



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ
ΡΙΒΑΡΟΞΑΜΠΑΝΗΣ ΚΑΙ ΛΑΒΙΓΑΤΡΑΝΗΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ
ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΘΡΟΜΒΟΥ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ
ΒΑΤΟΤΗΤΑΣ ΑΡΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΜΩΣΕΩΝ ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ
ΣΥΝΘΛΗΠΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ**

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ Β. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2019



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ
ΡΙΒΑΡΟΞΑΜΠΑΝΗΣ ΚΑΙ ΔΑΒΙΓΑΤΡΑΝΗΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ
ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΘΡΟΜΒΟΥ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ
ΒΑΤΟΤΗΤΑΣ ΑΡΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΜΩΣΕΩΝ ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ
ΣΥΝΘΛΗΠΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ**

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ Β. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2019

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»

Ημερομηνία αίτησης του κ. Παπαδόπουλου Δημήτριου: 20-5-2015

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 780^α/2-7-2015

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Κορομπίλιας Αναστάσιος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Γεωργούλης Αναστάσιος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Βεκρής Μάριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 1-9-2015

«Μελέτη της αποτελεσματικότητας της ριβαροξαμπάνης και δαβιγατράνης στην πρόληψη δημιουργίας θρόμβου και στην διατήρηση της βατότητας αρτηριακών αναστομώνσεων έπειτα από συνθλιπτική βλάβη»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 890^α/7-5-2019

Βεκρής Μάριος	Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γεωργούλης Αναστάσιος	Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κορομπίλιας Αναστάσιος	Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Λυκούδης Ευστάθιος	Καθηγητής Πλαστικής Χειρουργικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μπατιστάτου Άννα	Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γελαλής Ιωάννης	Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής με Έμφαση στη Χειρουργική Σπονδυλικής Στήλης και Επανορθωτική Χειρουργική Ενηλίκων του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Πάκος Αμίλιος	Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής-Βιολογικής Μηχανικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 9-5-2019

Ιωάννινα 14-5-2019

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Άννα Μπατιστάτου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας



ΑΦΙΕΡΩΣΕΙΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους ανθρώπους η υποστήριξη των οποίων ήταν καθοριστική για την πραγματοποίηση αυτής της εργασίας.

Συγκεκριμένα, στον Καθηγητή Αναστάσιο Κορομπίλια για την ανάθεση της παρούσας διδακτορικής διατριβής, την εμπιστοσύνη του σε μένα, καθώς και για την επιστημονική και ηθική συμβολή του στη διεκπεραίωση αυτής.

Επίσης σε όλα τα μέλη της ευρύτερης οικογένειας της Ορθοπαιδικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, ενεργά και παρελθόντα, που μου μετέδωσαν την αγάπη τους για την Ορθοπαιδική αλλά και συνέβαλαν στην δημιουργία του εργαστηρίου Μικροχειρουργικής όπου πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα.

Τέλος, να ευχαριστήσω θερμά όλους τους δασκάλους που στάθηκαν δίπλα μου με περισσή υπομονή κατά την διάρκεια των πολυάριθμων ετών της ιατρικής και όχι μόνο εκπαίδευσης μου, αλλά κυρίως την οικογένειά μου που χωρίς αυτούς δεν θα ήμουν ποτέ στην θέση αυτή.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η αγγειακή θρόμβωση αποτελεί μια από τις κυριότερες αιτίες αποτυχίας των μικροχειρουργικών επεμβάσεων. Το ποσοστό αποτυχίας σε επεμβάσεις μεταφοράς ελεύθερων κρημνών εκτιμάται ότι είναι στο 4-10%, ενώ σε ανασυγκολλήσεις άκρων 15-30%.

Οι παράγοντες αντιπηκτικής αγωγής που χρησιμοποιούνται στην μικροχειρουργική δεν έχουν αλλάξει ουσιαστικά τα τελευταία 20 χρόνια. Τα πλέον συχνά χρησιμοποιούμενα αντιπηκτικά φάρμακα περιλαμβάνουν τους αναστολείς αιμοπεταλίων όπως είναι η ασπιρίνη, την κλασική ηπαρίνη, τις ηπαρίνες μικρού μοριακού βάρους, και τέλος την δεξτράνη.

Την τελευταία δεκαετία υπάρχει μια ολοένα και αυξανόμενη τάση χρήσης των νέων από του στόματος αντιπηκτικών (ΑΣΑΠ) σε διάφορους τομείς της ιατρικής. Τα νεότερα άμεσα από του στόματος αντιπηκτικά παρεμβαίνουν στον καταρράκτη της πήξης μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών. Η ριβαροξαμπάνη, η απιξαμπάνη και η εντοξαμπάνη είναι άμεσοι αναστολείς του παράγοντα Χα, ενώ η δαβιγατράνη είναι ένας άμεσος αναστολέας θρομβίνης (παράγοντας ΙΙ).

Μέχρι σήμερα, η χρήση αυτών των αντιπηκτικών δεν έχει μελετηθεί στην μικροχειρουργική. Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη πειραματική μελέτη με στόχο την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των αντιπηκτικών αυτών και ειδικότερα της ριβαροξαμπάνης και της δαβιγατράνης στην πρόληψη της μικροαγγειακής θρόμβωσης σε αγγεία που έχουν υποστεί σύνθλιψη, προσομοιώνοντας τις πραγματικές συνθήκες τραυματισμού που συναντώνται στην κλινική πράξη.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Η διαδικασία θρόμβωσης της αρτηριακής αναστόμωσης	5
1.1 Αιμοπεταλιακός μηχανισμός	5
1.1.1 Οδός ενεργοποίησης αιμοπεταλίων μέσω προσκόλλησης στο αγγειακό τοίχωμα	6
1.1.2 Οδός ενεργοποίησης μέσω θρομβίνης	8
1.2 Πηκτικός μηχανισμός	10
2. Αντιπηκτικά στην μικροχειρουργική	14
2.1 Ηπαρίνη	15
2.2 Μικρού μοριακού βάρους ηπαρίνη	20
2.3 Δεξτράνη	22
2.4 Ασπιρίνη	25
2.5 Θρομβολυτικά	28
2.6 Άλλοι παράγοντες	29
2.7 Κλινικές μελέτες	32
3. Άμεσα από του στόματος αντιπηκτικά στην ορθοπαιδική	37
3.1 Ριβαροξαμπάνη	42
3.2 Δαβιγατράνη	47
3.3 Απιξαμπάνη	51
4. Πειραματικό μοντέλο δημιουργίας θρόμβου σε επίμυες	55
4.1 Αρτηριακά μοντέλα	56
4.2 Φλεβικά μοντέλα	57
5. Σκοπός της εργασίας	58

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Υλικό και μέθοδοι	60
1.1 Πειραματόζωα	60
1.2 Σχεδιασμός μελέτης	60
1.3 Παρασκευή και χορήγηση των σκευασμάτων	62

1.4 Μοντέλο συνθλιπτικής βλάβης	64
1.5 Τεχνική αναστόμωσης	66
1.6 Εκτίμηση της βατότητας της αναστόμωσης	68
1.7 Παθολογοανατομική εξέταση	69
1.8 Στατιστική ανάλυση	70
2. Αποτελέσματα	71
2.1 Βατότητα της αναστόμωσης	71
2.2 Παθολογοανατομική εξέταση	74
3. Συζήτηση	86
4. Συμπεράσματα	92
5. Περιλήψεις	93
6. Βιβλιογραφία	99

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΤΗΣ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΜΙΚΡΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΣΤΟΜΩΣΗΣ

Η θρόμβωση αποτελεί μια φυσιολογική απόκριση στην αγγειακή βλάβη με σκοπό την επίτευξη αιμόστασης και την διακοπή της πιθανής περαιτέρω αιμορραγίας. Τα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια τα οποία συγκεντρώνονται στην περιοχή της βλάβης αποτελούν ένα σημαντικό τμήμα του αναπτυσσόμενου θρόμβου, ενώ η πηκτικός μηχανισμός ο οποίος πυροδοτείται αρχικά από τον ιστικό παράγοντα οδηγεί στην παραγωγή θρομβίνης και τελικά ινικής η οποία με την σειρά της συμβάλλει στην συμπαγή αρχιτεκτονική δομή του θρόμβου. Αυτά τα δυο τμήματα του μηχανισμού της αιμόστασης (αιμοπεταλιακός και πηκτικός μηχανισμός) τελούνται ταυτόχρονα στην περιοχή της αγγειακής βλάβης. Οι δυο αυτοί μηχανισμοί αλληλεπιδρούν επίσης θετικά μεταξύ τους ενισχύοντας ο ένας τον άλλον.

Το ικρίωμα του θρόμβου αποτελείται από ένα πλέγμα ινών ινικής και αιμοπεταλίων. Στον αρχικά αναπτυσσόμενο θρόμβο προσκολλώνται κυκλοφορούντα μη ενεργοποιημένα αιμοπετάλια εκ των οποίων κάποια ενεργοποιούνται μέσα στον θρόμβο [1]. Πολλά από τα μη ενεργοποιημένα αιμοπετάλια του θρόμβου είναι χαλαρά προσκολλημένα και έτσι μπορεί εύκολα να αποκολληθούν. Ο σχηματισμός του θρόμβου αποτελεί επομένως μια δυναμική διαδικασία κατά την οποία η τυρβώδης ροή του αίματος επηρεάζει σημαντικά την αρχιτεκτονική του θρόμβου.

1.1 Αιμοπεταλιακός μηχανισμός

Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων αποτελεί την πρώτη φάση της διαδικασίας της αγγειακής θρόμβωσης. Η ενεργοποίηση αυτή θεωρείται ότι τελείται μέσω δυο

διαφορετικών οδών που λαμβάνουν μέρος παράλληλα ή και ξεχωριστά. Η θεωρία αυτή προέρχεται από σύγχρονες μελέτες που αφορούν την δημιουργία θρόμβου σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια [2,3]. Κατά την πρώτη οδό η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων τελείται μέσω της έκθεσης των υπενδοθηλιακών ινών κολλαγόνου στην αιματική ροή, ενώ όσον αφορά την δεύτερη οδό η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων τελείται μέσω της θρομβίνης η οποία παράγεται με την μεσολάβηση του ιστικού παράγοντα. Ανάλογα με τον βαθμό και τον τύπο της αγγειακής βλάβης μπορεί να υπερτερεί η πρώτη ή η δεύτερη οδός, όμως το τελικό αποτέλεσμα και των δυο αυτών μηχανισμών είναι τελικά η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια συνδέονται με άλλα αιμοπετάλια και συμβάλλουν έτσι στον σχηματισμό και στην αύξηση του αναπτυσσόμενου θρόμβου.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί περιορίζουν τοπικά και χρονικά την δημιουργία θρόμβου. Επίσης πολυάριθμοι παράγοντες επηρεάζουν τον μηχανισμό της αρτηριακής θρόμβωσης περιλαμβανομένων του βαθμού της βλάβης του αγγειακού τοιχώματος, της λειτουργικής και ποσοτικής επάρκειας των κυκλοφορούντων αιμοπεταλίων, καθώς επίσης και της επάρκειας του πηκτικού και ινωδολυτικού μηχανισμού [4-12].

1.1.1 Οδός ενεργοποίησης αιμοπεταλίων μέσω προσκόλλησης στο αγγειακό τοίχωμα

Μετά τον αγγειακό τραυματισμό επισυμβαίνουν σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυκλοφορούντων αιμοπεταλίων και των υποενδοθηλιακών στρωμάτων του αγγείου [5, 10, 13]. Υπό φυσιολογικές συνθήκες το ακέραιο ενδοθήλιο αποτελεί έναν μη θρομβογενή φραγμό για το κυκλοφορούν

αίμα. Επιπλέον τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν, εκκρίνουν, δεσμεύουν και μετατρέπουν πολλούς παράγοντες που σχετίζονται με την λειτουργία των αιμοπεταλίων, τον πηκτικό μηχανισμό και την ινωδόλυση (π.χ. θρομβοπλαστίνη, παράγοντας Von Willebrand, ιστικό πλασμινογόνο). Η προστακυκλίνη και το νιτρικό οξείδιο για παράδειγμα αποτελούν δυο γνωστούς αναστολείς της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων που εκκρίνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Κατά την διενέργεια μικροαγγειακών αρτηριακών αναστομών εκτός από την πιθανή βλάβη του αγγείου σε περιπτώσεις τραυματισμών, οι οπές της βελόνας στο αγγειακό τοίχωμα εκθέτουν τα υπενδοθηλιακά στρώματα στην κυκλοφορία και έτσι αποτελούν επίσης θρομβογενείς εστίες όπου μπορούν να προσκολληθούν αιμοπετάλια [4,14,15]. Όταν διαταραχθεί η ακεραιότητα του ενδοθηλίου και εκτεθούν στην ροή του αίματος το υπενδοθήλιο ή πιο εν τω βάθει στρώματα, τα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια προσκολλώνται ταχέως στο αγγειακό τοίχωμα. Οι διάμεσες ίνες κολλαγόνου τύπου I και III που εντοπίζονται στα πιο εν τω βάθει στρώματα αποτελούν ισχυρούς επαγωγείς της αιμοπεταλιακής προσκόλλησης και συνάθροισης [16]. Σε μικρότερα αγγεία οι η ροή αίματος ασκεί ισχυρές δυνάμεις διάτμησης στο αγγειακό τοίχωμα και έτσι η τάση προσκόλλησης των αιμοπεταλίων είναι ακόμα μεγαλύτερη [11].

Ο παράγοντας von Willebrand factor (vWF) μεσολαβεί αρχικά στην σύνδεση των αιμοπεταλίων με το υπενδοθήλιο μέσω των γλυκοπρωτεϊνών Glycoprotein Ib (GpIb) που βρίσκονται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων [5,10,11,17]. Τα αιμοπετάλια μπορούν επίσης να προσκολληθούν απευθείας στο εκτεθειμένο κολλαγόνο του αγγειακού τοιχώματος μέσω κάποιων άλλων πρωτεϊνών, των μεμβρανικών γλυκοπρωτεϊνών GpVI (Ib). Εκτός από την δράση τους όσον αφορά την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, οι γλυκοπρωτεΐνες VI είναι επίσης

κύριοι αγωνιστές έκκρισης διαφόρων παραγόντων (διφωσφονική αδενοσίνη [ADP], ασβέστιο, αιμοπεταλιακός παράγοντας 4 [PF4]) που περιέχονται στα ενδοκυττάρια κοκκία των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, συγκεκριμένοι μεμβρανικοί υποδοχείς των αιμοπεταλίων (ιντεγκρίνες $\alpha 2\beta 1$) προάγουν περαιτέρω την αλληλεπίδραση τους με το τοιχωματικό κολλαγόνο.

Η σύνδεση των αιμοπεταλίων με το αγγειακό τοίχωμα μέσω των γλυκοπρωτεϊνών οδηγεί στην έκφραση υποδοχέων διφωσφονικής αδενοσίνης ADP στην επιφάνεια τους. Οι σύνδεση των υποδοχέων αυτών με ADP οδηγεί στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων που έχει ως αποτέλεσμα να εκφράσουν στην επιφάνειά τους άλλους ειδικούς υποδοχείς, τους υποδοχείς γλυκοπρωτεΐνης GpIIb/IIIa. Μέσω των υποδοχέων αυτών τα ενεργοποιημένα πλέον αιμοπετάλια συνδέονται με άλλα αιμοπετάλια. Η σύνδεση αυτή τελείται με την μεσολάβηση του παράγοντα vWF και κυρίως του ινοδωγόνου, σε μια διαδικασία γνωστή ως συσσώρευση αιμοπεταλίων. Έτσι τα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται και καλύπτουν τις εκτεθειμένες αγγειακές επιφάνειες που έχουν υποστεί βλάβη [17,18].

1.1.2 Οδός ενεργοποίησης μέσω θρομβίνης

Τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται όχι μόνο μετά την σύνδεση τους με το κολλαγόνο του αγγειακού τοιχώματος ή με άλλους υποενδοθηλιακούς παράγοντες, αλλά επίσης και μετά από τον σχηματισμό θρομβίνης [10,11]. Ο ιστικός παράγοντας μέσω της συμβολής του στην παραγωγή θρομβίνης συμμετέχει έτσι στην δεύτερη οδό ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Σε αντίθεση με την πρώτη οδό, η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω αυτής της οδού δεν απαιτεί την ύπαρξη

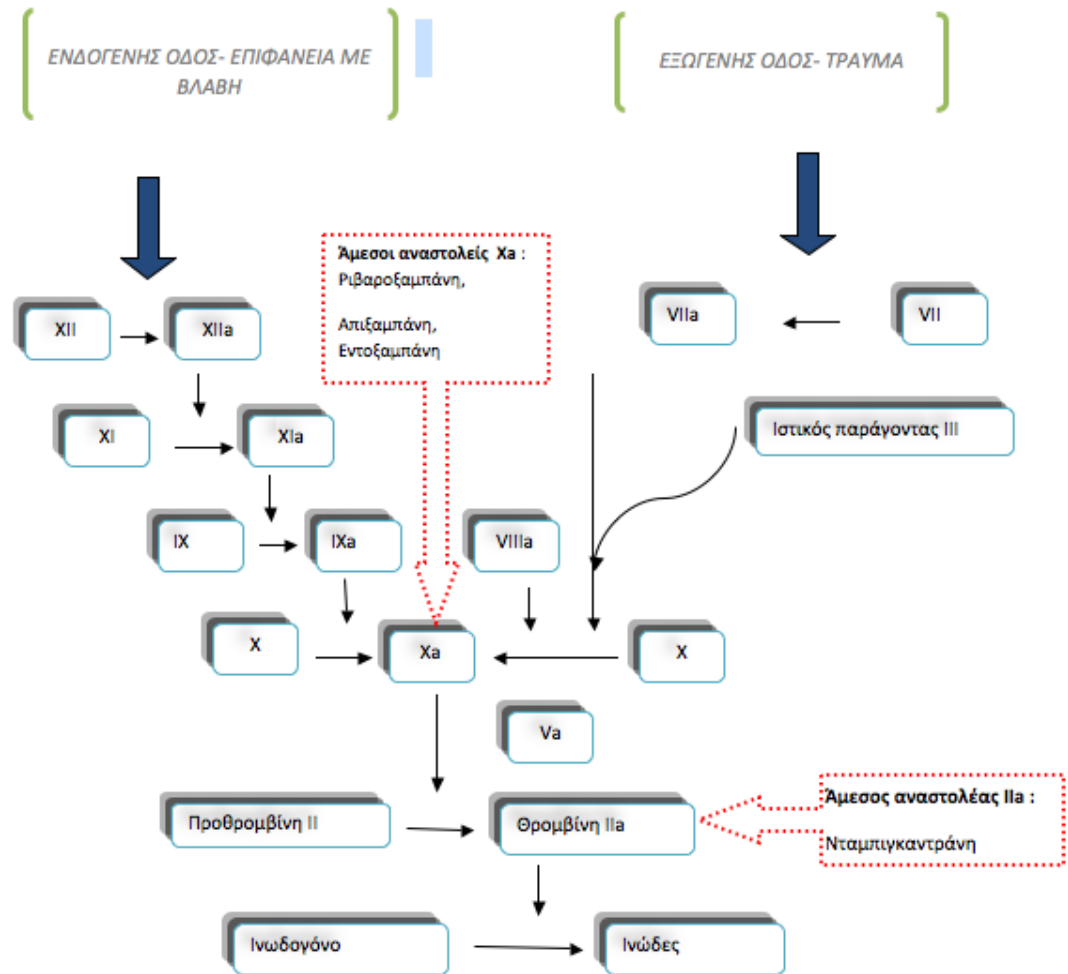
αγγειακής βλάβης και τραυματισμού του ενδοθηλίου και τελείται ανεξάρτητα από την ύπαρξη του παράγοντα Von Willebrand και των γλυκοπρωτεϊνών της κυτταρικής επιφάνειας των αιμοπεταλίων. [1]. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων εδώ είναι αποτέλεσμα της προσκόλλησης της θρομβίνης στον ενεργοποιούμενο από πρωτεάση υποδοχέα 4 (Par 4) ο οποίος βρίσκεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Η ενεργοποίηση αυτή προκαλεί την έκκριση διφωσφονικής αδενοσίνης (ADP) και σεροτονίνης από τα αιμοπετάλια, καθώς και την μετατροπή του αραχιδονικού οξέως σε θρομβοξάνη A₂ [19]. Επιπλέον, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια επάγουν την περαιτέρω παραγωγή θρομβίνης με δυο τρόπους. Πρώτον στα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης των αιμοπεταλίων τελείται ένα μέρος της οδού του καταρράκτη της πήξης [5,8,10]. Η παραγωγή αυτή θρομβίνης που τελείται στην κυτταρική μεμβράνη είναι πολύ ταχύτερη σε σχέση με αυτήν που τελείται στο πλάσμα του αίματος. Δεύτερον τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια επιταχύνουν την παραγωγή θρομβίνης στην κυτταρική τους επιφάνεια όχι μόνο μέσω της εξωγενούς οδού του καταρράκτη της πήξης, αλλά και μέσω της ενδογενούς οδού μέσω της ενεργοποίησης του παράγοντα X από τους παράγοντες IXa και VIIIa που οδηγεί στην ενεργοποίηση της προθρομβίνης

Η θρομβίνη αποτελεί έναν παράγοντα πήξης που έχει διάφορες λειτουργίες και μπορεί όχι μόνο να ενεργοποιήσει τα αιμοπετάλια αλλά και να ενισχύσει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων συμμετέχοντας έτσι στην διαδικασία σχηματισμού θρόμβου [8,10]. Η παραγωγή θρομβίνης πρέπει να είναι αρκετή ώστε να υπερκαλύπτει τον ανασταλτικό μηχανισμό των παρακείμενων ενδοθηλιακών κυττάρων και άλλων συστηματικών αντιπηκτικών παραγόντων. Η θρομβίνη επίσης μπορεί να δράσει τοπικά στην περιοχή της αγγειακής βλάβης και να προκαλέσει αγγειοσύσπαση μέσω των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος [20]. Η

έναρξη της συστολής του αγγειακού θρόμβου ώστε να σχηματιστεί η τελική συμπαγής σύστασή του τελείται επίσης μέσω της θρομβίνης [10].

1.2 Πηκτικός μηχανισμός

Ο πηκτικός μηχανισμός αποτελείται από την ενδογενή και την εξωγενή οδό (Εικόνα 1). Σε τραυματικές βλάβες των αγγείων η θρόμβωση και αιμόσταση τελείται μέσω της εξωγενούς οδού. Η ενδογενής οδός του καταρράκτη της πήξης δεν απαιτείται για την διαδικασία της θρόμβωσης και αιμόστασης. Ακόμα και μια παντελής έλλειψη του παράγοντα XII δεν σχετίζεται με αυξημένη αιμορραγική διάθεση και η σημασία του στην αιμοστατική λειτουργία παραμένει αμφιλεγόμενη. Το αρχικό ερέθισμα που πυροδοτεί την εξωγενή οδό είναι η απελευθέρωση του ιστικού παράγοντα. Ο ιστικός παράγοντας δημιουργεί ένα σύμπλοκο με τον παράγοντα VII, και το σύμπλοκο αυτό (ιστικός παράγοντας-παράγοντας VIIa) ενεργοποιεί τον παράγοντα IX και έτσι μέσω της εξωγενής οδού του καταρράκτη της πήξης παράγεται θρομβίνη και ινική.



Εικόνα 1. Ο καταρράκτης της πήξης

Ο ιστικός παράγοντας αποτελεί μια γλυκοπρωτεΐνη (Παράγοντας III) η οποία βρίσκεται σε πολυάριθμες ανατομικές δομές και επιτελεί διάφορες λειτουργίες. Εκτός από το έναυσμα της έναρξης του πήκτικού μηχανισμού, ο ιστικός παράγοντας μεσολαβεί στην μετάδοση ενδοκυττάρων σημάτων μέσω των οποίων τελούνται σημαντικές λειτουργίες του οργανισμού όπως είναι η αγγειογένεση. Ο ιστικός παράγοντας εκφράζεται διαρκώς στους ινοβλάστες και στα κύτταρα του εξωτερικού στρώματος του τοιχώματος των αγγείων (avdentitia) καθώς και στα κύτταρα του μυϊκού στρώματος του αγγειακού τοιχώματος. Αυτό ίσως δικαιολογεί το γεγονός ότι

σε πειραματικές μελέτες σε ποντίκια φάνηκε ότι για την δημιουργία θρόμβου δεν αρκούσε πολλές φορές η βλάβη μόνο του ενδοθηλίου, αλλά έπρεπε να διαταραχθεί η ακεραιότητα και του έσω ελαστικού πετάλου και να αποκαλυφθεί το μυϊκό στρώμα ώστε πιθανά να απελευθερωθεί ο ιστικός παράγοντας στον αυλό του αγγείου. Ο ιστικός παράγοντας εκφράζεται επίσης διαρκώς σε μη αγγειακά κύτταρα καθώς και σε ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω ενεργοποίησής τους από εξωκυττάρια σήματα όπως είναι η ύπαρξη ιντερλευκίνης 1 [21,22]. Επιπλέον αν και εικάζεται ότι υπάρχουν σημαντικές ποσότητες ιστικού παράγοντα στα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια, η θεωρία αυτή αμφισβητείται από διάφορους συγγραφείς [23]. Το ενδοθήλιο θεωρείται φραγμός που διαχωρίζει τον ιστικό παράγοντα από τον παράγοντα VIIa στο κυκλοφορούν αίμα ώστε να παρεμποδίζεται η έναρξη της πήξης όταν δεν υπάρχει αγγειακή βλάβη [24].

Όπως αναφέρθηκε τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια συντελούν περαιτέρω στην επιτάχυνση και προαγωγή του πηκτικού μηχανισμού. Μάλιστα πρόσφατα εξακριβώθηκε και ένας επιπλέον μηχανισμός προαγωγής της πήξης μέσω των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων που έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Έχει αποδειχθεί ότι ο ιστικός παράγοντας δε εκφράζεται μόνο σε συμπαγείς ιστικές δομές αλλά κυκλοφορεί επίσης και σε ελεύθερη μορφή στο αίμα όπου μπορεί να συνδεθεί με μικρομόρια του αίματος τα οποία με την σειρά τους συνδέονται με πρωτεΐνες στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων (P-selectin) [25]. Όμως ο ιστικός αυτός παράγοντας αρχικά βρίσκεται σε ανενεργή μορφή και δεν μπορεί να ενεργοποιήσει τον καταρράκτη της πήξης. Η ενεργοποίηση του έγκειται στην τροποποίηση ενός από τους δυο διφωσφονικούς δεσμούς που φέρει με αποτέλεσμα να τροποποιείται η δομή του και να είναι σε θέση πλέον να σχηματίσει ένα σύμπλοκο με τον παράγοντα VIIa και έτσι να ενεργοποιήσει τον παράγοντα X. Η

ενεργοποίηση αυτή του ανενεργού ιστικού παράγοντα γίνεται μέσω ενός ενζύμου της δισουλφιδικής ισομεράσης η οποία εκκρίνεται από ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα και αιμοπετάλια. Έτσι εξηγείται γιατί σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να ξεκινήσει η διαδικασία θρόμβωσης με ακέραιο ενδοθήλιο όπως σε περιπτώσεις φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος, σε λοιμώξεις, σε καρκινικές καταστάσεις, σε κάποιες άλλες περιπτώσεις χρόνιων νοσημάτων ή σε τοξικές αντιδράσεις σε ορισμένα φάρμακα [5,26-31]. Βέβαια στην περίπτωση του αγγειακού τραύματος ο ιστικός παράγοντας στο αγγειακό τοίχωμα μπορεί να είναι ήδη στην ενεργοποιημένη του μορφή και έτσι δεν απαιτείται το ένζυμο της ισομεράσης.

Η μηχανισμός της πήξης μέσω του ιστικού παράγοντα μπορεί να διαχωριστεί σε δυο φάσεις, την φάση έναρξης και την φάση ενίσχυσης. Κατά την αρχική φάση επί απουσίας της θρομβίνης η εξωγενής οδός του ιστικού παράγοντα είναι μη αποτελεσματική επειδή οι παράγοντες V και VIII που απαιτούνται για την δημιουργία των συμπλόκων της τενάσης (σύμπλοκο ενεργοποίησης του παράγοντα X) και προθρομβινάσης (σύμπλοκο ενεργοποίησης της προθρομβίνης) δεν είναι στην πλέον ενεργή τους μορφή. Αυτός ο μη αποδοτικός μηχανισμός παράγει έτσι μικρές μόνο ποσότητες θρομβίνης. Στην μετέπειτα φάση όμως, στην λεγόμενη φάση ενίσχυσης οι μικρές αυτές ποσότητες θρομβίνης που παράγονται είναι ικανές να μετατρέψουν του παράγοντες V και VIII στην ενεργοποιημένη τους μορφή Va και VIIIa αντίστοιχα. Κατ' αυτόν τον τρόπο τα σύμπλοκα της τενάσης και προθρομβινάσης παράγουν μεγάλες ποσότητες θρομβίνης. Επομένως ενώ αρχικά η οδός του ιστικού παράγοντα μπορεί να ανασταλεί ή να διακοπεί μέσω ανασταλτικών παραγόντων και μηνυμάτων, στην συνέχεια η διαδικασία παραγωγής θρομβίνης μπορεί να συνεχιστεί χωρίς να απαιτείται πλέον ιστικός παράγοντας [32].

2.ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

Η μικροχειρουργική αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι ορισμένων χειρουργικών ειδικοτήτων και χειρουργικών εξειδικεύσεων όπως είναι η πλαστική χειρουργική και η χειρουργική άκρας χείρας. Επεμβάσεις όπως είναι η ανασυγκόλληση ακρωτηριασμένων άκρων ή η μεταφορά ελεύθερων κρημνών απαιτούν καλή γνώση και χρήση των μικροχειρουργικών τεχνικών. Η αγγειακή θρόμβωση αποτελεί μια από τις κυριότερες αιτίες αποτυχίας των μικροχειρουργικών επεμβάσεων [33-37]. Η διεγχειρητική ή μετεγχειρητική θρόμβωση της αναστόμωσης αποτελεί μια επιπλοκή που πολλές φορές απαιτεί επανεπέμβαση για την αντιμετώπισή της και η χειρουργική αντιμετώπιση της περιλαμβάνει διάφορες μεθόδους όπως είναι η απλή αφαίρεση των θρόμβων, η άμεση αναθεώρηση της αναστόμωσης ή ακόμα και η αναθεώρηση με παρεμβολή μικροφλεβικού μοσχεύματος. Με το ποσοστό αποτυχίας των κρημνών να αναφέρεται έως και 10%, η πρωτογενής πρόληψη της θρόμβωσης είναι ζωτικής σημασίας για τους μικροχειρουργούς ανά τον κόσμο [38].

Η προφυλακτική χορήγηση αντιθρομβωτικών παραγόντων είναι συνήθης πρακτική για την μείωση της πιθανότητας θρόμβωσης της αγγειακής αναστόμωσης μετά από επεμβάσεις μεταφοράς ελεύθερων κρημνών ή ανασυγκολλήσεων [39-41]. Ήδη από το 1978 ο Ketchman πρότεινε ότι για την διατήρηση της βατότητας των μικροαγγειακών αναστομών απαιτούνται φαρμακευτικοί παράγοντες που (1) μειώνουν την λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων (π.χ. ασπιρίνη), (2) αυξάνουν την ροή του αίματος ή μειώνουν το ιξώδες του αίματος (π.χ., δεξτράνη), και (3) εξουδετερώνουν τις επιδράσεις της θρομβίνης και του ινωδογόνου επί των

αιμοπεταλίων (π.χ., ηπαρίνη) [42]. Παρόλο που τα αντιπηκτικά φάρμακα χρησιμοποιούνται στην μικροχειρουργική τα τελευταία 30 χρόνια, τα πρωτόκολλα αντιπηκτικής αγωγής ποικίλλουν ευρέως μεταξύ των μικροχειρουργών. Επί του παρόντος το 96% των χειρουργών χρησιμοποιεί αντιπηκτικά σε επεμβάσεις μεταφοράς ελεύθερων κρημνών [38,43]. Πολλά αντιθρομβωτικά πρωτόκολλα έχουν διαμορφωθεί από διαχρονικές κλινικές εμπειρίες. Παρόλο που υπάρχουν πολλές μελέτες στην μικροχειρουργική που επιβεβαιώνουν την αποτελεσματική χρήση των αντιπηκτικών σε πειραματικά μοντέλα, υπάρχουν περιορισμένα κλινικά δεδομένα όσον αφορά την σωστή επιλογή του κατάλληλου πρωτοκόλλου αντιθρομβωτικής αγωγής. Βέβαια είναι αμφισβητούμενο αν όντως υπάρχει ένα σαφώς πιο αποτελεσματικό πρωτόκολλο αντιθρομβωτικής αγωγής που υπερτερεί έναντι των άλλων.

