

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**

Teză de doctorat

**ALTERARI ALE HEMOSTAZEI ÎN ACCIDENTUL
VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC**

Rezumat

**CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:
PROF. UNIV. DR . MARIA IANCĂU**

**STUDENT-DOCTORAND:
MIRELA DIANA SFREDEL**

CRAIOVA

CUPRINSUL SINTETIC AL TEZEI DE DOCTORAT

INTRODUCERE	7
PARTEA I. STADIUL CUNOAȘTERII	
CAPITOLUL 1. ACCIDENTUL VASCULAR CEREBRAL ISCHEMIC	
1.1. Importanța problemei abordate	10
1.2. Fiziopatologia stroke-ului ischemic.	11
1.2.1 Hemodinamica stroke-ului ischemic	12
1.2.2. Mecanismele morții celulare	13
1.2.3. Neuroprotecția endogenă și plasticitatea	17
1.2.4. Perspective terapeutice	17
1.3. Etiopatogenia stroke-ului ischemic	19
1.3.1. Aterotromboza	19
1.3.2. Embolia cerebrală	20
CAPITOLUL 2. ATEROSCLEROZA, HEMOSTAZA SI STROKE-UL ISCHEMIC	
2.1. Ateroscleroza și stroke-ul ischemic	21
2.2. Activarea componentelor hemostazei în ateroscleroză si patologia vasculara asociată.	23
2.2.1 Patologia vasculară asociată	23
2.2.2. Activarea componentelor hemostazei în ateroscleroză	24
CAPITOLUL 3. OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY ÎN HEMOSTAZĂ	
3.1. Descrierea metodei	27
3.2. Aplicații ale OCT în medicină	28
3.3. OCT în ateroscleroză și tromboză	29
3.4. OCT în studiul hemostazei	30
3.5. Avantaje și limite ale utilizării OCT în studiul hemostazei fiziologie și patologice ...	31
PARTEA a-II-a. CONTRIBUȚII PROPRII	
CAPITOLUL 4	
4.1. Ipoteza de lucru.	35
4.2. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI	37
4.3. MATERIAL SI METODĂ	38
4.4. METODE DE LUCRU	46
CAPITOLUL 5. REZULTATE	
5.1. Caracteristicile loturilor studiate	63
5.1.1. Distribuția pe genuri	63
5.1.2. Vârsta	63
5.1.3. Statusul ponderal	63
5.1.4. Stilul de viață – sedentarismul	64
5.1.5. Antecedentele personale patologice	65
5.2. Rezultate obținute la evaluarea prin OCT	69
5.2.1. Analiza discontinuă a probelor de sânge	70
5.2.2. Analiza continuă a probelor de sânge	74
5.2.3. Exemplificări de imagini achiziționate prin OCT la subiecții studiați	79
5.3. Rezultate obținute la analiza parametrilor clasici ai hemostazei	83
5.4. Alți parametri biologici prelucrați	88
5.5. Corelații	96
CAPITOLUL 6. DISCUȚII	102
CAPITOLUL 7. CONCLUZII	107
BIBLIOGRAFIE	110

INTRODUCERE

Frecvența și consecințele accidentului vascular cerebral determină clasarea lui pe primul loc în ceea ce privește bolile neurologice întâlnite la adult [1]. Activarea componentelor hemostazei la suprafața endoluminală a plăcii de aterom apare ca rezultat al unor leziuni locale și/sau al influenței unor factori hemodinamici locali sau sistemici.

La nivelul sistemului nervos central există anumite particularități structurale și funcționale, care îi conferă un grad sporit de protecție împotriva hemoragiilor, aceste particularități fiind generate în principal de jonțiunile între celulele endoteliale de la nivelul vaselor mici de sânge, dar și de subexpresia unor molecule antitrombotice, fiind favorizată astfel tromboza în anumite situații.

Recent a fost propusă evaluarea coagulării prin elastografie în coerență optică, care folosește radiație acustică, în combinație cu tomografia optică coerentă - OCT. Sunt astfel evaluate simultan schimbări ale proprietăților elastice ale cheagului de sânge și statusul dinamic al coagulării sângelui. Din punct de vedere clinic, evenimentele hemostazei care pot fi relevante sunt: timpul de reacție, cinetica formării coagulului și forfecarea. Tehnica are potențialul aplicării în practică, *in vivo*, în evaluarea starilor de hiper/hipocoagulabilitate sau monitorizarea tratamentului cu medicamente pro sau anticoagulante [5].

