



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ - ΜΟΝΑΔΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ Π.Γ.Ν. "ΑΤΤΙΚΟΝ»
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΤΣΑΝΤΕΣ ΑΡΓΥΡΙΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ:
ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΤΗ
ΝΕΟΓΝΟΛΟΓΙΑ**

ΡΟΖΕΤΑ ΣΩΚΟΥ

Παιδίατρος-Νεογνολόγος

Επιμελήτρια Α' ΕΣΥ

ΜΕΝΝ ΓΝΝΠ «Άγιος Παντελεήμων»

ΑΘΗΝΑ 2018



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ - ΜΟΝΑΔΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ Π.Γ.Ν. "ΑΤΤΙΚΟΝ»
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΤΣΑΝΤΕΣ ΑΡΓΥΡΙΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ:
ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΤΗ
ΝΕΟΓΝΟΛΟΓΙΑ**

ΡΟΖΕΤΑ ΣΩΚΟΥ

Παιδίατρος-Νεογνολόγος

Επιμελήτρια Α' ΕΣΥ

ΜΕΝΝ ΓΝΝΠ «Άγιος Παντελεήμων»

ΑΘΗΝΑ 2018

Ημερομηνία αίτησης διατριβής: 28.05.2014

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 24.07.2014

Έγγραφο αλλαγής μέλους της συμβουλευτικής επιτροπής (20.08.2018): του Ομότιμου Καθηγητή Νεογνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας Αντώνη Γούναρη, με την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο Νικολέττα Ιακωβίδου

Μέλη τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1. Τσαντές Αργύριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, ΕΚΠΑ, Τμήμα Ιατρικής Σχολής
2. Νικολέττα Ιακωβίδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
3. Βαλσάμη Σερένα, Επίκουρη Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ Ν.Υ. Αιμοδοσίας-Αιματολογικό Εργαστήριο, «Αρεταίειο»

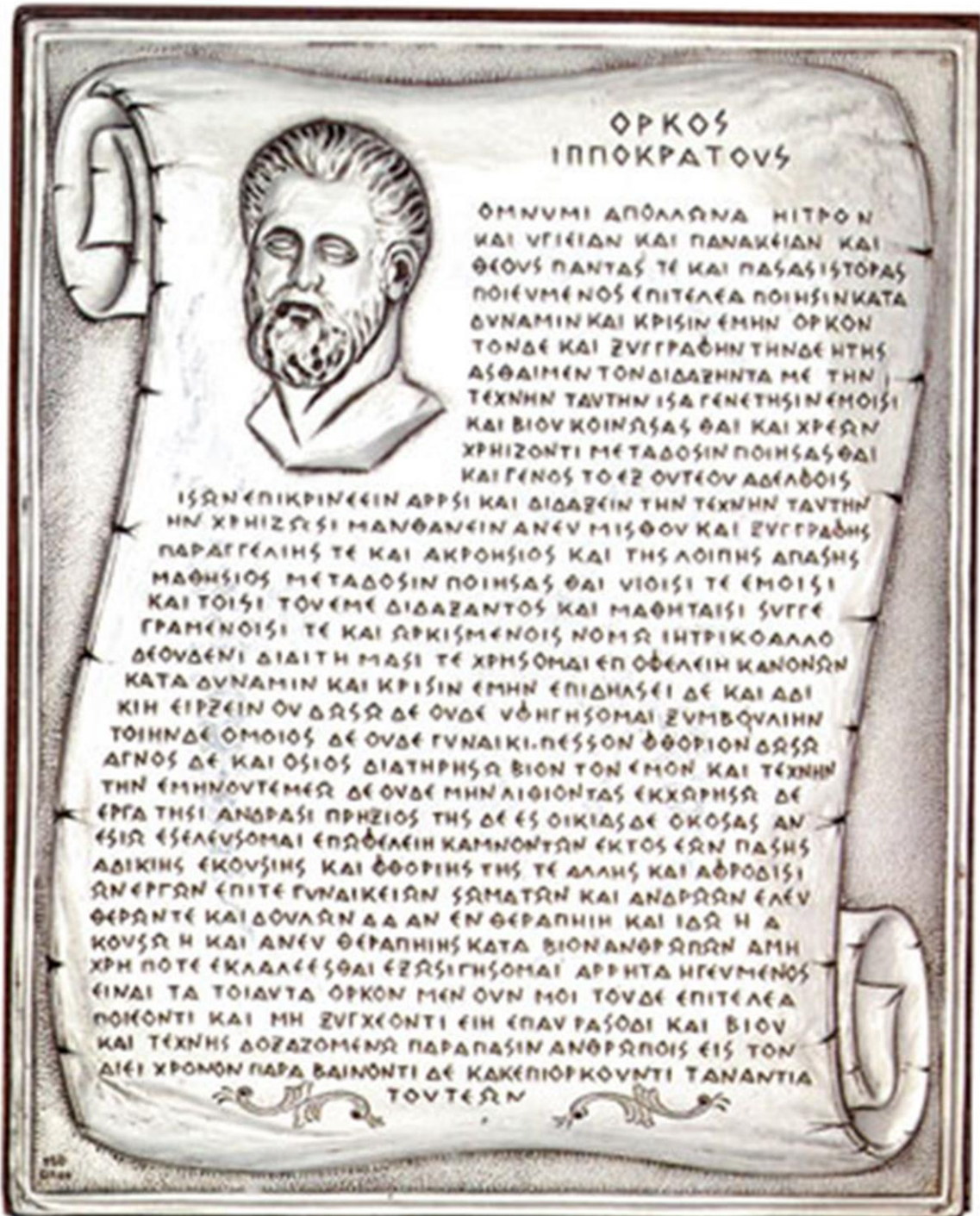
Ημερομηνία ορισμού θέματος διατριβής: 17.10.2014

Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής:

