laparotomy: a prospective case-control study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2015; 29(6): 1595-1602.

[Cotton *et al*, 2006]

Bryan A. Cotton, Jeffrey S. Guy, John A. Morris Jr, Naji N. Abumrad. The cellular, metabolic, and systemic consequences of aggressive fluid resuscitation strategies. *Shock*, 2006; 26(2): 115-121.

[Cvirn *et al*, 2008]

Gerhard Cvirn, Siegfried Gallistl, Joerg Kutschera, Thomas Wagner, Ulrika Ferstl, Gunther Jurgens, Martin Koestenberger. Clot strength: a comparison between cord and adult blood by means of thrombelastometry. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 2008; 30(3): 210-213.

[Dart *et al*, 2010]

Allison B. Dart, Thomas C. Mutter, Chelsea A. Ruth, Shayne P. Taback. Hydroxyethyl starch (HES) versus other fluid therapies: effects on kidney function. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2010: 20(1).

[Delaney *et al*, 2011]

Anthony P. Delaney, Arina Dan, John McCaffrey, Simon Finfer. The role of albumin as a resuscitation fluid for patients with sepsis: A systematic review and meta-analysis. *Critical Care Medicine*, 2011; 39(2): 386-391.

[Daudel *et al*, 2008]

Fritz Daudel, Ulf Kessler, Hélène Folly, Jasmin S Lienert, Jukka Takala, Stephan M Jakob. Thromboelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. *Critical Care Medicine*, 2008; 13(2): R42.

[DeJonge & Levi, 2001]

Evert de Jonge, Marcel Levi. Effects of different plasma substitutes on blood coagulation: a comparative review. *Critical Care Medicine*, 2001; 29(6): 1261-1267.

[Dekker *et al*, 2014]

Simone E. Dekker, Martin Silleesen, Ted Bambakidis, Guang Jin, Baoling Liu, Christa Boer, Par I. Johansson, Ihab Halaweish, Jake Maxwell, Hasan B. Alam. Normal saline influences coagulation and endothelial function after traumatic brain injury and hemorrhagic shock in pigs. *Surgery*, 2014; 156(3): 556-563.

[DiBartola e Bateman, 2006]

Stephen P. DiBartola and Shane Bateman. Introduction to Fluid Therapy. In: Stephen P. DiBartola. *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice*. Terza edizione, Elsevier 2006. Capitolo 14: 331-350.7

[Dudek *et al*, 2011]

Magdalena M. Dudek, Nigel Kent, Kerstin M. Gustafsson, Tomas L. Lindahl, Anthony J. Killard. Fluorescence-based blood coagulation assay device for measuring activated partial thromboplastin time. *Analytical Chemistry*, 83(1): 319-328.

[Dyszkiewicz-Korpanty *et al*, 2005]

Anna M. Dyszkiewicz-Korpanty, Eugene P. Frenkel, Ravindra Sarode. Approach to the assessment of platelet function: comparison between optical-based platelet-rich plasma and impedance-based whole blood platelet aggregation methods. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2005; 11(1): 25–35.

[Elmer *et al*, 2012]

Jonathan Elmer, Hasan B. Alam, Susan R. Wilcox. Hemoglobin-based oxygen carriers for hemorrhagic shock. *Resuscitation*, 2012; 83(3): 285-292.

[Epstein *et al*, 2009]

Kira L. Epstein, Benjamin M. Brainard, Marco A.F. Lopes, Michelle H. Barton, James N. Moore. Thrombelastography in 26 healthy horses with and without activation by recombinant human tissue factor. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2009; 19(1): 96–101.

[Ekseth *et al*, 2002]

K. Ekseth, L. Abildgaard, M. Vegfors, J. Berg-Johnsen, O. Engdahl. The in vitro effects of crystalloids and colloids on coagulation. *Anaesthesia*, 2002; 57(11): 1102–1133.

[Evans e Adams, 2010]

Katy M. Evans, Vicki J. Adams. Mortality and morbidity due to gastric dilatation-volvulus syndrome in pedigree dogs in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, 2010; 51(7): 376-381.

[Falco *et al*, 2012]

Sara Falco, Barbara Bruno, Cristiana Maurella, Claudio Bellino, Antonio D'Angelo, Paola Gianella, Alberto Tarducci, Renato Zanatta, Antonio Borrelli. In vitro evaluation of canine hemostasis following dilution with hydroxyethyl starch (130/0.4) via thromboelastometry. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2012; 22(6): 640–645.

[Favaloro, 2008]

Emmanuel J. Favaloro. Clinical utility of the PFA-100. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 2008; 34(8): 709-733.

[Forsythe e Willis, 1989]

LeeAnn T. Forsythe, Sandra E. Willis. Evaluating oral mucosa bleeding times in healthy dogs using a spring-loaded device. *Canadian Veterinary Journal*, 1989; 30(4): 344–345.