Επί του παρόντος η ασπιρίνη, η δεξτράνη και η ηπαρίνη (κλασσική ή HMMB) αποτελούν τους πλέον συχνά χρησιμοποιούμενους αντιθρομβωτικούς παράγοντες στην μικροχειρουργική. Η πρόκληση στην χρήση αυτών των παραγόντων αποτελεί η επίτευξη του κατάλληλου συνδυασμού βέλτιστης αντιθρομβωτικής προφύλαξης και ελαχιστοποίησης παράλληλα των πιθανών επιπλοκών και μειονεκτημάτων που μπορεί να έχουν τα φάρμακα αυτά.

2.1 Ηπαρίνη

Η ηπαρίνη, μια πολυγλυκοζαμινογλυκάνη ποικίλου μοριακού μήκους έχει χρησιμοποιηθεί στην κλινική πράξη για περισσότερο από 50 χρόνια. Ο αντιπηκτικός αυτός παράγοντας (στην κλασσική του μορφή ή σε μορφή μικρού μοριακού βάρους) είναι αυτός που χρησιμοποιείται σήμερα ευρύτερα στην χειρουργική για την

πρόληψη τόσο της αρτηριακής όσο και της φλεβικής θρόμβωσης [44]. Η ηπαρίνη συνδέεται με την αντιθρομβίνη III και αυξάνει την αντιθρομβωτική της δράση μέσω ενίσχυσης κατά περίπου 1.000 φορές της προσκόλλησης της αντιθρομβίνης III στο υπόστρωμα της. Ως αποτέλεσμα οι αδρανείς μορφές των παραγόντων πήξης II (θρομβίνη), IX, X, XI και XII δεν ενεργοποιούνται και έτσι παρεμποδίζεται ο καταρράκτης πήξης [45]. Με την αναστολή της δημιουργίας θρομβίνης η ηπαρίνη μειώνει επίσης την ενεργοποίηση των παραγόντων πήξεως V και VIII, των αιμοπεταλίων και του σχηματισμού ινώδους [46,47]. Η αντιθρομβωτική δράση της ηπαρίνης εκτιμάται εργαστηριακά από την αύξηση του χρόνου πήξης του αίματος και εκφράζεται ως παρατεταμένος χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT). Μια διπλάσια αύξηση του aPTT θεωρείται ως θεραπευτικό επίπεδο ηπαρίνης. Επιπρόσθετα, μεγάλες δόσεις ηπαρίνης οδηγούν σε αγγειοδιαστολή που πιθανώς οφείλεται στην απελευθέρωση νιτρικού οξειδίου από το ενδοθήλιο [48]. Η αγγειοδιασταλτική δράση της ηπαρίνης μπορεί να μειώσει έτσι περαιτέρω τη θρόμβωση αυξάνοντας το ρυθμό ροής αίματος.

Η θρομβοπροφύλαξη με την χρήση ηπαρίνης περιορίζεται από τον αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας και τον επακόλουθο σχηματισμό αιματώματος στην χειρουργημένη περιοχή σε σχέση με την ασπιρίνη ή τη δεξτράνη [49]. Σε μια αναδρομική μελέτη χειρουργικής αποκατάστασης κάτω άκρων με την χρήση ελεύθερων κρημνών, ο Pugh κ.συν. ανέφεραν ποσοστό σχηματισμού αιματώματος 66% όταν η ηπαρίνη χρησιμοποιήθηκε μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες [50]. Ο Stockmans κ.συν. έδειξαν ότι η ηπαρίνη σε θεραπευτικό επίπεδο (διπλάσια αύξηση της PTT) μειώνει το ποσοστό της πρωτοπαθούς φλεβικής θρόμβωσης κατά 60%, ενώ οι υψηλότερες δόσεις οδηγούν σε μείωση σχεδόν κατά 100%. Όμως τα υψηλότερα επίπεδα ηπαρίνης στο αίμα ενώ οδηγούσαν σε

μεγαλύτερη προστασία έναντι της αγγειακής θρόμβωσης, αύξαναν επίσης τη συχνότητα εμφάνισης αιμορραγιών [44]. Επομένως απαιτείται προσοχή όταν χορηγείται μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη επειδή ο σχηματισμός αιματώματος μπορεί να μειώσει την αγγειακή ροή στους περίξ ιστούς λόγω αυξημένης τοπικής ενδοιστικής τάσης και έτσι να δημιουργηθούν συνθήκες θρομβογένεσης. Από την άλλη σε μια πρόσφατη αναδρομική μελέτη 216 ασθενών που υποβλήθηκαν σε επεμβάσεις επανορθωτικής χειρουργικής κεφαλής και τραχήλου και έλαβαν συνδυασμό ασπιρίνης (325 mg καθημερινά) και υποδόριας κλασσικής ηπαρίνης (5.000 IU υποδόρια δύο φορές την ημέρα) ο Chien κ.συν. ανέφεραν παρόμοιο ποσοστό επιβίωσης των ελεύθερων κρημών σε σχέση με άλλα σχήματα αντιπηκτικής αγωγής χωρίς όμως αυξημένη συχνότητα εμφάνισης αιματώματος [38].

Μια σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια της θεραπείας με ηπαρίνη είναι η θρομβοκυτταροπενία που επάγεται από την ηπαρίνη (Heparin Induced Thrombocytopenia- HIT) [51,52]. Το HIT τύπου II είναι μια σπάνια (1% -3%) επιπλοκή επαγόμενη από το ανοσοποιητικό σύστημα η οποία έχει ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση του αριθμού των αιμοπεταλίων (30.000 -55.000). Εμφανίζεται συνήθως 5 έως 10 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας με ηπαρίνη και αντιμετωπίζεται με διακοπή της χορήγησης ηπαρίνης. Ο τύπος HIT I είναι μια λιγότερο σημαντική επιπλοκή, μη ανοσολογικής αρχής αντίδραση με μικρότερη μείωση του αριθμού των αιμοπεταλίων (100.000) η οποία εμφανίζεται 1 έως 2 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας με ηπαρίνη. Το HIT τύπου I συνήθως αυτοπεριορίζεται παρά τη συνέχιση της θεραπείας με ηπαρίνη [53]. Μια άλλη ανεπιθύμητη ενέργεια που σχετίζεται με bolus χορήγησης ηπαρίνης είναι η εμφάνιση υπότασης κυρίως σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε καρδιακή επέμβαση ή αιμοκάθαρση, ενώ άλλα μειονεκτήματα της ηπαρίνης περιλαμβάνουν τη χαμηλή

βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου και τη μη σταθερή σχέση δόσης-απόκρισης [54-57]. Η χορήγησή της μετεγχειρητικά σε ασθενείς απαιτεί στενή παρακολούθηση των κυμαινόμενων επιπέδων πήξης, γεγονός το οποίο μπορεί να παρατείνει την παραμονή των ασθενών στο νοσοκομείο αυξάνοντας παράλληλα και το οικονομικό κόστος [58].

Ο στόχος της θεραπείας με ηπαρίνη είναι η δημιουργία επαρκών επιπέδων στην περιοχή της αγγειακής αναστόμωσης με την χορήγηση της ελάχιστα δυνατής προφυλακτικής δόσης. Η διατήρηση χαμηλών συστηματικών επιπέδων ηπαρίνης ελαχιστοποιεί τις ανεπιθύμητες ενέργειες της συστηματικής αντιπηκτικής αγωγής. Ο Rooks κ.συν. δεν ανέφεραν σημαντική διαφορά όσον αφορά το αντιθρομβωτικό αποτέλεσμα ανάμεσα στην ενδοαρτηριακή και στην συστηματική χορήγηση ενδοφλέβιας ηπαρίνης ή δεξτράνης-40 [59]. Σε άλλες μελέτες η συστηματική ενδοφλέβια χορήγηση ηπαρίνης παρείχε μεγαλύτερη προστασία κατά της επαναθρόμβωσης σε σχέση με την ενδοαρτηριακή χορήγηση μετά από αποκατάσταση θρομβωμένης αναστόμωσης με χρήση φλεβικού μοσχεύματος (82% έναντι 69% βατότητα αντίστοιχα) [60].

Η τοπική χορήγηση αντιθρομβωτικής αγωγής έχει προταθεί ως εναλλακτική μέθοδος και έχουν γίνει διάφορες σχετικές μελέτες όσον αφορά την μέθοδο αυτή [61]. Σε μια προσπάθεια να χορηγηθούν υψηλές τοπικές δόσεις ηπαρίνης διατηρώντας όμως παράλληλα χαμηλά συστηματικά επίπεδα, ο Hudson κ.συν. χρησιμοποίησαν *in situ* φλεβικό καθετήρα [62]. Σε 83 επεμβάσεις μεταφοράς ελεύθερων κρημνών εισήχθη ο καθετήρας εγγύς της φλεβικής αναστόμωσης ώστε να εγχυθεί διάλυμα 50 IU / mL με ρυθμό χορήγησης 10 mL / h για 48 ώρες και στη συνέχεια η δόση αυτή μειωνόταν σταδιακά τις επόμενες 5 ημέρες. Παρατήρησαν αύξηση της τοπικής aPTT ενώ η συστηματική aPTT παρέμεινε φυσιολογική. Τελικά

ανέφεραν μηδενικές επανεπεμβάσεις ή νεκρώσεις των κρημών σε σύγκριση με ποσοστό 12% επανεπεμβάσεων επί απουσίας τοπικής χορήγησης αντιπηκτικής αγωγής μέσω φλεβικού καθετήρα. Ο Fu κ.συν. ανέφεραν ότι η τοπική χορήγηση υψηλής συγκέντρωσης ηπαρίνης (750 $\mu\text{g} / \text{ml}$) είχε ως αποτέλεσμα 80% βατότητα των αναστομών την 7^η μετεγχειρητική ημέρα σε μια πειραματική μελέτη σε κονίκλους [63]. Δέκα λεπτά διεγχειρητικής έγχυσης υψηλής δόσης ηπαρίνης απευθείας στην αναστόμωση βελτιστοποίησε την ενδοθηλιακή δέσμευση του φαρμάκου και αύξησε την τοπική συγκέντρωση της ηπαρίνης [64,65]. Σε μια άλλη πολυκεντρική προοπτική κλινική μελέτη ωστόσο, ο Khouiri κ.συν. δεν παρατήρησαν σημαντική βελτίωση των ποσοστών βατότητας των μικροαγγειακών αναστομών χρησιμοποιώντας ενδοαυλική χορήγηση ηπαρίνης, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωσή της [66]. Ανέφεραν ωστόσο μείωση της εμφάνισης αιματώματος και αιμορραγίας σε σύγκριση με τη συστηματική χορήγηση ηπαρίνης.

Ενώ η τοπική έγχυση ηπαρίνης μπορεί να αυξήσει τη βατότητα του αγγείου, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η άμεση επίδραση της πίεσης έγχυσης μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο αγγείο. Ο Yan κ.συν. σε πειραματικό μοντέλο ανέφεραν ότι πίεση έγχυσης διαλύματος Ringer 100 mm Hg ή μεγαλύτερη προκαλούσε βλάβη στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στον έσω ελαστικό χιτώνα, η οποία μπορεί να έχει αρνητική επίδραση στην βατότητα των μικροαγγειακών αναστομών [67]. Από την μελέτη αυτή φαίνεται ότι πίεση έγχυσης μικρότερη από 100 mm Hg ελαχιστοποιεί το τραύμα στους ευαίσθητους μικροαγγειακούς ιστούς ενώ παράλληλα αυξάνει τη βατότητα των αναστομών.

2.2 Μικρού μοριακού βάρους ηπαρίνη

Η ηπαρίνη μικρού μοριακού βάρους (HMMB) είναι ένα παράγωγο μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης που παρασκευάζεται μέσω υδρόλυσης της πρότυπης ηπαρίνης σε μικρά κλάσματα πολυσακχαριτών. Αυτά τα κλάσματα πολυσακχαριτών έχουν την ίδια ανασταλτική επίδραση στον ενεργοποιημένο παράγοντα X αλλά έχουν ασθενέστερη δράση στην αντιθρομβίνη (Παράγοντας III) έναντι της κλασσικής ηπαρίνης. Πολύαριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι οι HMMB είναι εξίσου αποτελεσματικές με τη μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη στην πρόληψη της φλεβικής θρόμβωσης [68,69]. Ο Malm κ.συν. έδειξαν ότι η HMMB δαλτεπαρίνη ήταν αποτελεσματική στην πρόληψη της θρόμβωσης, ενώ παράλληλα δεν προκαλούσε σημαντική αύξηση της αιμορραγίας [57]. Χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο τραυματικής βλάβης σε αρτηρίες επίμυων φάνηκε ότι η HMMB σε δόση 180 U / kg είχε παρόμοια αντιθρομβωτική αποτελεσματικότητα με την κλασσική ηπαρίνη (σχεδόν τριπλάσια αύξηση της βατότητας 30 λεπτά μετά τη χειρουργική επέμβαση), όμως η κλασσική ηπαρίνη οδηγούσε σε στατιστικά σημαντική αύξηση της αιμορραγίας. Όσον αφορά την αρτηριακή θρόμβωση, η αποτελεσματικότητα των HMMB στην πρόληψή της αποτελεί αντικείμενο συζήτησης. Αν και μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι HMMB είναι λιγότερο αποτελεσματικές σε σχέση με την κλασσική ηπαρίνη στην μείωση της αρτηριακής θρόμβωσης [70,71] άλλες ανέφεραν καλύτερα ή παρόμοια αποτελέσματα [57,72]. Σε ένα πειραματικό μοντέλο σε κονίκλους ο Zhang κ.συν. παρατήρησαν 50% αύξηση της βατότητας των αρτηριακών αναστομών με χρήση HMMB σε σύγκριση με μη αντιπηκτική αγωγή [72].

Οι HMMB συνοδεύονται από λιγότερες και ηπιότερες ανεπιθύμητες ενέργειες σε σχέση με την μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη. Εκτός από την πρόκληση λιγότερων αιματωμάτων, οι HMMB έχουν υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα (85% σε

σύγκριση με 10% της κλασματοποιημένης ηπαρίνης), μεγαλύτερη διάρκεια ημιζωής, σταθερή σχέση δόσης-απόκρισης, και μικρότερο ποσοστό εμφάνισης HIT σε σύγκριση με την μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη [48,57,73-75]. Για τους λόγους αυτούς οι HMMB αποτελούν μια αξιόπιστη επιλογή αντιπηκτικής αγωγής για μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς να απαιτείται παράλληλα εργαστηριακή παρακολούθηση [73]. Μετεγχειρητικά οι HMMB μπορεί να χορηγηθούν σε εξωτερική βάση, γεγονός που μειώνει το χρόνο νοσηλείας.

Η ηπαρίνη μικρού μοριακού βάρους έχει μικρότερη επίδραση στο aPTT από ότι η μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη. Η τιμή του aPTT φάνηκε να είναι 3 φορές μικρότερη για τη χαμηλότερη δόση της δαλτεπαρίνης η οποία είχε παράλληλα αποτελεσματική αντιθρομβωτική επίδραση (180 U / kg) σε σύγκριση με την ίδια δόση μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης. Για την εργαστηριακή παρακολούθηση της δραστηριότητας των HMMB χρησιμοποιείται κυρίως η μέτρηση των επιπέδων αντι-ενεργοποιημένου παράγοντα X (παράγοντας Xa) και όχι του aPTT [76]. Σε μια πειραματική μελέτη σε επίμυες ο Ritter κ.συν. έδειξαν ότι μία εφάπαξ δόση μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης ή HMMB είχε ως αποτέλεσμα παρόμοια ποσοστά βατότητας των αναστομών και επιβίωσης των κρημνών [71]. Αν και τα επίπεδα aPTT και του αντι-παράγοντα Xa αυξήθηκαν και με τα δυο αντιπηκτικά φάρμακα η HMMB οδήγησε σε μεγαλύτερη αύξηση του αντι-παράγοντα Xa, μικρότερη αύξηση του aPTT, ενώ επιπλέον δεν είχε αιμορραγικές επιπλοκές σε σύγκριση με τη μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη. Εκτός από την επίδραση των HMMB στην αντιθρομβίνη, η αντιθρομβωτική δράση των HMMB σχετίζεται και με άλλες λειτουργίες όπως είναι η απελευθέρωση του αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα και διάφορες αλληλεπιδράσεις τους με τον συμπάγοντα ηπαρίνης II και τον παράγοντα αιμοπεταλίων 4 [69]. Για αυτό και οι προσπάθειες άμεσης συσχέτισης

της δραστηριότητας των ΗΜΜΒ με τα επίπεδα αντι-Χα δεν ήταν απολύτως επιτυχείς. Αυτό επίσης εξηγεί την εγγενή δυσκολία στον προσδιορισμό ισοδύναμων δόσεων μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης και ΗΜΜΒ. Το φαρμακοκινητικό προφίλ και η αποτελεσματικότητα των διαφόρων ΗΜΜΒ ποικίλλουν, και επομένως η αποτελεσματική δράση μιας ΗΜΜΒ σε μια συγκεκριμένη δόση δεν συνεπάγεται απαραίτητα και αντίστοιχη αποτελεσματικότητα μιας άλλης ΗΜΜΒ στην ίδια δόση.

Η τοπική χορήγηση ΗΜΜΒ όπως συμβαίνει και με τη μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη ελαχιστοποιεί σημαντικά τις συστηματικές παρενέργειες. Ο Chen κ.συν. εξέτασαν τα αποτελέσματα της τοπικής χορήγησης κλασσικής ηπαρίνης και ΗΜΜΒ (ενοξαπαρίνης) στην βατότητα αναστομωμένων αγγείων [77]. Τα ποσοστά θρόμβωσης στις ομάδες χορήγησης φαρμάκων μειώθηκαν σημαντικά τις πρώτες 7 ημέρες σε σύγκριση με χορήγηση φυσιολογικού ορού. Όσον αφορά τα ποσοστά αιμορραγίας ή βατότητας των αναστομών ανάμεσα στην κλασσική ηπαρίνη και στην ΗΜΜΒ δεν υπήρχε στατιστικώς σημαντική διαφορά. Σε μια άλλη πειραματική μελέτη ο Κορομπίλιας κ.συν. έδειξαν ότι η τοπική έγχυση ενοξαπαρίνης σε διάλυμα 45 IU/ml ήταν αποτελεσματική στην πρόληψη δημιουργίας θρόμβου σε αναστομές συνθλιμμένων αρτηριών επίμυων, ενώ η επιπλέον συστηματική χορήγηση δεν προσέφερε κάποιο σημαντικό όφελος όσον αφορά την αντιθρομβωτική της αποτελεσματικότητας [78].

2.3 Δεξτράνη

Οι δεξτράνες αποτελούν μια ομάδα πολυσακχαριτών ποικίλου μεγέθους που συντίθενται από σακχαρόζη από τον στρεπτόκοκκο *Leuconostoc mesenteroides*.

Αυτοί οι παράγοντες χρησιμοποιούνται συχνά στην μικροχειρουργική για τη μείωση της πιθανότητας θρόμβωσης των μικροαγγειακών αναστομώνσεων. Η αντιθρομβωτική επίδραση της δεξτράνης τελείται μέσω δέσμευσής της στα ερυθροκύτταρα, στα αιμοπετάλια και στο αγγειακό ενδοθήλιο αυξάνοντας την ηλεκτροαρνητικότητα και μειώνοντας έτσι την προσκόλληση των ερυθροκυττάρων και των αιμοπεταλίων. Οι δεξτράνες μειώνουν την προσκόλληση των αιμοπεταλίων μειώνοντας τον παράγοντα VIII-Ag (Παράγοντας von Willebrand). Τα επικαλυμμένα με δεξτράνη αιμοπετάλια κατανέμονται πιο ομοιόμορφα στον θρόμβο και συνδέονται χαλαρά με το ινώδες και έτσι διευκολύνεται η θρομβόλυση. Επιπλέον με την αναστολή της αντιπλασμίνης -α₂ η δεξτράνη δρα και ως ενεργοποιητής πλασμινογόνου στην οδό της θρομβόλυσης [79,80]. Δεξτράνες μεγαλύτερου μοριακού βάρους που παραμένουν περισσότερο χρόνο εντός των αγγείων δρουν επίσης ως ισχυροί ωσμωτικοί παράγοντες και έτσι βοηθούν στην μείωση της υποογκαιμίας [81,82]. Η αύξηση αυτή του ενδοαγγειακού όγκου προκαλεί αιμοαραίωση η οποία βελτιώνει τη ροή του αίματος και αυξάνει περαιτέρω τη βατότητα των μικροαναστομώνσεων. Πρέπει να σημειωθεί ότι δεν έχει παρατηρηθεί διαφορά στην αντιθρομβωτική αποτελεσματικότητα μεταξύ της ενδοαρτηριακής και ενδοφλέβιας χορήγησης δεξτράνης [59].

Το μεταβαλλόμενο μέγεθος δεξτράνης από 10 έως 150 kd έχει ως αποτέλεσμα παρατεταμένα αντιθρομβωτικά και κολλοειδοοσμωτικά αποτελέσματα. Οι μεγαλύτερες δεξτράνες απεκκρίνονται ελάχιστα από το νεφρό και παραμένουν στο αίμα για εβδομάδες έως ότου μεταβολιστούν [83]. Η δεξτράνη-40 (μοριακό βάρος 40 kd) είναι η πιο δημοφιλής δεξτράνη που χρησιμοποιείται στην αντιπηκτική αγωγή. Το 70% της δεξτράνης-40 απεκκρίνεται από τα ούρα εντός των πρώτων 24

ωρών μετά την ενδοφλέβια έγχυση και το υπόλοιπο 30% διατηρείται για μερικές ακόμη ημέρες, παρατείνοντας τις επιδράσεις της [84,85].

Παρόλο που οι δεξτράνες έχουν σχετικά λίγες παρενέργειες, αυτές μπορεί να είναι αρκετά σοβαρές όπως είναι η αναφυλαξία, η υπερφόρτωση όγκου, το πνευμονικό οίδημα, το εγκεφαλικό οίδημα ή και η δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων [81,86,87]. Μια ασυνήθιστη αλλά μείζονα επιπλοκή της οσμωτικής δράσης της δεξτράνης είναι επίσης η οξεία νεφρική ανεπάρκεια [88,89]. Η άμεση τοξική επίδραση στα σωληνάρια και το σπείραμα, και η αύξηση του ενδοαυλικού ιζώδους είναι 2 μηχανισμοί νεφροτοξικότητας που έχουν αναφερθεί [90,91]. Ασθενείς με ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη, νεφρικής ανεπάρκειας ή αγγειακών διαταραχών είναι πιο επιρρεπείς στις παρενέργειες αυτές. Ο Brooks κ.συν. πρότειναν να αποφεύγεται η θεραπεία με δεξτράνη σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και ρυθμό κάθαρσης κρεατινίνης μικρότερο από 40 mL / min [89]. Σε μία προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη όπου συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα της δεξτράνης και της ασπιρίνης σε 100 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε επεμβάσεις αποκατάστασης με κρημνούς για κακοήθειες κεφαλής και τραχήλου, η ασπιρίνη και η δεξτράνη ήταν εξίσου αποτελεσματικές στην πρόληψη της νέκρωσης του κρημνού [92]. Οι ασθενείς στην ομάδα της δεξτράνης ωστόσο παρουσίασαν αυξημένο σχετικό κίνδυνο συστηματικών επιπλοκών κατά 3,9 έως 7,2 φορές μετά από 48 και 120 ώρες χορήγησης δεξτράνης αντίστοιχα. Συμπερασματικά, οι σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες της δεξτράνης περιορίζουν σημαντικά την χρήση της σε ευρεία βάση σήμερα.

2.4 Ασπιρίνη

Η ασπιρίνη (ακετυλοσαλικυλικό οξύ [ASA]) χρησιμοποιείται αρκετά συχνά σήμερα στην μικροχειρουργική προκειμένου να αυξηθούν τα ποσοστά επιβίωσης των ελεύθερων κρημνών και των ανασυγκολλήσεων. Η ασπιρίνη ακετυλιώνει και αναστέλλει το ένζυμο των αιμοπεταλίων κυκλοοξυγενάση, παρεμποδίζοντας τη διάσπαση του αραχιδονικού οξέος σε θρομβοξάνη και προστακυκλίνη. Η θρομβοξάνη είναι ένας ισχυρός αγγειοσυσταλτικός παράγοντας που προκαλεί συσσώρευση αιμοπεταλίων ενώ η προστακυκλίνη από την άλλη είναι ένα αγγειοδιασταλτικό ένζυμο που αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Επιπλέον υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η ασπιρίνη επηρεάζει την παραγωγή θρομβίνης και τις αντιδράσεις που καταλύονται από αυτό το ένζυμο στην περιοχή της αναστόμωσης [93]. Η περιεγχειρητική χορήγηση ασπιρίνης είναι γνωστό ότι αποτρέπει την μικροαγγειακή θρόμβωση στην περιοχή της αναστόμωσης, αν και είναι λιγότερο αποτελεσματική από την ηπαρίνη [94]. Ο Cooley κ.συν. έδειξαν ότι η ενδοφλέβια χορήγηση ηπαρίνης οδηγεί σε μεγαλύτερα ποσοστά βατότητας σε σύγκριση με την από του στόματος χορήγηση ασπιρίνης [95]. Στην ίδια φάνηκε ότι η αγωγή με ασπιρίνη οδηγούσε σε μεγαλύτερη συσσώρευση ινικής στον αυλό των αγγείων (θρόμβος ινικής), ενώ η αγωγή με ηπαρίνη οδηγούσε σε μεγαλύτερη συσσώρευση αιμοπεταλίων (αιμοπεταλιακός θρόμβος) [95].

Ο χρόνος χορήγησης της ασπιρίνης σε σχέση με τον χρόνο της χειρουργικής επέμβασης μεταβάλλει επίσης σημαντικά την αποτελεσματικότητά της. Σε μια μελέτη του Kort κ.συν. δεν φάνηκε επαρκής αντιθρομβωτική αποτελεσματικότητα της ασπιρίνης όταν αυτή χορηγήθηκε 30 λεπτά πριν από τη χειρουργική επέμβαση σε επίμυες [60]. Επίσης η χορήγηση ασπιρίνης από το στόμα σε δόση 30 mg / kg λίγες ώρες προεγχειρητικά σε μοντέλο θρόμβωσης επίμυων δεν είχε αποτελεσματική

αντιθρομβωτική δράση στις 24 πρώτες ώρες μετεγχειρητικά [96]. Από την άλλη η χορήγηση ασπιρίνης (4 mg / kg) 10 ώρες πριν από τη χειρουργική επέμβαση είχε ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση της βατότητας των αναστομών και μείωση του ρυθμού συσσώρευσης αιμοπεταλίων [97]. Σε αυτή τη μελέτη μια εφάπαξ δόση ασπιρίνης χορηγούμενη πριν από τη χειρουργική επέμβαση είχε ως αποτέλεσμα διπλάσια αύξηση των ποσοστών βατότητας 1 εβδομάδα μετά την επέμβαση σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Σε μια άλλη μελέτη εκτιμήθηκε επίσης η προστατευτική δράση της συστηματικά χορηγούμενης ασπιρίνης (χορηγούμενης από το στόμα 1 εβδομάδα προεγχειρητικά) όσον αφορά την διατήρηση της βατότητας φλεβικού μοσχεύματος σε επίμυες όπου φάνηκε ότι μειώθηκαν σημαντικά τα ποσοστά θρόμβωσης των μοσχευμάτων [98].

Έχει μελετηθεί επίσης η αποτελεσματικότητα της συγχορήγησης της ασπιρίνης με άλλους αντιθρομβωτικούς παράγοντες. Η προστατευτική δράση της ασπιρίνης διπλασιάστηκε όταν συγχορηγήθηκε κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης με έναν άλλο αντιαιμοπεταλιακό παράγοντα, την τικλοπιδίνη [99]. Παρόμοια ο συνδυασμός της ασπιρίνης με τη διπυριδαμόλη οδήγησε σε μεγαλύτερα ποσοστά βατότητας αρτηριακών μικροαναστομών σε σύγκριση με την χορήγηση ηπαρίνης (40% σε σύγκριση με 6,7%), όμως σε φλεβικές μικροαναστομές ο συνδυασμός αυτός είχε μικρότερη αντιθρομβωτική αποτελεσματικότητα. Ο συνδυασμός και των 3 φαρμάκων παρείχε την καλύτερη αρτηριακή και φλεβική αντιθρομβωτική προστασία [100]. Σε μια άλλη έρευνα που μελέτησε την ιδανική δόση ασπιρίνης ο Peter κ.συν. διαπίστωσαν ότι μια χαμηλή δόση ασπιρίνης (5 mg / kg, χορηγούμενη ενδοαρτηριακά αμέσως μετά την διενέργεια της αρτηριακής και φλεβικής αναστόμωση σε μοντέλο αρουραίου) μείωσε τον σχηματισμό θρόμβου τόσο στις αρτηριακές όσο και στις φλεβικές μικροαγγειακές αναστομές και

οδήγησε σε καλύτερη μικροκυκλοφορία των μυϊκών κρημνών [101]. Η χαμηλή δόση ασπιρίνης προτιμάται από πολλούς χειρουργούς επειδή δεν επηρεάζει την κυκλοοξυγενάση στο ενδοθήλιο και στις λείες μυϊκές ίνες. Ως αποτέλεσμα η παραγωγή προσταγλανδίνης I_2 (ανταγωνιστής αιμοπεταλίων και αγγειοδιασταλτικός παράγοντας) δεν επηρεάζεται και έτσι υπάρχουν λιγότερες συστηματικές παρενέργειες [102].

Οι ίδιες ιδιότητες που καθιστούν την ασπιρίνη ένα ισχυρό αντιθρομβωτικό παράγοντα μπορούν αντίθετα να προκαλέσουν σημαντικά προβλήματα. Η δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων οδηγεί σε αυξημένη απώλεια αίματος η οποία αυξάνει τα ποσοστά μετάγγισης και επανεπέμβασης. Η χορήγηση δεσμοπρεσίνης φάνηκε πειραματικά ότι μπορεί να βοηθήσει στην αντιμετώπιση μιας αθρόας αιμορραγίας βελτιώνοντας την γενική λειτουργία των αιμοπεταλίων και μειώνοντας έτσι την περαιτέρω αιμορραγία [103, 104]. Άλλες παρενέργειες της ασπιρίνης σχετίζονται με την μη εκλεκτική αναστολή της κυκλοοξυγενάσης. Η κυκλοοξυγενάση-I αποτελεί ένα ένζυμο «ομοιόστασης» επειδή εκφράζεται σε πολλούς φυσιολογικούς ιστούς στο σώμα και ρυθμίζει διάφρες λειτουργίες όπως είναι η ροή αίματος προς τον νεφρό και η προστασία του γαστρικού βλεννογόνου [105]. Έτσι η ασπιρίνη μπορεί να προκαλέσει σοβαρή γαστρεντερική αιμορραγία μέσω της βλαπτικής της επίδρασης στον γαστρικό βλεννογόνο και την μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Η παρενέργεια αυτή είναι δοσοεξαρτώμενη οπότε ο κίνδυνος αιμορραγίας ελαχιστοποιείται με χορήγηση χαμηλής δοσολογίας (75 mg / d) [106]. Οι νεώτεροι αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης-II σχετίζονται με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες στο νεφρό και στο γαστρικό βλεννογόνο αλλά δεν εμποδίζουν την συσσώρευση των αιμοπεταλίων και έτσι δεν έχουν ρόλο στην αντιπηκτική αγωγή [107].

2.5 Θρομβολυτικά

Οι θρομβολυτικοί παράγοντες που είναι διαθέσιμοι στην κλινική πράξη περιλαμβάνουν την στρεπτοκινάση, την ουροκινάση και τον ενεργοποιητή ιστικού πλασμινογόνου. Ενώ η αποτελεσματικότητά τους στην αναστροφή της μικροαγγειακής θρόμβωσης είναι καλά τεκμηριωμένη σε πειραματικά μοντέλα, υπάρχουν ελάχιστες κλινικές μελέτες [108,109]. Σε μια αναδρομική πολυκεντρική μελέτη, ο Yü κ.συν. δεν ανέφεραν σημαντική βελτίωση της βατότητας των αναστομών και των ποσοστών επιβίωσης ελεύθερων κρημών με τη χρήση θρομβολυτικής θεραπείας [110]. Ωστόσο ο Rooks κ.συν. ανέφεραν ότι για έναν εγκατεστημένο θρόμβο, η ουροκινάση έχει ως αποτέλεσμα σημαντική βελτίωση της βατότητας των αναστομών σε σύγκριση με την ηπαρίνη και τη δεξτράνη [59]. Είναι γνωστό ότι η νέκρωση των κρημών και η θρόμβωση των αναστομών συμβαίνει συνήθως όχι την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα αλλά από την 2^η μετεγχειρητική ημέρα και μετέπειτα [110,111]. Σε μια άλλη πειραματική μελέτη η ουροκινάση που χορηγήθηκε ενδοαρτηριακά για την πρόληψη δημιουργίας θρόμβου σε μικροαγγειακές αναστομές έχει σημαντικά μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σε σχέση με την ενδοφλέβια χορήγησή της (100% για ενδο-αρτηριακή χορήγηση έναντι 40% για ενδοφλέβια) [59]. Λόγω του γεγονότος ότι οι περισσότερες κλινικές μελέτες (που είναι περιορισμένες σε αριθμό) περιλαμβάνουν μικρό αριθμό ασθενών, δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα όσον αφορά την αποτελεσματικότητα και την κατάλληλη δοσολογία των θρομβολυτικών αυτών φαρμάκων.