Μέλη επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

1. Παπαευαγγέλου Βασιλική, Καθηγήτρια Παιδιατρικής – Λοιμωξιολογίας, Διευθύντρια Γ' Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών, Π. Γ. Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»
2. Τσαντές Αργύριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, ΕΚΠΑ, Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Διευθυντής Αιματολογικού Εργαστηρίου -Μονάδα Αιμοδοσίας, Π.Γ.Ν. "ΑΤΤΙΚΟΝ»
3. Ιακωβίδου Νικολέττα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
4. Γιαλεράκη Αργυρή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοχημείας, ΕΚΠΑ Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Αιματολογικό Εργαστήριο - Μονάδα Αιμοδοσίας Π.Γ.Ν. "ΑΤΤΙΚΟΝ»
5. Βαλσάμη Σερένα, Επίκουρη Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ Ν.Υ. Αιμοδοσίας-Αιματολογικό Εργαστήριο, «Αρεταίειο»
6. Κοκόρη Στυλιανή, Αιματολόγος, Επίκουρη Καθηγήτρια ΕΚΠΑ, Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Αιματολογικό Εργαστήριο - Μονάδα Αιμοδοσίας Π.Γ.Ν. "ΑΤΤΙΚΟΝ»
7. Μητσιάκος Γεώργιος, Επίκουρος Καθηγητής Νεογνολογίας, Β' Νεογνολογικής Κλινικής και ΜΕΝΝ ΑΠΘ, Γ.Ν.Θ. Παπαγεωργίου

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Πέτρος Π. Σφηκάκης



ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Επώνυμο / Όνομα: Σώκου Ροζέτα

Διεύθυνση: Τσαμαδού 66 Πειραιά

Τηλέφωνο: 2104101898

6945107498 (κινητό)

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: sokourozeta@yahoo.gr

Υπηκοότητα: Ελληνική

Ημερομηνία γέννησης: 07-10-1975

Φύλο: Θήλυ

Οικογενειακή κατάσταση: Έγγαμη με ένα παιδί

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ:

1994-2000 Πτυχίο Ιατρικής Σχολής Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων,
Βαθμός πτυχίου: Λίαν Καλως

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ:

13-11-2008 Απόκτηση τίτλου ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ Ειδικότητας
08-07-2011 Απόκτηση τίτλου εξειδίκευσης στην Νεογνολογία
24-07-2014 - έως και σήμερα Υποψήφια Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

7/3/2001-6/6/2001 Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων «Γ. Χατζηκώστα». Τρίμηνη υποχρεωτική εκπαίδευση.
7/6/2001-6/6/2002 Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων «Γ. Χατζηκώστα» Κ.Υ. Δερβιζιάνων. Εκπλήρωση της δωδεκάμηνης υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου.
7/6/2002-6/12/2002 Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων «Γ. Χατζηκώστα» Κ.Υ. Δερβιζιάνων. Παράταση παραμονής στη θέση ιατρού σε υπηρεσία υπαίθρου.
28/5/2003-4/4/2005 Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας. Ειδικευομένη ιατρός στην Παιδιατρική (2 χρόνια).
5/4/2005-29/8/2005 Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας -

	Θωρακοχειρουργική Κλινική. Θέση υπεραρίθμου ειδικευόμενου ιατρού.
29/8/2005-1/3/2006	Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας - Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών. Θέση υπεραρίθμου ειδικευόμενου ιατρού.
2/3/2006-18/8/2006	Ιδιωτική Ψυχιατρική Κλινική «Ιπποκράτειο» Λάρισα. Θέση έμμισθου ιατρού.
21/8/2006-10/9/2008	Γενικό Νοσοκομείο Νίκαιας "Άγιος Παντελεήμων" - Παιδιατρική Κλινική. Ειδικευόμενη ιατρος (2 χρόνια).
11/9/2008-6/11/2008	Γενικό Νοσοκομείο Νίκαιας "Άγιος Παντελεήμων" - Παιδιατρική Κλινική. Θέση Ειδικευόμενου Ιατρού - Παράταση ειδικότητας.
30/4/2009-31/4/2011	MENN - Γενικού Νοσοκομείου Νίκαιας "Άγιος Παντελεήμων". Εξειδικευόμενη στη Νεογνολογία (2 χρόνια)
1/05/2011-1/05/2011	MENN - Γενικού Νοσοκομείου Νίκαιας "Άγιος Παντελεήμων". Έμμισθη εξειδικευόμενη σε παράταση εξειδίκευσης
01/06/2011-9/9/2014	MENN - Γενικού Νοσοκομείου Νίκαιας "Άγιος Παντελεήμων". Επιμελήτρια Β' Νεογνολογικού Τμήματος κλάδου Ιατρών Ε.Σ.Υ.
30/09/2014 - έως και σήμερα	MENN - Γενικού Νοσοκομείου Νίκαιας "Άγιος Παντελεήμων". Επιμελήτρια Α' Νεογνολογικού Τμήματος κλάδου Ιατρών Ε.Σ.Υ
09/03/2015 - έως και σήμερα	Επιστημονικός συνεργάτης Νεογνολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Αρεταίειο Νοσοκομείο.

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ Αγγλικά - Πολύ καλά

ΆΛΛΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ Αυτοματισμός και οργάνωση Ιατρικού γραφείου με την χρήση Η/Υ (WindowsΧρ, ExcelXP, PowerPointXP, και Internet) Επίπεδο:Core

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ**ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΚΕΦΑΛΑΙΩΝ ΒΙΒΛΙΩΝ**

19^η Εντατική Θεραπεία & Επείγουσα Ιατρική – Οξυγόνο & Οξυγονοθεραπεία, 2016
(Κεφάλαιο 4. Οξυγονοθεραπεία, Ενότητα 33: Οξυγονοθεραπεία στα νεογνά, σελ: 269 – 278)
Α.Κωνσταντινίδη, **Ρ.Σώκου**, Ν.Ιακωβίδου

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ-----43

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ-----39

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ-----31

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ-----6

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ-----46

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ-----15

ΚΡΙΤΗΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ-----2

1. Reviewing the manuscript SPAE-2014-0729 entitled "Peripheral venous catheter related complications are common among pediatric and neonatal patients" Acta Paediatrica.
2. Reviewing the manuscript JPEN-2014-11-316.R1 entitled "case series: peripherally inserted central catheters complicated by vascular erosion in neonates" The Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ-----4

1. Speletas M, Gounaris A, Sevdali E, Kompoti M, Konstantinidi K, **Sokou R**, Tsitsami E, Germenis AE. **MBL2 Genotypes and their Associations with MBL Levels and NICU Morbidity in a Cohort of Greek Neonates.** J Immunol Res. 2015;2015:478412. doi:

10.1155/2015/478412. Epub 2015 Mar 24.