[Fries *et al*, 2002]

Dietmar Fries, Petra Innerhofer, Anton Klingler, Ulrike Berresheim, Markus Mittermayr, Andreas Calatzis, Wolfgang Schobersberger. The effect of the combined administration of colloids and lactated Ringer's solution on the coagulation system: an in vitro study using thrombelastograph coagulation analysis (ROTEG). *Anesthesia and Analgesia*, 2002; 94(5): 1280-1287.

[Furie e Furie, 2008]

Bruce Furie, Barbara C. Furie. Mechanisms of thrombus formation. *The New England Journal of Medicine*, 2008; 359(9): 938-949.

[Gauthier *et al*, 2014]

Vincent Gauthier, Marie K. Holowaychuk, Carolyn L. Kerr, Alexa M.E. Bersenas, R. Darren Wood. Effect of synthetic colloid administration on hemodynamic and laboratory variables in healthy dogs and dogs with systemic inflammation. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2014; 24(3): 251-258.

[Gauthier *et al*, 2015]

V. Gauthier, M.K. Holowaychuk, C.L. Kerr, A.M.E. Bersenas, R. Darren Wood. Effect of synthetic colloid administration on coagulation in healthy dogs and dogs with systemic inflammation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2015; 29(1): 276-285.

[Gentilini *et al*, 2005]

Fabio Gentilini, Francesco Dondi, Cinzia Mastrorilli, Massimo Giunti, Claudia Calzolari, Gualtiero Gandini, Danilo Mancini, Paolo Famigli Bergamini. Validation of a human immunoturbidimetric assay to measure canine albumin in urine and cerebrospinal fluid. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2005; 17(2): 179–183.

[Gibbins, 2004]

Jonathan M. Gibbins. Platelet adhesion signalling and the regulation of thrombus formation. *Journal of Cell Science*, 2004; 117(Pt 16): 3415-3425.

[Glover *et al*, 2014]

Polly A. Glover, Elke Rudloff, Rebecca Kirby. Hydroxyethyl starch: a review of pharmacokinetics, pharmacodynamics, current products, and potential clinical risks, benefits, and use. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2014; 24(6): 642-661.

[Goodrich *et al*, 2013]

Z. J. Goodrich, L. L. Powell and K. J. Hulting. Assessment of two methods of gastric decompression for the initial management of gastric dilatation-volvulus. *Journal of Small Animal Practice*, 2013; 54(2): 75-79.

[Green *et al*, 2011]

Tiffany I. Green, Caroline C. Tonozzi, Rebecca Kirby, Elke Rudloff. Evaluation of initial plasma lactate values as a predictor of gastric necrosis and initial and subsequent plasma lactate values as a predictor of survival in dogs with gastric dilatation-volvulus: 84 dogs (2003-2007). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2011; 21(1): 36-44.

[Griego-Valles *et al*, 2017]

Michelle Griego-Valles, Yekaterina Buriko, Jennifer E. Prittie, Philip R. Fox. An in vitro comparison of the effects of voluven (6% hydroxyethyl starch 130/0.4) and hespan (6% hydroxyethyl starch 670/0.75) on measures of blood coagulation in canine blood. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2017; 27(1): 44-51.

[Griffin, 2003]

Alison Griffin, Mary Beth Callan, Frances S. Shofer, Urs Giger. Evaluation of a canine D-dimer point-of-care test kit for use in samples obtained from dogs with disseminated intravascular coagulation, thromboembolic disease, and hemorrhage. *American Journal of Veterinary Research*, 2003; 64(12): 1562-1569.

[Haak *et al*, 2012]

Carol E. Haak, Elke Rudloff, Rebecca Kirby. Comparison of Hb-200 and 6% hetastarch 450/0.7 during initial fluid resuscitation of 20 dogs with gastric dilatation-volvulus. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2012; 22(2): 201–210.

[Haas *et al*, 2007]

T. Haas, A. Preinreich, E. Oswald, W. Pajk, J. Berger, G. Kuehbacher, P. Innerhofer. Effects of albumin 5% and artificial colloids on clot formation in small infants. *Anaesthesia*, 2007; 62(10): 1000-1007.

[Hackner e Rousseau, 2015]

Susan G. Hackner, Alexandre Rousseau. Bleeding disorders. In: Deborah C. Silverstein, Kate Hopper. *Small Animal Critical Care Medicine*. Seconda edizione, Elseviers 2015. Capitolo 105: 311-315.

[Hanke *et al*, 2011]

Alexander A Hanke, Stephanie Maschler, Herbert Schöch, Felix Flöricke, Klaus Görlinger, Klaus Zanger, Peter Kienbaum. In Vitro impairment of whole blood coagulation and platelet function by hypertonic saline hydroxyethyl starch. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*, 2011; 19:12.