2.6 Άλλοι παράγοντες

Η αποτελεσματικότητα νεότερων αντιθρομβωτικών παραγόντων έχει εκτιμηθεί κυρίως σε μελέτες που αφορούν το καρδιαγγειακό σύστημα. Αιμορολογικοί παράγοντες όπως η πεντοξυφυλλίνη (PTX) (Trental, Hoechst-Roussel Pharmaceutical, Inc., Somerville, NJ) τυπικά χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της χρόνιας αποφρακτικής αρτηριακής νόσου. Οι παράγοντες αυτοί αυξάνουν τη ροή του αίματος μέσω αγγειοδιαστολής ενώ παράλληλα αναστέλλουν την συσσώρευση αιμοπεταλίων και μειώνουν τα επίπεδα ινωδογόνου. Επιπλέον η PTX μειώνει το ιξώδες του αίματος αυξάνοντας την δυνατότητα μεταβολής του σχήματος των ερυθροκυττάρων γεγονός που βελτιώνει την άρδευση των ιστών [112]. Σε μια πειραματική μελέτη σε επίμυες φάνηκε ότι το συνδυαστικό αποτέλεσμα όλων αυτών των δράσεων της PTX βελτίωσε σημαντικά την μικροκυκλοφορία και την οξυγόνωση τοπικών δερματικών κρημών [113]. Επειδή όμως η PTX απαιτεί διάρκεια χορήγησης 2 εβδομάδων πριν την εμφάνιση των δράσεών της, απαιτείται ένα προεγχειρητικό σχήμα 2 εβδομάδων που δεν καθιστά πρακτική την χρήση της. Σε μια τυχαίοποιημένη τυφλή μελέτη για τον προσδιορισμό της αντιθρομβωτικής αποτελεσματικότητας της ΗΜΜΒ και της PTX σε μοντέλο μικροαγγειακού ελεύθερου βουβωνικού κρημού σε επίμυες, ο Murthy κ. συν. ανέφεραν στατιστικά σημαντική βελτίωση της αρτηριακής βατότητας τόσο με ΗΜΜΒ όσο και με πεντοξυφυλλίνη, αλλά όχι μετά από συγχορήγησή τους [114]. Τα αποτελέσματα της χρήσης της PTX ποικίλουν στις διάφορες κλινικές μελέτες και το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τον περιορισμένο αριθμό των μελετών αυτών καθιστούν την χρήση της PTX στην κλινική πράξη επισφαλής.

Πρόσφατα η ανασυνδυασμένη ιρουδίνη, μια ουσία που αρχικά απομονώθηκε από ιατρικές βδέλλες χρησιμοποιήθηκε ως αντιπηκτικό. Η ιρουδίνη είναι ένας

ειδικός αναστολέας της θρομβίνης ισχυρότερος από την ηπαρίνη χωρίς όμως να επιδρά αρνητικά στην λειτουργία των αιμοπεταλίων [115]. Η ιρουδίνη μπορεί να διεισδύσει καλύτερα στον σχηματιζόμενο μικροθρόμβο επειδή δεν απαιτεί την ύπαρξη συμπαράγοντα και έτσι έχει μικρότερο μέγεθος (7,000d) σε σχέση με το ογκώδες σύμπλοκο ηπαρίνης-αντιθρομβίνης III. Όπως και η ηπαρίνη όμως, η ιρουδίνη μπορεί να προκαλέσει σημαντική αιμορραγία όταν χορηγηθεί συστηματικά [89]. Ο Fu κ. συν. σε ένα μοντέλο μικροαγγειακής αναστόμωσης σε κονίκλους ανέφεραν ότι υψηλή συγκέντρωση τοπικής ανασυνδυασμένης ιρουδίνης (750 $\mu\text{g} / \text{ml}$) είχε ως αποτέλεσμα σημαντικά αυξημένη βατότητα τις 7 πρώτες ημέρες μετεγχειρητικά (75% έναντι 13,3% της ομάδας ελέγχου) ενώ παράλληλα η μετεγχειρητική αιμορραγία ήταν ελάχιστη [63].

Ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI) αποτελεί μια πρωτεΐνη που παράγεται φυσιολογικά σε διάφορους ιστούς και αναστέλλει την οδό της πήξης. Δημιουργεί σύμπλοκα με τον ιστικό παράγοντα VIIa και τον παράγοντα Xa, και έτσι αναστέλλει τον καταρράκτη της πήξης. Ο ανασυνδυασμένος ανθρώπινος TFPI (SC-59735, Chiron Corp., Emeryville, CA) φάνηκε ότι ήταν πιο αποτελεσματικός από την ηπαρίνη όταν προστέθηκε σε διάλυμα έγχυσης που χορηγήθηκε σε αρτηρίες κονίκλων επιρρεπείς σε δημιουργία θρόμβου [64]. Σε μια πολυκεντρική πολυεθνική τυφλή μελέτη φάσης II, ο Khoufi κ.συν. διαπίστωσαν ότι η ενδοαυλική έγχυση μικρής συγκέντρωσης διαλύματος TFPI (0,05 mg / mL) οδήγησε σε παρόμοια ποσοστά επιβίωσης κρημών σε σχέση με χορήγηση υψηλότερης συγκέντρωσης διαλύματος (0,15 mg / mL) καθώς επίσης και σε σχέση με χορήγηση ηπαρίνης (100 U / mL) [66]. Μάλιστα η χορήγηση χαμηλής δόσης TFPI οδήγησε σε αξιοσημείωτα μικρότερη επίπτωση σχηματισμού αιματώματος σε σύγκριση με την υψηλή δόση TFPI και την ηπαρίνη. Έτσι ανέφεραν ότι μια χαμηλή δόση ανασυνδυασμένου

ανθρώπινου TFPI βελτιώνει τα ποσοστά επιβίωσης των κρημών ενώ παράλληλα ελαχιστοποιεί και την πιθανότητα σχηματισμού μετεγχειρητικών αιματωμάτων.

Η ιλοπρόστη αποτελεί ένα ανάλογο της προστακυκλίνης (Poprost, CoTherix Inc., San Francisco, CA). Σε μελέτες όπου εκτιμήθηκε η αποτελεσματικότητά της στην πρόληψη δημιουργίας θρόμβων αναφέρθηκαν σχεδόν διπλάσια ποσοστά βατότητας σε σχέση με θεραπεία placebo μετά την εκτομή θρομβωμένων αναστομών και αποκατάσταση της συνέχειας των αγγείων αυτών με αγγειακά μοσχεύματα [60,116]. Η διαφορά αυτή ωστόσο ήταν στατιστικά σημαντική μόνο όταν χρησιμοποιήθηκαν φλεβικά μοσχεύματα, ενώ επιπρόσθετα η ιλοπρόστη ήταν λιγότερο αποτελεσματική από την χορήγηση συστηματικής ηπαρίνης.

Το 1988 οι Nichter και Bindiger διαπίστωσαν ότι η θεραπεία με μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ιβουπροφαίνη και ινδομεθακίνη) βελτίωσε σημαντικά την βατότητα αγγειακών μοσχευμάτων σε πειραματικό μοντέλο χρήσης καρωτίδων επίμυων, χωρίς όμως να υπάρχει σημαντική διαφορά σε σύγκριση με την ασπιρίνη [117]. Παρομοίως η χρήση της κετορολόακης, ενός άλλου μη στεροειδούς αντιφλεγμονώδους φαρμάκου έχει προταθεί σε περιπτώσεις αντένδειξης χορήγησης ασπιρίνης [118]. Τέλος η περιεγχειρητική από του στόματος χορήγηση τικλοπιδίνης, ενός γνωστού αναστολέα αιμοπεταλίων φάνηκε σε μια πειραματική μελέτη ότι είναι πιο αποτελεσματική από την ασπιρίνη όσον αφορά την διατήρηση της βατότητας των αγγείων 1 ώρα και 1 εβδομάδα μετεγχειρητικά (45% και 15% τα ποσοστά βατότητας σε 1 ώρα και 1 εβδομάδα αντίστοιχα για την τικλοπιδίνη σε σύγκριση με 35% και 10% αντίστοιχα για την ασπιρίνη) [99].

2.7 Κλινικές μελέτες

Παρά την βελτίωση των μικροχειρουργικών τεχνικών και τις αυξημένες σε αριθμό αντιθρομβωτικές θεραπευτικές επιλογές, στο 6% έως 25% των μικροχειρουργικών επεμβάσεων απαιτείται επανεπέμβαση λόγω θρόμβωσης των αγγειακών αναστομώνσεων [119,120]. Η έρευνα στον τομέα αυτό έχει πραγματοποιηθεί κυρίως σε πειραματικά μοντέλα. Βέβαια πρέπει να σημειωθεί ότι μπορεί να συμβεί επανασηραγγοποίηση θρομβωμένων φλεβών αρκετά πιο συχνά σε επίμυες από ότι στον άνθρωπο, γεγονός που απαιτεί προσοχή στην γενίκευση των δεδομένων των πειραματικών μελετών στους ανθρώπους [78]. Υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα στην μικροχειρουργική προερχόμενα από κλινικές μελέτες όπου συγκρίθηκαν διαφορετικά πρωτόκολλα αντιπηκτικής αγωγής. Συνεπώς οι τρέχουσες συστάσεις για την αντιπηκτική αγωγή στην μικροχειρουργική βασίζονται κυρίως σε γενικεύσεις αντικρουόμενων δεδομένων από πειραματικές μελέτες.

Ένα άρθρο του 2001 των Conrad και Adams επανεξέτασε την βιβλιογραφία όσον αφορά τα αποτελέσματα της δεξτράνης, της ασπιρίνης και της ηπαρίνης καθώς και των προτεινόμενων σχημάτων αντιπηκτικής αγωγής σε επεμβάσεις μεταφοράς ελεύθερων κρημνών και ανασυγκολλήσεων [121]. Οι συγγραφείς συνέστησαν προεγχειρητική και μετεγχειρητική χορήγηση ασπιρίνης προς μάσηση καθημερινά για 2 εβδομάδες, διεγχειρητική χορήγηση ηπαρινισμένου διαλύματος χλωριούχου νατρίου και bolus χορήγηση ηπαρίνης από 50 έως 100 U / kg πριν από την διάνοιξη των αγγειολαβίδων. Για τις ανασυγκολλήσεις οι Conrad και Adams συνέστησαν επίσης τη χορήγηση 0,4 mL / kg / h δεξτράνης-40, με σταδιακή μείωση από την 5^η μετεγχειρητική ημέρα.

Το 2001 ο Pederson συνέστησε στις περιπτώσεις ανασυγκολλήσεων την χρήση ενός μόνιμου καθετήρα στην μασχαλιαία αρτηρία για την χορήγηση

μαρκαίνης για 5 ημέρες με σκοπό την πρόκληση χημικής συμπαθεκτομής, την χρήση γλωροπρομαζίνης ως περιφερικό αγγειοδιασταλτικό και αγγολυτικό για 3 έως 5 ημέρες μετεγχειρητικά και τη χρήση ασπιρίνης 325 mg για 3 εβδομάδες [122]. Οι συστάσεις του βέβαια δεν βασίστηκαν σε συγκεκριμένες μελέτες σε πειραματόζωα και σε αποτελέσματα μεγάλων μελετών σύγκρισης διαφορετικών μεθόδων αντιπηκτικής αγωγής στην μικροχειρουργική αλλά σε συμπεράσματα προερχόμενα από την δική του κλινική εμπειρία.

Η μόνη κλινική μελέτη σε ασθενείς ήταν αυτή του Khouiri κ.συν. [36]. Πρόκειται για μια προοπτική μελέτη 6 μηνών στην οποία συμμετείχαν 23 χειρουργούς που πραγματοποίησαν 493 επεμβάσεις μεταφοράς ελεύθερων κρημνών. Η μελέτη αυτή εξέτασε πολλές μεταβλητές και παρείχε συσχέτισμό μεταξύ διαφορετικών μεθόδων αντιπηκτικής και ποσοτών επιβίωσης των κρημνών. Ο Khouiri κ.συν. ανέφεραν ότι μόνο η υποδόρια χορήγηση ηπαρίνης παρείχε στατιστικώς σημαντικές διαφορές όσον αφορά τα κλινικά αποτελέσματα καθώς μείωσε την πιθανότητα θρόμβωσης κατά 27%, ενώ κανένα άλλο αντιθρομβωτικό σχήμα δεν είχε στατιστικώς σημαντικό αποτέλεσμα. Μάλιστα στους ασθενείς που έλαβαν προεγχειρητική συστηματική θεραπεία με ηπαρίνη, ασπιρίνη ή δεξτρανή παρουσιάστηκε νέκρωση των κρημνών στο 2,2% των περιπτώσεων, ενώ στους ασθενείς όπου δεν χορηγήθηκε προεγχειρητική συστηματική θεραπεία παρουσιάστηκε νέκρωση των κρημνών στο 4.6% των περιπτώσεων. Επιπλέον στους ασθενείς που έλαβαν διεγχειρητικά συστηματική ηπαρίνη ως μέρος ενός προφυλακτικού πρωτοκόλλου αντιπηκτικής αγωγής παρουσιάστηκε ποσοστό νέκρωσης 5,6% έναντι 2,9% σε σχέση με την μη χρήση διεγχειρητικής ηπαρίνης. Πρέπει να σημειωθεί βέβαια ότι η μελέτη του Khouiri δεν σχεδιάστηκε για να συγκρίνει διαφορετικές μεθόδους αντιπηκτικής αγωγής, ενώ ένα επιπλέον

μειονέκτημα της μελέτης είναι ότι κάθε χειρουργός χρησιμοποίησε το πρωτόκολλο αντιπηκτικής με το οποίο ήταν ο ίδιος εξοικειωμένος. Ως εκ τούτου κάθε χειρουργός χρησιμοποίησε ένα σχήμα αντιπηκτικής αγωγής κατάλληλο για τη συγκεκριμένη τεχνική του το οποίο αποτελεί έναν συγχυτικό παράγοντα που μπορεί να μειώσει την αξιοπιστία των συμπερασμάτων της μελέτης αυτής.

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας όσον αφορά την αντιπηκτική αγωγή και την αποτελεσματικότητά της αποτελεί ο κατάλληλος χρόνος και διάρκεια χορήγησής της. Δεδομένου ότι η πλειοψηφία των θρόμβων σχηματίζονται κατά τη διάρκεια των πρώτων 2 ημερών μετά την επέμβαση, η περίοδος αυτή είναι καθοριστικής. Ωστόσο ο ιδεατός χρόνος έναρξης της αντιπηκτικής αγωγής δεν είναι απαραίτητα κατά την διάρκεια της περιόδου αυτής αλλά ίσως ακόμα νωρίτερα. Ο Khouiri κ.συν. ανέφεραν διπλάσια μείωση του ποσοστού νέκρωσης των κρημών (αν και αυτό δεν ήταν στατιστικά σημαντικό) έπειτα από προεγχειρητική χορήγηση ασπιρίνης, δεξτράνης ή ηπαρίνης [36]. Μια μόνο εφάπαξ δόση ασπιρίνης αρκετές ώρες πριν από τη χειρουργική επέμβαση μπορεί να έχει σημαντική αντιθρομβωτική επίδραση [97]. Παρομοίως, η οδός χορήγησης του αντιπηκτικού φαρμάκου είναι ένα ενδιαφέρον θέμα καθώς οι επιδράσεις της τοπικής χορήγησης μπορεί να διαφέρουν από τη συστηματική χορήγηση παρόμοιων παραγόντων.

Το αποτελεσματικότερο πρωτόκολλο αντιπηκτικής αγωγής μπορεί επίσης να μην βασίζεται σε ένα μόνο αντιθρομβωτικό παράγοντα, αλλά σε έναν συνδυασμό φαρμάκων. Στο συμπέρασμα της μελέτης τους ο Peter κ.συν. πρότειναν έναν συνδυασμό συστηματικής χορήγησης ασπιρίνης χαμηλής δόσης και τοπικής έγχυσης ηπαρίνης στα μικροαγγεία για την βελτίωση του αντιθρομβωτικού αποτελέσματος και την παράλληλη μείωση των παρενεργειών της αντιπηκτικής αγωγής [101]. Η μελλοντική έρευνα επομένως ίσως πρέπει να κατευθυνθεί προς την εύρεση έναν

συνδυασμού αντιπηκτικών παραγόντων που ήδη χρησιμοποιούνται, παρά στην σύγκριση μεμονωμένων παραγόντων μεταξύ τους.

Η έλλειψη προόδου στο θέμα της αντιπηκτικής αγωγής στην μικροχειρουργική μπορεί τελικά να προέρχεται από την υπερβολικά απλοποιημένη προσπάθεια εφαρμογής μιας προσέγγισης σε όλους τους ασθενείς. Μια ανασκόπηση των διαφόρων πρωτοκόλλων αντιπηκτικής αγωγής που χρησιμοποιήθηκαν σε διάφορες μελέτες και των ποικίλων αποτελεσμάτων που αναφέρθηκαν για τα πρωτόκολλα αυτά υποδηλώνει την ανάγκη ίσως για μια πιο εξατομικευμένη θεραπεία. Σε μια προσπάθεια να τονίσει τον εξατομικευμένο κίνδυνο σε κάθε ασθενή, ο Olsson κ.συν. διερεύνησαν την πήξη και την ινωδόλυση κατά τη διάρκεια διαφόρων μικροχειρουργικών κρημών και βρήκαν μια συσχέτιση μεταξύ ειδικών δεικτών (συμπλέγματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης III και κλάσματος προθρομβίνης-1.2) και νέκρωσης των κρημών [120]. Το προεγχειρητικό προφίλ υπερπηκτικότητας ενός ασθενή καθώς και η υπερβολική αιμορραγία κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης είναι επίσης σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες επανεπέμβασης. Η εκτίμηση του πηκτικού προφίλ του κάθε ασθενούς πριν από τη χειρουργική επέμβαση χρησιμοποιώντας συγκεκριμένους εργαστηριακούς δείκτες θα μπορούσε να βοηθήσει στον σχεδιασμό ενός προσαρμοσμένου σχήματος αντιπηκτικής αγωγής για κάθε ασθενή. Η προσεκτική μετεγχειρητική παρακολούθηση των ίδιων δεικτών μπορεί επίσης να μειώσει την πιθανότητα επανεπέμβασης.

Στο πλαίσιο αυτό, συγκεκριμένα σχήματα αντιπηκτικής θα μπορούσαν επίσης να χρησιμοποιηθούν ανάλογα με την χειρουργική επέμβαση. Για παράδειγμα η χειρουργική επέμβαση μεταφοράς κοιλιακού κρημονού TRAM για ανακατασκευή μαστών έχει χαμηλή συχνότητα μετεγχειρητικής θρόμβωσης (36%), ενώ από την άλλη η χρήση φλεβικών μοσχευμάτων ή η μεταφορά ενός κρημονού σε ένα ιστικό

υπόστρωμα χρόνιας φλεγμονής αποτελούν επεμβάσεις με αυξημένες πιθανότητες εμφάνισης του ίδιου συμβάματος (2,5 και 2,9 φορές αντίστοιχα). Το μέγεθος της αιμορραγίας κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης σχετίζεται επίσης με αυξημένο μετεγχειρητικό κίνδυνο θρόμβωσης, πιθανώς λόγω ενεργοποίησης των οδών πήξης [120]. Αυτή η παρατήρηση τονίζει τη μείζονα σημασία της σωστής και επαρκούς διεγχειρητικής αιμόστασης.

Η αξιολόγηση ενός συνδυασμού παραγόντων όπως η προεγχειρητική κατάσταση του ασθενούς, ο τύπος της επέμβασης και γνώση των νεότερων αντιπηκτικών παραγόντων και της αποτελεσματικότητάς τους είναι σημαντική για τη μείωση της συχνότητας εμφάνισης θρόμβωσης. Τα διαθέσιμα σήμερα δεδομένα όσον αφορά την αντιπηκτική αγωγή στην μικροχειρουργική δεν επαρκούν για την ανάπτυξη μιας ορθολογικής προσέγγισης τεκμηριωμένη επιστημονικά. Παρόλο που υπάρχουν πολυάριθμες πειραματικές μελέτες που υποστηρίζουν τη χρήση σχεδόν οποιουδήποτε αντιπηκτικού παράγοντα στην μικροχειρουργική, τα δεδομένα από κλινικές μελέτες είναι ελάχιστα. Τα δεδομένα από τον Khouiri κ.συν. υποδεικνύουν ότι η μόνη μέθοδος αντιπηκτικής αγωγής που σχετίζεται με στατιστικώς σημαντική μείωση της πιθανότητας θρόμβωσης είναι η υποδόρια χορήγηση ηπαρίνης ενώ δεν υπάρχει άλλος αντιπηκτικός παράγοντας με σαφώς θετικά αποτελέσματα [66].

Συμπερασματικά, η σωστή μικροχειρουργική τεχνική είναι ίσως ο πιο σημαντικός παράγοντας για την επίτευξη ικανοποιητικών αποτελεσμάτων και μείωσης των ποσοστών θρόμβωσης. Μέχρις ότου υπάρξουν αξιόπιστα δεδομένα από κλινικές μελέτες σε ασθενείς, η επιλογή ενός αντιπηκτικού παράγοντα έναντι κάποιου άλλου παραμένει ένα ζήτημα προσωπικής εμπειρίας και ερμηνείας των υφιστάμενων μελετών.

3. ΑΜΕΣΑ ΑΠΟ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΤΟΣ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ ΚΑΙ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ

Η φλεβική θρομβοεμβολή (ΦΘΕ), η οποία περιλαμβάνει τόσο την εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση (ΕΒΦΘ) , όσο και την πνευμονική εμβολή (ΠΕ) αποτελεί μια σοβαρή και απειλητική επιπλοκή για την ζωή των ασθενών που υπόκεινται σε μείζονες ορθοπαιδικές επεμβάσεις. Χωρίς θρομβοπροφύλαξη η επίπτωση της ΕΒΦΘ μετά από ολική αρθροπλαστική γόνατος (ΟΑΓ) και ολική αρθροπλαστική ισχίου (ΟΑΙ) είναι 5-22% και 1,8-36% αντίστοιχα, και της πνευμονικής εμβολής 1,5-10% και 0,9-28%. Το 2004 έγιναν περίπου 225.900 ΟΑΙ και 431.485 ΟΑΓ στις ΗΠΑ . Υπολογίζεται ότι το 2015 διενεργήθηκαν 600.000 ΟΑΙ και περίπου 1,4 εκατομμύρια ΟΑΓ και οι αριθμοί αυτοί αναμένεται να διπλασιαστούν για τις ΟΑΙ και να τετραπλασιαστούν για τις ΟΑΓ το 2030 [123]. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει την αναγκαιότητα για νέες, πιο αποτελεσματικές και εύχρηστες μεθόδους θρομβοπροφύλαξης.

Τα παραδοσιακά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην ορθοπαιδική περισσότερο από 20 χρόνια για την πρόληψη της ΦΘΕ περιλαμβάνουν : κλασσική ηπαρίνη, ηπαρίνη μικρού μοριακού βάρους (ΗΜΜΒ), ανταγωνιστές βιταμίνης Κ (ΑΒΚ) και ασπιρίνη. Το 2005 εγκρίθηκε ένας νέος συνθετικός παράγοντας αναστολής του παράγοντα Χα, η φονταπαρινόξη για την πρόληψη ΦΘΕ μετά από μείζονες ορθοπαιδικές επεμβάσεις. Παρά την διαδεδομένη χρήση τους όλοι αυτοί οι παράγοντες παρουσιάζουν και ορισμένα μειονεκτήματα. Για παράδειγμα οι ΑΒΚ έχουν καθυστερημένη έναρξη δράσης και στενό θεραπευτικό παράθυρο το οποίο απαιτεί συχνό εργαστηριακό έλεγχο. Οι ΗΜΜΒ χορηγούνται παρεντερικά και ως εκ

τούτου απαιτούν εκπαίδευση του ασθενούς με συνοδό αυξημένο κόστος, συνδέονται δε με την σοβαρή επιπλοκή της θρομβοπενίας (Heparine Induced Thrombocytopenia). Ακόμη περιορίζουν τις επιλογές χορήγησης αναισθησίας καθώς και το γεγονός ότι συστήνεται να χορηγούνται προεγχειρητικά απαιτεί την νοσηλεία των ασθενών από την προηγούμενη ημέρα του χειρουργείου [124,125] . Επίσης η φονταπαρινόξη δεν ενδείκνυται σε ασθενείς <50 kgf και >75 χρονών . Όλα αυτά καθιστούν τα φάρμακα αυτά σχετικά δύσχρηστα κάτι το οποίο φαίνεται από την χαμηλή συμμόρφωση των ορθοπαιδικών χειρουργών με τις δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες θρομβοπροφύλαξης.

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μια αυξανόμενη τάση χορήγησης νέων αντιπηκτικών παραγόντων. Τα νέα άμεσα από του στόματος αντιπηκτικά (ΑΣΑΠ) με διάφορους μηχανισμούς δράσης στην αναστολή του καταρράκτη της πήξης φαίνεται να παρουσιάζουν πλεονεκτήματα, με κυριότερο την οδό χορήγησής τους. Προς το παρόν βέβαια η χρήση τους γίνεται με επιφύλαξη όσον αφορά την αποτελεσματικότητα και κυρίως την ασφάλεια όταν συγκρίνονται με ασφάλεια τα κλασσικά φάρμακα θρομβοπροφύλαξης .

Οι παράγοντες που χρησιμοποιούνται ευρέως σήμερα στην ορθοπαιδική είναι η ριβαροξαμπάνη, η δαβιγατράνη και η απιξαμπάνη και τελευταία σε κάποιες χώρες όπως η Ιαπωνία ένας άλλος παράγοντας με μηχανισμό παρόμοιο με την ριβαροξαμπάνη, η εντοξαμπάνη (Πίνακας 1). Η ριβαροξαμπάνη και η απιξαμπάνη είναι άμεσοι αναστολείς του παράγοντα Χα και η δαβιγατράνη είναι άμεσος αναστολέας της θρομβίνης. Και οι τρεις παράγοντες έχουν ολοκληρώσει κλινικές δοκιμές φάσης 3. Το 2008 η ριβαροξαμπάνη και η δαβιγατράνη πήραν έγκριση από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (European Medicines Agency) για την

πρόληψη ΦΘΕ μετά από ΟΑΓ και ΟΑΙ και το 2011 η απιξαμπάνη. Στις ΗΠΑ παρόμοια έγκριση έχει πάρει η ριβαροξαμπάνη και πρόσφατα η απιξαμπάνη (2014).

Πίνακας 1. Τα αμεσα από του στόματος αντιπηκτικά

ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ	ΡΙΒΑΡΟΞΑΜΠΑΝΗ	ΔΑΒΙΓΑΤΡΑΝΗ	ΑΠΙΞΑΜΠΑΝΗ	ΕΝΤΟΞΑΜΠΑΝΗ
ΣΤΟΧΟΣ	Χα	IIa	Χα	Χα
ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ	10mg x1	220mg x1 (150 mg CrCl 30-50 ml/min)	2,5 mg x2	30 mg x1
1^Η ΔΟΣΗ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΑ	6-10 ώρες 10 mg	1-4 ώρες 110 mg (75 mg CrCl 30-50 ml/min)	12-24 ώρες 2,5 mg	6-8 ώρες 30 mg
ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ	Έως 100%	6%	66%	50%
ΧΡΟΝΟΣ ΗΜΙΣΕΙΑΣ ΖΩΗΣ	5-13 ώρες	12-17 ώρες	8-15 ώρες	9-11 ώρες
ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ	66%	80%	25%	35%
ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ	Αναστολείς, ενισχυτές CYP3A4 , P-gp	Αναστολείς, ενισχυτές P-gp	Αναστολείς, ενισχυτές CYP3A4 , P-gp	Αναστολείς, ενισχυτές CYP3A4 , P-gp

Υπάρχουν κατευθυντήριες οδηγίες από διάφορους οργανισμούς για την πρόληψη της ΦΘΕ στην ορθοπαιδική που περιλαμβάνουν τα νεότερα αυτά από του στόματος αντιπηκτικά αν και βέβαια οι οδηγίες αφορούν κυρίως αρθροπλαστικές επεμβάσεις γόνατος και ισχίου (πίνακας 2).

Τέτοιοι σημαντικοί οργανισμοί είναι το Αμερικανικό Κολλέγιο Ιατρών Θώρακος (ACCP) και η Αμερικανική Ακαδημία Ορθοπαιδικών Χειρουργών (AAOS) καθώς και το Ινστιτούτο Κλινικής Αριστείας Μ.Βρετανίας (NICE). Άλλοι οργανισμοί είναι το Διακολλεγιακό Δίκτυο Κατευθυντήριων Οδηγιών Σκωτίας (SIGN) και Εθνικό Ερευνητικό Συμβούλιο Ιατρικής και Υγείας Αυστραλίας (NHMRC). Αν και η ΑΟΟΣ σημειώνει πως δεν έχει σαφή στοιχεία για να προτείνει συγκεκριμένους αντιπηκτικούς παράγοντες έναντι άλλων, όλοι οι άλλοι οργανισμοί περιλαμβάνουν την ριβαροξαμπάνη, δαβιγατράνη και απιξαμπάνη στις κατευθυντήριες οδηγίες τους στην πρόληψη ΦΘΕ μετά από ΟΑΓ και ΟΑΙ. Βέβαια το ACCP δείχνει στην παρούσα φάση προτίμηση στις ΗΜΜΒ έναντι των από του στόματος αντιπηκτικών. Φαίνεται ότι οι παράγοντες αυτοί κερδίζουν συνεχώς έδαφος και θα απασχολήσουν όλα τα πεδία της ιατρικής και σαφώς της ορθοπαιδικής καθώς πραγματοποιούνται πολυάριθμες έρευνες και μελέτες όσον αφορά την χρήση τους και τις ενδείξεις τους.

Πίνακας 2. Κατευθυντήριες οδηγίες θρομβοπροφύλαξης

ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ	ΟΛΙΚΗ ΑΡΘΡΟΠΛΑΣΤΙΚΗ ΓΟΝΑΤΟΣ		ΟΛΙΚΗ ΑΡΘΡΟΠΛΑΣΤΙΚΗ ΙΣΧΙΟΥ	
	ΑΠΟ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΤΟΣ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ	ΔΙΑΡΚΕΙΑ	ΑΠΟ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΤΟΣ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ	ΔΙΑΡΚΕΙΑ
ACCP	Ριβαροξαμπάνη* Δαβιγατράνη * Απιξαμπάνη*	10-14 Ημέρες**	Ριβαροξαμπάνη* Δαβιγατράνη * Απιξαμπάνη*	10-14 Ημέρες**
AAOS	Αδυναμία σύστασης συγκεκριμένων αντιθρομβωτικών παραγόντων έναντι άλλων	Η διάρκεια είναι θέμα συζήτησης με τον ασθενή	Αδυναμία σύστασης συγκεκριμένων αντιθρομβωτικών παραγόντων έναντι άλλων	Η διάρκεια είναι θέμα συζήτησης με τον ασθενή
NICE	Ριβαροξαμπάνη Δαβιγατράνη	10-14 Ημέρες	Ριβαροξαμπάνη Δαβιγατράνη	28-35 Ημέρες
SIGN	Ριβαροξαμπάνη Δαβιγατράνη *	Η ιδεατή διάρκεια δεν είναι εξακριβωμένη	Ριβαροξαμπάνη Δαβιγατράνη	Η ιδεατή διάρκεια δεν είναι εξακριβωμένη
NHMRC	Ριβαροξαμπάνη Δαβιγατράνη *	Έως 14 ημέρες	Ριβαροξαμπάνη Δαβιγατράνη *	Έως 35 ημέρες

*Προτιμάται η χορήγηση HMMB

** Προτιμάται η παράταση της διάρκειας θρομβοπροφύλαξης για μείζονες επεμβάσεις έως και 35 ημέρες

3.1 Ριβαροξαμπάνη

Η ριβαροξαμπάνη είναι ένα νεότερο από του στόματος αντιπηκτικό εγκεκριμένο από το 2011 από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) και το Εθνικό Σύστημα Υγείας Καναδά για την πρόληψη ΦΘΕ μετά από ολική ΟΑΓ και ΟΑΙ σε δοσολογία 10 mg ημερησίως 6-10 ώρες μετά το χειρουργείο αφού έχει επιτευχθεί επιμελής αιμόσταση. Είναι ένας άμεσος αναστολέας του παράγοντα Χα στον καταρράκτη της πήξης.