2. **Sokou R**, Foudoulaki-Paparizos L, Lytras T, Konstantinidi A, Theodoraki M, Lambadaridis I, Gounaris A, Valsami S, Politou M, Gialeraki A, Nikolopoulos GK, Iacovidou N, Bonovas S, Tsantes AE. **Reference ranges of thromboelastometry in healthy full-term and pre-term neonates**. Clin Chem Lab Med. 2017 Aug 28;55(10):1592-1597. doi: 10.1515/cclm-2016-0931.
3. **Sokou R**, Giallourous G, Konstantinidi A, Pantavou K, Nikolopoulos G, Bonovas S, Lytras T, Kyriakou E, Lambadaridis I, Gounaris A, Douramani P, Valsami S, Kapsimali V, Iacovidou N, Tsantes AE. **Thromboelastometry for diagnosis of neonatal sepsis-associated coagulopathy: an observational study**. Eur J Pediatr. 2018 Mar;177(3):355-362. doi: 10.1007/s00431-017-3072-z. Epub 2017 Dec 18.
4. Kollia M., **Sokou R.**, Patsouras G., Panagiotounakou P., Iacovidou N., Konstantinidi A. **Congenital diaphragmatic hernia and double-outlet right ventricle: elements of trisomy 18?** Case Reports in Perinatal Medicine, 7(1), pp. -. Retrieved 21 Jul. 2018, from doi:10.1515/crpm-2017-0028

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ ΒΡΑΒΕΙΑ-----2

ΒΡΑΒΕΙΟ 1ης ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗΣ «ΜΑΡΙΕΤΤΑ ΞΑΝΘΟΥ» 6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νεογνολογίας, Αθήνα, 20 Μαΐου 2016.

“Θρομβοελαστογραφία. Φυσιολογικές τιμές και εφαρμογή στην Κλινική Νεογνολογία”. **Ρ.Σώκου**, Α.Κωνσταντινίδη, Γ.Καραβάνα, Γ.Πατσούρας, Κ.Λαμπροπούλου, Μ.Θεοδωράκη, Ι.Λαμπαδαρίδης, Α.Γούναρης.

ΒΡΑΒΕΙΟ στο 10^ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ, Αθήνα 2018
“Η θρομβοελαστομετρία (TEM) στην πρώιμη διάγνωση της νεογνικής σηψαιμίας στις μονάδες εντατικής νοσηλείας νεογνών (MENN)”.

Ρ. Σώκου, Α. Κωνσταντινίδη, Ι. Λαμπαδαρίδης, Ν. Ιακωβίδου, Σ. Βαλσάμη, Α. Γούναρης, Η. Κυριάκου, Γ. Κατσαδιώτης, Θ. Χρυσικού, Α. Πουλής, Α. Κυπραίου, Μ. Τάιχερτ, Π. Ντουραμάνη, Α. Τσαντές.

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ-ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ-----133

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΔΙΕΘΝΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ-ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ-----27

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	12
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	17
I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	19
1. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ	20
1.1 Εισαγωγή	20
1.2 Πρωτογενής αιμόσταση	22
1.3 Δευτερογενής αιμόσταση	26
1.4 Μηχανισμός ινωδόλυσης	34
2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ	38
2.1 Έλεγχος του αγγειακού συστήματος και των αιμοπεταλίων	38
2.2 Ο έλεγχος της ενδογενούς και της εξωγενούς οδού της πήξης	41
2.3 Έλεγχος του μηχανισμού της ινωδόλυσης	45
3. Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΗΞΗΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΕΜΒΡΥΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	48
3.1 Πρωτογενής αιμόσταση	50
3.2 Δευτερογενής αιμόσταση στην εμβρυϊκή και νεογνική ζωή	55
4. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ	68
4.1 Κληρονομικές διαταραχές της πήξης	69
4.2 Επίκτητες διαταραχές της αιμόστασης	72
4.3 Επίκτητες και συγγενείς θρομβωτικές διαταραχές των νεογνών	81
5. ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ - ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑΣ / ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑΣ	89
5.1 Η τεχνική της θρομβοελαστογραφίας/θρομβοελαστομετρίας (TEG/TEM)	92
5.2 Η καθολική εμπειρία της χρήσης της θρομβοελαστογραφίας/θρομβοελαστομετρίας (TEG/TEM) στη νεογνολογία	98
6. ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΣΗΨΑΙΜΙΑ	101
6.1 Η διάγνωση της DIC στη σήψη και ο ρόλος των συμβατικών δοκιμασιών πήκτικότητας ως	

βιοδείκτες στη σήψη-----	108
6.2 Διαγνωστικά και προγνωστικά scores-----	110
6.3 Θεραπευτική προσέγγιση-----	112
II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ-----	113
1. ΣΚΟΠΟΣ-----	114
2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ-----	115
3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ-----	122
3.1 Τιμές αναφοράς των παραμέτρων TEM σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά-----	122
3.2 Μεταβολές των παραμέτρων TEM στα νεογνά με υποψία / ή επιβεβαιωμένη σηψαιμία-----	122
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-----	123
4.1 Τιμές αναφοράς των παραμέτρων TEM σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά-----	123
4.2 Μεταβολές των παραμέτρων TEM στα νεογνά με υποψία/ή επιβεβαιωμένη σηψαιμία-----	128
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-----	134
5.1 Τιμές και εύρος αναφοράς των παραμέτρων TEM σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά--	134
5.2 Μεταβολές των παραμέτρων TEM στα νεογνά με υποψία/ή επιβεβαιωμένη σηψαιμία-----	137
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-----	143
7. ΠΕΡΙΛΗΨΗ-----	144
8. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ-----	148
III. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ-----	151
IV. ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ-----	165