[Hansen, 2006]

Bernie Hansen. Technical aspects of fluid therapy. In: Stephen P. DiBartola. *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice*. Terza edizione, Elsevier 2006. Capitolo 15: 351-385.

[Helmbold *et al*, 2014]

Kim A. Helmbold, Matthew S. Mellema, Kate Hopper, Steven E. Epstein. The effect of hetastarch 670/0.75 administered in vivo as a constant rate infusion on platelet closure time in the dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2014; 24(4): 381-387.

[Herring e McMichael, 2012]

Jennifer Herring, Maureen McMichael. Diagnostic approach to small animal bleeding disorders. *Topics in Companion Animal Medicine*, 2012; 27(2): 73-80.

[Hoffman e Monroe, 2001]

Maureane Hoffman, Dougald M. Monroe. A cell-based model of hemostasis. *Thrombosis and Haemostasis*, 2001; 85(6): 958–965.

[Hughes e Boag, 2006]

Dez Hughes, Amanda Boag. Fluid therapy with macromolecular plasma volume expanders. In: Stephen P. DiBartola. *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice*. Terza edizione, Elsevier 2006. Capitolo 27: 647-664.

[Hüter *et al*, 2009]

Lars Hüter, Tim-Philipp Simon, Lenard Weinmann, Tobias Schuerholz, Konrad Reinhart, Gunter Wolf, Kerstin Ute Amann, Gernot Marx. Hydroxyethyl starch impairs renal function and induces interstitial proliferation, macrophage infiltration and tubular damage in an isolated renal perfusion model. *Critical Care*, 2009; 13(1): R23.

[Italiano *et al*, 2010]

Joseph E. Italiano Jr, Albert T.A. Mairuhu, Robert Flaumenhaft. Clinical relevance of microparticles from platelets and megakaryocytes. *Current Opinion in Hematology*, 2010; 17(6): 578-584.

[Jessen *et al*, 2008]

Lisbeth R. Jessen, Bo Wiinberg, Asger L. Jensen, Mads Kjelgaard-Hansen, Kate H. Jensen, Lotte B. Pedersen, Annemarie T. Kristensen. In vitro heparinization of canine whole blood with low molecular weight heparin (dalteparin) significantly and dose-dependently prolongs heparinase-modified tissue factor-activated thromboelastography parameters and prothrombinase-induced clotting time. *Veterinary Clinical Pathology*, 2008; 37(4): 363-372.

[Junge *et al*, 2016]

Hannah K. Junge, Simone K. Ringer, Nathalie Mayer, Colin C. Schwarzwald. Assessment of method reliability and determination of reference intervals for rotational thromboelastometry in horses. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2016; 26(5): 691–703.

[Kalina *et al*, 2008]

Uwe Kalina, Hans-Arnold Stöhr, Heike Bickhard, Sigurd Knaub, Simona M Siboni, Pier M Mannucci, Flora Peyvandi. Rotational thromboelastography for monitoring of fibrinogen concentrate therapy in fibrinogen deficiency. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 2008; 19(8): 777–783.

[Kampmeier *et al*, 2014]

Tim Kampmeier, Sebastian Rehberg, Christian Ertmer. Evolution of fluid therapy. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 2014; 28(3): 207-216.

[Kind *et al*, 2013]

Stephanie L. Kind, Gabriela H. Spahn-Nett, Maximilian Y. Emmert, Jennifer Eison, Burkhardt Seifert, Donat R. Spahn, Oliver M. Theusinger. Is dilutional coagulopathy induced by different colloids reversible by replacement of fibrinogen and factor XIII concentrates? *Anesthesia & Analgesia*, 2013; 117(5): 1063-1071.

[Kristensen *et al*, 2008]

A.T. Kristensen, B. Wiinberg, L.R. Jessen, E. Andreasen, A.L. Jensen. Evaluation of human recombinant tissue factor-activated thromboelastography in 49 dogs with neoplasia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2008; 22(1): 140-147.

[Kol e Borjesson, 2010]

Amir Kol, Dori L. Borjesson. Application of thrombelastography/thromboelastometry to veterinary medicine. *Veterinary Clinical Pathology*, 2010; 39(4): 405–416.

[Konstantinidis *et al*, 2007]

Konstantinos Konstantinidis, Thomas Gerasimidis, Elisabeth Verdy, Ismail Elalamy, Michel M. Samama, Grigoris T. Gerotziapas. Inhibition of clot formation process by treatment with the lowmolecular-weight heparin nadroparin in patients with carotid artery disease undergoing angioplasty and stenting - A thromboelastography study on whole blood. *Thrombosis and Haemostasis*, 2007; 97(1): 109-118.