OCT poate deveni și o modalitate de studiu *in vitro* a procesului trombotic din accidentul vascular cerebral ischemic. Aceasta reprezintă o tehnică de imagistică neinvazivă care folosește radiație de tip optic în montaj de tip interferențial pentru efectuarea unei analize de tip tomografic. Interferometria de coerență joasă produce o imagine bidimensională a microstructurilor biologice, cu rezoluție (laterală și longitudinală) și sensibilitate crescute, dar cu penetranță redusă [6].

De asemenea, coagularea sângelui poate fi urmărită și cuantificată prin OCT, pentru că, prin acest proces apar schimbări locale ale proprietăților optice ale sângelui – coeficientul de împrăștiere, indicele de refracție etc.

Scopul acestui studiu este de a evalua, în dinamică, modificările proprietăților optice care se produc în sângele care coagulează, la un lot de pacienți cu AVC ischemic, comparativ cu un lot de subiecți clinic sănătoși.

Din metaanaliza datelor referitoare la evaluarea dinamicii formării coagulului și a calităților biofizice ale acestuia, pe care am efectuat-o cu ocazia acestui studiu, am constatat că, o astfel de temă este încă, un demers științific aflat la începuturi. Studiile efectuate prin OCT asupra procesului de coagulare este de abia în stadiul în care se încearcă identificarea unei dinamici și a unor parametri optici care să caracterizeze coagularea fiziologică.

Cuvinte cheie: AVC ischemic, Optical Coherence Tomography, coagulare, hipercoagulabilitate, tromboză.

PARTEA I – STADIUL CUNOAȘTERII

Această parte a lucrării cuprinde 3 capitole:

1. **Accidentul vascular cerebral ischemic** – în care am documentat importanța problemei abordate, fiziopatologia AVC-ului ischemic, hemodinamica caracteristică în această patologie, mecanismele morții neuronale, comportamentul celulelor nervoase nonneuronale și al materiei albe la ischemie, evenimentele inflamatorii declanșate, mecanismele de neuroprotecție endogenă și plasticitate care pot coexista și pot limita distrugerile țesutului cerebral, perspectivele terapeutice de repermeabilizare.

2. **Ateroscleroza, hemostaza și AVC ischemic** – în care am evidențiat cascada de evenimente care duce la această boală sistemică, însă cu manifestări focale, ale cărei manifestări clinice sunt

cuprinse de boala cerebrovasculară, boala cardiacă ischemică și boala arterială periferică [109]. Am dezvoltat, de asemenea, activarea componentelor sistemului hemostatic în ateroscleroză și patologia vasculară asociată, evidențiind caracteristicile structurale și funcționale de la nivelul creierului în privința hemostazei și trombozei.

3. Optical coherence tomography (OCT) în hemostază – capitol în care am reținut datele relevante despre metodă, am făcut o metaanaliză a aplicațiilor OCT în medicină, în general și în studiul coagulării, în particular. De asemenea am evidențiat avantajele și limitele utilizării OCT în studiul hemostazei fiziologice și patologice.

PARTEA a- II-a – CONTRIBUȚII PERSONALE

4.1. IPOTEZA DE LUCRU.

Deși hemostaza este un proces natural, prin care organismul uman încearcă să mențină un echilibru complicat între componentele procoagulante și anticoagulante, defectarea mecanismelor hemostatice fiziologice are repercusiuni severe asupra vieții și sănătății umane. Mă refer la cele două stări patologice extreme ale hemostazei, respectiv hipocoagulabilitatea și hipercoagulabilitatea.

La ora actuală, medicina modernă rezolvă cu succes cele mai multe patologii datorate deficitelor de factori coagulanți, în timp ce statusul procoagulant și patologia vasculară asociată acestuia sunt încă departe de o soluție medicală satisfăcătoare. Statusul procoagulant (hipercoagulabilitatea) este asociat cu patologia vasculară de tip AVC ischemic, IMA, tromboembolism al venelor profunde etc., entități care reprezintă un pericol vital major, care pot fi urmate de sechele invalidante, al căror cost împovărează sistemele de asigurare medicale, familia și comunitatea.