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

AAP = American Academy of Pediatrics

ACCP/SCCM = American College of Chest Physicians και η Society of Critical Care Medicine

ACOG = American College of Obstetricians and Gynecologists

ADP = διφωσφορική αδενοσίνη

AGA = νεογνά με κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης

AIS = αρτηριακό ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο

APC = ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C

aPTT = ενεργοποιημένος χρόνος μερικής (ατελούς) θρομβοπλαστίνης

AT = αντιθρομβίνη

ATP = τριφωσφορική αδενοσίνη

BPD = βρογχοπνευμονική δυσπλασία

CFT = χρόνος δημιουργίας θρόμβου (κατά ROTEM)

CO₂ = διοξείδιο του άνθρακα

CRP = C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

CRT = Επίκτητες θρομβωτικές διαταραχές-Σχετικές με την ύπαρξη κεντρικού καθετήρα

CT = αξονική τομογραφία

CT = χρόνος πήξης (κατά ROTEM)

Da = daltons

D-d, D-dimers = D διμερή θραύσματα

DIC = disseminated intravascular coagulation- Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη

DVT = εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση

ECMO = εξωσωματική οξυγόνωση με μεμβράνη – Extracorporeal membrane oxygenation

EDRF = endothelium-derived releasing factor

EPI = αναστολέας της εξωγενούς οδού της πήξης (extrinsic pathway inhibitor)

EXTEM = αντιδραστήριο για την ανίχνευση της εξωγενούς οδού πήξης και της αλληλεπίδρασης της με τα αιμοπετάλια σε αίμα με κιτρικό (αντιδραστήρια που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις ιστικού

παράγοντα και φωσφολιπιδίων)

F/FDPs = προϊόντα αποδομής ινώδους και ινωδογόνου-fibrin/fibrinogen degradation products

FFP = φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα

GPIb = γλυκοπρωτεΐνης Ib

ICH = ενδοκράνια αιμορραγία

INR (International Normalised Ratio)

IPF = κλάσματα άωρων αιμοπεταλίων (Immature Platelet Fractions)

ISI = δείκτης ευαισθησίας του χρησιμοποιούμενου αντιδραστηρίου (International Sensitivity Index)

ISLH = Διεθνής Εταιρεία Εργαστηριακής Αιματολογίας-International Society of Laboratory Haematology

ISTH = Διεθνής Εταιρεία Θρόμβωσης Αιμόστασης

IUGR = νεογνό με ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης

IVC = κάτω κοίλη φλέβα

IVH = ενδοκοιλιακή αιμορραγία

LAT = λανθάνουσα (latent) αντιθρομβίνη

LDH = γαλακτική αφυδρογονάση

LMWH = χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη

LY30%, LY45%, LY60% = βαθμός-ρυθμός της ινωδόλυσης, ποσοστό μείωσης του πλάτους του θρόμβου στα 30, 45 και 60 λεπτά αντίστοιχα

MA = μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (κατά TEG[®] 500)

MCF = μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (κατά ROTEM)

ML (%) = μέγιστη λύση του θρόμβου

MODS = Multiple Organ Dysfunction Syndrome –Σύνδρομο πολυοργανικής δυσλειτουργίας

MPV = μέσος όγκος αιμοπεταλίων (mean platelet volume)

MRI = μαγνητική τομογραφία

MW = μοριακό βάρος

NAT = φυσική (native) αντιθρομβίνη

NICU = μονάδα εντατικής θεραπείας νεογνών

NO = μονοξείδιο του αζώτου (nitric oxide)

PAF = παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor)

PAI = αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (Plasminogen activator inhibitor)

PC = πρωτεΐνη C

PCR = Polymerase Chain Reaction-Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

PCT = αιμοπεταλιοκρίτης (Plateletcrit)

PCT = προκαλσιτονίνη ορού ☒

PDW = εύρος κατανομής (του μεγέθους) των αιμοπεταλίων (Platelet Distribution Width)

PEEP = τελεοεκπνευστική πίεση

PFA -100 = platelet function analyser Αναλυτής λειτουργίας αιμοπεταλίων

PGI2 = προστακυκλίνη

POC = (point-of-care medical device)

PS = πρωτεΐνη S

PT = χρόνος προθρομβίνης

PTT = χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (partial thromboplastin time)

PVT = θρόμβωση της πυλαίας φλέβας

R = χρόνος πήξης (κατά TEG[®] 500)

RT = χρόνος ρεπιτάσης

RVT = θρόμβωση της νεφρικής φλέβας

SCC = Η επιτροπή της Περιγεννητικής και Παιδιατρικής Αιμόστασης

SD = τυπική απόκλιση

SGA = μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό

SIRS = Systemic Inflammatory Response Syndrome- Σύνδρομο φλεγμονώδους αντίδρασης

SNAP-PE = Score for Neonatal Acute Physiology - Perinatal Extension

TAFI = ενεργοποιημένος από τη θρομβίνη αναστολέας της ινωδολύσης (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor)

TEG = θρομβοελαστογραφία

TF = ιστικός παράγοντας (tissue factor)

TFPI = αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (Tissue Factor Pathway Inhibitor)

t-PA = ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator)

TT = χρόνος θρομβίνης

TxA2 = A2 θρομβοξάνη

UAC = καθετήρας ομφαλικής αρτηρίας

UACRT = θρομβωτικό αρτηριακό επεισόδιο, σχετιζόμενο με τον καθετηριασμό της ομφαλικής αρτηρίας