[Kozek-Langenecker, 2015]

Sibylle A. Kozek-Langenecker. Fluids and coagulation. *Current Opinion in Critical Care*, 2015; 21(4): 285-291.

[Lewis *et al*, 2018]

Sharon R. Lewis, Michael W. Pritchard, David J.W. Evans, Andrew R. Butler, Phil Alderson, Andrew F. Smith, Ian Roberts. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill people. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018; 8: 1-208.

[Liu e Silverstein, 2015]

Debra T. Liu, Deborah C. Silverstein. Crystalloids, colloids, and hemoglobin-based oxygen-carrying solutions. In: Deborah C. Silverstein, Kate Hopper. *Small Animal Critical Care Medicine*. Seconda edizione, Elseviers 2015. Capitolo 58: 311-315.

[Mackenzie *et al*, 2010]

George Mackenzie, Mathew Barnhart, Shawn Kennedy, William DeHoff, Eric Schertel. A retrospective study of factors influencing survival following surgery for gastric dilatation-volvulus syndrome in 306 dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 2010; 46(2): 97-102.

[Marsh-Ng *et al*, 2007]

Michelle L. Marsh-Ng, Derek P. Burney, Jennifer Garcia. Surveillance of infections associated with intravenous catheters in dogs and cats in an intensive care unit. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 2007; 43(1): 13-20.

[Marschner *et al*, 2010]

Clara B Marschner, Charlotte R Bjørnvad, Annemarie T Kristensen, Bo Wiinberg. Thromboelastography results on citrated whole blood from clinically healthy cats depend on modes of activation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2010; 52(38): 1-5.

[Marschner *et al*, 2012]

Clara B. Marschner, Annemarie T. Kristensen, Eva H. Spodsberg, Bo Wiinberg. Evaluation of platelet aggregometry in dogs using the multiplate platelet analyzer: impact of anticoagulant choice and assay duration. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2012; 22(1): 107–115.

[Martin *et al*, 2008]

Linda G. Martin, Teresa Y. Luther, Debra C. Alperin, John M. Gay, Stephen A. Hines. Serum antibodies against human albumin in critically ill and healthy dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2008; 232(7): 1004-1009.

[Mathews, 1998]

Karol A. Mathews. The various types of parenteral fluids and their indications. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 1998; 28(3): 483-513.

[Mathews e Barry, 2005]

Karol A. Mathews, Maureen Barry. The use of 25% human serum albumin: outcome and efficacy in raising serum albumin and systemic blood pressure in critically ill dogs and cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2005; 5(2): 110-118.

[Mauch *et al*, 2012]

Jacqueline Mauch, Caveh Madjdpour, Annette P. N. Kutter, Nelly Spielmann, Regula Bettschart-Wolfensberger, Markus Weiss, Thorsten Haas. Effect of rapid fluid resuscitation using crystalloids or colloids on hemostasis in piglets. *Pediatric Anesthesia*, 2012; 23(3): 258-264.

[Mazzaferro, 2008]

Elisa Mazzaferro. Complications of fluid therapy. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 2008; 38(3): 607-619.

[Mazzaferro e Powell, 2013]

Elisa Mazzaferro, Lisa L. Powell. Fluid therapy for the emergent small animal patient - crystalloids, colloids, and albumin products. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 2013; 43(4): 721-734.

[McMichael e Smith, 2011]

Maureen A. McMichael, Stephanie A. Smith. Viscoelastic coagulation testing: technology, applications, and limitations. *Veterinary Clinical Pathology*, 2011; 40(2): 140–153.

[McMichael *et al*, 2016]

Maureen A. McMichael, Stephanie A. Smith, Alyssa Galligan, Kelly S. Swanson. In vitro hypercoagulability on whole blood thromboelastometry associated with in vivo reduction of circulating red cell mass in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 2016; 43(2): 154-163.

[Millis *et al*, 1993]

Darryl L. Millis, Joe G. Hauptman, Robert B. Fulton. Abnormal hemostatic profiles and gastric necrosis in canine gastric dilatation-volvulus. *Veterinary surgery*, 1993; 22(2): 93-97.

[Mischke e Keidel, 2003]

R. Mischke, A. Keidel. Influence of platelet count, acetylsalicylic acid, von Willebrand's disease, coagulopathies, and haematocrit on results obtained using a platelet function analyser in dogs. *The Veterinary Journal*, 2003; 165(1): 43–52.

[Mizzi *et al*, 2011]

Anna Mizzi, Thanh Tranb, Rachel Karlnoski, Ashley Anderson, Devanand Mangar, Enrico M. Camporesi. Voluven, a new colloid solution. *Anesthesiology Clinics*, 2011; 29(3): 547-555.