Η ριβαροξαμπάνη δρα με την βοήθεια της πρωτεΐνης μεταφοράς P-gp και μεταβολίζεται στο ήπαρ μέσω οξειδωτικών και υδρολυτικών μηχανισμών οι οποίοι καταλύονται από το κυτόχρωμα P450 CYP3A4/5 ΚΑΙ 2J2. Περίπου το 66% αποβάλλεται από το νεφρικό σύστημα (από το οποίο το 36% αποβάλλεται ως αμετάβλητο προϊόν) και το υπόλοιπο με τα κόπρανα ως αμετάβλητο προϊόν [126] . Η ριβαροξαμπάνη φτάνει τα μέγιστα επίπεδα συγκέντρωσης στο αίμα και παρουσιάζει την μέγιστη δράση αναστολής του παράγοντα Χα (20-80%) 2-3 ώρες μετά την χορήγησή της και έχει χρόνο ημίσειας ζωής 5-13 ώρες με ανιχνεύσιμη αναστολή της θρομβίνης στις 24 ώρες σε δόσεις άνω των 5 mg [126-128]. Η ριβαροξαμπάνη προκαλεί παράταση του χρόνου προθρομβίνης (PT), του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) αλλά δεν έχει καμία δράση στον χρόνο θρομβίνης και αντιθρομβίνης. Η ριβαροξαμπάνη δεν χρειάζεται ρύθμιση της δοσολογίας ανάλογα με το βάρος του ασθενή. Σε ασθενείς άνω των 120kg δεν βρέθηκε διαφορά στα μέγιστα επίπεδα συγκέντρωσης στο αίμα, αν και σε ασθενείς κάτω των 50 kg το μέγιστο επίπεδο συγκέντρωσης ήταν κατά 24% αυξημένο. Όσον αφορά την χορήγηση της σε ασθενείς με διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας, η ριβαροξαμπάνη αντενδείκνυται σε ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης < 30 ml/min , ενώ αντενδείκνυται και σε ασθενείς με μέτρια ή σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια διότι

αυξάνονται τα επίπεδα συγκέντρωσης της στο αίμα και οδηγεί σε μεγαλύτερη παράταση του χρόνου προθρομβίνης (PT). Γενικά η ριβαροξαμπάνη δεν παρουσιάζει αλληλεπιδράσεις με άλλα συχνά χρησιμοποιούμενα φάρμακα. Δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση στην συγχορήγηση με ασπιρίνη, ναπροξένη, διγοξίνη, ατορβαστατίνη, H2 ανταγωνιστές και αντιόξινα φάρμακα. Φάρμακα τα οποία αναστέλλουν το κυτόχρωμα CYP3A4 και την πρωτεΐνη μεταφοράς P-gr μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένα επίπεδα ριβαροξαμπάνης στο πλάσμα και έτσι να αυξήσουν τον κίνδυνο αιμορραγίας. Τέτοια φάρμακα είναι τα αντιμυκητιασικά όπως η κετοκοναζόλη και οι αναστολείς της πρωτεάσης HIV. Φάρμακα που ενισχύουν την δράση του κυτοχρώματος CYP3A4 και της πρωτεΐνης μεταφοράς P-gr έχουν αντίθετα αποτελέσματα στην δράση της ριβαροξαμπάνης.

Στην ορθοπαιδική έχουν πραγματοποιηθεί 4 μεγάλες τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες φάσης 3 (RECORD-Regulation of Coagulation in Orthopaedic Surgery to Prevent DVT and PE) και πρόσφατα μια μεγάλη μελέτη φάσης 4 (XAMOS) όσον αφορά την αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της ριβαροξαμπάνης έναντι της ενοξαπαρίνης στην πρόληψη ΦΘΕ [129-132]. Οι δύο μελέτες φάσης 3 (RECORD 1,2) αφορούν ασθενείς μετά από ΟΑΙ και άλλες δυο (RECORD 3,4) ασθενείς μετά από ΟΑΓ. Στην μελέτη RECORD 1 διαχωρίστηκαν τυχαιοποιημένα 4541 ασθενείς που έλαβαν 10 mg ημερησίως ριβαροξαμπάνη ή 40 mg ημερησίως ενοξαπαρίνη για 31-39 ημέρες μετά από ΟΑΙ. Στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν ριβαροξαμπάνη η επίπτωση της ΦΘΕ ήταν 1,1 % ενώ σε αυτήν που έλαβαν ενοξαπαρίνη 3,7%. Μείζον αιμορραγικό επεισόδιο (όπως ορίστηκε η θανατηφόρος αιμορραγία, αιμορραγία σε ζωτικό όργανο, αιμορραγία που οδήγησε σε επανεπέμβαση, αιμορραγία εκτός τραύματος που οδήγησε σε πτώση αιμοσφαιρίνης κατά 2 gr/dl ή που χρειάστηκε μετάγγιση 2 μονάδων αίματος) παρουσιάστηκε στην

ομάδα της ριβαροξαμπάνης σε ποσοστό 0,3% και στην ομάδα της ενοξαπαρίνης σε ποσοστό 0,1% ενώ συνολικά επεισόδια μείζονος και κλινικά σχετιζόμενης αιμορραγίας (εκτεταμένο αιμάτωμα τραύματος, αιμορραγία τραύματος) σε ποσοστά 3,2% και 2,2%. Στην μελέτη RECORD 2 διαχωρίστηκαν τυχαιοποιημένα 2509 ασθενείς που έλαβαν 10 mg ημερησίως ριβαροξαμπάνη για 31-39 ημέρες ή 40 mg ημερησίως ενοξαπαρίνη για 10-14 ημέρες μετά από ΟΑΙ. Η επίπτωση της ΦΘΕ στους ασθενείς που έλαβαν ριβαροξαμπάνη ήταν 2% και σε αυτούς που έλαβαν ενοξαπαρίνη 9,3%. Συνολικά επεισόδια αιμορραγίας παρουσιάστηκαν σε 81 ασθενείς (6,6%) που έλαβαν ριβαροξαμπάνη και σε 68 ασθενείς (5,5%) της άλλης ομάδας. Στην μελέτη RECORD 3 συμμετείχαν 2.531 ασθενείς μετά από ΟΑΓ οι οποίοι για 10-14 ημέρες μετεγχειρητικά έλαβαν 10mg ριβαροξαμπάνη ή 40mg ενοξαπαρίνη. Στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν ριβαροξαμπάνη, ΦΘΕ εμφανίστηκε σε ποσοστό 9,6% ενώ αντίστοιχα σε ποσοστό 18,9% στην ομάδα που έλαβε ενοξαπαρίνη. Μείζον αιμορραγικό επεισόδιο παρουσιάστηκε σε ποσοστά 0,6% και 0,5% για την ριβαροξαμπάνη και ενοξαπαρίνη αντίστοιχα ενώ συνολικά επεισόδια μείζονος και κλινικά σχετιζόμενης αιμορραγίας σε ποσοστά 3,3% και 2,7% αντίστοιχα. Τέλος στην μελέτη RECORD 4 η οποία σύγκρινε την αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της ριβαροξαμπάνης σε δόση 10 mg ημερησίως με την ενοξαπαρίνη σε δόση 30 mg δυο φορές ημερησίως για 10-14 μετεγχειρητικά σε 3.148 ασθενείς μετά από ΟΑΓ, ΦΘΕ παρουσιάστηκε στην ομάδα της ριβαροξαμπάνης σε ποσοστό 6,9% και στην ομάδα της ενοξαπαρίνης σε ποσοστό 10,1%. Όσον αφορά την μετεγχειρητική αιμορραγία, μείζον αιμορραγία εμφανίστηκε στο 0,7% των ασθενών που έλαβαν ριβαροξαμπάνη και στο 0,3% των ασθενών που έλαβαν ενοξαπαρίνη. Και στις 4 αυτές κλινικές μελέτες το συνολικό ποσοστό μείζονος και κλινικά σχετιζόμενης αιμορραγίας μετά από χορήγηση

ριβαροξαμπάνης ήταν ελάχιστα αυξημένο σε σχέση με αυτό της ενοξαπαρίνης, χωρίς να είναι στατιστικώς σημαντική αυτή η διαφορά [127]. Έτσι, και οι 4 μελέτες έδειξαν υπεροχή της ριβαροξαμπάνης έναντι της ενοξαπαρίνης στην πρόληψη ΦΘΕ μετά από ΟΑΙ και ΟΑΓ, με παρόμοια ποσοστά μετεγχειρητικής αιμορραγίας. Βέβαια, υπάρχουν μελέτες ανάλυσης αυτών των αποτελεσμάτων που έδειξαν ότι η μεγαλύτερη αυτή αποτελεσματικότητα της ριβαροξαμπάνης στην πρόληψη ΦΘΕ (συμπεριλαμβανομένων και των θανάτων) οφείλεται στην πρόληψη αποκλειστικά της εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης (ΕΒΦΘ), ενώ όσον αφορά τα ποσοστά πνευμονικής εμβολής (ΠΕ) και μετεγχειρητικών θανάτων στις ομάδες της ενοξαπαρίνης και ριβαροξαμπάνης, αυτά είναι ίδια [133]. Πρόσφατα δημοσιεύτηκε η πρώτη κλινική μελέτη φάσης 4 (XAMOS) όσον αφορά την αποτελεσματικότητα (όπως ορίστηκε η πρόληψη συμπτωματικών αρτηριακών και φλεβικών θρομβοεμβολικών επεισοδίων) και την ασφάλεια (όπως ορίστηκε η αποφυγή μείζονος και ελάσσονος αιμορραγίας) μετά από ΟΑΓ και ΟΑΙ [134]. Έλαβαν μέρος 17.413 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ΟΑΓ και ΟΑΙ και έλαβαν ριβαροξαμπάνη ή άλλες αγωγές θρομβοπροφύλαξης (ηπαρίνη μικρού μοριακού βάρους, φονταπαρινόξη, δαβιγατράνη, ακετυλοσαλικυλικό οξύ, ανταγωνιστή βιταμίνης Κ). Στην ομάδα των ασθενών με ριβαροξαμπάνη το ποσοστό θρομβοεμβολικών επεισοδίων ήταν 0,65%, ενώ στην ομάδα με τις λοιπές αγωγές ήταν 1,02%. Επεισόδιο μείζονος αιμορραγίας εμφανίστηκε μετά από χορήγηση ριβαροξαμπάνης στο 0,4% των ασθενών, ενώ μετά από χορήγηση των άλλων φαρμάκων θρομβοπροφύλαξης στο 0,3%. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης συμφωνούν με αυτά των κλινικών μελετών φάσης III (RECORD 1,2,3,4)

Ο Rath κ.συν. σύγκρινε δυο ομάδες ασθενών μετά από ΟΑΓ όπου η μια ομάδα 266 ασθενών έλαβαν 10 mg ημερησίως ριβαροξαμπάνη για 14 ημέρες και η

άλλη 596 ασθενών 150 mg ασπιρίνης ή 40 mg ενοξαπαρίνης για 6 εβδομάδες. Κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η ριβαροξαμπάνη ήταν πιο αποτελεσματική στην πρόληψη ΦΘΕ αλλά είχε περισσότερες επιπλοκές όσον αφορά το μετεγχειρητικό τραύμα οι οποίες όπως ανέφερε ήταν αιτίες επιστροφής στην χειρουργική αίθουσα [135]. Σε μια άλλη μελέτη, σε 113 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ελάχιστα επεμβατική ολική αρθροπλαστική γόνατος η ριβαροξαμπάνη φάνηκε το ίδιο αποτελεσματική στην πρόληψη χωρίς αυξημένες επιπλοκές όσον αφορά περιεγχειρητική αιμορραγία και επιπλοκές σχετιζόμενες με το τραύμα, σε σχέση με την ενοξαπαρίνη [136]. Μια μετανάλυση 8 τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων κλινικών μελετών που σύγκριναν την αποτελεσματικότητα της ριβαροξαμπάνης έναντι της ενοξαπαρίνης σε ασθενείς μετά από ΟΑΓ και ΟΑΙ, φάνηκε ότι η ριβαροξαμπάνη είχε ως αποτέλεσμα την μείωση των περιστατικών ΠΕ και θανάτου από οποιαδήποτε αιτία, με παρόμοια ποσοστά αιμορραγίας σε σχέση με την ενοξαπαρίνη [126,137]. Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα των δημοσιευμένων μελετών όσον αφορά την αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της ριβαροξαμπάνης, τα αποτελέσματα είναι αμφιλεγόμενα. Υπάρχουν αρκετές εργασίες που συμφωνούν με την ανωτερότητα της ριβαροξαμπάνης έναντι της ενοξαπαρίνης και που θεωρούν ότι η στάθμιση του οφέλους της ριβαροξαμπάνης σε σχέση με τους κινδύνους που προκύπτουν τείνει υπέρ της χορήγησης της [138,139]. Η αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα της ριβαροξαμπάνης στην πρόληψη της ΦΘΕ και ιδιαίτερα της ΕΦΒΘ καθιστούν το φάρμακο αυτό μια πλέον ευρέως αποδεκτή επιλογή θρομβοπροφύλαξης παρά τα ελαφρώς αυξημένα ποσοστά αιμορραγίας που παρατηρήθηκαν στην διεθνή βιβλιογραφία.

3.2 Δαβιγατράνη

Η δαβιγατράνη ασκεί την αντιπηκτική της δράση με έναν διαφορετικό μηχανισμό σε σχέση με την ριβαροξαμπάνη. Είναι ένας άμεσος αναστολέας της θρομβίνης και έτσι εμποδίζει τον σχηματισμό της ινικής από το ινωδογόνο καθώς και την συσσώρευση αιμοπεταλίων. Η δαβιγατράνη έχει πάρει έγκριση για την προφύλαξη ΦΘΕ μετά από ΟΑΓ και ΟΑΙ στην Ευρώπη σε δοσολογία 220mg (την ημέρα του χειρουργείου 110mg , 1-4 ώρες μετεγχειρητικά, ενώ σε ασθενείς με μέτρια νεφρική ανεπάρκεια σε δοσολογία 150mg και 75mg αντίστοιχα).

Η δαβιγατράνη χορηγείται ως προφάρμακο, την ετεξιλική δαβιγατράνη η οποία απορροφάται και μεταβολίζεται στην ενεργό μορφή της δαβιγατράνης. Στον οργανισμό επιτυγχάνονται μέγιστα επίπεδα συγκέντρωσης στο αίμα 2 ώρες μετά την χορήγηση της και έχει χρόνο ημίσειας ζωής 12-17 ώρες. Βέβαια έχει φανεί σε ασθενείς μετά από ΟΑΙ η μέγιστη δράση επιτυγχάνεται λίγο αργότερα, περίπου 6 ώρες μετά [140]. Η απέκκριση του φαρμάκου γίνεται κατά 80% από τους νεφρούς. Στην απορρόφηση της δαβιγατράνης συμμετέχει η πρωτεΐνη μεταφοράς P-gp ενώ υφίσταται ηπατική γλυκουρονιδίαση και στον μεταβολισμό της δεν συμμετέχουν ένζυμα κυτοχρώματος P450. Η δαβιγατράνη παρατείνει τον χρόνο aPTT όχι όμως αναλογικά με την συγκέντρωσή της καθώς και τον χρόνο PT χωρίς να υπάρχει σταθερός ρυθμός παράτασης του σε σχέση με την συγκέντρωση της, ενώ παρατείνει το INR δοσοεξαρτώμενα αναλογικά. Ο πιο ακριβής τρόπος μέτρησης της συγκέντρωσής της είναι η δοκιμασία αναστολής θρομβίνης (Hemoclot test). Σε ασθενείς με μετρίου βαθμού νεφρική ανεπάρκεια (< 30ml/min κάθαρση κρεατινίνης < 50 ml/min) ο χρόνος ημίσειας ζωής παρατείνεται σε 27-28 ώρες και συστήνεται μείωση της δόσης σε 150mg /ημέρα ενώ σε σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια (κάθαρση κρεατινίνης < 30 ml/min) αντενδείκνυται η χορήγησή της. Δεν φαίνεται να

επιηρεάζεται η δράση της σε ασθενείς με ηπατική ανεπάρκεια. Η δαβιγατράνη παρουσιάζει αλληλεπιδράσεις με φάρμακα που αναστέλλουν την γλυκοπρωτεΐνη P-gp η οποία συμμετέχει στην μεταφορά του προφαρμάκου, της ετεξλικής νταμπιγκαντράνης. Τέτοια φάρμακα είναι η κετοκοναζόλη, η κινιδίνη, η βεραπαμίλη και η αμιαδαρόνη. Έτσι η συγχορήγηση με αυτά τα φάρμακα αυξάνει την συγκέντρωση της δαβιγατράνης στο αίμα. Αντίθετα, φάρμακα όπως η ριφαμπικίνη και η φαινυτοΐνη έχουν ανάστροφα αποτελέσματα [140].

Στην ορθοπαιδική έχουν γίνει 4 τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες διπλές τυφλές μελέτες για την χρήση της μετά από επεμβάσεις ΟΑΓ και ΟΑΙ (RENOVATE, RENOVATE 2, REMODEL, REMOBILIZE) και αρκετές μεταanalύσεις αυτών των μελετών [141-144]. Στην μελέτη REMODEL έλαβαν μέρος 2076 ασθενείς μετά από ΟΑΓ που χωρίστηκαν σε 3 ομάδες που έλαβαν 220 mg δαβιγατράνης ημερησίως, 150 mg δαβιγατράνης ημερησίως και 40 mg ενοξαπαρίνης ημερησίως για 6-10 ημέρες. Η μελέτη έδειξε ότι η δαβιγατράνη ήταν τουλάχιστον το ίδιο αποτελεσματική (το ποσοστό εμφάνισης ΦΘΕ στην ομάδα της δαβιγατράνης 150mg ήταν λίγο υψηλότερο από τις άλλες δυο ομάδες) στην πρόληψη ΦΘΕ με παρόμοια ποσοστά ασφάλειας όσον αφορά την μετεγχειρητική αιμορραγία. Στην μελέτη REMOBILIZE έλαβαν μέρος 3016 ασθενείς μετά από ΟΑΓ και χωρίστηκαν επίσης σε 3 ομάδες που έλαβαν 150 mg ή 220 mg δαβιγατράνης ημερησίως ή 30 mg ενοξαπαρίνης δύο φορές ημερησίως(ΔΦΗ) για 12 ημέρες. Τα αποτελέσματα όσον αφορά την πρόληψη εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης (ΕΒΦΘ) έδειξαν ότι η δαβιγατράνη ήταν λιγότερο αποτελεσματική από την ενοξαπαρίνη με στατιστικώς μη σημαντικά αυξημένα ποσοστά αιμορραγίας για την ενοξαπαρίνη. Όσον αφορά ασθενείς μετά από ΟΑΙ πραγματοποιήθηκε η μελέτη RENOVATE σε 3494 ασθενείς, όπου 3 ομάδες ασθενών έλαβαν 220 mg δαβιγατράνης, 150mg δαβιγατράνης και 40

mg ενοξαπαρίνης ημερησίως για 28-35 ημέρες. Η μελέτη έδειξε ότι τα αποτελέσματα της δαβιγατράνης όσον αφορά την πρόληψη ΦΘΕ δεν ήταν κατώτερα από αυτά της ενοξαπαρίνης, ενώ όσον αφορά μείζονα αιμορραγία τα αποτελέσματα μεταξύ των ομάδων δεν είχαν διαφορά, όμως για επεισόδια κλινικά σχετιζόμενης αιμορραγίας οι ομάδες της δαβιγατράνης παρουσίαζαν στατιστικώς μη σημαντικά αυξημένα ποσοστά. Τέλος στην μελέτη RENOVATE 2 , συμμετείχαν 2035 ασθενείς μετά από ΟΑΙ που έλαβαν 220 mg δαβιγατράνης ημερησίως ή 40mg ενοξαπαρίνης ημερησίως για 28-35 ημέρες. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η δαβιγατράνη ήταν ανώτερη από την ενοξαπαρίνη όσον αφορά την πρόληψη της ΦΘΕ με παρόμοια ποσοστά μετεγχειρητικής αιμορραγίας. Συμπερασματικά φαίνεται ότι η δαβιγατράνη σε σύγκριση με την ενοξαπαρίνη σε δοσολογία 40 mg ημερησίως έχει ίδια αποτελεσματικότητα στην πρόληψη ΦΘΕ αλλά όχι σε σύγκριση με δοσολογία ενοξαπαρίνης 30mg ΔΦΗ (δόση χορήγησης στην Βόρεια Αμερική), και με τα ίδια ποσοστά ασφάλειας όσον αφορά μετεγχειρητικά συμβάματα αιμορραγίας.

Ο Wolowatz κ.συν. σε μία μετανάλυση των μελετών REMODEL, REMOBILIZE και RENOVATE υποστήριξε τα μεμονωμένα αποτελέσματα των μελετών, αν και σημείωσε ότι η ετερογένεια των μελετών αυτών θα μπορούσε να θέσει σε αμφισβήτηση την ασφαλή διεξαγωγή συμπερασμάτων για την αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της δαβιγατράνης [145]. Σε άλλες αναλύσεις φάνηκε ότι σε ασθενείς με Δείκτη Μάζας Σώματος(ΔΜΣ) $<25 \text{ kg}/\text{m}^2$ η δαβιγατράνη είναι αποτελεσματικότερη από την ενοξαπαρίνη και σε ασθενείς με ΔΜΣ $> 25 \text{ kg}/\text{m}^2$ έχουν τα ίδια αποτελέσματα, ενώ και ότι η δαβιγατράνη σε δοσολογία 150mg ήταν το ίδιο αποτελεσματική με την ενοξαπαρίνη σε ασθενείς > 75 ετών και με μέτρια νεφρική ανεπάρκεια [146,147] .Σε εργασία του ο Friedman κ. συν. συγκρίνοντας την δαβιγατράνη σε δοσολογία 150mg και 220 mg με την ενοξαπαρίνη

σε δοσολογία 40mg ημερησίως ή 30mg ΔΦΗ με βάση τα αποτελέσματα των μελετών REMOBILIZE, REMODEL και RENOVATE επίσης έδειξαν ότι τα ποσοστά ΦΘΕ και θνησιμότητας σχετιζόμενης με ΦΘΕ ήταν παρόμοια για την και δαβιγατράνη την ενοξαπαρίνη με παρόμοιο προφίλ ασφάλειας όσον αφορά μετεγχειρητική αιμορραγία (σε δοσολογία 150 mg η δαβιγατράνη ήταν στατιστικώς μη σημαντικά λιγότερο αποτελεσματική στην πρόληψη ΦΘΕ, όμως με μικρότερα ποσοστά εμφάνισης μείζονος αιμορραγίας) [148]. Ο Kendoff κ.συν. το 2011 μελέτησε την χρήση της δαβιγατράνης μετά από ΟΑΙ σε 4 κλινικές στην Γερμανία σε πάνω από 7200 ασθενείς. Στις 3 κλινικές η δαβιγατράνη είχε παρόμοια αποτελεσματικότητα και ασφάλεια με την ενοξαπαρίνη, ενώ στην άλλη η δαβιγατράνη συνδέθηκε με περιστατικά αιμορραγίας από το γαστρεντερικό σύστημα, αν και αυτή η σχέση αμφισβητήθηκε [149]. Σε μια πρόσφατη μελέτη ο Bloch κ.συν μελέτησε και σύγκρινε ασθενείς που έλαβαν δαβιγατράνη μετά από ΟΑΓ και ΟΑΙ (221 ασθενείς) με ασθενείς που έλαβαν Ηπαρίνη Μικρού Μοριακού Βάρους (HMMB) και ασπιρίνη μετέπειτα. Βρέθηκε ότι το ποσοστό ΦΘΕ ήταν υψηλότερο στην ομάδα της δαβιγατράνης. Επίσης η δαβιγατράνη συνδέθηκε με αυξημένο ποσοστό περιστατικών εκροής από το τραύμα (όπως ορίστηκε το τραύμα που απαιτεί πάνω από 2 αλλαγές την ημέρα), γεγονός που παρέτεινε και την νοσηλεία των ασθενών [150]. Φαίνεται από την υπάρχουσα βιβλιογραφία ότι υπάρχει αρκετή συζήτηση για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της δαβιγατράνης. Αρκετές μελέτες συμφωνούν για ανάλογη αποτελεσματικότητα με αυτήν της ενοξαπαρίνης και παρόμοια ασφάλεια όσον αφορά επεισόδια μείζονος αιμορραγίας, αν και κάποιες συνδέουν την δαβιγατράνη με μετεγχειρητικές επιπλοκές όπως η εκροή και η αιμορραγική διάθεση του τραύματος.

3.3 Απιξαμπάνη

Η απιξαμπάνη είναι ένας άλλος αντιπηκτικός παράγοντας με παρόμοιο μηχανισμό δράσης με την ριβαροξαμπάνη, δηλαδή είναι ένας απευθείας αναστολέας του παράγοντα Χα. Έχει εγκριθεί από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) και πρόσφατα, το 2014 από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) για την προφύλαξη ΦΘΕ μετά ΟΑΓ και ΟΑΙ σε δοσολογία 2,5 mg ανά 12ωρο , 12-24 ώρες μετεγχειρητικά.

Αν και θα ήταν αναμενόμενο οι φαρμακοκινητικές ιδιότητες του φαρμάκου να είναι παρόμοιες με αυτές της ριβαροξαμπάνης, αυτό δεν ισχύει πλήρως [151]. Η βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου μετά την από του στόματος χορήγηση του είναι 66% και δεν επηρεάζεται από την λήψη τροφής. Μέγιστα επίπεδα συγκέντρωσης στον αίμα επιτυγχάνονται 1-3 ώρες μετά την χορήγηση με χρόνο ημίσειας ζωής 8-15 ώρες. Μόνο το 25% του φαρμάκου αποβάλλεται από του νεφρούς. Παρόλαυτα η χορήγηση του φαρμάκου σε ασθενείς με σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια (κάθαρση κρεατινίνης 15-30 ml/min) πρέπει να γίνεται με προσοχή, ενώ σε ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης <15 ml/min η χρήση της αντενδείκνυται. Επίσης η χρήση της αντενδείκνυται σε ασθενείς σε ασθενείς με σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια [152]. Δεν χρειάζεται ακόμη προσαρμογή της δόσης σε παχύσαρκους ή λιποβαρείς ασθενείς. Ο μεταβολισμός του φαρμάκου γίνεται μέσω του κυτοχρώματος CYP3A4 και της πρωτεΐνης P-gr , επομένως φάρμακα που επηρεάζουν τους μηχανισμούς δράσης τους έχουν επίπτωση στην δράση της απιξαμπάνης. Έτσι αντενδείκνυται η συγχορήγησή της με φάρμακα όπως είναι τα αντιμυκητιασικά που αναστέλλουν την δράση του κυτοχρώματος CYP3A4 και της πρωτεΐνης P-gr ενώ η συγχορήγηση με φάρμακα που ενισχύουν την δράση τους πρέπει να γίνεται με προσοχή. Τέτοια φάρμακα είναι η καρβαμαζεπίνη, η ριφαμπικίνη, η φαινυτοΐνη και η φαινοβαρβιτόλη.

Όσον αφορά την χρήση της απιξαμπάνης στην πρόληψη της ΦΘΕ μετά από ΟΑΓ και ΟΑΙ έχουν γίνει τρεις μεγάλες τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες κλινικές μελέτες φάσης III (ADVANCE 1, ADVANCE 2, ADVANCE 3) καθώς και πολλές μεταanalύσεις και ανασκοπικές εργασίες [153-155]. Στην μελέτη ADVANCE 1, 1596 ασθενείς έλαβαν απιξαμπάνη 2,5mg δύο φορές ημερησίως(ΔΦΗ) για διάστημα 10-14 ημερών μετά από ΟΑΓ και 1588 έλαβαν ενοξαπαρίνη 30mg ΔΦΗ για το ίδιο διάστημα. Το ποσοστό εμφάνισης εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης (ΕΒΦΘ) , πνευμονικής εμβολής (ΠΕ) και θανάτου στην ομάδα της απιξαμπάνης ήταν 9%, συγκρινόμενο με 8,8% της ενοξαπαρίνης. Μετεγχειρητική αιμορραγία (αθροιστικά επεισόδια μείζονος αιμορραγίας και κλινικά σχετιζόμενης αιμορραγίας) εμφανίστηκε στο 0,79% με την απιξαμπάνη ενώ 1,49% με την ενοξαπαρίνη. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν την παρόμοια αποτελεσματικότητα της απιξαμπάνης σε σύγκριση με την ενοξαπαρίνη σε δοσολογία 30mg ΔΦΗ, με μικρότερο ποσοστά αιμορραγίας. Παρόλαυτα η απιξαμπάνη δεν πέτυχε τα προκαθορισμένα για την μελέτη στατιστικά κριτήρια για να αναδειχθεί η μη-κατωτερότητα της σε σχέση με την ενοξαπαρίνη στην πρόληψη ΦΘΕ. Η μελέτη ADVANCE 2 , σε ασθενείς μετά από ΟΑΓ διαφοροποιείται σε σχέση με τη AVANCE 1 ως προς την δοσολογία της ενοξαπαρίνης, που χορηγήθηκε σε δοσολογία 40mg ημερησίως. Εδώ τα ποσοστά ΦΘΕ και θανάτου στις δυο ομάδες ήταν 15% για την απιξαμπάνη και 24% για την ενοξαπαρίνη, ενώ τα ποσοστά αιμορραγικών επεισοδίων 4% για την απιξαμπάνη και 5% για την ενοξαπαρίνη. Έτσι οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η απιξαμπάνη ήταν πιο αποτελεσματική στην πρόληψη ΦΘΕ αλλά και με μικρότερα ποσοστά αιμορραγίας σε σχέση με την ενοξαπαρίνη σε δοσολογία 40 mg ημερησίως. Τέλος η μελέτη ADVANCE 3 μελέτησε την αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της απιξαμπάνης (δοσολογία 2,5 mg ΔΦΗ) σε 1949 ασθενείς σε σχέση με την

ενοξαπαρίνη (δοσολογία 40 mg ημερησίως) σε 1917 ασθενείς μετά από ΟΑΙ για 35 ημέρες. Θνητότητα και ΕΒΦΘ εμφανίστηκε σε ποσοστό 1,4% στους ασθενείς που έλαβαν απιξαμπάνη, ενώ σε αυτούς που έλαβαν ενοξαπαρίνη σε ποσοστό 3,9%. Συνολικά επεισόδια αιμορραγίας μετεγχειρητικά παρουσιάστηκαν αντίστοιχα στο 4,8 % των ασθενών που έλαβαν απιξαμπάνη και 5% σε αυτούς που έλαβαν ενοξαπαρίνη. Τα αποτελέσματα αυτά κατέδειξαν την αποτελεσματικότερη δράση της απιξαμπάνης σε σχέση με της ενοξαπαρίνης στην πρόληψη ΦΘΕ, χωρίς επιπλέον κίνδυνο μετεγχειρητικής αιμορραγίας. Οι μελέτες ADVANCE 1, 2 λαμβάνοντας υπόψη τον μεγάλο αριθμό ασθενών των μελετών, έδειξαν την αποτελεσματική και ασφαλή χρήση της απιξαμπάνης σε ασθενείς μετά από ΟΑΓ στην πρόληψη της ΦΘΕ, όπως επίσης και το ίδιο αποτέλεσμα έδειξε και η μελέτη ADVANCE 3 σε ασθενείς μετά από ΟΑΙ. Βέβαια ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι ενώ η ευρωπαϊκή δοσολογία χορήγησης της ενοξαπαρίνης (40 mg ημερησίως) ήταν λιγότερο αποτελεσματική από την απιξαμπάνη, δεν ισχύει το ίδιο για την δοσολογία που χορηγείται η απιξαμπάνη στην Βόρεια Αμερική (30 mg ΔΦΗ) όπως φάνηκε από την μελέτη ADVANCE 1 όπου τα δυο φάρμακα είχαν παρόμοια αποτελεσματικότητα.

Ο Villa κ.συν. σε μια μετανάλυση υποστήριξε ότι τα αποτελέσματα των κλινικών δοκιμών δεν αποδεικνύουν σαφή ανωτερότητα της απιξαμπάνης σε σχέση με την ενοξαπαρίνη, ενώ παράλληλα φάνηκε μια τάση εμφάνισης περισσότερων ΠΕ και θανάτων στους ασθενείς που λάμβαναν απιξαμπάνη [156]. Το ίδιο παρατηρήθηκε και σε άλλες μεταanalύσεις που έδειξαν ότι η απιξαμπάνη παρουσιάστηκε πιο αποτελεσματική μόνο για την πρόληψη της ΕΒΦΘ και όχι της ΠΕ [133,153,157]. Συμπερασματικά, η απιξαμπάνη φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματική και ασφαλής στην πρόληψη ΦΘΕ μετά από ΟΑΓ και ΟΑΙ, σε σχέση με την ενοξαπαρίνη,

τουλάχιστον όσον αφορά τον Ευρωπαϊκό τρόπο χορήγησης της ενοξαπαρίνης και πιο ασφαλής όσον αφορά την μετεγχειρητική αιμορραγία [158,159].