UFH = μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη

uPA = πλασμινογόνο τύπου ουροκινάσης

UVCs = ομφαλικοί φλεβικοί καθετήρες

VKDB = αιμορραγία λόγω ανεπάρκειας βιταμίνης K

vWF = παράγοντας vonWillebrand

ΑΜΠ = αμοπετάλια

ΑΦΜ = αφαιμαξομετάγγιση

Γωνιά α = εκφράζει την ταχύτητα σύνθεσης – ενίσχυσης του θρόμβου

ΔΕΠ = διάχυτη ενδαγγειακή πήξη

ΕΠΧΒΓ = εξαιρετικά πολύ χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά

ΚΚ = καλλικρεΐνη

ΚΜΜΒ = κινινογόνο μεγάλου μοριακού βάρους

ΜΕΝΝ = μονάδα εντατικής θεραπείας νεογνών

ΝΕΚ = νεκρωτική εντεροκολίτιδα

ΡΑΙ-1 = αναστολέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

ΡΑΙ-2 = αναστολέας-2 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

ΣΑΔ = σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας του νεογνού

ΣΔ = Σακχαρώδης Διαβήτης

Σταθερά G/MCE = ένα αριθμητικό μέτρο της συνολικής ισχύος του θρόμβου

Σταθερά K = εκφράζει τον χρόνο δημιουργίας θρόμβου (κατά TEG[®] 500)

TEM = θρομβοελαστομετρία

TEP = τελευταία έμμηνος ρύση

TM = θρομβομοδουλίνη

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής αποτελεί μια μοναδική, εποικοδομητική αλλά και επίπονη διαδικασία, για την διεξαγωγή της οποίας απαιτείται προσωπικός αγώνας. Η υλοποίηση της, όμως, είναι αδύνατη, χωρίς την συμβολή άλλων προσώπων.

Η διατριβή αυτή πραγματοποιήθηκε στη Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ στο Αιματολογικό Εργαστήριο - Μονάδα Αιμοδοσίας Π.Γ.Ν. 'Αττικόν'. Η συλλογή του δείγματος έγινε στην ΜΕΝΝ και στη Μαιευτική Κλινική του Γ.Ν. Νίκαιας «Άγιος Παντελεήμων» κατά το χρονικό διάστημα Ιούνιος 2014 – Φεβρουάριος 2016.

Πριν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω ορισμένους από τους ανθρώπους που γνώρισα, εργάστηκα μαζί τους και έπαιξαν πολύ σημαντικό ρόλο στην πραγματοποίησή της.

Φτάνοντας στο τέλος ενός μεγάλου ταξιδιού δεν μπορώ να μη στρέψω το βλέμμα των αναμνήσεών μου προς την αρχή του. Εκεί όπου με άπειρη καλοσύνη ο κ. Ιωάννης Λαμπαδαρίδης, ο τωως Διευθυντής της ΜΕΝΝ του Γ. Ν. Νίκαιας «Άγιος Παντελεήμων», στάθηκε δίπλα μου, μου έδωσε το έναυσμα της διατριβής βοηθώντας με να κάνω τα πρώτα μου στέρεα επιστημονικά βήματα, τον οποίο από τη θέση αυτή θερμώς ευχαριστώ.

Σε αυτό το σημείο αισθάνομαι την ανάγκη να μνημονεύσω την αείμνηστη Λεοντίνη Παπαρίζου-Φουντουλάκη, Διευθύντρια του Κέντρου Αιμοδοσίας του Γ.Ν. Νίκαιας Πειραιά «Άγιος Παντελεήμων», η οποία μου έδωσε τις αρχικές κατευθύνσεις και στάθηκε σημαντικός αρωγός στην προσπάθειά μου, χάθηκε όμως νωρίς αφήνοντας μεγάλο κενό στο Τμήμα Αιμοδοσίας αλλά και στην καρδιά μας.

Ως την ελάχιστη δυνατή μνεία, με την παρούσα παράγραφο οφείλω να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην εκπόνησή της διατριβής και ιδιαίτερα: τον επιβλέποντα καθηγητή της διατριβής, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, Τμήμα Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Αργύρη Τσαντέ, για την πολύτιμη υποστήριξή του, τις παραγωγικές υποδείξεις του και το πολύ καλό κλίμα συνεργασίας που διαμόρφωσε, συμβάλλοντας τα μέγιστα για την εκπόνηση της.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Ομότιμο Καθηγητή Νεογνολογίας Πανεπιστήμιου Θεσσαλίας κ.Αντώνη Γούναρη ως Δάσκαλο και Μέντορα στα πρώτα μου βήματα στη Νεογνολογία και επίσης για την πολύτιμη βοήθεια και συμπαράστασή του σε όλα τα στάδια εκπόνησης της διδακτορικής μου διατριβής.

Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Νικολέττα Ιακωβίδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής στο Αρεταίειο Νοσοκομείο, η οποία έδειξε εμπιστοσύνη στο πρόσωπό μου και της οποίας η παρουσία, η προθυμία και η καθοδήγηση ήταν αδιάκοπα αισθητές καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

Ευχαριστώ ιδιαίτερω τους κ.κ. Θοδωρή Λύτρα, Γεώργιο Γιάλλουρα, Γεώργιο Νικολόπουλο και Στέφανο Μπινόβα, για την πολύτιμη συμβολή τους στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης. Ευχαριστώ θερμά και την Σερένα Βαλσάμη, Επίκουρη Καθηγήτρια της

Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ Ν.Υ. Αιμοδοσίας-Αιματολογικό Εργαστήριο, Αρεταίειο Νοσοκομείο, ως μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για την υποστήριξή της στην ολοκλήρωση της διατριβής αυτής.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην αγαπημένη μου φίλη και συνάδελφο κα. Κωνσταντινίδα Αικατερίνη, Διευθύντρια ΕΣΥ ΜΕΝΝ Γ. Ν. Νίκαιας «Άγιος Παντελεήμων», η οποία έχει το χάρισμα να επιβάλλει την τάξη στο χάος, αλλά κυρίως την ευχαριστώ διότι ως «φωνή της διατριβής» ανέδειξε με τον καλύτερο τρόπο τα αποτελέσματα της μελέτης μας σε όλα τα τοπικά και διεθνή επιστημονικά συνεδρία, συμβάλλοντας στη καλύτερη αξιολόγηση τους από τις επιστημονικές επιτροπές και στην βράβευση ανακοινώσεων των αποτελεσμάτων της διατριβής σε δυο πανελλήνια συνέδρια.