[Moeller *et al*, 2016]

Claudia Moeller, Carolin Fleischmann, Daniel Thomas-Rueddel, Vlasislav Vlasakov, Bram Rochweg, Philip Theurer, Luciano Gattinoni, Konrad Reinhart, Christiane S. Hartog. How safe is gelatin? A systematic review and meta-analysis of gelatin-containing plasma expanders versus crystalloids and albumin. *Journal of Critical Care*, 2016; 35: 75-83.

[Morgan e Berridge, 2000]

P. W. Morgan, J. C. Berridge. Giving long-persistent starch as volume replacement can cause pruritus after cardiac surgery. *British Journal of Anaesthesia*, 2000; 85(5): 696-699.

[Morris *et al*, 2016]

Bari R. Morris, Armelle deLaforcade, Joyce Lee, Joseph Palmisano, Dawn Meola, Elizabeth Rozanski. Effects of in vitro hemodilution with crystalloids, colloids, and plasma on canine whole blood coagulation as determined by kaolin-activated thromboelastography. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2016; 26(1): 58–63.

[Mortier *et al*, 1997]

E. Mortier, M. Ongenaë, L. De Baerdemaeker, L. Herregods, N. Den Blauwen, J. Van Aken, G. Rolly. In vitro evaluation of the effect of profound haemodilution with hydroxyethyl starch 6%, modified fluid gelatin 4% and dextran 40 10% on coagulation profile measured by thromboelastography. *Anaesthesia*, 1997; 52(11): 1061-1064.

[Muller *et al*, 2009]

Felicitas Müller, Nicola J. Mutch, Wolfdieter A. Schenk, Stephanie A. Smith, Lucie Esterl, Henri M. Spronk, Stefan Schmidbauer, William A. Gahl, James H. Morrissey, Thomas Renné. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell*, 2009; 139(6): 1143-1156.

[Mutter *et al*, 2013]

Thomas C. Mutter, Chelsea A. Ruth, Allison B. Dart. Hydroxyethyl starch (HES) versus other fluid therapies: effects on kidney function. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2013; 23(7).

[Nelson e Andreasen, 2003]

O. Lynne Nelson, Claire Andreasen. The utility of plasma D-dimer to identify thromboembolic disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2003; 17(6): 830-834.

[Otto *et al*, 2000]

Cynthia M. Otto, Teresa M. Rieser, Marjory B. Brooks, Michael W. Russell. Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2000; 217(10): 1500-1504.

[Pachtinger *et al*, 2008]

Garret E. Pachtinger, Cynthia M. Otto, Rebecca S. Syring. Incidence of prolonged prothrombin time in dogs following gastrointestinal decontamination for acute anticoagulant rodenticide ingestion. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2008 18(3): 285–229.

[Park *et al*, 2009]

Myung S. Park, Wenjun Z. Martini, Michael A. Dubick, Jose Salinas, Saulius Butenas, Bijan S. Kheirabadi, Anthony E. Pusateri, JingJing Wang, Jeffrey A. Vos, Charles H. Guymon, Steven E. Wolf, Kenneth G. Mann, John B. Holcomb. Thromboelastography as a better indicator of hypercoagulable state after injury than prothrombin time or activated partial thromboplastin time. *Journal of Trauma*, 2009; 67(2): 266–276.

[Pivalizza e Escobar, 2008]

Evan G. Pivalizza, Miguel A. Escobar. Thromboelastography-guided factor VIIa therapy in a surgical patient with severe hemophilia and factor VIII inhibitor. *Anesthesia & Analgesia*, 2008; 107(2): 398-401.

[Ragaller *et al*, 2001]

Maximilian J. R. Ragaller, Hermann Theilen, Thea Koch. Volume replacement in critically ill patients with acute renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2001; 12(Suppl 17): S33-39.

[Rasmussen *et al*, 2014]

Kirsten C. Rasmussen, Par I. Johansson, Michael Højskov, Irina Kridina, Thomas Kistorp, Peter Thind, Henning B. Nielsen, Birgitte Ruhnau, Tom Pedersen, Niels H. Secher. Hydroxyethyl starch reduces coagulation competence and increases blood loss during major surgery. Results from a randomized controlled trial. *Annals of Surgery*, 2014; 259(2): 249-254.

[Reinhöfer *et al*, 2008]

Mike Reinhöfer, Martin Brauer, Ulrich Franke, Dagmar Barz, Gernot Marx, Wolfgang Lösche. The value of rotation thromboelastometry to monitor disturbed perioperative haemostasis and bleeding risk in patients with cardiopulmonary bypass. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 2008; 19(3): 212-219.

[Reuteler *et al*, 2017]

Annina Reuteler, Shannon Axiak-Flammer, Judith Howard, Katja-Nicole Adamik. Comparison of the effects of a balanced crystalloid-based and a saline-based tetrastarch solution on canine whole blood coagulation and platelet function. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2017; 27(1): 23-34.