4.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΘΡΟΜΒΟΥ ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ

Ο αριθμός των μελετών που χρησιμοποιούν μοντέλα θρόμβωσης σε επίμυες έχει αυξηθεί σημαντικά κατά την τελευταία δεκαπενταετία. Μια αναζήτηση στη PUBMED με τον όρο "θρόμβωση επίμυων" επιφέρει 30 δημοσιεύσεις έως το 2000, με τον αριθμό αυτόν να αυξάνεται σε πάνω από 180 έως το 2018. Οι λόγοι για τους οποίους θέλουμε να μοντελοποιήσουμε τη θρόμβωση σε επίμυες είναι διότι : (1) οι επίμυες έχουν μικρό μέγεθος και χαμηλό κόστος αναπαραγωγής(2) λόγω του μικρού μεγέθους τους χρειάζονται λιγότερο χώρο για πειράματα (3) το γονιδίωμα τους μπορεί να τροποποιηθεί για να παραχθούν πειραματόζωα που έχουν έλλειψη ορισμένων γονιδιακών προϊόντων ("knock-out επίμυες") ή έχουν άλλα επιπρόσθετα γονιδιακά προϊόντα ("διαγονιδιακοί επίμυες").

Το πλεονέκτημα των in-vivo μοντέλων είναι ότι επιτρέπουν στους ερευνητές να μελετήσουν τη λειτουργία του μηχανισμού πήξης και των επιμέρους διεργασιών του ώστε τα αποτελέσματα των πειραματικών μελετών να έχουν μεγαλύτερη κλινική σημασία. Τα μοντέλα θρόμβωσης αποδείχθηκαν πολύ χρήσιμα και προσέφεραν σημαντικά στην κατανόηση των μηχανισμών που σχετίζονται με τη φυσιολογική διαδικασία της αιμόστασης και των διεργασιών που επισυμβαίνουν κατά την διάρκεια του σχηματισμού θρόμβων, όπως επίσης και των in vivo επιδράσεων των αντιπηκτικών ουσιών.

Υπάρχουν πολλές επιλογές στους επίμυες σχετικά με το που και πως μπορεί να προκληθεί θρόμβωση. Έχουν αναπτυχθεί μοντέλα θρόμβωσης σε μεγαλύτερα και μικρότερα αγγεία τόσο του αρτηριακού και του φλεβικού δικτύου [167]. Η καρωτιδική αρτηρία και η σφαγίτιδα φλέβα είναι τα δύο πιο συχνά χρησιμοποιούμενα μεγαλύτερα αγγεία, ενώ τα μεσεντέρια και τα κρεμαστήρια αγγεία είναι τα πιο δημοφιλή μικροαγγειακά μοντέλα. Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες

μέθοδοι πρόκλησης βλάβης των αγγείων (συμπεριλαμβανομένου μηχανικού τραύματος, μέσω ηλεκτρικού ρεύματος, μέσω φωτοχημικής επαγόμενης οξειδωσης, χημικού τραύματος και μέσω λέιζερ), ενώ μέθοδοι ανίχνευσης της θρόμβωσης περιλαμβάνουν επισκόπηση μέσω μικροσκοπίου, μέτρηση της πτώσης θερμοκρασίας λόγω σχηματισμού θρόμβου, ανίχνευση ροής μέσω υπερήχων Doppler και ανίχνευση ροής μέσω λέιζερ Doppler.

4.1 Αρτηριακά μοντέλα

Η καρωτιδική αρτηρία είναι ένα από τα πλέον χρησιμοποιούμενα αγγεία σε μελέτες θρόμβωσης σε επίμυες. Στην πλειοψηφία των μελετών η βλάβη των αγγείων που απαιτείται για την πρόκληση θρόμβωσης επιτυγχάνεται είτε χημικά με χορήγηση χλωριούχο σιδήρου είτε φωτοχημικά με βλάβη οξειδωσης. Άλλες μέθοδοι βλάβης των αγγείων περιλαμβάνουν την αγγειακή απολίνωση, την ενδοαυλική μηχανική βλάβη, καθώς και την ηλεκτρική βλάβη [168-78]. Η πιο συνηθισμένη μέθοδος εκτίμησης σχηματισμού θρόμβου είναι ο υπέρηχος Doppler αν και έχουν αναφερθεί και άλλες μέθοδοι όπως αυτή μέσω ανίχνευσης της πτώσης της θερμοκρασίας. Η μηριαία αρτηρία έχει επίσης χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο θρόμβωσης μεγάλων αγγείων. Οι μέθοδοι τραυματισμού του αγγείου αυτού περιλαμβάνουν επίσης χημική βλάβη με χλωριούχο σίδηρο, φωτοχημικά επαγόμενη βλάβη μέσω οξειδωσης, ηλεκτρική βλάβη και μηχανική βλάβη [179-183]. Το μηχανικό τραύμα είναι αυτό που προσομοιώνει καλύτερα τις συνθήκες τραυματισμού των αγγείων σε περιπτώσεις ορθοπαιδικών και μικροχειρουργικών μελετών. Οι μέθοδοι εκτίμησης της θρόμβωσης περιλαμβάνουν επίσης την άμεση επισκόπηση, την ανίχνευση ροής με υπέρηχο Doppler ή με λέιζερ Doppler [180-183].

4.2 Φλεβικά μοντέλα

Η σφαγίτιδα φλέβα και η κάτω κοίλη φλέβα αποτελούν τα αγγεία που έχουν χρησιμοποιηθεί συχνότερα σε μοντέλα φλεβικής θρόμβωσης μεγάλων αγγείων. Στην σφαγίτιδα φλέβα έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα μοντέλα βλάβης όπως η φωτοχημικά επαγόμενη βλάβη οξειδωσης με Rose Bengal και η χημική βλάβη με χλωριούχο σίδηρο, ενώ μέθοδοι εκτίμησης της θρόμβωσης περιλαμβάνουν την ανίχνευση ροής με Doppler υπερήχων καθώς και την ιστολογική εξέταση του αγγείου [184-186]. Επιπλέον η σφαγίτιδα φλέβα έχει χρησιμοποιηθεί για να προσομοιώσει την πνευμονική εμβολή τόσο με ενδογενείς, όσο και εξωγενείς θρόμβους [187-189]. Η βλάβη στην κάτω κοίλη φλέβα έχει πραγματοποιηθεί ως επί το πλείστον με απολίνωση και χημική βλάβη με χλωριούχο σίδηρο, ενώ η εκτίμηση της θρόμβωσης γίνεται με ανάλυση του θρόμβου με ζύγισή του ή με ιστολογική εξέταση [190-193]. Η θρόμβωση στη μηριαία φλέβα έχει επίσης παραχθεί μέσω φωτοχημικά επαγόμενης βλάβης από οξειδωση, ηλεκτρικής βλάβης και μηχανικής βλάβης ενώ η εκτίμηση της θρόμβωσης γίνεται με άμεση επισκόπηση και υπέρηχο Doppler [194-196].

5. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Έως τώρα η αποτελεσματικότητα των ΑΣΑΠ στην πρόληψη δημιουργίας θρόμβου δεν έχει εκτιμηθεί στην μικροχειρουργική. Η πειραματική αυτή μελέτη έχει σκοπό :

1. Να εκτιμήσει την αποτελεσματικότητα της ριβαροξαμπάνης και δαβιγατράνης στην πρόληψη σχηματισμού θρόμβου σε μικραγγειακές αναστομώσεις. Μάλιστα για να προσομοιωθούν οι πραγματικές συνθήκες κάτω από τις οποίες τελούνται οι μικροαγγειακές αναστομώσεις στην κλινική πράξη (όπως σε περιπτώσεις ανασυγκολήσεων άκρων) οι αναστομώσεις αυτές έγιναν σε τραυματισμένα αγγεία έπειτα από συνθλιπτική βλάβη.

2. Επιπλέον να συγκρίνει την αποτελεσματικότητα τους με την αποτελεσματικότητα ευρέως χρησιμοποιούμενων αντιπηκτικών παραγόντων, και μάλιστα με αυτήν της ενοξαπαρίνης η οποία αποτελεί την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη ΗΜΜΒ παγκοσμίως.

3. Να εκτιμήσει έμμεσα την ασφάλεια τους όσον αφορά την μετεγχειρητική αιμορραγία.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1 Πειραματόζωα

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε συνολικά σε 101 αρσενικούς επίμυες ποικιλίας Wistar, ηλικίας 2-4 μηνών και βάρους 250-300 gr. Τα πειραματόζωα προήλθαν έπειτα από προγραμματισμένη αναπαραγωγή στο εκτροφείο του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Μικροχειρουργικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (ISO 9001:2008, ΣΔΠ 2243/16). Η χρήση των πειραματόζωων ακολούθησε τις εθνικές και παγκόσμιες κατευθυντήριες οδηγίες όσον αφορά την χρήση πειραματόζωων.

1.2 Σχεδιασμός μελέτης

Οι επίμυες διαχωρίστηκαν τυχαιοποιημένα σε 4 ομάδες ως εξής (Πίνακας 1):

1. Ομάδα Α, (ομάδα ελέγχου) η οποία περιελάμβανε 20 επίμυες που έλαβαν θεραπεία placebo (1ml φυσιολογικού ορού NaCl 0,9%)
2. Ομάδα Β η οποία περιελάμβανε 27 επίμυες που έλαβαν ριβαροξαμπάνη
3. Ομάδα Γ η οποία περιελάμβανε 27 επίμυες που έλαβαν δαβιγατράνη
4. Ομάδα Δ η οποία περιελάμβανε 27 επίμυες που έλαβαν ενοξαπαρίνη

Καθεμία από τις ομάδες Β,Γ,Δ διαχωρίστηκαν περαιτέρω σε 3 υποομάδες (9 επίμυες σε κάθε υποομάδα) για την εκτίμηση της βατότητας των αγγείων σε 3 διαφορετικά μετεγχειρητικά χρονικά σημεία: την 1η μετεγχειρητική ημέρα, την 7η μετεγχειρητική ημέρα και την 20η μετεγχειρητική ημέρα. Η ομάδα ελέγχου (ομάδα Α) από την άλλη διαχωρίστηκε σε 2 υποομάδες (10 επίμυες σε κάθε υποομάδα) για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων σε 2 μετεγχειρητικά χρονικά σημεία: την 1η μετεγχειρητική ημέρα και την 7η μετεγχειρητική ημέρα. Σε κάθε πειραματόζωο

διενεργήθηκε ευθανασία μετά την εκτίμηση της βατότητας της αναστόμωσης ώστε να πραγματοποιηθεί ακολούθως παθολογοανατομική εξέταση.

Η εκτίμηση της βατότητας των αναστομών πραγματοποιήθηκε την 1η μετεγχειρητική ημέρα σε 37 αρτηρίες (10 αρτηρίες της ομάδας Α, 9 αρτηρίες της ομάδας Β, 9 αρτηρίες της ομάδας Γ και 9 αρτηρίες της ομάδας Δ), την 7η μετεγχειρητική ημέρα σε άλλες 37 αρτηρίες (10 αρτηρίες της ομάδας Α, 9 αρτηρίες της ομάδας Β, 9 αρτηρίες της ομάδας Γ και 9 αρτηρίες της ομάδας Δ) και τελικά την 20η μετεγχειρητική ημέρα στις τελευταίες 27 αρτηρίες (9 αρτηρίες της ομάδας Β, 9 αρτηρίες της ομάδας Γ και 9 αρτηρίες της ομάδας Δ) .

Πίνακας 1. Διάταξη ομάδων πειράματος

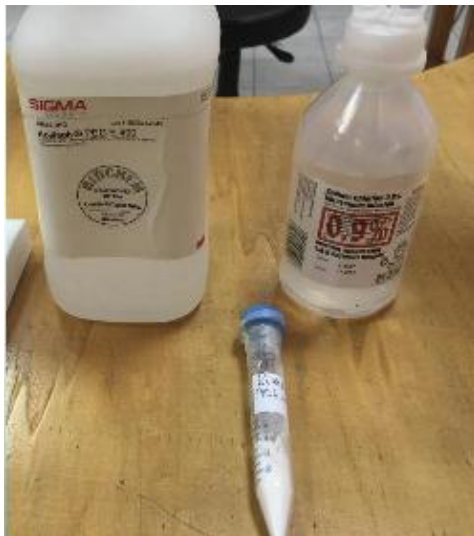
Πειραματόζωα			
Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 7	Ημέρα 20
Ομάδα Α	10	10	
Ομάδα Β	9	9	9
Ομάδα Γ	9	9	9
Ομάδα Δ	9	9	9

1.3 Παρασκευή και χορήγηση των σκευασμάτων

Για την χορήγηση των ΑΣΑΠ που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη παρασκευάστηκαν ομοιογενή διαλύματα ώστε να μπορούν να χορηγηθούν από του στόματος ακριβείς ποσότητες του κάθε υπό μελέτη φαρμάκου.

Η ριβαροξαμπάνη αποκτήθηκε υπό μορφή σκόνης από την Bayer (Wuppertal, Germany) και χορηγήθηκε υπό την μορφή υδατικού διαλύματος που περιείχε πολυαιθυλενική γλυκόλη (PEG 400) και ύδωρ (60:40 vol/vol) (Εικόνα 1). Το παρασκευασθέν διάλυμα περιείχε ριβαροξαμπάνη σε συγκέντρωση 2mg/ml , ενώ η χορηγούμενη δόση ήταν 3mg/kg.

Εικόνα 1. Παρασκευή διαλύματος ριβαροξαμπάνης.



Η δαβιγατράνη χορηγήθηκε επίσης από του στόματος σε μορφή διαλύματος . Για την παρασκευή του διαλύματος αυτού χρησιμοποιήθηκαν 110 mg της ουσίας σε μορφή σκόνης (έπειτα από κονιορτοποίηση) ανοίγοντας εμπορικά διαθέσιμες κάψουλες του φαρμάκου (PRADAXA; Boehringer Ingelheim, Germany). Η

ποσότητα αυτή διαλύθηκε σε ένα διάλυμα 10ml που περιείχε 1% (vol/vol) διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και 30% (vol/vol) glycerol-formal-cremophore (GFC) (Εικόνα 2). Το διάλυμα που παρασκευάστηκε περιείχε δαβιγατράνη σε συγκέντρωση 11mg/ml ενώ η χορηγούμενη δόση ήταν 30mg/kg.

Εικόνα 2. Παρασκευή διαλύματος δαβιγατράνης.



Η ενοξαπαρίνη αποκτήθηκε στην εμπορικά διαθέσιμη μορφή της σε προγεμισμένες σύριγγες (CLEXANE, Sanofi, France) και χορηγήθηκε σε δοσολογία 30mg/kg η οποία έχει φανεί σε προηγούμενες μελέτες ότι προλαμβάνει αποτελεσματικά την δημιουργία θρόμβου [197]. Η ενοξαπαρίνη χορηγήθηκε υποδορίως, ενώ η θεραπεία placebo, η ριβαροξαμπάνη και η δαβιγατράνη χορηγήθηκαν από του στόματος όπως αναφέρθηκε με χρήση ειδικού στοματογαστρικού καθετήρα (Plastic feeding tubes 18ga x75mm, Instech, USA) (Εικόνα 3). Η από του στόματος χορήγηση γινόταν υπό ήπια μέθη με χορήγηση

μιδαζολάμης 1 mg/kg (Dormicum 50mg/10dl, Roche, Switzerland) Τα φάρμακα χορηγήθηκαν 3 ώρες πριν την χειρουργική επέμβαση και μια φορά ημερησίως μετεγχειρητικά για τις επόμενες μέρες μέχρι την ευθανασία των πειραματόζωνων.

Εικόνα 3. Στοματογαστρικοί καθετήρες για την από του στόματος χορήγηση των φαρμάκων.

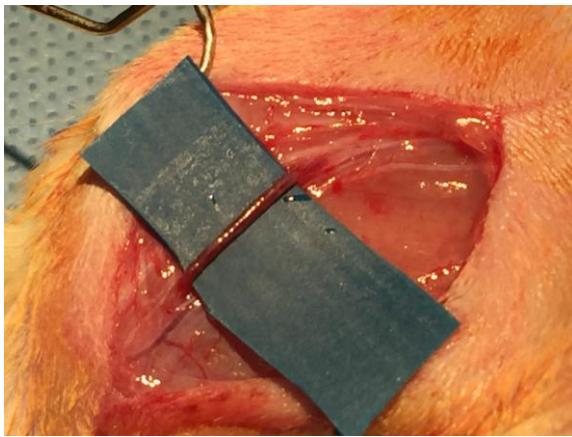


1.4 Μοντέλο συνθλιπτικής βλάβης

Στην μελέτη χρησιμοποιήθηκε η δεξιά μηριαία αρτηρία κάθε επίμυος. Για την εισαγωγή στην αναισθησία των επίμυων χορηγούταν ενδοπεριτοναϊκά διάλυμα κεταμίνης (80mg/kg) και έπειτα οι επίμυες τοποθετούνταν σε ένα ξύλινο μπλοκ. Η επέμβαση γινόταν υπό μεγέθυνση με χρήση μικροσκοπίου (Carl Zeiss, Germany). Αρχικά ξυριζόταν η δεξιά βουβωνική χώρα κάθε επίμυος και ακολουθούσε καθαρισμός του χειρουργικού πεδίου με διάλυμα ιωδιούχου ποβιδόνης. Μέσω μιας τομή περίπου 3 εκατοστών στην δεξιά βουβωνική χώρα ακολουθούσε παρασκευή της μηριαίας αρτηρίας η οποία απομονωνόταν πλήρως από τους γύρω ιστούς (Εικόνα

4α). Το μεσαίο τμήμα της απομονωθείσας μηριαίας αρτηρίας επιλεγόταν ώστε να υποστεί την συνθλιπτική βλάβη. Η βλάβη αυτή γινόταν με την βοήθεια ειδικής λαβίδας (John Hopkins bulldog clamp, Roboz Surgical Instrument Co, Gaithersburg, USA) η οποία ασκούσε σταθερή συνθλιπτική πίεση μεταξύ των σκελών της ισοδύναμης με 1kgf (Εικόνα 4β). Το αγγείο τοποθετούταν μεταξύ των σκελών της λαβίδας και η σύνθλιψη του είχε διάρκεια 35 λεπτά (Εικόνα 4γ).

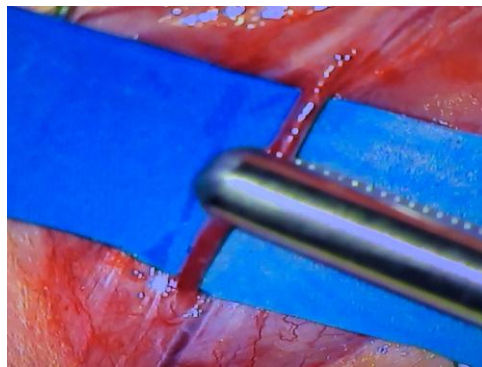
Εικόνα 4. Παρασκευή της μηριαίας αρτηρίας (α). Για την πρόκληση της αγγειακής βλάβης χρησιμοποιούταν μια λαβίδα σταθερής πίεσης (β). Η αρτηρία τοποθετούταν μεταξύ των σκελών της λαβίδας και η σύνθλιψη της είχε διάρκεια 35 λεπτά (γ).



(α)



(β)



(γ)

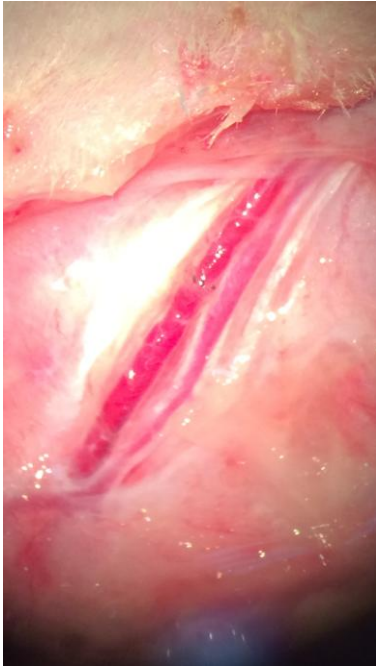
Η χρονική αυτή διάρκεια σύνθλιψης του αγγείου επιλέχθηκε βάσει προηγηθείσας πιλοτικής μελέτης όπου φάνηκε ότι βλάβη της μηριαίας αρτηρίας επίμυων μέσω σύνθλιψής της με την συγκεκριμένη λαβίδα για 35 λεπτά οδηγούσε σε ποσοστό θρόμβωσης 90%. Μετά την πρόκληση της βλάβης το συνθλιμμένο τμήμα της αρτηρίας τοποθετούνταν μεταξύ των σκελών μιας διπλής αγγειολαβίδας και γινόταν διατομή της αρτηρίας στο μέσον αυτού του τμήματος. Ακολουθούσε αναστόμωση βάσει των κανόνων της κλασικής μικροχειρουργικής τεχνικής με χρήση ράμματος νάυλον 10-0. Η άμεση βατότητα του αγγείου επιβεβαιωνόταν μέσω δοκιμασίας κένωσης-πλήρωσης (milking test). Ακολουθούσε σύγκλιση του τραύματος με απορροφήσιμα ράμματα.

1.5 Τεχνική αναστόμωσης

Μετά την παρασκευή της μηριαίας αρτηρίας και την τοποθέτηση ενός έγχρωμου φόντου (background) πίσω από την αρτηρία εφαρμοζόταν μια διπλή αγγειολαβίδα στο παρασκευασμένο τμήμα της αρτηρίας. Στην συνέχεια ακολουθούσε διατομή της αρτηρίας (στο συνθλιμμένο τμήμα της) με την βοήθεια μικροχειρουργικού ψαλιδιού. Για την απομάκρυνση πιθανών υπολειμμάτων αίματος και θρόμβων γινόταν έγχυση ηπαρινισμένου ορού στον αυλό του αγγείου με την βοήθεια πλαστικού φλεβοκαθετήρα. Ακολούθως με χρήση μικρολαβίδας και μικροχειρουργικού ψαλιδιού αφαιρούταν επιμελώς τμήμα του έξω χιτώνα του αγγείου (adventitia) από τα άκρα των κολοβωμάτων. Η αναστόμωση γινόταν με βάση τις αρχές της χειρουργικής τεχνικής που περιέγραψε ο Alexis Carrel, ένας πρωτοπόρος Γάλλος χειρουργός στις αρχές του 20^{ου} αιώνα. Τα 2 σκέλη της αγγειολαβίδας σύγκλειναν μεταξύ τους ώστε να συμπλησιάσουν τα δυο κολοβώματα

της αρτηρίας και τοποθετούνταν τα 2 πρώτα ράμματα στο πρόσθιο τοίχωμα της αρτηρίας περίπου στις θέσεις 10:00 και 2:00 (οι ώρες αυτές αντιπροσωπεύουν σημεία στο αγγειακό τοίχωμα όπου ο αυλός του αγγείου σε εγκάρσια διατομή προσομοιάζει ένα κυκλικό ρολόι). Αν τα 2 αρχικά ράμματα τοποθετούνταν στις θέσεις 9:00 και 3:00 τότε το πρόσθιο και οπίσθιο τοίχωμα της αρτηρίας θα συνέπιπταν το ένα στο άλλο γεγονός που θα δυσχέραινε την τοποθέτηση των επόμενων ραμμάτων και θα αυξανόταν η πιθανότητα να συρραφθούν μεταξύ τους τα δυο τοιχώματα και να καταστεί έτσι η αναστόμωση μη βατή. Μετά το πέρας της συρραφής του πρόσθιου τοιχώματος η διπλή αγγειολαβίδα αναστρεφόταν κατά 180 μοίρες. Κατά τον τρόπο αυτόν με την αναστροφή το οπίσθιο τοίχωμα φερόταν στην θέση του προσθίου. Το πρώτο ράμμα τοποθετούταν περίπου στο μέσον ενώ τα υπόλοιπα ράμματα τοποθετούνταν σε ίσες αποστάσεις μεταξύ τους (Εικόνα 5). Πριν την αφαίρεση της αγγειολαβίδας για την αποκατάσταση της αγγειακής αιματικής ροής και την εκτίμηση της βατότητας της αναστόμωσης, γινόταν έλεγχος της αναστόμωσης για πιθανά κενά τμήματα στην σειρά των ραμμάτων. Ακολούθως αφαιρούταν η διπλή αγγειολαβίδα διανοίγοντας πρώτα το περιφερικό της σκέλος προκειμένου να μην ασκηθεί αυξημένη πίεση στην αναστόμωση από την απότομη ροή αίματος μετά την αφαίρεση της αγγειολαβίδας.

Εικόνα 5. Η μηριαία αρτηρία έπειτα από την διενέργεια της αναστόμωσης.



1.6 Εκτίμηση της βατότητας της αναστόμωσης

Η βατότητα της αναστόμωσης εκτιμούταν με την δοκιμασία κένωσης/πλήρωσης (δοκιμασία Acland) . Κατά το πρώτο βήμα της δοκιμασία αυτής γινόταν απόφραξη του αυλού των αγγείων με μια λαβίδα με επίπεδα σκέλη αμέσως περιφερικότερα από το σημείο της αναστόμωσης. Ακολούθως με την βοήθεια μια δεύτερης λαβίδας και ξεκινώντας περιφερικά από το σημείο της πρώτης λαβίδας άδειαζε με ήπια πίεση το περιεχόμενο της αρτηρίας ενώ παράλληλα γινόταν απόφραξη του αγγείου με την δεύτερη λαβίδα . Το τρίτο βήμα της δοκιμασίας αυτής αποτελούσε η αφαίρεση της πρώτης λαβίδας και απελευθέρωση της ροής του αίματος. Αν η αναστόμωση ήταν βατή ακολουθούσε εμφανή πλήρωση τμήματος του αγγείου μέχρι την δεύτερη λαβίδα.

1.7 Παθολογοανατομική εξέταση

Για την παθολογοανατομική εξέταση χρησιμοποιήθηκε *in situ* τεχνική για την μονιμοποίηση των αγγείων με σκοπό ο αυλός του αγγείου κατά την λήψη του παρασκευάσματος να διατηρηθεί διατεταμένος. Για την διενέργεια της τεχνικής αυτής τα πειραματόζωα ελάμβαναν αναισθησία και αφού διανοιγόταν η θωρακική κοιλότητα ένας καθετήρας εισαγόταν στην αριστερή καρδιακή κοιλία. Στην συνέχεια χορηγούταν μέσω του καθετήρα αυτού ένα διάλυμα φορμόλης (10% phosphate-buffered formalin). Η χορήγηση του διαλύματος διαρκούσε 5 λεπτά από την χρονική στιγμή όπου άρχιζε να παρατηρείται έξοδος του διαλύματος από την κάτω κοίλη φλέβα μέσω μιας δεύτερης τομής που γινόταν στην φλέβα αυτή. Μετά το τέλος αυτής της διαδικασίας ακολουθούσε ευθανασία των πειραματόζωων. Τα παρασκευάσματα τοποθετούνταν σε ψυγείο για 12 περίπου ώρες και ακολούθως γινόταν λήψη του τμήματος της αρτηρίας που περιελάμβανε την αναστόμωση. Το ληφθέν τμήμα της αρτηρίας εμβαπτιζόταν σε διάλυμα φορμόλης (10% phosphate-buffered formalin) και αποστελλόταν για ιστολογική εξέταση με χρήση φωτονικού μικροσκοπίου. Τα μονιμοποιημένα αγγεία αφυδατώνοντουσαν, εμβαπτιζόντουσαν σε παραφίνη και τελούνταν τομές του αγγείου εντός της παραφίνης. Για την ιστολογική εξέταση χρησιμοποιήθηκαν 5 διαφορετικές χρώσεις (χρώση αιματοξυλίνης-εοσίνης, χρώση PAS, χρώση Masson, χρώσης ορσεΐνης και χρώση ρετικιουλίνης) με σκοπό να απεικονιστούν ευκρινώς και να εντοπιστούν με ακρίβεια ειδικές μορφολογικές αλλοιώσεις σε κάθε χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος.

1.8 Στατιστική ανάλυση

Για να εξετάσουμε την σχέση μεταξύ των αντιπηκτικών και της βατότητας των αναστομώνσεων, υπολογίστηκε η διαφορά μεταξύ των ποσοστών βατότητας των διαφόρων ομάδων καθώς και ο αντίστοιχος σχετικός κίνδυνος. Για την σύγκριση μεταξύ των διαφόρων ποσοστών βατότητας διενεργήθηκε δοκιμασία δυο δειγμάτων ισότητας ποσοτήτων με διόρθωση συνεχείας (δοκιμασία χ^2 /chi-squared). Έγινε επίσης ανάλυση τυχαιοποίησης Bootstrap, μια μέθοδος προσομοίωσης όπου η δοκιμασία προσομοιώνεται 1000 φορές (δηλ. αριθμός προσομοιώσεων = 1000) ώστε να εκτιμήσουμε την ισοδυναμία (η μηδενική υπόθεση είναι ότι οι διαφορετικές θεραπείες διαφέρουν) μεταξύ της ριβαροξαμπάνης, δαβιγατράνης και ενοξαπαρίνης. Οι σχετικοί κίνδυνοι επίσης υπολογίστηκαν μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των ομάδων θεραπείας.

Η στατιστική δύναμη της μελέτης είναι 74% (περιλαμβάνοντας κατά μέσο όρο 10 πειραματόζωα στην ομάδα ελέγχου, και 9 πειραματόζωα σε κάθε ομάδα θεραπείας, όπου το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας είναι 5%, και ο μέση εκτιμώμενη επίπτωση της θρόμβωσης της αναστόμωσης στην ομάδα ελέγχου και στις ομάδες θεραπείας είναι 0.90 and 0.30, αντίστοιχα). Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό R v.3.5.1 (<https://www.r-project.org>).

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όλα τα πειραματόζωα (101 επίμυες) επιβίωσαν κατά την διάρκεια της μελέτης έως και την προγραμματισμένη ευθανασία, ενώ επίσης δεν παρατηρήθηκε κάποια επιπλοκή όπως μείζονα αιμορραγία κατά την διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου.

2.1 Βατότητα της αναστόμωσης

Τα ποσοστά βατότητας της κάθε πειραματικής ομάδας την 1η, 7η και 20η μετεγχειρητική ημέρα παρουσιάζονται στον Πίνακα 2. Τα ποσοστά βατότητας την 1η μετεγχειρητική ημέρα ήταν 10% για την ομάδα ελέγχου, 66% για την ομάδα που χορηγήθηκε ριβαροξαμπάνη, 66% για την ομάδα που χορηγήθηκε δαβιγατράνη και 55% για την ομάδα που χορηγήθηκε ενοξαπαρίνη. Τα ποσοστά βατότητας την 7η μετεγχειρητική ημέρα ήταν 10% για την ομάδα ελέγχου, 88% για την ομάδα που χορηγήθηκε ριβαροξαμπάνη, 66% για την ομάδα που χορηγήθηκε δαβιγατράνη και 66% για την ομάδα που χορηγήθηκε ενοξαπαρίνη. Τα ποσοστά βατότητας την 20η μετεγχειρητική ημέρα ήταν 77% για την ομάδα που χορηγήθηκε ριβαροξαμπάνη, 77% για την ομάδα που χορηγήθηκε δαβιγατράνη και 66% για την ομάδα που χορηγήθηκε ενοξαπαρίνη. Τα ποσοστά βατότητας της ριβαροξαμπάνης και της δαβιγατράνης ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με αυτά της ομάδας ελέγχου ($p=0.0054$) την 1η μετεγχειρητική ημέρα, ενώ τα ποσοστά βατότητας της ενοξαπαρίνης και της ομάδας ελέγχου ήταν στατιστικά παρόμοια ($p=0.057$). Μεταξύ των ομάδων Β,Γ και Δ που χορηγήθηκαν αντιπηκτικά δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p>0.05$). Την 7η μετεγχειρητική ημέρα τα

ποσοστά βατότητας της ριβαροξαμπάνης, δαβιγατράνης και ενοξαπαρίνης ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα από αυτά της θεραπείας placebo ($p=0.001$, $p=0.019$, $p=0.019$ αντίστοιχα), ενώ τα ποσοστά βατότητας μεταξύ των ομάδων που χορηγήθηκαν αντιπηκτικά ήταν στατιστικώς παρόμοια ($p>0.05$). Την 20η μετεγχειρητική ημέρα τα ποσοστά βατότητας της ριβαροξαμπάνης, δαβιγατράνης και ενοξαπαρίνης ήταν στατιστικώς παρόμοια, αλλά σημαντικά υψηλότερα από αυτά της ομάδας ελέγχου που παρατηρήθηκαν την 1η και 7η μετεγχειρητική ημέρα ($p=0.0054$ για την ριβαροξαμπάνη και δαβιγατράνη, $p=0.019$ για την ενοξαπαρίνη). Τα συνολικά ποσοστά βατότητας ήταν 10% για την ομάδα ελέγχου, ενώ ήταν 63% για την ομάδα που έλαβε ενοξαπαρίνη, 78% για την ομάδα που έλαβε ριβαροξαμπάνη και 70% για την ομάδα που έλαβε δαβιγατράνη. Έτσι λοιπόν τα συνολικά ποσοστά βατότητας της ενοξαπαρίνης, ριβαροξαμπάνης και δαβιγατράνης ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα από αυτά της ομάδας ελέγχου ($p<0.05$). Αν και τα ποσοστά βατότητας της ριβαροξαμπάνης ήταν υψηλότερα από αυτά της δαβιγατράνης, και αυτά της δαβιγατράνης υψηλότερα από αυτά της ενοξαπαρίνης, οι διαφορές αυτές μεταξύ των αντιπηκτικών μεταξύ τους δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές. Επίσης συνολικά τα ποσοστά βατότητας όλων των ομάδων που έλαβαν αντιπηκτικά ήταν 62% την 1η μετεγχειρητική ημέρα, ενώ την 7η και 20 μετεγχειρητική ημέρα ήταν υψηλότερα (74%).