Και τελευταίο, το μεγαλύτερο και πιο αξιοσέβαστο ευχαριστώ άλλα και ταυτόχρονα χρέος το οφείλω στην οικογένειά μου- κόρη και σύζυγο μου, οι οποίοι χρειάστηκε να υπομείνουν ατελείωτες νύχτες και αμέτρητα Σαββατοκύριακα που μοναδική σκέψη και ασχολία μου δεν ήταν άλλη από την εκπόνηση της διατριβής. Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ ανήκει στον σύζυγο μου, ο οποίος όχι μόνο μοιράστηκε τις χαρές, τον ενθουσιασμό, αλλά και τις λύπες και απογοητεύσεις που μου επιφύλασσε η κάποιες φορές μαγική και άλλες απάνθρωπη, διαδικασία εκπόνησης της διατριβής, αλλά με υπομονή και κουράγιο μου προσέφερε την απαραίτητη ηθική συμπαράσταση για την ολοκλήρωσή της.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

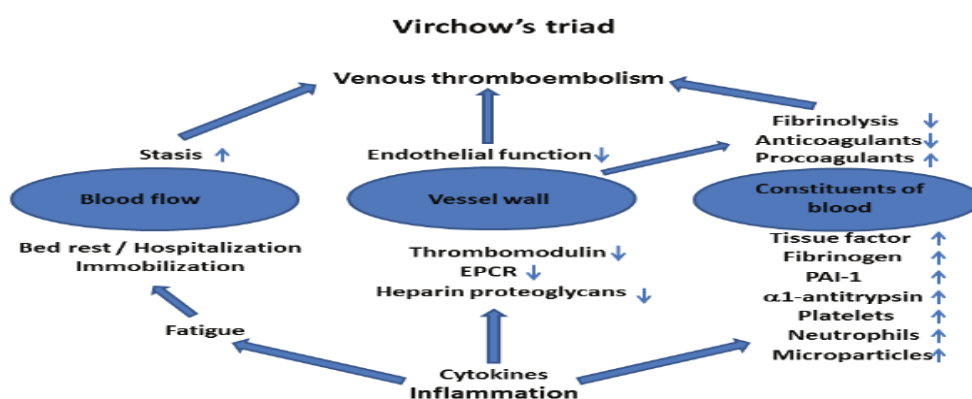
Η φυσιολογική αιμόσταση περιλαμβάνει την πρωτογενή, τη δευτερογενή αιμόσταση και την ινωδόλυση. Για να επιτευχθεί η πρωτογενής αιμόσταση χρειάζεται ένα ακέραιο αγγείο, αλλά και φυσιολογικός αριθμός, όσο και καλή λειτουργικότητα αιμοπεταλίων. Σήμερα, ισχύει το κυτταρικό μοντέλο της πήξης. Όλη η διαδικασία της αλληλοδιάδοξης ενεργοποίησης των παραγόντων πήξης, λαμβάνει χώρα σε επιφάνειες αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων. Η θρομβίνη είναι το μόριο κλειδί, το οποίο με θετικούς και αρνητικούς μηχανισμούς ανάδρασης, ελέγχει τόσο τη γένεση του θρόμβου, όσο και τη διάλυσή του σε περιπτώσεις υπέρμετρης αύξησής του. Ο βασικός εργαστηριακός έλεγχος αιμόστασης περιλαμβάνει τη μέτρηση των αιμοπεταλίων, του χρόνου προθρομβίνης (PT), του χρόνου ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης (αPTT) και του ινωδογόνου.

1.1 Εισαγωγή

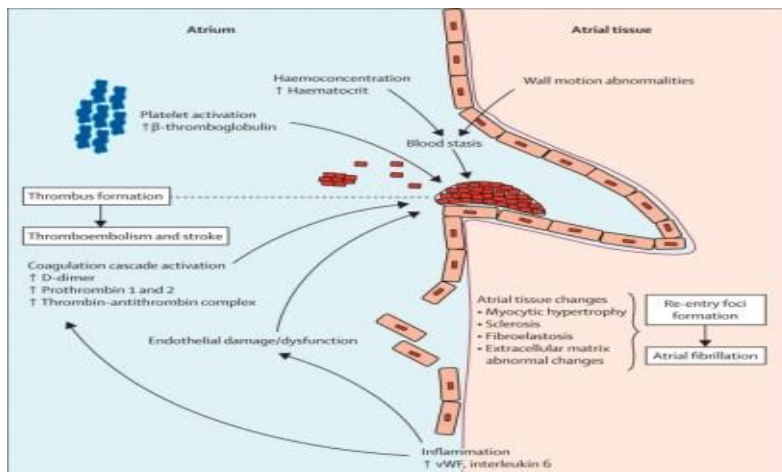
Ο όρος αιμόσταση σημαίνει την παρακώλυση της απώλειας αίματος. Η αιμόσταση είναι ένας θεμελιώδης αμυντικός μηχανισμός για τον άνθρωπο, ο οποίος περιλαμβάνει ένα σύνολο πολύπλοκων βιοχημικών μηχανισμών και μηχανισμών αλληλεπίδρασης μεταξύ του ενδοθηλίου του αγγείου, κυττάρων του αίματος (κυρίως των αιμοπεταλίων) και «παραγόντων της πήξης», με σκοπό την μόνιμη και αποτελεσματική επίσχεση της αιμορραγίας όταν υπάρχει τραυματισμός και ταυτόχρονα, τη διατήρηση του αίματος στα αγγεία σε ρευστή κατάσταση, ώστε να παρεμποδίζεται η θρόμβωση[1-5]. Όταν η αλληλεπίδραση αυτή εξελίσσεται φυσιολογικά, καταλήγει στην βέλτιστη αιμόσταση, ενώ όταν είναι υπέρμετρη, οδηγεί στη θρόμβωση[1].

Σύμφωνα με τη θεωρία του Virchow (περιγράφηκε το 19ο αιώνα), η παθογένεια της θρόμβωσης περιλαμβάνει είτε διαταραχή της ροής του αίματος, είτε βλάβη στο ενδοθήλιο, είτε υπερπηκτικότητα [6].