[Roche e James, 2009]

Anthony M. Roche, Michael F.M. James. Colloids and crystalloids: does it matter to the kidney? *Current Opinion in Critical Care*, 2008; 15(6): 520-524.

[Royston e Kier, 2001]

D. Royston, S. von Kier. Reduced haemostatic factor transfusion using heparinase-modified thrombelastography during cardiopulmonary bypass. *British Journal of Anaesthesia*, 2001; 86(4): 575-578.

[Rudloff, 2015]

Elke Rudloff. Assessment of hydration. In: Deborah C. Silverstein, Kate Hopper. *Small Animal Critical Care Medicine*. Seconda edizione, Elseviers 2015. Capitolo 57: 307-310.

[Rudloff e Kirby, 2001]

Elke Rudloff, Rebecca Kirby. Colloid and crystalloid resuscitation. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 2001; 31(6): 1207-1229.

[Ruggeri, 2003]

Z. M. Ruggeri. Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2003; 1(7): 1335–1342.

[Ruggeri *et al*, 2007]

L. Ruggeri, A. Levrat, J. S. David, E. Delecroix, B. Floccard, A. Gros, B. Allaouchiche, C. Negrier. Diagnosis of early coagulation abnormalities in trauma patients by rotation thrombelastography. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2007; 5(2): 289–295.

[Santoro Beer *et al*, 2013]

Kari A. Santoro Beer, Rebecca S. Syring, Kenneth J. Drobatz. Evaluation of plasma lactate concentration and base excess at the time of hospital admission as predictors of gastric necrosis and outcome and correlation between those variables in dogs with gastric dilatation-volvulus: 78 cases (2004–2009). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2013; 242(1): 54-58.

[Sasson e Shvartzman, 2001]

Menahem Sasson, Pesach Shvartzman. Hypodermoclysis: an alternative infusion technique. *American Family Physician*, 2001; 64(9): 1575-1578.

[Sato *et al*, 2000]

Sato, G. A. Anderson, B. W. Parry. An interobserver and intraobserver study of buccal mucosal bleeding time in Greyhounds. *Research in Veterinary Science*, 2000; 68(1): 41–45.

[Schochl *et al*, 2009]

Herbert Schochl, Thomas Frietsch, Michaela Pavelka, Csilla Jambor. Hyperfibrinolysis after major trauma: differential diagnosis of lysis patterns and prognostic value of thrombelastometry. *Journal of Trauma*, 2009; 67(1): 125-131.

[Schramko *et al*, 2015]

A. Schramko, R. Suojäranta-Ylinen, T. Niemi, E. Pesonen, A. Kuitunen, P. Raivio, M. Salmenperä. The use of balanced HES 130/0.42 during complex cardiac surgery; effect on blood coagulation and fluid balance: a randomized controlled trial. *Perfusion*, 2015; 30(3): 224-232.

[See *et al*, 2009]

AM See, KL Swindells, MJ Sharman, KL Haack, D Goodman, A Delaporta, I Robertson and SF Foster. Activated coagulation times in normal cats and dogs using MAX-ACT™ tubes. *Australian Veterinary Journal*, 2009; 87(7): 292-295.

[Seshia *et al*, 2018]

Sunita Seshia, M. Casey Gaunt, Beverly A. Kidney, Marion L. Jackson. The effect of 3 resuscitative fluid therapies on hemostasis as measured by rotational thromboelastometry in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 2018; 47(1): 38-44.

[Sharp, 2015]

Claire R. Sharp. Gastric dilatation-volvulus. In: Deborah C. Silverstein, Kate Hopper. *Small Animal Critical Care Medicine*. Seconda edizione, Elseviers 2015. Capitolo 123: 649-653.

[Sharp e Rozanski, 2014]

Claire R. Sharp, Elizabeth A. Rozanski. Cardiovascular and systemic effects of gastric dilatation and volvulus in dogs. *Topics in Companion Animal Medicine*, 2014; 29(3): 67-70.

[Sié e Steib, 2006]

Pierre Sié, Annick Steib. Central laboratory and point of care assessment of perioperative hemostasis. *Canadian Journal of Anesthesia*, 2006; 53(6): S12-20.

[Silverstein *et al*, 2005]

Deborah C. Silverstein, Janet Aldrich, Steve C. Haskins, Kenneth J. Drobatz, Larry D. Cowgill. Assessment of changes in blood volume in response to resuscitative fluid administration in dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2005; 15(3): 185-192.

[Silverstein e Santoro-Beer, 2015]

Deborah C. Silverstein, Kari Santoro-Beer. Daily intravenous fluid therapy. In: Deborah C. Silverstein, Kate Hopper. *Small Animal Critical Care Medicine*. Seconda edizione, Elseviers 2015. Capitolo 59: 316-320.