Explorarea hemostazei, cel puțin la nivel de practică medicală a fost privită și încă mai este abordată în mod formalist, numeroasele și de multe ori utilele teste temporale servind la acumularea unor date valoroase pentru diagnostic și tratament. De multe ori, însă, utilizarea exclusivă a unor astfel de teste a dus la stagnarea cercetării și translaționarea acesteia către alte zone care pot avea o importanță cel puțin egală pentru biologie, în general și pentru medicină în special. Fac referire aici, mai ales la lipsa de corelare dintre testele temporale, uneori cu limite foarte largi și valoarea biologică, funcțională a coagulului de fibrină rezultat, ai cărui parametri biofizici sunt rar discutați și mult mai rar cuantificați. Formarea rețelei de fibrină este încă privită de cei mai mulți cercetători într-un mod simplificat, conform relației: un test de coagulare, indiferent care este substratul – plasmă sau sânge integral, este considerat normal dacă coagulul se obține într-o anumită perioadă de timp.

O astfel de viziune este de multe ori infirmată de practica medicală, în care, pacienți cu valori normale ale timpilor de coagulare pot dezvolta o patologie rapidă și severă a coagulării, fie în minus-hipocoagulabilitate, fie în plus-hipercoagulabilitate.

Luând aceste evidențe ca punct de plecare, în studiul nostru ne-am propus să tratăm această problemă printr-o abordare diferită și să lărgim explorarea hemostazei prin cercetarea unor parametri non-temporali ai rețelei de fibrină, urmărind în dinamică transformarea sîngelui din faza lichidă în cea solidă cu ajutorul unui fascicul luminos care scanează o probă de sânge care coagulează. Metoda care permite o astfel de abordare este tomografia optică coerentă - optical coherence tomography – OCT, metodă care permite evaluarea proprietăților optice ale sîngelui pe parcursul formării rețelei de fibrină.

4.2. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI

Scopul acestui studiu este de a evalua, în dinamică, modificările de coerență optică produse în sângele care se transformă în coagul de fibrină, la un lot de pacienți cu AVC ischemic, comparativ cu un lot de subiecți sănătoși. Am ales acest model de patologie din două motive: 1. abundența de date din literatură care confirmă existența unui status protrombogen la pacienții cu

accidente vasculare; 2. deși exhaustive, aceste date nu răspund la întrebări referitoare la calitatea coagulului format: este eficient, este agresiv pentru endoteliu, este prea aderent sau prea lax, ce proprietăți fizice sunt implicate, care dintre ele sunt alterate? Mai mult decât atât, din documentarea privind evaluarea dinamicii formării coagulului și a calităților biofizice ale acestuia, pe care am efectuat-o cu ocazia acestui studiu am constatat că, o astfel de temă este încă, un demers științific aflat în stadiul incipient. Studiile efectuate prin OCT asupra procesului de coagulare sunt de abia în faza în care se încearcă identificarea unei dinamici și a unor parametri optici care să caracterizeze coagularea fiziologică.

Studiul de față încearcă să ducă explorarea coagulării prin tomografie optică coerentă în patologie, în aria evenimentelor vasculare ischemice cerebrale, în care, de mulți ani se raportează posibile alterări ale hemostazei, fără a avea certitudini în acest sens. Obiectivele studiului sunt: 1. descrierea dinamicii coagulării sângelui în cursul achiziției OCT la un lot de pacienți cu AVC, comparativ cu un lot martor; 2. verificarea ipotezei conform căreia în sângele pacienților cu accident vascular cerebral ischemic, parametrii OCT ar putea fi modificați, ca urmare a modificării proprietăților biofizice ale coagulului de fibrină; 3. identificarea unor posibile comportamente anormale ale dinamicii coagulării în cursul achiziției OCT care să ne permită să considerăm că, astfel de anomalii se pot constitui într-un marker rezonabil al procesului de tromboză și poate, al riscului de tromboză; 4. stabilirea unor posibile corelații care există între diverșii parametri explorați în acest studiu.