Η ανάλυση bootstrap έδειξε ότι η αποτελεσματικότητα της ριβαροξαμπάνης δεν είναι ισοδύναμη με αυτήν της δαβιγατράνης και ότι η ριβαροξαμπάνη είναι πιο αποτελεσματική από την δαβιγατράνη καθώς το ποσοστό βατότητας της ριβαροξαμπάνης είναι μεγαλύτερο κατά 8% τουλάχιστον σε σχέση με αυτό της δαβιγατράνης ($p=0.381$). Επίσης η αποτελεσματικότητα της ριβαροξαμπάνης δεν είναι ισοδύναμη με αυτήν της ενοξαπαρίνης αφού η ριβαροξαμπάνη φάνηκε να είναι

πιο αποτελεσματική καθώς το ποσοστό βατότητας της ριβαροξαμπάνης είναι μεγαλύτερο κατά τουλάχιστον 15% σε σχέση με αυτό της ενοξαπαρίνης ($p=0.188$). Παρόμοια, δεν είναι ισοδύναμη η αποτελεσματικότητα της δαβιγατράνης σε σχέση με αυτήν της ενοξαπαρίνης και η δαβιγατράνη είναι πιο αποτελεσματική από την ενοξαπαρίνη καθώς το ποσοστό βατότητας της δαβιγατράνης είναι μεγαλύτερο τουλάχιστον κατά 8% σε σχέση με αυτό της ενοξαπαρίνης ($p=0.369$).

Ο υπολογισμός των σχετικών κινδύνων (relative risk) συνολικά είναι περίπου 0.25, 0.33 και 0.41 για την ριβαροξαμπάνη, δαβιγατράνη και ενοξαπαρίνη αντίστοιχα. Το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (confidence interval) είναι 0.12-0.50, 0.18-0.60, και 0.25-0.69 για την ριβαροξαμπάνη, δαβιγατράνη και ενοξαπαρίνη αντίστοιχα. Αυτό σημαίνει ότι συνολικά η ριβαροξαμπάνη επιφέρει 75% λιγότερο κίνδυνο θρόμβωσης της αναστόμωσης σε σχέση με την θεραπεία placebo, η δαβιγατράνη 67% λιγότερο κίνδυνο θρόμβωσης της αναστόμωσης σε σχέση με την θεραπεία ενώ η ενοξαπαρίνη 59% λιγότερο κίνδυνο. Την 1^η μετεγχειρητική ημέρα η ριβαροξαμπάνη και δαβιγατράνη είχαν 63% λιγότερο κίνδυνο θρόμβωσης της αναστόμωσης σε σχέση με την θεραπεία placebo, ενώ η ενοξαπαρίνη είχε 51% λιγότερο κίνδυνο θρόμβωσης της αναστόμωσης σε σχέση με την θεραπεία placebo. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι το μόνο διάστημα εμπιστοσύνης που περιέχει την τιμή 1 είναι αυτό της ενοξαπαρίνης την 1^η μετεγχειρητική ημέρα. Την 7^η μετεγχειρητική ημέρα η ριβαροξαμπάνη είχε 88% λιγότερο κίνδυνο θρόμβωσης της αναστόμωσης σε σχέση με την θεραπεία placebo, ενώ η ενοξαπαρίνη και η δαβιγατράνη είχαν 63% λιγότερο κίνδυνο θρόμβωσης της αναστόμωσης σε σχέση με την θεραπεία placebo. Τέλος την 20^η μετεγχειρητική ημέρα η ριβαροξαμπάνη και δαβιγατράνη είχαν 75% λιγότερο κίνδυνο θρόμβωσης της αναστόμωσης σε σχέση με

την θεραπεία placebo, ενώ η ενοξαπαρίνη είχε 63% λιγότερο κίνδυνο θρόμβωσης της αναστόμωσης σε σχέση με την θεραπεία placebo.

Πίνακας 2. Τα ποσοστά βατότητας των αναστομώνσεων

Ομάδα	Ποσοστά βατότητας			
	Ημέρα 1	Ημέρα 7	Ημέρα 20	Συνολικά
¹ Ομάδα ελέγχου	1/10	1/10		2/20 (10%)
Ριβαροξαμπάνη	6/9 ² (p<0.05)	8/9 ² (p<0.05)	7/9 ² (p<0.05)	21/27 (78%) ² (p<0.05)
Δαβιγατράνη	6/9 ² (p<0.05)	6/9 ² (p<0.05)	7/9 ² (p<0.05)	19/27 (70%) ² (p<0.05)
Ενοξαπαρίνη	5/9 ² (p>0.05)	6/9 ² (p<0.05)	6/9 ² (p<0.05)	17/27 (63%) ² (p<0.05)

¹ Η ομάδα ελέγχου αποτελούταν από 20 επίμνες που εκτιμήθηκαν την 1η μετεγχειρητική ημέρα (10 επίμνες) και την 7η μετεγχειρητική ημέρα (10 επίμνες)

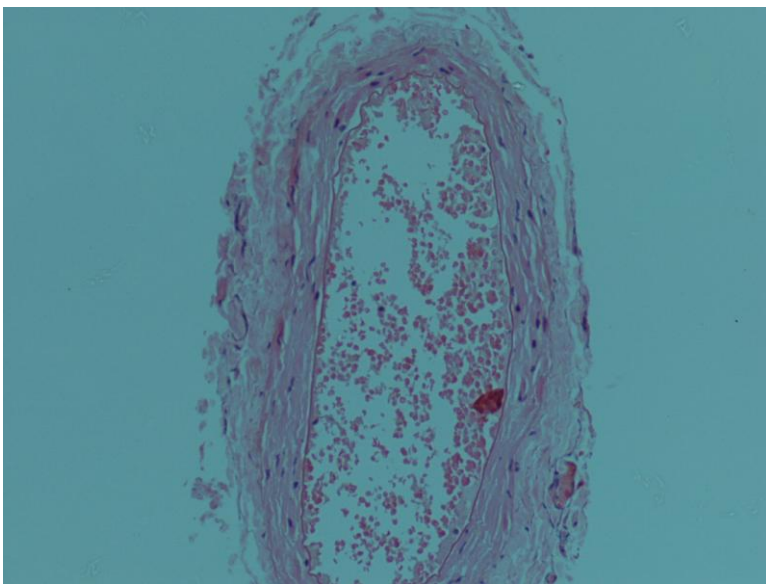
² Οι τιμές P αναφέρονται στην σύγκριση μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των ομάδων που έλαβαν αντιπηκτικά

2.2 Παθολογοανατομική εξέταση

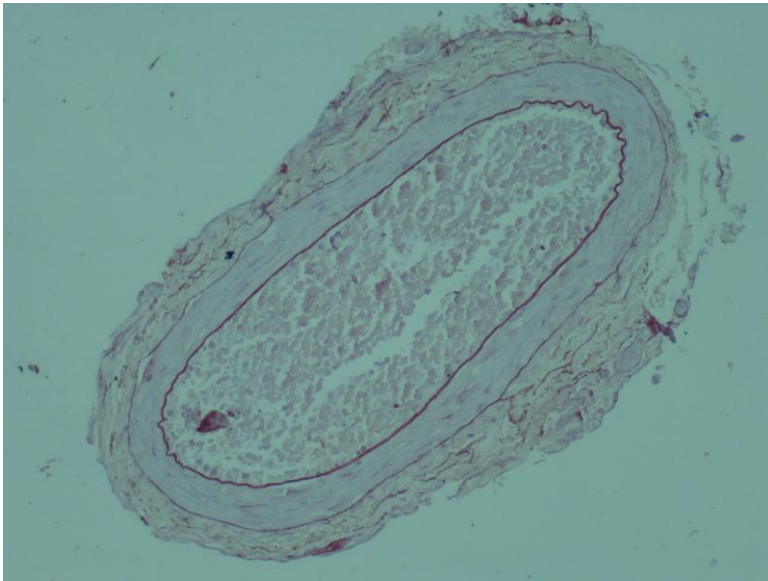
Η ανατομία του τοιχώματος της φυσιολογικής αρτηρίας των επίμνων είναι παρόμοια με αυτήν των ανθρώπινων αρτηριών και αποτελείται από τρεις χιτώνες (έσω χιτώνας-ενδοθήλιο, μέσος χιτώνας-μυϊκός και έξω χιτώνας-συνδετικός)

(Εικόνα 6). Ο έσω χιτώνας αποτελείται από μια στιβάδα ενδοθηλιακών κυττάρων που επενδύουν την εσωτερική επιφάνεια των αγγείων και από συνδετικό ιστό. Προς τα έξω ο έσω χιτώνας των αρτηριών οριοθετείται από το έσω ελαστικό πέταλο. Ο μέσος χιτώνας είναι συνήθως ο παχύτερος από τους τρεις χιτώνες. Αποτελείται από κυκλικά διατεταγμένα λεία μυϊκά κύτταρα και ινοελαστικό συνδετικό ιστό. Μεταξύ του μέσου χιτώνα και του έξω χιτώνα παρεμβάλλεται το έξω ελαστικό πέταλο. Ο έξω χιτώνας (adventitia) είναι ο πιο εξωτερικός χιτώνας του αγγείου και αποτελείται από ινοελαστικό συνδετικό ιστό που είναι πλούσιος σε κολλαγόνο.

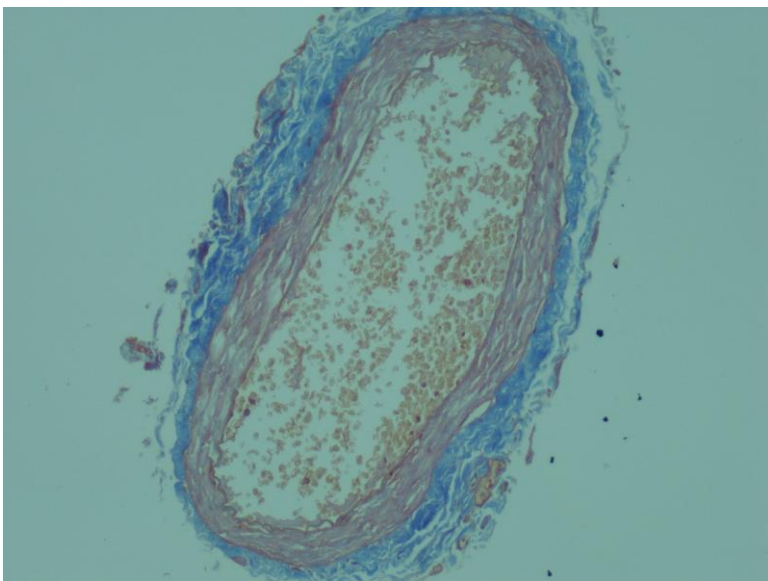
Εικόνα 6. Εγκάρσια διατομή φυσιολογικής μηριαίας αρτηρίας επίμυος. (α) Χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης (β) Χρώση ορσεΐνης η οποία επισημαίνει τα ελαστικά πέταλα του αγγείου (γ) Χρώση Masson η οποία χρωματίζει τις λείες μυϊκές ίνες (κόκκινο), τους πυρήνες (μπλε) και το κολλαγόνο (μπλε). Ο μέσος χιτώνας χρωματίζεται κόκκινος, και το κολλαγόνο που είναι σε αφθονία στον έξω χιτώνα χρωματίζεται μπλε.



(α)



(β)

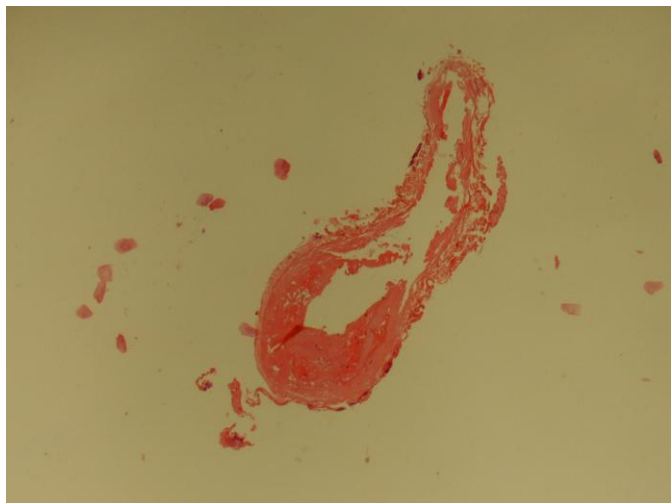


(γ)

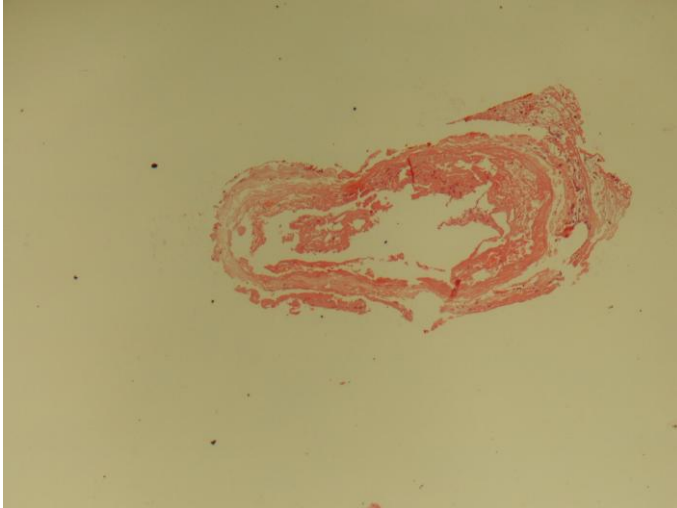
Στις βατές αρτηρίες οι ιστικές δομές του τοιχώματος που παρέμειναν μετά την συνθλιπτική βλάβη ήταν καλυμμένες από ένα στρώμα ινικής ποικίλου πάχους όμως το μεγαλύτερο μέρος του αυλού ήταν ελεύθερο από θρόμβο. (Εικόνα 7). Στις θρομβωμένες αρτηρίες, ο αυλός ήταν πλήρως αποφραγμένος από τον θρόμβο ο

οποίος αποτελούταν από πλέγμα ινικής και αιμοπετάλια. Η μάζα του θρόμβου στις θρομβωμένες αρτηρίες διατηρούσε τον αυλό του αγγείου διατεταμένο και έτσι κατά την διάρκεια της λήψης της αρτηρίας και της προετοιμασίας του αγγείου για την ιστολογική εξέταση υπό μικροσκόπηση το αγγείο διατηρούσε το κυλινδρικό του σχήμα (Εικόνα 8).

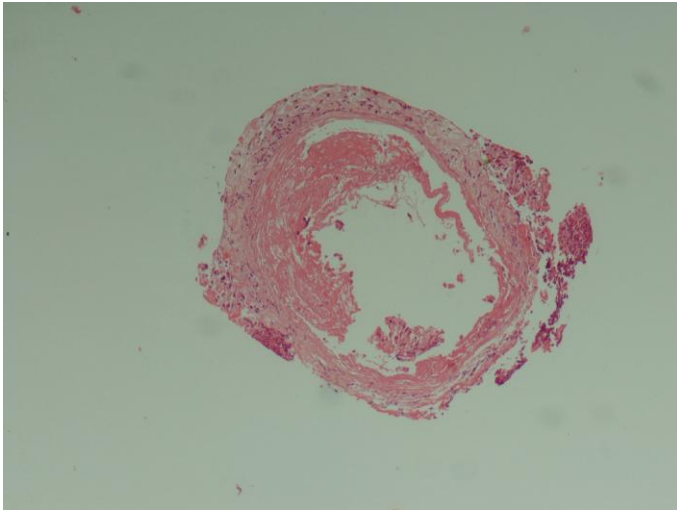
Εικόνα 7. Εγκάρσιες διατομές συνθλιμμένων βατών αρτηριών (α,β,γ). Το αγγειακό τοίχωμα ήταν καλυμμένο από ένα στρώμα ινικής ποικίλου πάχους, όμως το μεγαλύτερο μέρος του αυλού ήταν βατό και επέτρεπε την ροή του αίματος. (Χρώση αιματοξυλλίνης-ηωσίνης, x100)



(α)

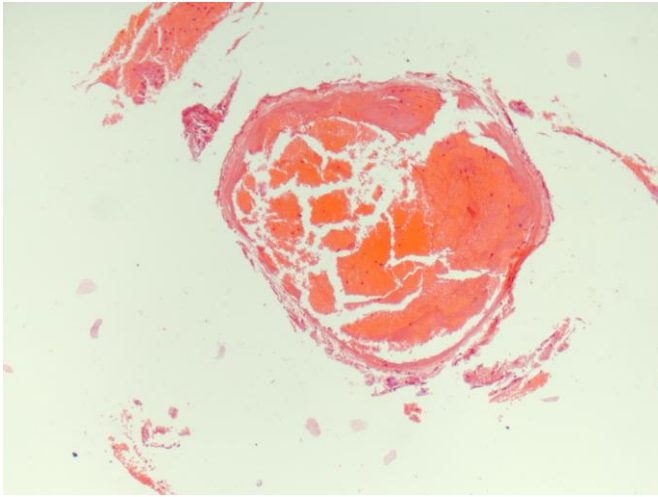


(β)

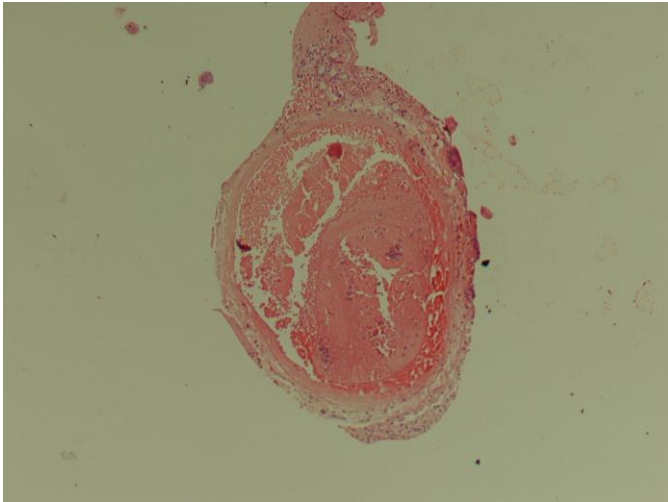


(γ)

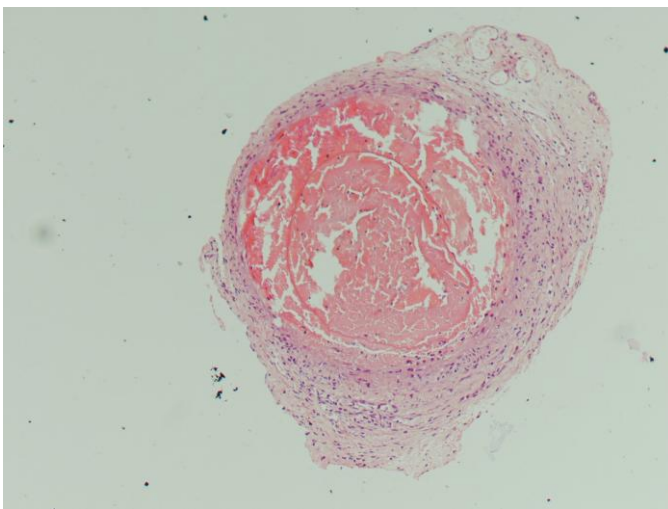
Εικόνα 8. Εγκάρσιες διατομές θρομβωμένων συνθλιμμένων αρτηριών (α,β,γ). Η μάζα του θρόμβου κατελάμβανε όλο τον αυλό του αγγείου (Χρώση αιματοξυλλίνης-ηωσίνης, x100)



(α)



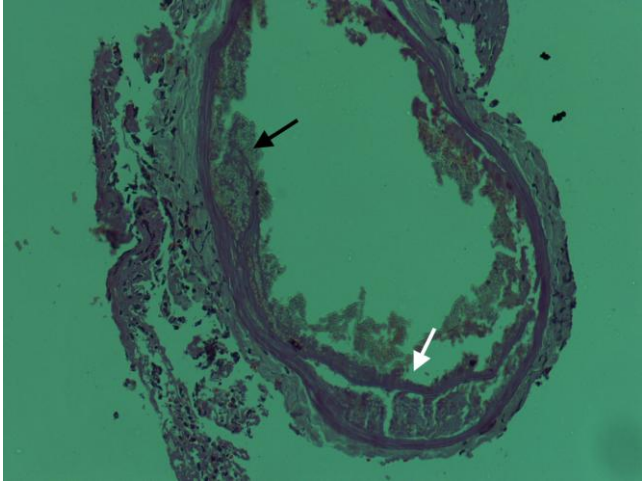
(β)



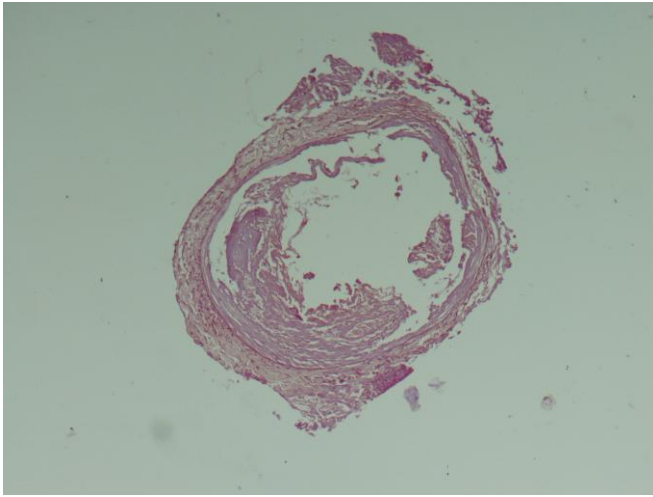
(γ)

Οι μορφολογικές αλλοιώσεις του τοιχώματος του αγγείου έπειτα από την συνθλιπτική βλάβη ήταν παρόμοιες μεταξύ των βατών και θρομβωμένων αγγείων. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία καθώς η δημιουργία ή μη του θρόμβου πρέπει να αποδοθεί καθαρά και μόνο στην συνθλιπτική βλάβη και όχι σε διαφοροποιήσεις της βλάβης του αγγείου. Το ενδοθήλιο του αγγείου είχε πλήρως εξαφανιστεί, ενώ το έσω ελαστικό πέταλο είτε είχε ραγεί και εξαφανιστεί είτε είχε αποκολληθεί από τον μέσο χιτώνα και προέβαλε μέσα στον αυλό του αγγείου. Ο μέσος χιτώνας είχε σοβαρές βλάβες ενώ σε πολλές περιπτώσεις το έξω ελαστικό πέταλο και ο έξω χιτώνας ήταν οι μόνες δομές που παρέμεναν και αποτελούσαν το εναπομένον αγγειακό τοίχωμα (Εικόνα 9).

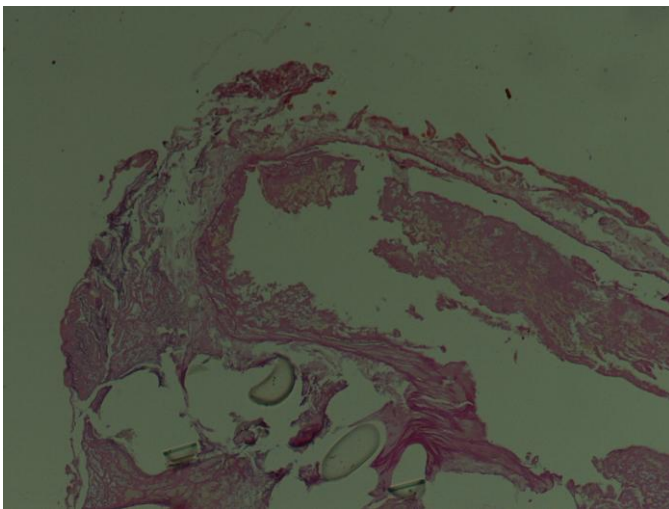
Εικόνα 9. (α) Εγκάρσια διατομή συνθλιμμένης βατής αρτηρίας όπου το έσω ελαστικό πέταλο έχει ραγεί (μαύρο βέλος) και αποκολληθεί (λευκό βέλος) από το υπόλοιπο αγγειακό τοίχωμα (χρώση PAS, x200) (β) Εγκάρσια διατομή συνθλιμμένης βατής αρτηρίας όπου το εναπομείναν έσω ελαστικό πέταλο προβάλλει μέσα στον αυλό του αγγείου (χρώση ορσεΐνης, x100) (γ) Εγκάρσια διατομή συνθλιμμένης βατής αρτηρίας όπου απεικονίζεται πλήρης βλάβη του ενδοθηλίου και του έσω ελαστικού πετάλου, ενώ ο συνθλιμμένος μέσος μυϊκός χιτώνας έχει λεπτυνθεί (χρώση PAS, x400) (δ) Εγκάρσια διατομή συνθλιμμένου και θρομβωμένου αγγείου όπου το ενδοθήλιο έχει εξαφανιστεί και το έσω ελαστικό πέταλο (βέλος) έχει μερικώς καταστραφεί και αποκολληθεί κατά τόπους (χρώση ορσεΐνης, x400) (ε) Επιμήκης διατομή μιας συνθλιμμένης και θρομβωμένης αρτηρίας όπου το έξω ελαστικό πέταλο και ο έξω χιτώνας είναι οι μόνες δομές που διατηρούν την συνέχεια του αγγειακού (χρώση PAS, x100)



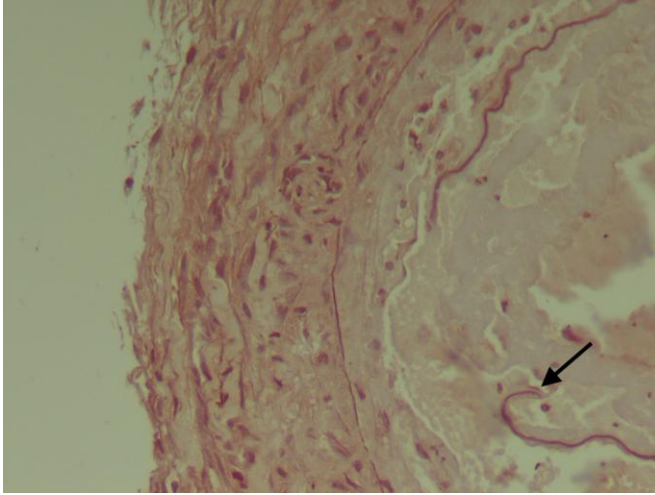
(α)



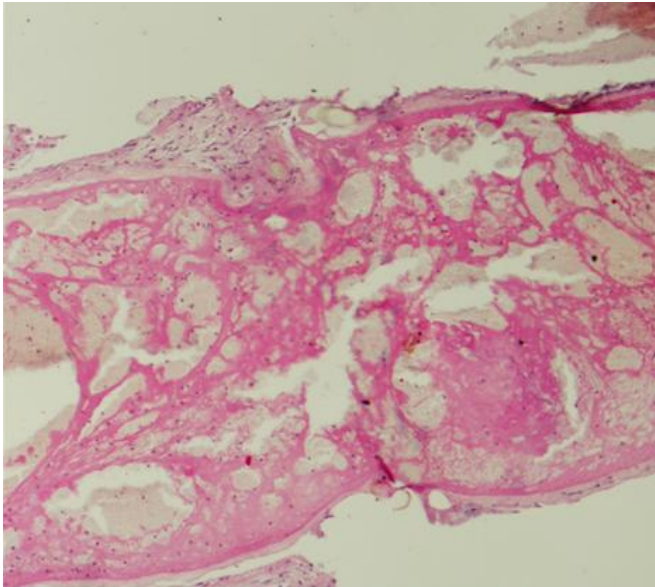
(β)



(γ)



(δ)

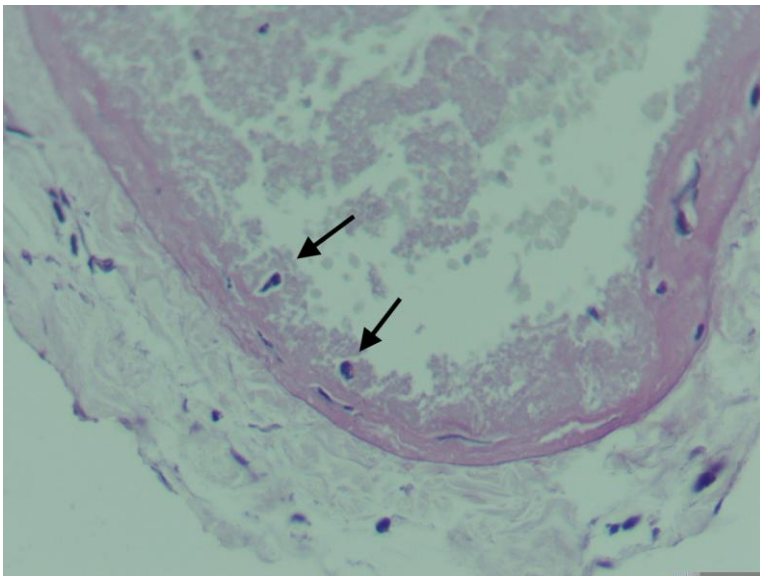


(ε)

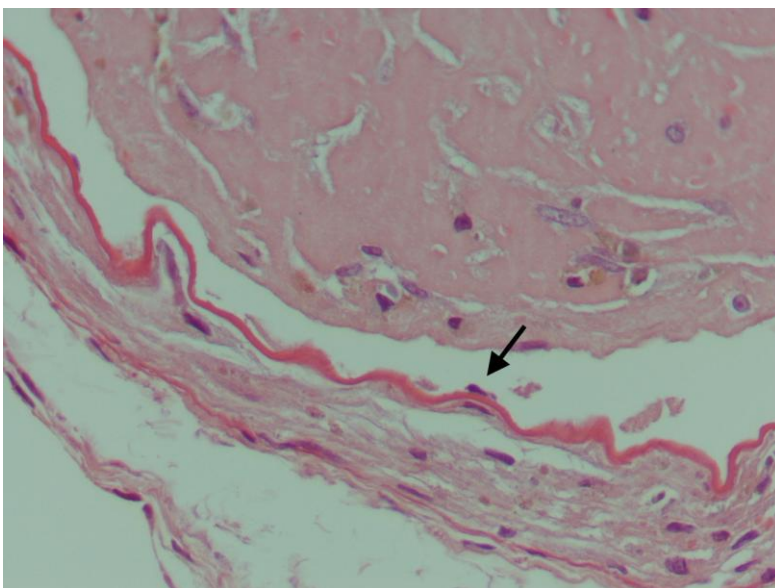
Κύτταρα με μορφολογικά χαρακτηριστικά ενδοθηλιακών κυττάρων παρατηρήθηκαν στις παραμένουσες δομές του αγγειακού τοιχώματος ήδη από την 7^η μετεγχειρητική ημέρα, και έπειτα την 20^η μετεγχειρητική ημέρα (Εικόνα 10).

Εικόνα 10. (α) Εγκάρσια διατομή συνθλιμμένης αρτηρίας την 7^η μετεγχειρητική ημέρα, όπου διακρίνονται κύτταρα με μορφολογικά χαρακτηριστικά ενδοθηλιακών κυττάρων (βέλη) στο εναπομείναν τμήμα του μέσου χιτώνα (χρώση PAS , x600).