[Sinnott e Otto, 2009]

Virginia B. Sinnott, Cynthia M. Otto. Use of thromboelastography in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 39 cases (2000-2008). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2009; 19(5): 484-488.

[Skhirtladze *et al*, 2014]

K. Skhirtladze, E. M. Base, A. Lassnigg, A. Kaider, S. Linke, M. Dworschak, M. J. Hiesmayr. Comparison of the effects of albumin 5%, hydroxyethyl starch 130/0.4 6%, and Ringer's lactate on blood loss and coagulation after cardiac surgery. *British Journal of Anaesthesia*, 2014; 112(2): 255-264.

[Smart *et al*, 2009]

Smart L, Hopper K, Aldrich J, George J, Kass P, Haskins S. The effect of hetastarch (670/0.75) on urine specific gravity and osmolality in the dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2009; 23(2): 388-391.

[Smith, 2009]

Stephanie A. Smith. The cell-based model of coagulation. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2009; 19(1): 3-10.

[Solomon *et al*, 2015]

Cristina Solomon, Marco Ranucci, Gerald Hochleitner, Herbert Schöchl, Christoph J. Schlimp. Assessing the methodology for calculating platelet contribution to clot strength (platelet component) in thromboelastometry and thrombelastography. *Anesthesia & Analgesia*, 2015; 121(4): 868-878.

[Stegner e Nieswandt, 2011]

David Stegner, Bernhard Nieswandt. Platelet receptor signaling in thrombus formation. *Journal of Molecular Medicine*, 2011; 89(2): 109-121.

[Stokol, 2003]

Tracy Stokol. Plasma D-dimer for the diagnosis of thromboembolic disorders in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 2003; 33(6): 1419-1435.

[Strauss *et al*, 2002]

Ronald G. Strauss, Beverly J. Pennell, David C. Stump. A randomized, blinded trial comparing the hemostatic effects of pentastarch versus hetastarch. *Hemostasis*, 2002; 42(1): 27-36.

[Syring *et al*, 2001]

Rebecca S. Syring, Cynthia M. Otto, Kenneth J. Drobatz. Hyperglycemia in dogs and cats with head trauma: 122 cases (1997-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2001; 218(7): 1124-1129.

[Tan *et al*, 2002]

Tan TS, Tan KH, Ng HP, Loh MW. The effects of hypertonic saline solution (7.5%) on coagulation and fibrinolysis: an in vitro assessment using thromboelastography. *Anaesthesia*, 2002; 57(7): 644-648.

[Taylor, 2003]

Laura J. Taylor. Laboratory management of the bleeding patient. *Clinical Laboratory Science*, 2003; 16(2): 111-114.

[Thiruvankatarajan *et al*, 2014]

Venkatesan Thiruvankatarajan, Ashlee Pruett, Sanjib Das Adhikary. Coagulation testing in the perioperative period. *Indian Journal of Anaesthesia*, 2014; 58(5): 565-572.

[Trow *et al*, 2008]

Amy V. Trow, Elizabeth A. Rozanski, Armelle M. deLaforcade, Daniel L. Chan. Evaluation of use of human albumin in critically ill dogs: 73 cases (2003-2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2008; 233(4): 607-612.

[Versteeg *et al*, 2013]

Henri H. Versteeg, Johan W. M. Heemskerk, Marcel Levi, Pieter H. Reitsma. New fundamentals in hemostasis. *Physiological Reviews*, 2013; 93(1): 327-358.

[Vilar *et al*, 2008]

P. Vilar, C.G. Couto, N. Westendorf, C. Iazbik, J. Charske, L. Marin. Thromboelastographic tracings in retired racing Greyhounds and in non-Greyhound dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2008; 22(2): 374-379.

[Wagg *et al*, 2009]

Catherine R. Wagg, Søren R. Boysen, Christian Bedard. Thrombelastography in dogs admitted to an intensive care unit. *Veterinary Clinical Pathology*, 2009; 38(4): 453-461.

[Wagner *et al*, 1989]

Oswald F. Wagner, Carlie de Vries, Cordula Hohmann, Harry Veerman, Hans Pannekoek. Interaction between plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) bound to fibrin and either tissue-type plasminogen activator (t-PA) or urokinase-type plasminogen activator (u-PA). Binding of t-PA/PAI-1 complexes to fibrin mediated by both the finger and the kringle-2 domain of t-PA. *Journal of Clinical Investigation*, 1989; 84(2): 647-655.

[Waitzinger *et al*, 1999]

Josef Waitzinger, Frank Bepperling, Günther Pabst, Jens Opitz, Andrea Fackelmayer, Joachim Boldt. Effect of a new hydroxyethyl starch (HES) specification 6% HES 130/0,4 on blood and plasma volumes after bleeding in 12 healthy male volunteers. *Clinical Drug Investigation*, 1999; 17(2): 119-125.