Σχήμα 1 και 2– Τριάδα του Virchow[7, 8]



Σχήμα 1



Σχήμα 2

Όπως φαίνεται από το σχήμα (βλ. σχήμα 1 και 2), η παρουσία κάθε μίας παραμέτρου χωριστά (δηλαδή – Υπεργλυκότητα αίματος – Στάση αίματος – Βλάβη τοιχωμάτων αγγείων) μπορεί δυνητικά να προκαλέσει θρόμβωση αλλά και εμβολικά επεισόδια. Βέβαια ο συνδυασμός ή/και η παρουσία και των τριών παραμέτρων αυξάνει δραματικά τις πιθανότητες θρόμβωσης και εμβολής. Ο γιατρός Rudolf Virchow μελετούσε αρχικά τους αιτιολογικούς παράγοντες της πνευμονικής εμβολής με ειδική αναφορά στις θρομβοφλεβίτιδες των κάτω άκρων και τη σχέση τους με την εμφάνιση της πνευμονικής εμβολής. Ιστορικά πάντως στοιχειά, αναφέρουν ότι ο Virchow δεν περιέγραψε τη βλάβη του ενδοθηλίου σαν παράγοντα θρόμβωσης, εύρημα το οποίο πρωτοανέφερε

Όταν ένα αγγείο διαταμεί ή υποστεί ρήξη, η αιμόσταση επιτυγχάνεται με διάφορους μηχανισμούς, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται οι εξής βασικοί: 1) σπασμός του αγγείου, 2) σχηματισμός αιμοπεταλιακού θρόμβου (λευκός θρόμβος), 3) πήξη του αίματος και 4) ανάπτυξη ινώδους ιστού μέσα στο θρόμβο του αίματος, με στόχο την μόνιμη απόφραξη της οπής του αγγείου[2, 3]. Η διαδικασία της αιμόστασης αρχίζει μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα από την αγγειακή κάκωση, αλλά δεν ολοκληρώνεται παρά μόνο μετά από πάροδο μερικών λεπτών, μέχρι περίπου μιας ώρας. Για περιγραφικούς λόγους, η αιμόσταση μπορεί να συνοψισθεί στα ακόλουθα τρία στάδια:

1. Πρωτογενής αιμόσταση, που συνίσταται σε σύσπαση του τραυματισμένου αγγείου, αποκάλυψη του υπενδοθηλιακού κολλαγόνου και προσκόλληση – συσσώρευση στην επιφάνεια του τραύματος αιμοπεταλίων, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός «πρωτογενούς αιμοπεταλιακού θρόμβου» (λευκού θρόμβου) και έχει χρονική διάρκεια 3-7 λεπτά.
2. Δευτερογενής αιμόσταση, που συνίσταται σε δημιουργία ενός πλέγματος ινώδους (πήγμα ινικής) στη θέση του πρωτογενούς αιμοστατικού θρόμβου, με απώτερο στόχο την σταθεροποίηση αυτού (σε αυτή τη διαδικασία συμμετέχουν οι παράγοντες πήξης, οι αναστολείς πήξης και ποικίλα κύτταρα). Η δημιουργία του πήγματος ινικής εκτιμάται με την μέτρηση του χρόνου πήξης του ολικού αίματος, οποίος είναι κατά μέσον όρο 8 - 10 λεπτά. Στη δευτερογενή αιμόσταση συμπεριλαμβάνεται και η συστολή του θρόμβου–διαδικασία κατά την οποία το χαλαρό δίκτυο των συσσωρευμένων αιμοπεταλίων, των χορδών ινώδους και των παγιδευμένων ερυθροκυττάρων μετασχηματίζεται σε σταθερό θρόμβο. Η διαδικασία αυτή ολοκληρώνεται με τη συστολή της θρομβοσθενίνης (ενδοαιμοπεταλιακής πρωτεΐνης τύπου

λείας μυϊκής ίνας), η οποία συνεπάγεται την συμπίεση του θρόμβου. Η συστολή του θρόμβου όπως έχει εκτιμηθεί *in vitro*, απαιτεί περίπου 1 ώρα.

3. Ινωδόλυση – διαδικασία που αποτρέπει την υπερβολική αύξηση του θρόμβου και μεσολαβεί στη διάλυσή του.

1.2 Πρωτογενής αιμόσταση

Ο Αγγειακός μηχανισμός

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η ενδοαυλική επιφάνεια του αγγείου είναι κατ' εξοχήν «αντιθρομβωτική»[2] Έτσι, το άθικτο ενδοθήλιο αναστέλλει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων (ΑΜΠ) και των λευκών αιμοσφαιρίων, ευοδώνει την αγγειοδιαστολή και προλαμβάνει τη θρόμβωση. Αμέσως μετά διατομή ή ρήξη του αγγείου, το ερέθισμα του τραυματισμού του αγγείου προκαλεί τη συστολή του τοιχώματός του. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται αφενός η άμεση ελάττωση της εκροής αίματος από το αγγειακό ρήγμα και αφετέρου η έναρξη της αιμοστατικής διαδικασίας.