(β) Επίσης κύτταρα με χαρακτηριστικά ενδοθηλιακών κυττάρων (βέλος) διακρίνονται στην εγκάρσια διατομή μιας αρτηρίας την 20^η μετεγχειρητικά ημέρα (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης , x600)



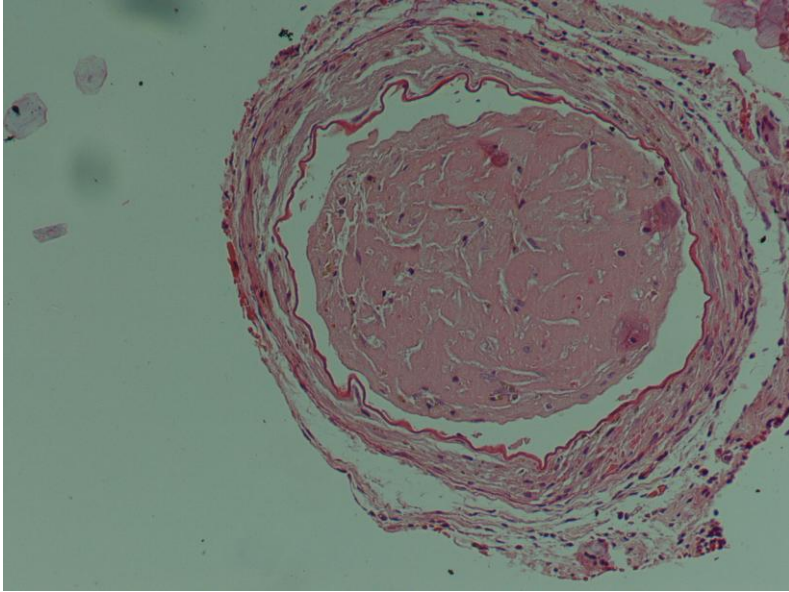
(α)



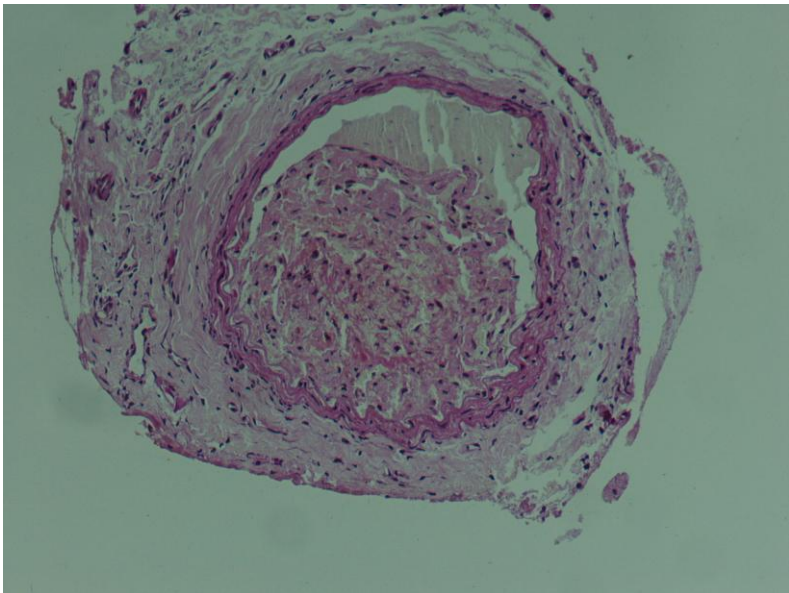
(β)

Καμία άλλη μορφολογική αλλοίωση δεν παρατηρήθηκε τη 7^η και 20^η μετεγχειρητική ημέρα σε σχέση με την 1^η μετεγχειρητική ημέρα. Το έσω ελαστικό πέταλο δεν παρουσίασε σημεία επανασχηματισμού μετά την καταστροφή του. Η δομή του θρόμβου την 20^η μετεγχειρητική ημέρα σε σχέση με την 1^η και 7^η ημέρα παρουσίασε σημάδια «ωρίμανσης». Έτσι λοιπόν ο θρόμβος την 20^η μετεγχειρητική ημέρα έχει συσταλεί μέσα στον αυλό του αγγείου. Επίσης, τα κυτταρικά στοιχεία που τον αποτελούσαν είχαν μειωθεί αναλογικά με τις προηγούμενες ημέρες και τώρα ο θρόμβος αποτελούταν κυρίως από ινική. Ένα ακόμα ενδιαφέρον στοιχείο που παρατηρήθηκε είναι επίσης ότι από την 7^η μετεγχειρητική ημέρα παρατηρήθηκε ένας βαθμός επανασηραγγοποίησης του θρόμβου σε ορισμένα αγγεία (Εικόνα 11).

Εικόνα 11. (α) Εγκάρσια διατομή μιας συνθλιμμένης και θρομβωμένης αρτηρίας την 20^η μετεγχειρητική ημέρα. Ο θρόμβος παρουσιάζει στοιχεία «ωρίμανσης», καθώς έχει συσταλεί και αποτελείται κυρίως από ινική (χρώση αιματοξυλλίνης-ηωσίνης, x100 (β) Εγκάρσια διατομή μιας συνθλιμμένης και θρομβωμένης αρτηρίας την 7^η μετεγχειρητική ημέρα όπου παρατηρείται μερική επανασηραγγοποίηση του θρόμβου (χρώση PAS, x200)



(α)



(β)

3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

. Η αγγειακή θρόμβωση αποτελεί την πιο συχνή αποτυχία μικροχειρουργικών επεμβάσεων όπως είναι οι αποκαταστάσεις ιστικών ελλειμμάτων με μεταφορά ελεύθερων κρημνών και οι ανασυγκολήσεις. Το ποσοστό αποτυχίας των ελεύθερων κρημνών είναι περίπου 4-10%, και των ανασυγκολήσεων περίπου 15-30%. Ο κίνδυνος θρόμβωσης της αναστόμωσης είναι μεγαλύτερος (80%) το πρώτο 48ωρο, με το 90% των αρτηριακών θρομβώσεων να συμβαίνουν τις πρώτες 24 ώρες, και το 42% των φλεβικών θρόμβων να σχηματίζονται μετά την 1η μετεγχειρητική ημέρα. Παρόλο που η πιθανότητα θρόμβωσης μειώνεται μετά τις πρώτες 24 ώρες, ο κίνδυνος παραμένει για τις πρώτες 2 εβδομάδες οπότε οποιοδήποτε μέτρο πρόληψης της θρόμβωσης πρέπει να συνεχίζεται τουλάχιστον για αυτό το διάστημα. Παλαιότερα θεωρούταν ότι ο παθογενετικός μηχανισμός της αρτηριακής θρόμβωσης διαφέρει από αυτόν της φλεβικής θρόμβωσης όπου η συγκέντρωση αιμοπεταλίων ήταν το κυριότερο στοιχείο της αρτηριακής θρόμβωσης ενώ ο πηκτικός μηχανισμός ήταν το κυριότερο στοιχείο της φλεβικής θρόμβωσης. Επομένως η καλύτερη αντιθρομβωτική αγωγή πρέπει να αποσκοπεί στην αναστολή και των δυο αυτών μηχανισμών θρόμβωσης. Όπως ανέφερε ο Ketchum στα τέλη της δεκαετίας το '70 οι 3 κύριοι στόχοι την αντιθρομβωτικής θεραπείας πρέπει να είναι η μείωση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων, η αύξηση της ροής του αγγείου και η αναστολή της δράσης της θρομβίνης [42]. Έχει φανεί σε πρόσφατες μελέτες ότι η θρομβίνη έχει κυρίαρχο ρόλο όχι μόνο στην διαδικασία του καταρράκτη της πήξης και του σχηματισμού ινικής, αλλά και στην ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων. Επομένως ένας αντιπηκτικός παράγοντας που στοχεύει στην

αναστολή της δημιουργίας θρομβίνης αναστέλλει και την συσσώρευση αιμοπεταλίων, αλλά και την διαδικασία πήξης.

Οι αντιθρομβωτικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στην μικροχειρουργική δεν έχουν αλλάξει τα τελευταία 30 χρόνια, και περιλαμβάνουν αναστολείς αιμοπεταλίων όπως ασπιρίνη ή διπυριδαμόλη, μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη ή ηπαρίνες μικρού μοριακού βάρους (HMMB) και δεξτράνες. Η χρήση της δεξτράνης έχει μειωθεί τα τελευταία χρόνια λόγω των συστηματικών της επιπλοκών ενώ σήμερα χρησιμοποιούνται κυρίως οι HMMB και η ασπιρίνη. Δεν υπάρχει ένα ευρέως αποδεκτό πρωτόκολλο αντιθρομβωτικής αγωγής και οι περισσότεροι χειρουργοί ακολουθούν τα δικά τους εμπειρικά πρωτόκολλα. Καθένας από αυτούς τους αντιπηκτικούς παράγοντες έχει τα δικά του μειονεκτήματα. Για παράδειγμα η υποδόρια χρήση και ο κίνδυνος εμφάνιση θρομβοπενίας (HIT- Heparin induced thrombocytopenia) αποτελούν μειονεκτήματα όσον αφορά την χρήση των HMMB, ενώ ο κίνδυνος αιμορραγίας από το γαστρεντερικό αποτελεί βασικό μειονέκτημα της ασπιρίνης. Τα τελευταία 5-10 χρόνια υπάρχει μια αυξανόμενη τάση χρήσης μια νέας κατηγορίας αντιπηκτικών σε διάφορους τομείς της ιατρικής, Τα από του στόματος αντιπηκτικά αποτελούν άμεσους αναστολείς του παράγοντα Xa και της θρομβίνης. Η ριβαροξαμπάνη, απιξαμπάνη και εντοξαμπάνη είναι αναστολείς του παράγοντα Xa ενώ η δαβιγατράνη είναι αναστολέας της θρομβίνης (παράγοντας II). Έχουν παρόμοια δράση με την ηπαρίνη με στόχο την αναστολή σχηματισμού ινικής, αλλά έχουν το πλεονέκτημα την από του στόματος οδό χορήγησης.. Επί του παρόντος οι παράγοντες αυτοί έχουν εγκριθεί στην ορθοπαιδική μόνο μετά από ολική αρθροπλαστική γόνατος (ΟΑΓ) και ολική αρθροπλαστική ισχίου (ΟΑΙ) αν και διενεργούνται διάφορες μελέτες για την επέκταση των ενδείξεών τους.

Το προφανή πλεονεκτήματα των ΑΣΑΠ όπως είναι η από του στόματος χορήγησή τους έχουν οδηγήσει σε μια συνεχώς αυξανόμενη τάση χρήσης αυτών των φαρμάτων στην καθημερινή κλινική πράξη. Παρόλο που η αντιθρομβωτική αποτελεσματικότητά τους έχει μελετηθεί και επιβεβαιωθεί μετά πολυάριθμες χειρουργικές επεμβάσεις, η αποτελεσματικότητά τους στην μικροχειρουργική δεν έχει εκτιμηθεί έως τώρα. Αυτή επομένως είναι η πρώτη μελέτη που στοχεύει στην εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των ΑΣΑΠ μετά από μικροαγγειακή αναστόμωση συνθλιμμένων αρτηριών. Κυριότερα όμως, συγκρίνει τα αποτελέσματα αυτών των φαρμάκων με τον πλέον χρησιμοποιούμενο παγκοσμίως αντιθρομβωτικό παράγοντα που είναι η ενοξαπαρίνη. Η μηχανισμός της αντιθρομβωτικής δράση των ΑΣΑΠ μέσω την αναστολής της δράσης του παράγοντα Xa ή του παράγοντα II , είναι παρόμοιος με αυτόν των ΗΜΜΒ αφού και οι δυο στοχεύουν στην αναστολή του σχηματισμού ινικής. Αν και παραδοσιακά υποστηρίζεται ότι το κυριότερο στοιχείο της αρτηριακής θρόμβωσης είναι η συγκέντρωση αιμοπεταλίων, οι αναστολείς που στοχεύουν στην ινική έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητά τους στην αναστολή δημιουργίας αρτηριακού θρόμβου. Η θεωρητική βάση για την εξήγηση αυτής της αποτελεσματικότητας έγκειται στο γεγονός ότι η αναστολή δημιουργίας θρομβίνης έχει ως αποτέλεσμα όχι μόνο την αναστολή σχηματισμού ινικής, αλλά και αναστολή της δράσης ενός feedback μηχανισμού στην όλη διαδικασία του καταρράκτη της πήξης και της συγκέντρωσης αιμοπεταλίων. Επιπρόσθετα έχει φανεί ότι ο αρτηριακός θρόμβος αποτελείται από συσσωρεύσεις αιμοπεταλίων που συγκρατούνται μεταξύ τους από δέσμες ινικής, οπότε χωρίς τον σχηματισμό ινικής για την σταθεροποίηση του θρόμβου ο θρόμβος δεν θα μπορούσε να διατηρηθεί. Τα ποσοστά βατότητας μετά την χορήγηση ΑΣΑΠ και συγκεκριμένα μετά την χορήγηση ριβαροξαμπάνης και δαβιγατράνης ήταν 77% and 70%

αντίστοιχα , σημαντικά υψηλότερα από αυτό που παρατηρήθηκε χωρίς καμία αντιθρομβωτική θεραπεία (10%). Επιπρόσθετα, αυτά τα ποσοστά ήταν ακόμα υψηλότερα και από αυτό της ενοξαπαρίνης (60%), αν και αυτή ή διαφορά δεν ήταν στατιστικώς σημαντική. Πολλά πειραματικά μοντέλα σχηματισμού θρόμβου σε αρτηρίες πειραματόζωων έχουν περιγραφεί στην βιβλιογραφία. Ο μηχανισμός τραυματισμού του αγγείου που θα οδηγήσει στην δημιουργία θρόμβου μπορεί να είναι μηχανικός (συνθλιπτική βλάβη, εκτομή ενδοθηλίου ή tuck injury), μπορεί να βασίζεται στην δημιουργία ελεύθερων ριζών (ηλεκτρολυτικός τραυματισμός, φωτοχημικός τραυματισμός, η προκαλούμενος από FeCl_3), ή μπορεί να είναι θερμικός (laser). Το ιδανικό μοντέλο σχηματισμού θρόμβου πρέπει να προσομοιώνει τις πραγματικές συνθήκες και αιτίες που οδηγούν σε κλινικά συσχετίσιμη θρόμβωση του αγγείου. Επομένως μεταξύ όλων αυτών των μοντέλων που περιγράφηκαν ο μηχανικός τραυματισμός φαίνεται να προσομοιώνει καλύτερα τις πραγματικές συνθήκες που οδηγούν στον τραυματισμό του αγγείου. Η δημιουργία συνθλιπτικής βλάβης έχει χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενες μελέτες , όπου χρησιμοποιήθηκαν ειδικά σχεδιασμένες συσκευές σύνθλιψης ή βελονοκάτοχος τύπου Webster. Στην μελέτη μας χρησιμοποιήσαμε μια αγγειολαβίδα τύπου bulldog η οποία ασκεί σταθερή πίεση ενός κιλού, και με αυτόν τον τρόπο διασφαλίσαμε ότι το μοντέλο δημιουργίας θρόμβου μπορεί να προκαλέσει αναπαραγώγιμα και αξιόπιστα αποτελέσματα. Το ποσοστό βατότητας με αυτό το μοντέλο δημιουργίας θρόμβου ήταν 10% όπως φάνηκε στην ομάδα ελέγχου, παρόμοιο με αυτά που παρατηρήθηκαν σε άλλες μελέτες όπου χρησιμοποίησαν άλλες μεθόδους για την σύνθλιψη του αγγείου. Το τοίχωμα του αγγείου υπέστη σημαντικές μορφολογικές αλλοιώσεις λόγω της συνθλιπτικής βλάβης, οι οποίες ήταν παρόμοιες και στα βατά αλλά και στα θρομβωμένα αγγεία.

Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς επιβεβαιώνει ότι η βατότητα ή όχι του αγγείου ήταν αποτέλεσμα καθαρά της δράσης των υπό μελέτη αντιθρομβωτικών παραγόντων και δεν επηρεαζόταν από διαφορετικού βαθμού βλάβη του αγγειακού τοιχώματος. Η έκθεση του υποενδοθηλιακού ιστού στην ροή του αίματος έχει φανεί ότι αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες για την ενεργοποίηση του μηχανισμού της θρόμβωσης στην περιοχή της αγγειακής βλάβης. Σταθερός θρόμβος δημιουργείται μόνο όταν τα διάφορα στοιχεία του αίματος έρχονται σε επαφή με υποενδοθηλιακές πρωτεΐνες όπως είναι το κολλαγόνο τύπου I και II, αλλά και όταν εκτίθεται ο ιστικός παράγοντας.

Ο Chen κ.συν έδειξαν ότι η βλάβη του ενδοθηλίου από μόνης της δεν είναι αρκετή για τον σχηματισμό θρόμβου, αλλά θα πρέπει επιπλέον να υπάρξει και βλάβη του έσω ελαστικού πετάλου ώστε τα αιμοπετάλια του αίματος να έρθουν σε επαφή με τον μέσο μυϊκό χιτώνα [77]. Επομένως, για να εκτιμηθεί με αξιοπιστία η αντιθρομβωτική αποτελεσματικότητα των υπό μελέτη φαρμάκων θα πρέπει ο τραυματισμός του αγγείου να έχει ως αποτέλεσμα όχι μόνο την βλάβη του ενδοθηλίου, αλλά και του έσω ελαστικού πετάλου. Στην μελέτη μας πράγματι η συνθλιπτική βλάβη μέσω της λαβίδας προκαλούσε αποκόλληση ή ρήξη του έσω ελαστικού πετάλου.

Κάποιες μελέτες αναφέρουν ότι ο επανασχηματισμός του ενδοθηλίου ξεκινά άμεσα μετά την αποκατάσταση της συνέχειας του αγγείου και την δημιουργία της αναστόμωσης και συμπληρώνεται σε 5-7 ημέρες. Από την άλλη, κάποιες άλλες πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι ενδοθηλιακά κύτταρα πρωτοεμφανίζονται 7 ημέρες μετά την βλάβη. Στην δικιά μας μελέτη κύτταρα με μορφολογικούς χαρακτήρες ενδοθηλιακών κυττάρων παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά την 7^η μετεγχειρητική ημέρα, γεγονός που συνάδει με τα ευρήματα των μελετών.

Ένα άλλο ενδιαφέρον σημείο της μελέτης είναι ότι παρατηρήθηκε μερικού βαθμού επανασηραγγοποίηση του θρόμβου ήδη από την 7^η μετεγχειρητική ημέρα. Μπορεί λοιπόν σε κάποια από τα πλήρως θρομβωμένα αγγεία την 1^η μετεγχειρητική ημέρα να πραγματοποιήθηκε εκτεταμένη επανασηραγγοποίηση τις επόμενες μετεγχειρητικές ημέρες και έτσι να αποκαταστάθηκε η βατότητά τους μετά την αρχική αυτή περίοδο της θρόμβωσης. Αυτό ίσως και να εξηγεί τα ελαφρώς αυξημένα ποσοστά βατότητας που παρατηρήθηκαν την 7^η και 20^η μετεγχειρητική ημέρα σε σχέση με την 1^η μετεγχειρητική ημέρα.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Λόγω της πρακτικής και εύκολης χρήσης των ΑΣΑΠ τα νέα αυτά αντιθρομβωτικά φάρμακα αποτελούν πλέον βασικούς παράγοντες της σύγχρονης αντιθρομβωτικής αγωγής και φαίνεται να έχουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε διάφορα πεδία της ιατρικής. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι τα ΑΣΑΠ μέσω της αναστολής των παραγόντων Χα και ΙΙ ήταν αποτελεσματικά όσον αφορά την πρόληψη δημιουργίας θρόμβου μετά την αναστόμωση τραυματισμένων αγγείων μικρής διαμέτρου. Επιπλέον η αποτελεσματικότητά τους ήταν παρόμοια με αυτή της ενοξαπαρίνης, που είναι ίσως ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος αντιθρομβωτικός παράγοντας στην μικροχειρουργική αλλά και στην χειρουργική ιατρική γενικότερα. Αυτή η μελέτη θα διευκολύνει λοιπόν την πραγματοποίηση μελλοντικών πειραματικών και κλινικών δοκιμών με στόχο την διεύρυνση των ενδείξεων χρήσης των ΑΣΑΠ σε μικροχειρουργικές επεμβάσεις όπως οι ανασυγκολλήσεις άκρων μετά από ακρωτηριασμούς και οι μεταφορές ελεύθερων ιστικών κρημνών.

5. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

Η μελέτη αυτή έχει ως στόχο να μελετήσει την αποτελεσματικότητα των (ΑΣΑΠ) (δαβιγατράνη και ριβαροξαμπάνη) στην πρόληψη δημιουργίας θρόμβου έπειτα από μικροαγγειακή αναστόμωση σε συνθλιβείσες αρτηρίες επίμυων και επιπρόσθετα να τα συγκρίνει με ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιπηκτικά. Την τελευταία δεκαετία τα ΑΣΑΠ έχουν μελετηθεί και χρησιμοποιηθεί σε διάφορους τομείς της ιατρικής. Παρόλαυτα η αποτελεσματικότητά τους στο πεδίο της μιοχειρουργικής δεν έχει εκτιμηθεί ακόμα.

Στην μελέτη αυτή, 101 δεξιές μηριαίες αρτηρίες 101 επίμυων αντίστοιχα διαχωρίστηκαν σε 4 ομάδες. Οι αρτηρίες υπέστησαν συνθλιπτική βλάβη υπό την άσκηση σταθερής πίεσης 1 kgf με χρήση λαβίδας για 35 λεπτά. Στην συνέχεια διατμήθηκαν στην περιοχή της σύνθλιψης και αναστομώθηκαν με χρήση ράμματος νάυλον 10-0. Η ομάδα Α (20 επίμυες- ομάδα ελέγχου) έλαβε θεραπεία placebo (1 ml φυσιολογικού ορού NaCl 0,9% per os), ενώ η ομάδα Β (27 επίμυες), η ομάδα Γ (27 επίμυες), και η ομάδα Δ (27 επίμυες) έλαβαν ριβαροξαμπάνη (3 mg/kgf per os), δαβιγατράνη (30 mg/kgf per os) και ενοξαπαρίνη (30 mg/kgf υποδόρια) αντίστοιχα. Όλα τα φάρμακα συμπεριλαμβανομένου και του placebo χορηγήθηκαν 3 ώρες πριν από την επέμβαση και μια φορά ημερησίως μετέπειτα έως την θανάτωση των πειραματόζωων. Η εκτίμηση της βατότητας έγινε μέσω της δοκιμασίας κένωσης/πλήρωσης. Η δοκιμασία αυτή διενεργήθηκε την 1^η μετεγχειρητική ημέρα σε 37 αρτηρίες (10 αρτηρίες της ομάδας Α, 9 αρτηρίες της ομάδας Β, 9 αρτηρίες της ομάδας Γ, και 9 αρτηρίες της ομάδας Δ), την 7^η μετεγχειρητική ημέρα σε άλλες 37 αρτηρίες (10 αρτηρίες της ομάδας Α, 9 αρτηρίες της ομάδας Β, 9 αρτηρίες της ομάδας Γ, και 9 αρτηρίες της ομάδας Δ) και τέλος την 20^η μετεγχειρητική ημέρα στις

τελευταίες 27 αρτηρίες (9 αρτηρίες της ομάδας Β, 9 αρτηρίες της ομάδας Γ, και 9 αρτηρίες της ομάδας Δ). Μετά την εκτίμηση της βατότητας ακολουθούσε ευθανασία των πειραματόζωων και λήψη των αγγείων για την διενέργεια της παθολογοανατομικής εξέτασης.

Κατά την μετεγχειρητική περίοδο που ακολουθούσε των επεμβάσεων δεν κατέληξε κανένα πειραματόζωο λόγω επιπλοκών. Τα ποσοστά βατότητας την 1η μετεγχειρητική ημέρα ήταν 10% για την ομάδα Α, 66% για την ομάδα Β, 66% για την ομάδα Γ και 55% για την ομάδα Δ. Τα ποσοστά βατότητας την 7η μετεγχειρητική ημέρα ήταν 10% για την ομάδα Α, 88% για την ομάδα Β, 66% για την ομάδα Γ και 66% για την ομάδα Δ. Τα ποσοστά βατότητας την 20η μετεγχειρητική ημέρα ήταν 77% για την ομάδα Β, 77% για την ομάδα Γ και 66% για την ομάδα Δ. Τα ποσοστά βατότητας της ριβαροξαμπάνης και δαβιγατράνης ήταν σημαντικά υψηλότερα από αυτά της ομάδας ελέγχου ($p=0.0054$) την 1^η μετεγχειρητική ημέρα, ενώ τα ποσοστά βατότητας της ομάδας της ενοξαπαρίνης και της ομάδας ελέγχου ήταν στατιστικώς παρόμοια ($p= 0.057$). Μεταξύ των ομάδων όπου χορηγήθηκαν αντιπηκτικά, δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p>0.05$). Την 7^η μετεγχειρητική ημέρα τα ποσοστά βατότητας της ριβαροξαμπάνης, δαβιγατράνης και ενοξαπαρίνης ήταν υψηλότερα από αυτά της ομάδας ελέγχου ($p=0.001, p=0.019, p=0.019$ αντίστοιχα) ενώ και πάλι μεταξύ των ομάδων όπου χορηγήθηκαν αντιπηκτικά δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p>0.05$). Την 20^η μετεγχειρητική ημέρα τα ποσοστά βατότητας της ριβαροξαμπάνης, δαβιγατράνης και ενοξαπαρίνης ήταν στατιστικώς παρόμοια, όμως σημαντικά υψηλότερα από αυτά της ομάδας ελέγχου που παρατηρήθηκαν την 1^η και 7^η μετεγχειρητική ημέρα ($p=0.0054$ για την ριβαροξαμπάνη και δαβιγατράνη, $p= 0.019$ για την ενοξαπαρίνη). Συνολικά λοιπόν τα ποσοστά βατότητας της ριβαροξαμπάνης

(77%) , της δαβιγατράνης (70%) και της ενοξαπαρίνης (62%) ήταν στατιστικώς παρόμοια μεταξύ τους, αλλά σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Η συνθλιπτική βλάβη τόσο στα βατά, όσο και στα θρομβωμένα αγγεία προκαλούσε ρήξη και παραμόρφωση του ενδοθηλίου, ρήξη ή αποκόλληση του έσω ελαστικού πετάλου και λέπτυνση του μυϊκού στρώματος. Κύτταρα με μορφολογικά χαρακτηριστικά ενδοθηλιακών κυττάρων εμφανίστηκαν από την 7^η μετεγχειρητική μέρα, καθώς επίσης την ίδια χρονική περίοδο παρατηρήθηκε και μερικός βαθμός επανασηραγγοποίησης στα κάποια από τα θρομβωμένα αγγεία.

Συμπερασματικά τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής καταδεικνύουν τα ακόλουθα: (1) η ασφάλεια της ριβροξαμπάνης και δαβιγατράνης ήταν παρόμοια με αυτήν της ενοξαπαρίνης, (2) η ριβροξαμπάνη και δαβιγατράνη μέσω της αναστολής σχηματισμού θρόμβου αυξάνουν σημαντικά τα ποσοστά βατότητας συγκριτικά με την θεραπεία placebo, (3) η αντιθρομβωτική αποτελεσματικότητα της ριβροξαμπάνης και δαβιγατράνης σε τραυματισμένα αγγεία ήταν παρόμοια με αυτήν της ενοξαπαρίνης, το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο αντιπηκτικό παράγοντα παγκοσμίως.

EFFICACY OF RIVAROXABAN AND DABIGATRAN ON PREVENTION OF THROMBUS FORMATION AND ON PATENCY PRESERVATION FOLLOWING ARTERIAL ANASTOMOSES IN CRUSHED ARTERIES

By
Dimitrios V. Papadopoulos

SUMMARY

Introduction: During the last decade the new oral anticoagulants (NOAC) have been established in various fields of medicine, though their use in microsurgery has not been evaluated yet. Anticoagulation protocols in microsurgery vary among surgeons and usually include traditional agents like aspirin and heparin . This study aims to evaluate the efficacy of NOAC (rivaroxaban and dabigatran) on prevention of thrombus formation following microvascular anastomosis in crushed rat arteries, and additionally compare them with a well established antithrombotic agent.

Materials and Methods : 101 right femoral arteries of 101 rats divided into 4 groups, were crushed with a standard pressure of 1kg applied by a clamp for 35 minutes and anastomosed with a standard microsurgical technique using a 10-0 nylon suture. Group A (20 rats) received placebo therapy (1ml NaCl 0.9%, orally), while Group B (27 rats), Group C (27 rats) and Group D (27 rats) received rivaroxaban (3mg/kg, orally), dabigatran (30mg/kg, orally) and enoxaparin (30mg/kg, subcutaneously) respectively. All drugs including placebo were administered 3 hours before the surgical procedure and once daily for the following postoperative days until the sacrifice of the animals. Evaluation of patency using the empty/refill test was performed on the 1st postoperative day for 37 arteries (10 arteries of Group A, 9 arteries of Group B, 9 arteries of Group C and 9 arteries of group D) , on the 7th day

for another 37 arteries (10 arteries of Group A, 9 arteries of Group B, 9 arteries of Group C and 9 arteries of group D) and finally on the 20th day for the last 27 arteries (9 arteries of Group B, 9 arteries of Group C and 9 arteries of group D) . Following patency evaluation, sacrifice of the rats and harvest of the vessels for histological examination were conducted.

Results: None of the rats died postoperatively. The patency rates on the 1st day were 10% for Group A, 66% for Group B, 66% for Group C and 55% for group D. The patency rates on the 7th day were 10% for Group A, 88% for Group B, 66% for Group C and 66% for group D. The patency rates on the 20th day were 77% for Group B, 77% for Group C and 66% for group D. The patency rates of rivaroxaban and dabigatran were significantly higher than that of control group ($p=0.0054$) on the 1st day, while the patency rates of the enoxaparin group and control group were statistically similar ($p=0.057$). Between the anticoagulants groups there were no statistically significant differences ($p>0.05$). On the 7th day, the patency rates of rivaroxaban, dabigatran and enoxaparin were significantly higher than that of placebo ($p=0.001, p=0.019, p=0.019$ respectively), while the patency rates of the anticoagulants groups were statistically similar ($p>0.05$). On the 20th day, the patency rates of rivaroxaban, dabigatran and enoxaparin were statistically similar, but significantly higher than that of the control group which was observed on the 1st and 7th day ($p=0.0054$ for rivaroxaban and dabigatran, $p=0.019$ for enoxaparin). Cells with morphologic features of endothelial cells were evident in 23 arteries of groups B,C and D on the 7th and 20th day.

Conclusion: The results of this study demonstrate the following: (1) rivaroxaban and dabigatran through inhibition of thrombus formation significantly enhanced the patency rate compared to placebo treatment (2) the antithrombotic

efficacy of rivaroxaban and dabigatran in compromised microvessels was similar to that of enoxaparin, the most widely used antithrombotic agent.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Dubois C, Panicot-Dubois L, Gainor JF, et al. Thrombin-initiated platelet activation in vivo is vWF independent during thrombus formation in a laser injury model. *J Clin Invest* 2007;117(4): 953-60.
2. Dubois C, Panicot-Dubois L, Merrill- Skoloff G, et al. Glycoprotein VI-dependent and -independent pathways of thrombus formation in vivo. *Blood* 2006; 107(10):3902-6.
3. Mangin P, Yap CL, Nonne C, et al. Thrombin overcomes the thrombosis defect associated with platelet GPVI/FcRgamma deficiency. *Blood* 2006;107(11):4346-53
4. Acland R. Thrombus formation in microvascular surgery: an experimental study of the effects of surgical trauma. *Surgery* 1973; 73(5): 766-771.
5. Nievelstein P, de Groot PH: Interaction of blood platelets with the vessel wall. *Haemostasis* 1988; 18: 342-359.
6. Lassila R, Badimon JJ, Vallabhajosula S, et al. Dynamic monitoring of platelet deposition on severely damaged vessel wall in flowing blood. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 306- 315.

7. Johnson PC, Dickson CS, Garrett KO, et al. The effect of microvascular anastomosis configuration on initial platelet deposition. *Plast Reconstr Surg* 1993; 91(3):522- 527.
8. Maraganore JM. Thrombin, thrombin inhibitors, and the arterial thrombotic process. *Thromb Haemost* 1993; 70(1): 208-211.
9. Barker JH, Andresen DM, Anderson GL, et al. Can varying flow velocity across an arterial anastomosis prevent thromboembolic injury? *Microsurgery* 1995; 16(5): 349-356.
10. Ware JA, Coller BS. Platelet morphology, biochemistry, and function. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ eds. *Williams Hematology*, 5th ed. New York, McGraw- Hill, Inc., 1995. Pp 1161-1201.
11. Ruggeri ZM. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. *Thromb Haemost* 1997; 78(1): 611-616
12. Bassiouny HS, Song RH, Kocharyan H, et al. Low flow enhances platelet activation after acute experimental arterial injury. *J Vasc Surg* 1998; 27(5): 910-918.
13. Tangelder GJ, oude Egbrink MGA, Slaaf DW, et al. Blood platelets: an overview. *J Reconstr Microsurg* 1989; 5: 167-171.

14. Rosenbaum TJ, Sundt TM. Thrombus formation and endothelial alterations in microarterial anastomoses. *J Neurosurg* 1977; 47(3): 430-441.
15. Yu-dong G, Ji-feng L, Ji-fu J, Ci-sheng Z, et al. Scanning electron microscopic observations on the endothelial healing mechanism of vessels. *J Reconstr Microsurg* 1989; 5(4):327-330
16. Kehrel B. Platelet-collagen interactions. *Semin Thromb Hemost* 1995; 21(2): 123-129.
17. Ruggeri ZM, Ware J. von Willebrand factor. *FASEB J* 1993; 7(2): 308-316.
18. Nightingale G, Fogdestam I, O'Brien BMcC. Scanning electron microscope study of experimental microvascular anastomoses in the rabbit. *Br J Plast Surg* 1980; 33(2): 283-298.
19. Vu TK, Hung DT, Wheaton VI, et al. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell* 1991;64(6):1057-68.
20. Brophy CM, Woodrum D, Dickinson M, et al. Thrombin activates MAPKAP2 kinase in vascular smooth muscle. *J Vasc Surg* 1998; 27(5): 963-969.