4.3. MATERIAL SI METODĂ

Studiul pe care l-am realizat a fost de tip observațional descriptiv. Am investigat dinamica coagulării sângelui la pacienți cu AVC ischemic (probele de sânge fiind prelevate în primele 2 ore de la debutul simptomatologiei neurologice și prezentarea la spital) prin OCT și prin metode temporale, consacrate de măsurare a unor parametri ai coagulării. Evaluarea în paralel a hemostazei prin testele clasice de coagulare am utilizat-o, din mai multe motive: pentru a stabili dacă metoda pe care o propunem prezintă un grad de specificitate în studiul hemostazei din aceasta patologie vasculară; pentru a stabili dacă există corelații între parametrii optici ai rețelei de fibrină, care se constituie în cursul coagulării și timpii de coagulare investigați.

A fost luat în studiu un eșantion de pacienți caucazieni cu ACV ischemic, numărul total fiind de 61 subiecți, dintre care, un număr de 28 femei (45,90%) și 33 bărbați (54,09%), cu o vârstă medie de $72,44 \pm 8,48$ ani și un eșantion de control format din 18 subiecți sănătoși, fără AVC, anomalii ale hemostazei și sănătoși clinic. În acest eșantion, vârsta medie a fost de $67,89 \pm 11,21$, iar ca repartiție pe genuri au fost 10 femei (55,56%) și 8 bărbați (44,44%). În total, numărul subiecților incluși în acest studiu a fost de 79. În final, în funcție de diferitele caracteristici clinice și paraclinice ale pacienților incluși în studiu, lotul inițial de pacienți a fost divizat în subloturi, care au fost luate în considerare în momentul prelucrării statistice: **LOT AVC** - pacienți cu AVC ischemic, **LOT AVC-DZ** - pacienți cu AVC ischemic și cu diabet zaharat de tip 2, **LOT Control** - eșantion de control.

Am realizat acest studiu ținând cont de principiile etice și deontologice ale Declarației Drepturilor Omului de la Helsinki. Fiecare subiect a fost informat despre scopul studiului și modul de desfășurare a acestuia și și-a exprimat acordul pentru participarea voluntară.

4.4. METODE DE LUCRU

Pentru o bună evaluare a stării de sănătate a subiecților din lotul de control, precum și a patologiei vasculare sau a complicațiilor prezente la pacienții cu AVC±DZ s-a parcurs un protocol de lucru care a permis culegerea datelor clinice și paraclinice utilizate în studiu.

Imaginile OCT. Parametrii analizați.

Seriile de imagini ale sângelui care se coagulează au fost obținute cu un sistem OCT - OCT1300SS, Thorlabs aflat în dotarea Laboratorului de Tomografie Optică Coerentă al Universității de Medicină și Farmacie din Craiova. Calibrarea sistemului, gradul de mediere și modalitatea de lucru cu acest sistem au fost supervizate de domnul profesor dr. Eugen Osiac, unul dintre promotorii utilizării acestei tehnici pe țesuturi biologice în România.

Modulul de detecție al sistemului OCT este o cameră CCD. Scanările 3D au fost efectuate pe o lungime de 0.5 mm, care produce o imagine cu un volum de 512x512x512 pixeli. Imaginile finale au fost obținute ca medie a pixelilor. Au fost folosiți aceiași parametrii de preluare a imaginii pentru toate probele prelucrate. Pentru fiecare probă de sânge s-au făcut două seturi de achiziții, pentru a vedea dacă datele sunt reproductibile. Achiziția OCT s-a făcut discontinuu, la startul experimentului, la minutele 4, 9, și 15, de fiecare dată timp de 30s. Toate imaginile au fost analizate cu softul IMAGEJ. Seturi de imagini au fost convertite în stack-uri, fără alte prelucrări anterioare. A fost scăzut zgomotul de fundal folosind un algoritim de prelucrare a imaginii. *Au fost ulterior calculate media, densitatea integrată, coeficienții de asimetrie și boltire ale distribuției probabilistice ale unei variabile aleatorii cu valori reale pentru regiunile de interes, manual selectate.*