[Wang *et al*, 2017]

Haifeng Wang, Hongshi Cao, Xiaohong Zhang, Liang Ge, Li Bie. The effect of hypertonic saline and mannitol on coagulation in moderate traumatic brain injury patients. *American Journal of Emergency Medicine*, 2017; 35(10): 1404-1407.

[Wellman *et al*, 2006]

Maxey L. Wellman, Stephen P. DiBartola, Catherine W. Kohn. Applied physiology of body fluids in dogs and cats. In: Stephen P. DiBartola. *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice*. Terza edizione, Elsevier 2006. Capitolo 1: 2-25.

[Westphal, 2009]

Martin Westphal, Michael F. M. James, Sibylle Kozek-Langenecker, Reto Stocker, Bertrand Guidet, Hugo Van Aken. Hydroxyethyl starches. Different products - different effects. *Anesthesiology*, 2009; 111(1): 187–202.

[Wiedermann e Joannidis, 2014]

Christian J. Wiedermann, Michael Joannidis. Accumulation of hydroxyethyl starch in human and animal tissues: a systematic review. *Intensive Care Medicine*, 2014; 40(2): 160-170.

[Wiinberg *et al*, 2005]

Bo Wiinberg, Asger Lundorff Jensen, Rasmus Rojkjaer, Pa`r Johansson, Mads Kjelgaard-Hansen, Annemarie T. Kristensen. Validation of human recombinant tissue factor-activated thromboelastography on citrated whole blood from clinically healthy dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 2005; 34(4): 389-393.

[Wiinberg *et al*, 2007]

Bo Wiinberg, Asger Lundorff Jensen, Mads Kjelgaard-Hansen, Rasmus Rojkjaer, Par I. Johansson, Laust Peter Gade, Dorte Xenia Gram, Annemarie T. Kristensen. Study on biological variation of haemostatic parameters in clinically healthy dogs. *The Veterinary Journal*, 2007; 174(1): 62–68.

[Wiinberg *et al*, 2008]

B. Wiinberg, A.L. Jensen, P.I. Johansson, E. Rozanski, M. Tranholm, A.T. Kristensen. Thromboelastographic evaluation of hemostatic function in dogs with disseminated intravascular coagulation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2008; 22(2): 357–365.

[Wiinber *et al*, 2009]

Bo Wiinberg, Asger L. Jensen, Elizabeth Rozanski, Par I. Johansson, Mads Kjelgaard-Hansen, Mikael Tranholm, Annemarie T. Kristensen. Tissue factor activated thromboelastography correlates to clinical signs of bleeding in dogs. *The Veterinary Journal*, 2009; 179(1): 121–129.

[Wilder *et al*, 2002]

Donna M. Wilder, Thomas J. Reid, Irina B. Bakaltcheva. Hypertonic resuscitation and blood coagulation In vitro comparison of several hypertonic solutions for their action on platelets and plasma coagulation. *Thrombosis Research*, 2002; 107(5): 255-261.

[Wurlod *et al*, 2015]

Virginie A. Wurlod, Judith Howard, Thierry Francey, Ariane Schweighauser, Katja N. Adamik. Comparison of the in vitro effects of saline, hypertonic hydroxyethyl starch, hypertonic saline, and two forms of hydroxyethyl starch on whole blood coagulation and platelet function in dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 2015; 25(4): 474-487.

[Yozova *et al*, 2016]

Ivayla D. Yozova, Judith Howard, Katja-Nicole Adamik. Retrospective evaluation of the effects of administration of tetrastarch (hydroxyethyl starch 130/0.4) on plasma creatinine concentration in dogs (2010-2013): 201 dogs. *Journal of the Veterinary Emergency and Critical Care*, 2016; 26(4): 568-577.

[Yozova *et al*, 2017]

Ivayla D. Yozova, Judith Howard, Diana Henke, Daniel Dirkmann, Katja N. Adamik. Comparison of the effects of 7,2% hypertonic saline and 20% mannitol on whole blood coagulation and platelet function in dogs with suspected intracranial hypertension - a pilot study. *BMC Veterinary Research*, 2017; 13(1): 185.

[Yürekli *et al*, 2006]

Banu Pinar Sarer Yürekli; Osman İlhami Özcebe; Serafettin Kirazlı; Alper Gürlek. Global assessment of the coagulation status in type 2 diabetes mellitus using rotation thromboelastography. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 2006; 17(7): 545–549.

[Zacher *et al*, 2010]

Laurie A. Zacher, John Berg, Scott P. Shaw, Raymond K. Kudej. Association between outcome and changes in plasma lactate concentration during presurgical treatment in dogs with gastric dilatation-volvulus: 64 cases (2002–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2010; 236(8): 892-897.