21. Semeraro N, Biondi A, Lorenzet R, et al. Direct induction of tissue factor synthesis by endotoxin in human macrophages from diverse anatomical sites. *Immunology* 1983; 50(4):529-35.
22. Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, et al. Interleukin 1 (IL-1) induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1984;160(2):618-23.
23. Panes O, Matus V, S.ez CG, Quiroga T, et al. Human platelets synthesize and express functional tissue factor. *Blood* 2007;109(12):5242-50.
24. Morrissey JH, Macik BG, Neuenschwander PF, et al. Quantitation of activated factor VII levels in plasma using a tissue factor mutant selectively deficient in promoting factor VII activation. *Blood* 1993;81(3):734-44.
25. Giesen PL, Rauch U, Bohrmann B, et al. Blood-borne tissue factor: another view of thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(5):2311-5.
26. Brozovic M. Physiological mechanisms in coagulation and fibrinolysis. *Br Med Bull* 1977; 33(3): 231-238.
27. Zacharski LR, Wojtukiewicz MZ, Costantini V, et al. Pathways of coagulation/fibrinolysis activation in malignancy. *Semin Thromb Hemost* 1992; 18(1): 104-116.

28. Donati MB. Cancer and thrombosis: from phlegmasia albo dolens to transgenic mice. *Thromb Haemost* 1995; 74(1): 278-281.
29. Karpatkin S, Nierodzik ML, Klepfish A. Role of platelets and thrombin in cancer. *Vessels* 1996; 2: 17-30.
30. Ten Cate JW, van der Poll T, Levi M, et al. Cytokines: triggers of clinical thrombotic disease. *Thromb Haemost* 1997; 78(1): 415-419.
31. Makhoul RG, Fields CE, Cassano AD. Nitric oxide and the vascular surgeon. *J Vasc Surg* 1999; 30(3): 569-572.
32. Baugh RJ, Broze GJ Jr, Krishnaswamy S. Regulation of extrinsic pathway factor Xa formation by tissue factor pathway inhibitor. *J Biol Chem* 1998;273(8):4378-86.
33. Hui K, Feng LJ, Piccolo N, et al. The rat femoral vein anastomosis: an assessment of its patency rate. In: *Proceedings of the American Society for Reconstructive Microsurgery San Antonio, TX: September 12–13, 1991.*
34. Hidalgo DA, Disa JJ, Cordeiro PG, et al. A review of 716 consecutive free flaps for oncologic surgical defects: refinement in donor-site selection and technique. *Plast Reconstr Surg* 1998;102(3):722-32

35. Ichinose A, Tahara S, Terashi H, et al. Short-term postoperative flow changes after free radial forearm flap transfer: possible cause of vascular occlusion. *Ann Plast Surg* 2003;50(2):160-4.
36. Khouri RK, Cooley BC, Kunselman AR, et al. A prospective study of microvascular free-flap and outcome. *Plast Reconstr Surg* 1998;102(3):711-21.
37. Khouri RK, Shaw WW. Reconstruction of the lower extremity with microvascular free flaps: a 10-year experience with 304 consecutive cases. *J Trauma* 1989;29(8):1086-94.
38. Chien W, Varvares MA, Deschler DG. Effects of aspirin and low-dose heparin in head and neck reconstruction using microvascular free flaps. *Laryngoscope* 2005;115(6):973-6
39. Davis DM. A world survey of anticoagulation practice in clinical microvascular surgery. *Br J Plast Surg* 1982;35(1):96-9.
40. Johnson PC, Barker JH. Thrombosis and antithrombotic therapy in microvascular surgery. *Clin Plast Surg* 1992;19(4) 799-807.
41. Das SK, Miller JH. Current status of topical antithrombotic agents in microvascular surgery. *Microsurgery* 1994;15(9):630-2.

42. Ketchman LD. Pharmacological alterations in the clotting mechanism: use in microvascular surgery. *J Hand Surg* 1978;3(5):407-15.
43. Ahmad TS, Musa G, Lee JK. A review of free flap failures in the university hospital, Kuala Lumpur. *Ann Acad Med Singapore* 1997;26(6):840-3.
44. Stockmans F, Stassen JM, Vermylen J, et al. A technique to investigate mural thrombosis formation in arteries and vein: II. Effects of aspirin, heparin, r-hirudin and G-4120. *Ann Plast Surg* 1997;38(1):63-8.
45. Bettigole RE. Drugs acting on the blood and blood-forming organs. In: Smith CM, ed. *Textbook of pharmacology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1992:784–801.
46. Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, et al. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 2001;119(1 suppl):64S-94S.
47. Wolf H. Low-molecular-weight heparin. *Med Clin North Am* 1994;78(3):733-43.
48. Tangphao O, Chalon S, Moreno HJ, et al. Heparin-induced vasodilation in human hand of veins. *Clin Pharmacol Ther* 1999;66(3):232-8.

49. Hemker HC, Beguin S, Kakkar VV. Can the haemorrhagic component of heparin be identified? Or an attempt at clean thinking on a dirty drug. *Haemostasis* 1996;26(3):117-26.
50. Pugh CM, Dennis RH II, Massac EA. Evaluation of intraoperative anticoagulants in microvascular free-flap surgery. *J Natl Med Assoc* 1996;88(10):655-7.
51. Fabris F, Luzzatto G, Stefani PM, et al. Heparin-induced thrombocytopenia. *Haematologica* 2000;85(1):72-81.
52. Nelson-Piercy C. Hazards of heparin: allergy, heparin induced thrombocytopenia and osteoporosis. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1997;11(3):489-509.
53. Warkentin TE, Chong BH, Greincher A. Heparin-induced thrombocytopenia: toward consensus. *Thromb Haemost* 1998;79(1):1-7.
54. Yokokawa K, Mankus R, Saklayan M. Increased nitric oxide production in patients with hypotension during hemodialysis. *Ann Intern Med* 1995;123(1):35-7.
55. Seltzer JJ, Gerson JJ. Decrease in arterial pressure following heparin injection prior to cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesth Scand* 1979;23(6):575-78.

56. Casthely PA, Yoganathan D, Karyanis B, et al. Histamine blockade and cardiovascular changes following heparin administration during cardiac surgery. *J Cardiothorac Anesth* 1990;4(6):711-4.
57. Malm K, Dahlbäck B, Arnljots B. Low molecular-weight heparin (Dalteprin) effectively prevents thrombosis in a rat model of deep arterial injury. *Plast Reconstr Surg* 2003; 111(5):1659-66.
58. Turpie AGG. State of the art—a journey through the world of antithrombotic therapy. *Semin Thromb Hemost* 2002; 28(suppl 3):3-11
59. Rooks MD, Rodriguez J Jr, Blechner M, et al. Comparative study of intraarterial and intravenous anticoagulants in microvascular anastomosis. *Microsurgery* 1994;15(2):123-9.
60. Kort WJ, de Kam J, Westbroek DL. Per-operative topical administration of ZK 36,374 (Iloprost) acts favorably on patency of small artery anastomoses in rats. *Microsurgery* 1987;8(1):17-21.
61. Reichel CA, Croll GH, Pucckett CL. A comparison of irrigation solutions for microanastomoses. *J Hand Surg* 1988;13(1): 33–36.
62. Hudson DA, Engelbrecht G, Duminy FJ. Another method to prevent venous thrombosis in microsurgery: an in situ venous catheter. *Plast Reconstr Surg* 2000;105(3):999-1003.

63. Fu K, Izquierdo R, Walenga JM, et al. Comparative study on the use of anticoagulants heparin and recombinant hirudin in a rabbit traumatic anastomosis model. *Thromb Res* 1995;78(5):421-8.
64. Khouri RK, Koudsi B, Fu KD, et al. Prevention of thrombosis by topical application of tissue factor pathway inhibitor in a rabbit model of vascular trauma. *Ann Plast Surg* 1993;30(5):398-404.
65. Sinclair S. The importance of topical heparin in microvascular anastomoses: a study in the rat. *Br J Plast Surg* 1980; 33(4):422-6.
66. Khouri RK, Sherman R, Buncke HJ, et al. A phase II trial of intraluminal irrigation with recombinant human tissue factor pathway inhibitor to prevent thrombosis in free flap surgery. *Plast Reconstr Surg* 2001;107(2):408-15.
67. Yan JG, Yousif NJ, Siegesmund KA. Irrigation pressure and vessel injury during microsurgery: a qualitative study. *J Reconstr Microsurg* 2004;20(5):399-403.
68. Bijsterveld NR, Hettiarachchi R, Peters R, Prins MH, Levi M, Buller HR. Low-molecular weight heparin in venous and arterial thrombotic disease. *Thromb Haemost* 1999; 82(suppl 1):139-47.
69. Nader HB, Walenga JM, Berkowitz SD, et al. Preclinical differentiation of low molecular weight heparins. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25(suppl 3):63-72.

70. Roque M, Rauch U, Reis ED, et al. Comparative study of antithrombotic effect of a low molecular weight heparin and unfractionated heparin in an ex vivo model of deep arterial injury. *Thromb Res* 2000;98(6):499-505.
71. Ritter EF, Cronan JC, Rudner AM, et al. Improved microsurgical anastomotic patency with low molecular weight heparin. *J Reconstr Microsurg* 1998;14(5):331-6.
72. Zhang B, Dougan P, Wieslander JB. A comparison of the early antithrombotic effects between low molecular weight heparin in small arteries following a severe trauma: an experimental study. *Ann Plast Surg* 1993;31(3):255-61
73. Green D, Hirsh J, Heit J, Prins M, Davidson B, Lensing AW. Low molecular weight heparin: a critical analysis of clinical trials. *Pharmacol Rev* 1994;46(1):89-109.
74. Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med* 1995;332(20):1330-5.
75. Dietrich CP, Shinjo SK, Moreas FA, et al. Structural features and bleeding activity of commercial low molecular weight heparins: neutralization by ATP and protamine. *Semin Thromb Hemost* 1999;25(suppl 3):43-50.

76. Dunn CJ, Sorkin EM. Dalteparin sodium: a review of its pharmacology and clinical use in the prevention and treatment of thromboembolic disorders. *Drugs* 1996;52(2):276-305.
77. Chen LE, Seaber AV, Korompilias AV, et al. Effects of enoxaparin, standard heparin, and streptokinase on the patency of anastomoses in severely crushed arteries. *Microsurgery* 1995;16(10):661-5.
78. Korompilias A, Chen L, Seaber A, et al. Antithrombotic potencies of enoxaparin in microvascular surgery: Influence of dose and administration methods on patency rate of crushed arterial anastomoses. *J Hand Surg* 1997 22(3): 540-546.
79. Ljungström K-G. The antithrombotic efficacy of dextran. *Acta Chir Scand* 1988;543:26-30.
80. Johnson PC. Platelet-mediated thrombosis in microvascular surgery: new knowledge and strategies. *Plast Reconstr Surg* 1990;86(2):359-67.
81. Atik M. Dextran 40 and dextran 70: a review. *Arch Surg* 1967;94(5):664-72.
82. Gelin LE. Effect of low viscous dextran in the early postoperative period. *Acta Chir Scand* 1961;122:333-35.
83. Arturson G, Wallenius G. The renal clearance of dextran of different molecular sizes in normal humans. *Scand J Clin Lab Invest* 1964;16(1):81-86.

84. Nearman HS, Herman ML. Toxic effects of colloids in the intensive care unit. *Crit Care Clin* 1991;7(3):713-23.
85. Zwaveling JH, Meulenbelt J, van Xanten NHW, et al. Renal failure associated with the use of dextran-40. *Neth J Med* 1989;35(5-6):321-6.
86. Hardin CK, Kirk WC, Pederson WC. Osmotic complications of low-molecular weight dextran therapy in free flap surgery. *Microsurgery* 1992;13(1):36-38.
87. Gunnar WP, Merlotti GJ, Barret J, et al. Resuscitation from hemorrhagic shock. Alterations of the intracranial pressure after normal saline, 3% saline and dextran-40. *Ann Surg* 1986;204(6):686-92.
88. Vos SCB, Hage JJ, Woerdeman LAE, et al. Acute renal failure during Dextran 40 antithrombotic prophylaxis: report of two microsurgical cases. *Ann Plast Surg* 2002;48(2):193-96.
89. Brookes D, Okeefe P, Buncke HJ. Dextran-induced acute failure after microvascular muscle transplantation. *Plast Reconstr Surg* 2001;108(7):2057-60.
90. Schwarz J, Ihle B, Dowling J. Acute renal failure induced by low molecular-weight dextran. *Aust N Z J Med* 1984; 14(5):688-9.

91. Druml W, Polzeleitner D. Dextran 40, acute renal failure and elevated plasma oncotic pressure. *N Engl J Med* 1988; 318(4):252-4.
92. Disa JJ, Polvora VP, Cordeiro PG. Dextran-related complications in head and neck microsurgery: do the benefits outweigh the risks? A prospective randomized analysis. *Plast Reconstr Surg* 2003;112(6):1534-9.
93. Undas A, Brummel K, Musial J, et al. Blood coagulation at the site of microvascular injury: effects of low-dose aspirin. *Blood* 2001;98(8):2423-31.
94. Cooley BC, Gould JS. Experimental models for evaluating antithrombotic therapies in replantation microsurgery. *Microsurgery* 1987;8(4):230-4.
95. Cooley BC, Ruas EJ, Wilgis EF. Scanning electron microscopy of crush/avulsion arterial trauma: effect of heparin and aspirin administration. *Microsurgery* 1987;8(1):11-16.
96. Buckley RC, Davidson SF, Das SK. The role of various antithrombotic agents in microvascular surgery. *Br J Plast Surg* 1994;47(1):20-23.
97. Salemark L, Wieslander JB, Dougan P, et al. Effects of low and ultra low oral doses of acetylsalicylic acid in microvascular surgery. An experimental study in rabbit. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1991;25(3):203-11.

98. Bannister CM, Chapman SA. The influence of systemic aspirin on rat small diameter vein grafts: a scanning electron microscopic study. *Surg Neurol* 1980;13(2):99-108.
99. Basile AP, Fiala TG, Yaremchuk MJ, et al. The antithrombotic effects of ticlopidine and aspirin in a microvascular thrombogenic model. *Plast Reconstr Surg* 1995;95(7):1258-64.
100. Li X, Cooley BC. Effect of anticoagulation and inhibition of platelet aggregation on arterial versus venous microvascular thrombosis. *Ann Plast Surg* 1995;35(2):165-9.
101. Peter FW, Franken RJPM, Wang WZ, et al. Effects of low dose aspirin on thrombus formation at arterial and venous microanastomosis and on the tissue microcirculation. *Plast Reconstr Surg* 1997;99(4):1112-21.
102. Patrono C. Acetylsalicylic acid. In: Messerli FH, ed. *Cardiovascular drug therapy*. 1st ed. Philadelphia: Saunders, 1990.
103. Flordal P. Pharmacological prophylaxis of bleeding in surgical patients treated with aspirin. *Eur J Anaesthesiol* 1997; 14:38.
104. Peter FW, Benkovic C, Muehlberger T, et al. Effects of desmopressin on thrombogenesis in aspirin induced platelet dysfunction. *Br J Haematol* 2002;117(3):658-63.

105. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *F. A. S. E. B. J.* 1998;12(2):1063-73.
106. Fitzmaurice DA, Blann AD, Lip GYH. ABC of antithrombotic therapy: bleeding risks of antithrombotic therapy. *BMJ* 2002;325(7368):828-31.
107. Hawkey CJ. Cox-2 inhibitors. *Lancet* 1999;353(9149):307-14.
108. Jacobs GR, Reinisch JF, Puckett CL. Microvascular fibrinolysis after ischemia: its relation to vascular patency and tissue survival. *Plast Reconstr Surg* 1981;68(5):737-41.
109. Cooley BC, Morgan RF, Dellon AL. Thrombolytic reversal of no-reflow phenomenon in rat free flap model. *Surg Forum* 1983;34:638-41.
110. Yui NW, Evans GRD, Miller MJ, et al. Thrombolytic therapy: what is its role in free flap salvage? *Ann Plast Surg* 2001;46(6):601-4.
111. Kroll SS, Schusterman MA, Reece GP, et al. Choice of flap and incidence of free flap success. *Plast Reconstr Surg* 1996;98(3):459-63.
112. Dettelbach HR, Aviado DM. Clinical pharmacology of pentoxifylline with special reference to its hemorrheologic effect for the treatment of intermittent claudication. *J Clin Pharmacol* 1985;25(1):8-26.

113. Hayden RE, Snyder BJ. Pharmacologic manipulation of random skin flaps with pentoxifylline. *Laryngoscope* 1993; 103(2):185-8.
114. Murthy P, Riesberg MV, Civantos FJ. Efficacy of perioperative thromboprophylactic agents in the maintenance of anastomotic patency and survival of rat microvascular free groin flaps. *Otolaryngology* 2003;129(3):176-82.
115. Walenga JM, Pifarre R, Hoppensteadt DA, et al. Development of recombinant hirudin as a therapeutic anticoagulant and antithrombotic agent: some objective considerations. *Semin Thromb Hemost* 1989;15:316.
116. Lan M, Li XL, Cooley BC, Gould JS. Microvascular salvage procedures with adjuvant antithrombotic therapy for restitution of patency in a rat model. *J Reconstr Microsurg* 1992;8(3):201-5.
117. Nichter LS, Bindiger A. Improving micrograft patency. *Microsurgery* 1988;9(4):235-41.
118. Concannon MJ, Meng L, Welsh CF, et al. Inhibition of perioperative platelet aggregation using toradol (ketorolac). *Ann Plast Surg* 1993;30(3):264-6.
119. Harashina T. Analysis of 200 free flaps. *Br J Plast Surg* 1988;41(1):33-36.

- 120.Olsson E, Svartling N, Asko-Seljavaara S, et al. Activation of coagulation and fibrinolysis in microsurgical reconstructions in the lower extremities. *Br J Plast Surg* 2001;54(7):597– 603.
- 121.Conrad MH, Adams WP Jr. Pharmacologic optimization of microsurgery in the new millennium. *Plast Reconstr Surg* 2001;108(7):2088-96.
- 122.Pederson WC. Replantation. *Plast Reconstr Surg* 2001;107(3):823-41.
- 123.Friedman, R. Novel oral anticoagulants for VTE prevention in orthopedic surgery: overview of phase 3 trials. *Orthopedics* 2011; 34(10) :795--804.
- 124.Klauser, W. and Dutsch, M. Practical management of new oral anticoagulants after total hip or total knee arthroplasty. *Musculoskel Surg* 2013;97(3):189-97.
- 125.Rachidi S, Aldin E, Greenberg C, et al. The use of novel oral anticoagulants for thromboprophylaxis after elective major orthopedic surgery. *Expert Rev Hematol.* 2013; 6(6): 677-95
- 126.Thomas T, Ganetsky V, Spinler S. Rivaroxaban: an oral factor Xa inhibitor. *Clin Ther* 2013; 35(1):4-27.
- 127.Huo M. The efficacy and safety of rivaroxaban for venous thromboembolism prophylaxis after total hip and total knee arthroplasty. *Thrombosis.* 2013;

- 128.Kwong L. Rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor: a new option for thromboprophylaxis. *Orthopedics*.2012;35(6):481.
- 129.Eriksson B, Borris L, Friedman R, et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip arthroplasty. *N Engl J Med*. 2008;358(26):2765-75.
- 130.Kakkar A, Brenner B, Dahl O, et al.Extended duration rivaroxaban versus short-term enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total hip arthroplasty: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2008;372(9632):31--9.
- 131.Lassen M, Ageno W, Borris L, et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty *N Engl J Med*. 2008;358(26):2776-86.
- 132.Turpie A, Lassen M, Davidson B, et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty (RECORD4): a randomised trial. *Lancet*.2009;373(9676):1673-80.
- 133.Russell R, Huo M. Apixaban and rivaroxaban decrease deep venous thrombosis but not other complications after total hip and total knee arthroplasty. *J Arthroplasty*.2013;28(9):1477-81

134. Turpie A, Haas S, Kreuz R, et al. A non-interventional comparison of rivaroxaban with standard of care for thromboprophylaxis after major orthopaedic surgery in 17,701 patients with propensity score adjustment. *Thromb Haemost.* 2014;111:94-102.
135. Rath N, Goodson M, White S, et al. The use of rivaroxaban for chemical thromboprophylaxis following total knee replacement. *Knee.* 2013;20(6):397-400.
136. Yen S, Lin P, Kuo F, et al. Thromboprophylaxis after minimally invasive total knee arthroplasty: A comparison of rivaroxaban and enoxaparin. *Biomed J* 2014;37(4):199.
137. Cao Y, Zhang J, Shen H, et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total hip or knee arthroplasty: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Pharm.* 2010;66(11):1099--1108.
138. Kwong L. Comparative safety and efficacy of antithrombotics in the management of venous thromboembolism after knee or hip replacement surgery: focus on rivaroxaban. *Clin Pharmacol* 2013;5:143.
139. Levitan B, Yuan Z, Turpie A, et al. Benefit--risk assessment of rivaroxaban versus enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total hip or knee arthroplasty. *Vasc Health Risk Manag* 2014; 10:157.

140. Burness CB, McCaig K. Dabigatran Etexilate. A Review of its Use for the Prevention of Venous Thromboembolism after Total Hip or Knee Replacement Surgery. *Drugs* 2012;72(7):963-986.
141. Eriksson B, Dahl O, Rosencher N, et al. Dabigatran etexilate versus enoxaparin for prevention of venous thromboembolism after total hip replacement: a randomised, double-blind, non-inferiority trial. *Lancet*. 2007;370(9591):949--956.
142. Eriksson B, Dahl O, Huo M, et al. Oral dabigatran versus enoxaparin for thromboprophylaxis after primary total hip arthroplasty (RE-NOVATE II). *Thromb Haemost*. 2011;105(4):721--729.
143. Eriksson B, Dahl O, Rosencher N, et al. Oral dabigatran etexilate vs. subcutaneous enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total knee replacement: the RE-MODEL randomized trial. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2007;5(11):2178--218524.
144. Ginsberg J, Davidson B, Comp P, et al. The Oral Thrombin Inhibitor Dabigatran Etexilate vs the North American Enoxaparin Regimen for the Prevention of Venous Thromboembolism after Knee Arthroplasty Surgery The RE-MOBILIZE trial. *The Journal of arthroplasty*. 2009;24(1):1-9

145. Wolowacz S, Roskell N, Plumb J, et al. Efficacy and safety of dabigatran etexilate for the prevention of venous thromboembolism following total hip or knee arthroplasty. A meta-analysis. *Thromb Haemost*. 2009;101(1):77-85.
146. Eriksson B, Dahl O, Feuring M, et al. Dabigatran is effective with a favourable safety profile in normal and overweight patients undergoing major orthopaedic surgery: a pooled analysis. *Thromb Res* 2012;130(5):818-20.
147. Dahl O, Kurth A, Rosencher N, et al. Thromboprophylaxis in patients older than 75 years or with moderate renal impairment undergoing knee or hip replacement surgery [corrected]. *Int Orthop* 2012;36(4):741-8.
148. Friedman R, Dahl O, Rosencher N, et al. Dabigatran versus enoxaparin for prevention of venous thromboembolism after hip or knee arthroplasty: a pooled analysis of three trials. *Thromb Res* 2010; 126(3):175-82
149. Kendoff D, Perka C, Fritsche H, et al. Oral thromboprophylaxis following total hip or knee replacement: review and multicentre experience with dabigatran etexilate. *Open Orthop J* 2011;5:395.
150. Bloch B, Patel V, Best A. Thromboprophylaxis with dabigatran leads to an increased incidence of wound leakage and an increased length of stay after total joint replacement. *Bone Joint J* 2014;96(1):122-126.

151. Aikens G, Osmundson J, Rivey M. New oral pharmacotherapeutic agents for venous thromboprophylaxis after total hip arthroplasty. *World J Orthop* 2014;5(3):188-203.
152. Harder S, Graff J. Novel oral anticoagulants: clinical pharmacology, indications and practical considerations. *Eur J Clin Pharmacol* 2013;69(9):1617-1633.
153. Lassen M, Raskob G, Gallus A, et al. Apixaban or enoxaparin for thromboprophylaxis after knee replacement. *N Engl J Med* 2009;361(6):594--604.
154. Lassen M, Raskob G, Gallus A, et al. Apixaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after knee replacement (ADVANCE-2): a randomised double-blind trial. *Lancet* 2010;375(9717):807—815
155. Lassen M, Gallus A, Raskob G, et al. Apixaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip replacement. *N Engl J Med* 2010;363(26):2487--2498.
156. Villa L, Malone D, Ross D. Evaluating the efficacy and safety of apixaban, a new oral anticoagulant, using Bayesian meta-analysis. *Int J Hematol* 2013;98(4):390-397.

- 157.Huang J, Cao Y, Liao C, et al. Apixaban versus enoxaparin in patients with total knee arthroplasty. A meta-analysis of randomised trials. *Thromb Haemost.* 2011;105:245--253.
- 158.Raskob G, Gallus A, Pineo G, et al. Apixaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip or knee replacement pooled analysis of major venous thromboembolism and bleeding in 8464 patients from the ADVANCE-2 and ADVANCE-3 trials. *J Bone Joint Surg Br* 2012;94(2):257—264
- 159.Li X, Sun S, Zhang W. Apixaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total hip or knee arthroplasty: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125(13):2339--2345.
- 160.Baumann Kreuziger L, Keenan J, Morton C, et al. Management of the Bleeding Patient Receiving New Oral Anticoagulants: A Role for Prothrombin Complex Concentrates. *BioMed Res Int* 2014:583794
- 161.Trkulja V. Rivaroxaban vs dabigatran for thromboprophylaxis after joint-replacement surgery: exploratory indirect comparison based on meta-analysis of pivotal clinical trials. *Croat Med J*. 2010;51(2):113-123.
- 162.Maratea D, Fadda V, Trippoli S, et al . Prevention of venous thromboembolism after major orthopedic surgery: indirect comparison of three new oral anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2011;9(9):1868--1870.

163. Gomez-Outes A, Terleira-Fernandez A, Suarez-Gea M, et al. Dabigatran, rivaroxaban, or apixaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total hip or knee replacement: systematic review, meta-analysis, and indirect treatment comparisons. *BMJ*; 344:e3675
164. Loke Y, Kwok C. Dabigatran and rivaroxaban for prevention of venous thromboembolism--systematic review and adjusted indirect comparison. *J Clin Pharm Therap* 2011;36(1):111-124.
165. Alves C, Batel-Marques F, Macedo A. Apixaban and rivaroxaban safety after hip and knee arthroplasty: a meta-analysis. *J Cardiovasc Pharmacol Therap* 2012;17(3):266-76
166. Adam SS, McDuffie JR, Lachiewicz PF, et al. Comparative effectiveness of new oral anticoagulants and standard thromboprophylaxis in patients having total hip or knee replacement: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2013;159(4):275-284.
167. Cheung WM, D'Andrea MR, Andrade-Gordon P, et al. Altered vascular injury responses in mice deficient in protease-activated receptor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(12):3014-24.
168. Farrehi PM, Ozaki CK, Carmeliet P, Fay WP. Regulation of arterial thrombolysis by plasminogen activator inhibitor-1 in mice. *Circulation* 1998;97(10):1002-8.

169. Petrich BG, Fogelstrand P, Partridge AW, et al. The antithrombotic potential of selective blockade of talin-dependent integrin alpha IIb beta 3 (platelet GPIIb-IIIa) activation. *J Clin Invest* 2007;117(8):2250-9.
170. Shariat-Madar Z, Mahdi F, Warnock M, et al. Bradykinin B2 receptor knockout mice are protected from thrombosis by increased nitric oxide and prostacyclin. *Blood* 2006; 108(1):192-9.
171. Kawasaki T, Kaida T, Arnout J, et al. A new animal model of thrombophilia confirms that high plasma factor VIII levels are thrombogenic. *Thromb Haemost* 1999;81(2):306-11.
172. Lozano JD, Abulafia DP, Danton GH, et al. Characterization of a thromboembolic photochemical model of repeated stroke in mice. *J Neurosci Methods* 2007;162(1-2):244-54.
173. Buetow BS, Crosby JR, Kaminski WE, et al. Platelet-derived growth factor B-chain of hematopoietic origin is not necessary for granulation tissue formation and its absence enhances vascularization. *Am J Pathol* 2001;159(5):1869-76.
174. Sturgeon SA, Jones C, Angus JA, et al. Adaptation of the Folts and electrolytic methods of arterial thrombosis for the study of anti-thrombotic molecules in small animals. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2006;53(1):20-9.

175. Cheung WM, D'Andrea MR, Andrade-Gordon P, et al. Altered vascular injury responses in mice deficient in protease-activated receptor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(12):3014-24.
176. Vicente CP, He L, Tollefsen DM. Accelerated atherogenesis and neointima formation in heparin cofactor II deficient mice. *Blood* 2007;110(13):4261-7.
177. Lorrain J, Lechaire I, Gauffeny C, et al. Effects of SanOrg123781A, a synthetic hexadecasaccharide, in a mouse model of electrically induced carotid artery injury: synergism with the antiplatelet agent clopidogrel. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;309(1):235-40.
178. Kusada A, Isogai N, Cooley BC. Electric injury model of murine arterial thrombosis. *Thromb Res* 2007;121(1): 103-6.
179. Nagai N, Lijnen HR, Cleuren AC, et al. Factor V Leiden mutation is associated with enhanced arterial thrombotic tendency in lean but not in obese mice. *Thromb Haemost* 2007;98(4):858-63.
180. Kondo K, Umemura K, Miyaji M, et al. Milrinone, a phosphodiesterase inhibitor, suppresses intimal thickening after photochemically induced endothelial injury in the mouse femoral artery. *Atherosclerosis* 1999;142(1):133-8.

181. Suzuki Y, Kondo K, Ikeda Y, et al. Antithrombotic effect of geniposide and genipin in the mouse thrombosis model. *Planta Med* 2001;67(9):807-10.
182. Carmeliet P, Moons L, Ploplis V, et al. Impaired arterial neointima formation in mice with disruption of the plasminogen gene. *J Clin Invest* 1997;99(2):200-8.
183. Lin RY, Reis ED, Dore AT, et al. Lowering of dietary advanced glycation endproducts (AGE) reduces neointimal formation after arterial injury in genetically hypercholesterolemic mice. *Atherosclerosis* 2002;163(2):303-11.
184. Eitzman DT, Westrick RJ, Nabel EG, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 and vitronectin promote vascular thrombosis in mice. *Blood* 2000;95(2):577-80.
185. Matsuno H, Kozawa O, Okada K, et al. Plasmin generation plays different roles in the formation and removal of arterial and venous thrombus in mice. *Thromb Haemost* 2002;87(1):98-104.
186. Zeng B, Bruce D, Kril J, et al. Influence of plasminogen deficiency on the contribution of polymorphonuclear leucocytes to fibrin/ogenolysis: studies in plasminogen knock-out mice. *Thromb Haemost* 2002;88(5):805-10.
187. Matsuno H, Okada K, Ueshima S, et al. Alpha2-antiplasmin plays a significant role in acute pulmonary embolism. *J Thromb Haemost* 2003;1(8): 1734-9.

188. Carmeliet P, Stassen JM, Schoonjans L, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 gene-deficient mice. II. Effects on hemostasis, thrombosis, and thrombolysis. *J Clin Invest* 1993;92(6):2756-60.
189. Konstantinides S, Schafer K, Neels JG, et al. Inhibition of endogenous leptin protects mice from arterial and venous thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(11):2196-201.
190. Wang X, Smith PL, Hsu MY, et al. Murine model of ferric chloride-induced vena cava thrombosis: evidence for effect of potato carboxypeptidase inhibitor. *J Thromb Haemost* 2006;4(2):403-10.
191. Aoki Y, Fukumoto Y, Inoue K, et al. Effect of activated human protein C on experimental venous thrombosis induced by stasis with operative invasion in mice. *Arzneimittelforschung* 2000;50(8):695-9.
192. Kou J, Tian Y, Tang Y, et al. Antithrombotic activities of aqueous extract from *Radix Ophiopogon japonicus* and its two constituents. *Biol Pharm Bull*.2006;29(6):1267-70.
193. Wang X, Smith PL, Hsu MY, et al. Deficiency in thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) protected mice from ferric chloride-induced vena cava thrombosis. *J Thromb Thrombolysis* 2007;23(1):41-9.

194. Shu E, Matsuno H, Ishisaki A, et al. Lack of plasminogen activator inhibitor-1 enhances the preventive effect of DX-9065a, a selective factor Xa inhibitor, on venous thrombus and acute pulmonary embolism in mice. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33(4):206-13.
195. Cooley BC, Szema L, Chen CY, et al. A murine model of deep vein thrombosis: characterization and validation in transgenic mice. *Thromb Haemost* 2005; 94(3):498-503.
196. Pierangeli SS, Barker JH, Stikovac D, et al. Effect of human IgG antiphospholipid antibodies on an in vivo thrombosis model in mice. *Thromb Haemost* 1994;71(5):670-4.
197. Toomey J, Blackburn M, Storer B, et al. Comparing the Antithrombotic Efficacy of a Humanized Anti-factor IX(a) Monoclonal Antibody (SB 249417) to the Low Molecular Weight Heparin Enoxaparin In a Rat Model of Arterial Thrombosis. *Thromb Res* 2000;100(1):73-79.