Cel mai simplu parametru și cel care oferă cele mai multe informații legate de gradul de reflectivitate al mostrelor de sânge analizate, îl reprezintă *Intensitatea Medie* a nuațelor de gri din imaginea analizată. Acest parametru se obține adunând intensitatea fiecărui pixel din imagine și împărțind la numărul de pixeli. Suma obținută poartă numele de *Densitate Integrată* a imaginii și reprezintă cel de-al doilea parametru analizat în prezenta lucrare. Deoarece, în esență, proba de sânge investigată reprezintă un lichid în care plutesc corpuri de diferite dimensiuni, greutate și forme, am hotărât că o analiză atentă a distribuției intensităților nuațelor de gri reflectate de acestea poate genera informații despre gradul de hazard din proba respectivă. Astfel, s-au analizat parametrii denumiți *skewness și kurtosis*.

4.4.5. Prelucrarea statistică a datelor obținute

Numeroasele valori obținute prin înregistrarea continuă cu OCT-ul a coagulării sângelui integral, au fost prelucrate statistic, pentru a putea defini anumite caracteristici ale proceselor biologice investigate precum și modul în care aceștia pot evolua în timp. Pentru analiza datelor s-au folosit programul Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA), împreună cu add-on-ul XLSTAT 2014 pentru MS Excel (Addinsoft SARL, Paris, Franța) și programul IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). Datele obținute au fost înregistrate în fișiere Microsoft Excel, apoi au fost prelucrate statistic, în vederea analizării relațiilor dintre datele clinice și paraclinice ale pacienților.

CAPITOLUL 5 - REZULTATE

5.1. Caracteristicile loturilor studiate.

În acest subcapitol am evidențiat, statistic, caracteristicile grupului evaluat din punct de vedere al distribuției pe genuri, al vârstei, al statusului ponderal (21 de subiecți - 26.58% au greutatea peste limita de referință pentru genul și vârsta lor, 98,74% dintre aceștia făcând parte dintre pacienții cu AVC. Cei mai mulți supraponderali se află în lotul AVC-DZ, 15 pacienți reprezentând 55.56% din populația acestui lot) și al stilului de viață -*sedentarismul*. Am constatat că numărul sedențarilor este mai mare decât al persoanelor active, reprezentând 51 de subiecți (64.56%) din totalul celor studiați, cei mai mulți dintre ei, 30 (88.24%) regăsindu-se în lotul cu AVC.

5.2. Rezultate obținute la evaluarea prin OCT

Penetranța razei laser - am analizat manual, gradul de penetranță și am observat o diferență semnificativă între cele două loturi ($p < 0.01$). Astfel, chiar dacă, în valori absolute diferența nu a fost cuprinsă decât între 5 și 10 μm , analiza statistică a considerat-o înalt semnificativă.

5.2.1. Analiza discontinuă a probelor de sânge

1. Intensitatea medie a nuațelor de gri. Analiza inițială a intensităților de gri a relevat o valoare medie diferită la cele două grupuri analizate ($p < 0.001$), cu o scădere progresivă a acestora la grupul control și o creștere la cel al pacienților cu AVC.

2. Densitatea integrată a nuațelor de gri. Pentru a avea o imagine globală cât mai amănunțită asupra proceselor celulare și moleculare din probele de sânge analizate, valorile de gri ale fiecărui pixel au fost însumate, obținându-se astfel densitatea integrată a volumului analizat.

Imediat după adăugarea clorurii de calciu, densitatea integrată la cele două loturi nu a arătat diferențe între probe ($p=0.6383$). La patru minute după inițierea reacției, a existat o creștere a acestei sume de aproximativ 2 ori, la pacienții cu AVC, pe când la lotul de control această valoare s-a menținut constantă pe tot parcursul experimentului. Diferența dintre loturi se menține înalt semnificativă, cu valori ale $p<0.001$.

Deoarece a fost analizat un număr foarte mare de date, am hotărât să analizăm modul în care aceste date se distribuie. Astfel au fost analizate skewnesul și kurtosisul valorilor de gri din fiecare imagine achiziționată (peste 300 de imagini pentru fiecare subiect).

Skewnesul. Analiza skewnesului a evidențiat o distribuție asimetrică a reflectivității probelor de sânge la lotul de control, în timp ce lotul cu AVC a înregistrat distribuții relativ simetrice. Ambele loturi au prezentat valori pozitive, cu o deviație la stânga a valorilor intensităților de gri. Această distribuție arată că, la nivelul unui volum de sânge normal, coagularea nu se face într-un mod aleator, existând predominanța unui anumit proces, făcând astfel ca valorile înregistrate să fie asimetrice. Acest "fenomen" nu pare să se mențină la pacienții cu AVC, unde distribuția relativ simetrică a valorilor de gri maschează un proces de coagulare relativ simetric, datorită punctelor de coagulare apărute aleator în volumul analizat.

Kurtosis-ul. Kurtosisul valorilor de gri din proba analizată identifică o distribuție pe o plajă mare a valorilor la lotul de control, comparativ cu lotul pacienților de AVC, fiind identificat același fenomen de coagulare aleatorie la pacienții cu AVC, comparativ cu normalul, unde, pare că există o predilecție față de anumite procese. Analiza statistică a acestor valori a relevat diferențe foarte mari între cele două loturi cu valori ale lui p mult sub limita de semnificație, începând de la 0.1×10^{-6} . În urma analizei amănunțite a modului de distribuție a valorilor de gri, în imaginile analizate, s-a constatat, existența unui posibil proces dinamic și ținut de stabilire a legăturilor celulare în procesul de coagulare a probelor de sânge.

5.2.2. Analiza continuă a probelor de sânge

Deoarece au existat date indirecte ale unui proces de structuralizare ținută în timpul coagulării normale, am hotărât urmărirea în dinamică a acestui proces, prin investigarea continuă timp de 15 minute a coagulării, de la momentul inițierii acesteia. Parametrii analizați au fost păstrați aceiași ca și în cazul analizei discontinue și anume: media intensităților de gri, densitatea integrată a acestor intensități, skewnesul și kurtosisul acestora, singura diferență majoră a fost aceea că, în cazul analizei continue au fost analizate dreptele de regresie ale setului de date înregistrate, pentru a surprinde variația în timp a parametrilor analizați.

1. Intensitatea medie a nuanțelor de gri, înregistrate la pacienții care au suferit un AVC și la pacienții control, relevă o diferență semnificativă a reflectivității tisulare, existând o tendință clară ca, pacienții din lotul control să prezinte valori mai mici, dar cu o pantă mult mai mare comparativ cu controlul.

2. Densitatea integrată. Diferența observată anterior devine și mai evidentă ($p<0.0001$) în cazul calculului pantei de regresie a densității integrate a acestor valori de gri din proba analizată, arătând că tehnica de coerență optică poate diferenția modificări neidentificabile anterior.

Distribuția datelor pare să fie una mult mai aleatorie în cazul pacienților cu AVC, comparativ cu controlul, analizând valorile skewnesului, dar ambele au tendința de a iniția procese mai puțin aleatorii de coagulare. Deși nu foarte evident statistic, pantele de regresie ale celor două seturi de date sunt diferite, arătând că, deși există o tendință de coagulare proporțională, la cele două loturi, timpii prin care cele două procese se vor încheia sunt diferiți ($p<0.0001$). Analizând în detaliu, distribuția intensității pixelilor aceasta se prezintă mult mai omogen la subiecții sănătoși, comparativ cu cei suferinzi de AVC, evidențiind astfel un proces intrinsec de coagulare, aparent modificat la pacienții cu AVC ($p<0.0001$).

Pantele de regresie liniară - skewnesul valorilor de gri la cele două loturi relevă o diferență între modul în care este înregistrată coagularea prin intermediul OCT-ului ($p<0.0001$).

Pantele de regresie liniară - kurtosisul valorilor de gri la cele două loturi relevă de asemenea o diferență între modul în care este înregistrată coagularea prin intermediul OCT-ului ($p<0.0001$).

Aceste modificări, deși extrem de încurajatoare, necesită o analiză mult mai atentă pentru a confirma datele actuale.

CONCLUZII

1. Studiul a avut ca scop să evalueze, în dinamică, modificările proprietăților optice ale sângelui, care se produc în timpul coagulării, la un lot de pacienți cu AVC ischemic, comparativ cu un lot de subiecți sănătoși, clinic și anamnestic.
2. Au fost explorați prin tomografie optică coerentă - OCT și prin diferite investigații clinico-biologice un număr de 79 de subiecți, cu o vârstă medie de 69.67 ± 7.77 , dintre care 41 (51.90%) bărbați și 38 (48.10%) femei, repartizați în 3 loturi de studiu: cu AVC ischemic, cu AVC ischemic și DZ și un lot de control.
3. Din analiza parametrilor optici la subiecții admiși în studiu am constatat:
 - gradul de penetranță (distanța) a fasciculului luminos prin sângele care se coagulează este cu 5-10 μm mai mic la lotul AVC, comparativ cu lotul control, cu o diferență semnificativă statistic ($p < 0.01$);
 - intensitatea medie a nuanțelor de gri a relevat o valoare medie diferită la cele două grupuri analizate ($p < 0.001$), cu o scădere progresivă a acestora la grupul control și o creștere la cel cu AVC;
 - densitatea integrată a nuanțelor de gri nu a arătat diferențe între loturi ($p = 0.6383$) pentru momentul inițial, dar în minutul 4 a crescut de aproximativ 2 ori la pacienții cu AVC, comparativ cu controlul ($p < 0.00$);
 - analiza skewnesului a evidențiat o distribuție asimetrică a reflectivității probelor de sânge la lotul de control, în timp ce lotul cu AVC a înregistrat distribuții relativ simetrice, sugerând un proces de coagulare aleator;
 - kurtosisul valorilor de gri din proba analizată identifică o distribuție pe o plajă mare a valorilor la lotul de control, comparativ cu lotul pacienților de AVC, fiind identificat același “fenomen” de coagulare aleatorie la pacienții cu AVC;
 - reflectivitatea tisulară variază în funcție de timp, existând o tendință clară ca la pacienții AVC să prezinte valori mai mici, dar cu o pantă mult mai mare comparativ cu controlul;
 - panta de regresie a densității integrate a valorilor de gri indică o modificare a intensității pe parcursul perioadei de coagulare, arătând că tehnica de coerență optică poate diferenția modificări neidentificabile anterior;
 - statistic, pantele de regresie ale celor două seturi de date sunt diferite, arătând că, deși există o tendință de coagulare proporțională la cele două loturi, timpii prin care cele două procese se vor încheia, sunt diferiți ($p < 0.0001$);
 - distribuția intensității pixelilor se prezintă mult mai omogen la subiecții sănătoși, comparativ cu cei suferinzi de AVC, evidențiind astfel un proces intrinsec de coagulare, aparent modificat la pacienții cu AVC ($p < 0.0001$).
4. Analiza parametrilor clasici ai hemostazei:
 - nu a evidențiat modificări ale valorilor pentru APTT, TQ, INR, procent de protrombină, parametri care se înscriu în limitele de referință la toți pacienții din studiu;
 - concentrația de fibrinogen este crescută la lotul AVC– DZ (medie de 416.66 ± 33.46 mg/dl), cu 21,74% față de lotul control ($p < 0,01$);
 - numărul de trombocite este semnificativ mai mare la pacienții cu AVC față de lotul control (creștere cu 94,32%), deși valoarea se menține în limitele de referință;

5. Pacienții cu AVC au o concentrație plasmatică a colesterolului crescută (valoarea medie de 236.42 mg/dl) cu 27.76% față de lotul de control.
6. Posibilitatea identificării unor procese intrinseci alterate în timpul coagularii la pacienții cu AVC, comparativ cu lotul de control, prin intermediul OCT-ului, demonstrează capacitatea acestei tehnici de analiză a țesuturilor moi, sau a celor lichide, așa cum este sângele

Concluzia finală.

Studiul realizat în lucrarea de față, referitor la proprietățile optice ale coagulului de fibrină explorate prin OCT, la pacienți cu AVC, nu este menționat în literatura de specialitate.

Din rezultatele noastre, OCT pare că oferă posibilitatea identificării unor procese intrinseci alterate în timpul coagularii sîngelui la pacienții cu AVC, comparativ cu lotul de control.

Aceste modificări, desi extrem de încurajatoare, necesită o analiză mult mai aprofundată pentru a confirma datele actuale.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- [1] Adams & Victor. Principles of neurology/ Allan H. Rooper, MD Martin A. Samuels, Ninth edition, McGraw-Hill Companies, New York, 2009, pg: 778 – 885.
- [5] Xu X, Lin J, Fu F. Optical coherence tomography to investigate optical properties of blood during coagulation. *J Biomed Opt.* 2011 Sep;16(9):096002.
- [6] Xu X, Geng J, Liu G, Chen Z. Evaluation of optical coherence tomography for the measurement of the effects of activators and anticoagulants on the blood coagulation in vitro. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2013 Aug;60(8):2100–6.
- [12] Krishnamurthi RV, Feigin VL, Forouzanfar MH, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, Moran AE, Sacco RL, Anderson LM, Truelsen T, O'Donnell M, Venketasubramanian N, Barker-Collo S, Lawes CM, Wang W, Shinohara Y, Witt E, Ezzati M, Naghavi M, Murray C; Global Burden of Diseases, Injuries, Risk Factors Study 2010 (GBD 2010); GBD Stroke Experts Group. Global and regional burden of first-ever ischaemic and haemorrhagic stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Glob Health.* 2013 Nov;1(5): e259-81.
- [28] Dirnagl U. Pathobiology of injury after stroke: the neurovascular unit and beyond. *Ann N Y Acad Sci* 2012;1268:21–25.
- [29] Xing C, Arai K, Lo EH, Hommel M. Pathophysiologic cascades in ischemic stroke. *Int J Stroke.* 2012 Jul;7(5):378-85.
- [96] Pham LD, Hayakawa K, Seo JH, Nguyen MN, Som AT, Lee BJ, et al. Crosstalk between oligodendrocytes and cerebral endothelium contributes to vascular remodeling after white matter injury. *Glia* 2012; 60:875–881.
- [134] Kramer MC, Rittersma SZ, de Winter RJ, et al: Relationship of thrombus healing to underlying plaque morphology in sudden coronary death. *J Am Coll Cardiol*, 2010; 55:122.
- [135] Fisher MJ. Brain Regulation of Thrombosis and Hemostasis. *Stroke*, 2013; 44:3275-3285.
- [147] Gersh KC, Edmondson KE, Weisel JW. Flow rate and fibrin fiber alignment. *J Thromb Haemost.* 2010; 8:2826–2828.
- [152] Podoleanu AG. Optical coherence tomography. *J Microsc*, 2005; 247 (3):209–19.
- [153] Osiac E, Bălșeanu T-A, Bogdan C, Osiac M. Tomografie optică coerentă : Aplicații speciale în medicină. Craiova: Editura Sitech; 2014. 103 p.
- [154] Popescu DP, Choo-Smith L-P, Flueraru C, Mao Y, Chang S, Disano J, et al. Optical coherence tomography: fundamental principles, instrumental designs and biomedical applications. *Biophys Rev.* 2011 Sep 1;3(3):155.
- [155] Zysk AM, Nguyen FT, Oldenburg AL, Marks DL, Boppart SA. Optical coherence tomography: a review of clinical development from bench to bedside. *J Biomed Opt.* 2007 Sep;12(5):51403.
- [156] Fujimoto JG. Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging. *Nat Biotechnol.* 2003;21(11):1361.
- [157] Chen J, Lee L. Clinical applications and new developments of optical coherence tomography: an evidence-based review. *Clin Exp Optom.* 2007 Sep;90(5):317-35.
- [159] Yaqoob Z, Wu J, McDowell EJ, Heng X, Yang C. Methods and application areas of endoscopic optical coherence tomography. *J Biomed Opt.* 2006 Nov;11(6):63001.
- [160] Hartinger AE, Nam AS, Chico-Calero I, Vakoc BJ. Monte Carlo modeling of angiographic optical coherence tomography. *Biomed Opt Express.* 2014 Nov 20;5(12):4338-49.
- [216] Osiac E, Balseanu T-A, Catalin B, Mogoanta L, Gheonea C, Dinescu SN, Albu CV, Cotoi BV, Tica O-S, Sfredel V: Optical coherence tomography as a promising imaging tool for brain investigations. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 2014, 55(2):507-512.