Η συστολή του αγγείου προκαλείται τόσο με νευρογενή αντανακλαστικά, όσο και με τοπικό μυογενή σπασμό και τοπικούς χυμικούς παράγοντες που προέρχονται από τους τραυματισμένους ιστούς και τα αιμοπετάλια [9, 10]. Τα νευρογενή αντανακλαστικά ενεργοποιούνται είτε με αλγινό ερέθισμα, είτε με άλλα ερεθίσματα τα οποία προέρχονται από το τραυματισμένο αγγείο ή τους γειτονικούς ιστούς. Μολοταύτα, το μεγαλύτερο μέρος του σπασμού φαίνεται να οφείλεται στην τοπική μυογενή συστολή του αιμοφόρου αγγείου, αποτέλεσμα της άμεσης βλάβης του αγγειακού τοιχώματος. Όσο μεγαλύτερη είναι η βλάβη του αγγείου, τόσο μεγαλύτερος είναι και ο βαθμός του σπασμού. Ο αγγειακός μηχανισμός κινητοποιείται από την επίδραση του αυτόνομου νευρικού συστήματος πάνω στο μυϊκό ιστό των αγγείων, με τη διαμεσολάβηση διαβιβαστών όπως η σεροτονίνη, η επινεφρίνη και η νοραδρεναλίνη [11-14]. Ο μηχανισμός της συστολής του αγγείου είναι πολύ γρήγορος και στα πολύ μικρά αγγεία αρκεί από μόνος του, για να σταματήσει την αιμορραγία. Δεν είναι όμως επαρκής όταν ο τραυματισμός είναι εκτεταμένος και το αγγείο μεγάλο. Ο τοπικός αυτός αγγειακός σπασμός μπορεί να διαρκέσει για αρκετά λεπτά, είτε ακόμα και για ώρες, κατά την διάρκεια των οποίων προχωρούν ταυτόχρονα οι διεργασίες του σχηματισμού του αιμοπεταλιακού θρόμβου και της πήξης του αίματος. Οι κυριότερες ουσίες που συντίθενται και εκκρίνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα ρυθμίζοντας την αιμόσταση είναι [2, 15-17]:

1. Το κολλαγόνο - εκκρίνεται από το υποενδοθήλιο.
2. Ο αναστολέας της εξωγενούς οδού της πήξης (extrinsic pathway inhibitor EPI) - εκκρίνεται

από το ενδοθήλιο.

3. Ο EDRF (endothelium derived releasing factor) ή μονοξείδιο του αζώτου (nitric oxide, NO)-προκαλεί αγγειοδιαστολή.
4. Η προστακυκλίνη PGI₂ - παρεμποδίζει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και προκαλεί αγγειοδιαστολή.
5. Οι μιμητές της ηπαρίνης (heparinsulfates) - βρίσκονται στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων και προσδίδοντας τους αρνητικό φορτίο, εμποδίζουν την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, ενώ παράλληλα σε συνέργεια με τα μόρια της αντιθρομβίνης αναστέλλουν την ενδογενή οδό της πήξης.
6. Η θρομβομοδουλίνη (thrombomodulin) - βρίσκεται στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων και σε συνεργασία με τη θρομβίνη ενεργοποιεί την Πρωτεΐνη C (αναστολέα της πήξης) .
7. Ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου t-PA (tissue plasminogen activator). Το πλασμινογόνο ενεργοποιεί την αποδόμηση του ινώδους.
8. Ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου PAI (Plasminogen activator inhibitor)- αναστέλλει τη δράση του t-PA.
9. Ο παράγοντας vonWillebrand (vWF) - συμμετέχει στο μηχανισμό συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και επιπλέον είναι πρωτεΐνη-μεταφορέας του παράγοντα FVIII.

Τα αιμοπετάλια(ΑΜΠ)

Φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά των αιμοπεταλίων.

Η ονομασία αιμοπετάλιο αναφέρεται στη μορφολογία του κυττάρου, ενώ η ονομασία θρομβοκύτταρο αναφέρεται στη συμμετοχή του στο σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου αρχικά και του αιμοστατικού θρόμβου τελικά.

Τα αιμοπετάλια είναι στρογγύλοι ή ωοειδείς δίσκοι με διάμετρο 2 – 4 μικρόμετρα (2-4 μm) και όγκο 7 fl. Παράγονται στον μυελό των οστών από τα μεγακαρυοκύτταρα (εξαιρετικά μεγάλα κύτταρα της αιμοποιητικής σειράς), τα οποία κατακερματίζονται προς αιμοπετάλια είτε μέσα στο μυελό των οστών, είτε νωρίς μετά την είσοδο τους στην κυκλοφορία και ιδιαίτερα κατά την δίοδο τους μέσα από τα τριχοειδή της πνευμονικής κυκλοφορίας. Κάθε μέρα παράγονται 14-40x10⁸ αιμοπετάλια, ώστε να διατηρείται σταθερός ο αριθμός τους. Η φυσιολογική συγκέντρωση των αιμοπεταλίων στο αίμα είναι 150.000-400.000 ανά κυβικό χιλιοστόμετρο αίματος. Συγκεντρώνουν πολλαπλά λειτουργικά χαρακτηριστικά ολοκληρωμένων κυττάρων, παρόλο που δε διαθέτουν πυρήνα και ικανότητα πολλαπλασιασμού[4, 18]. Μέσα στο κυτταρόπλασμα τους υπάρχουν παράγοντες όπως:

1. Μόρια ακτίνης και μυοσίνης, όμοια με εκείνα που περιέχονται στα μυϊκά κύτταρα, καθώς και μια άλλη συστατική πρωτεΐνη, η θρομβοσθενίνη. Όλα αυτά δίνουν τη δυνατότητα στα

αιμοπετάλια να συστέλλονται.

2. Υπολείμματα τόσο του ενδοπλασματικού δικτύου, όσο και της συσκευής Golgi, τα οποία συνθέτουν διάφορα ενζυμα και αποθηκεύουν μεγάλες ποσότητες ιόντων ασβεστίου.
3. Μιτοχόνδρια και ένζυμα με ικανότητα σχηματισμού τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) και διφωσφορικής αδενοσίνης (ADP).
4. Ενζυμικά συστήματα τα οποία συνθέτουν προσταγλανδίνες – τοπικές ορμόνες που προάγουν πολλούς και διάφορους τύπους αγγειακών και τοπικών ιστικών αντιδράσεων.
5. Ο σταθεροποιητικός παράγων του ινώδους.
6. Ο αυξητικός παράγων υπεύθυνος για τον πολλαπλασιασμό και την αύξηση των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων, των αγγειακών λείων μυϊκών ινών και των ινοβλαστών, με απώτερο στόχο την αποκατάσταση του αγγειακού τοιχώματος μετά από βλάβη.

Ιδιαίτερη σημασία παρουσιάζει η μεμβράνη των αιμοπεταλίων με την κλασσική κατασκευή από δύο στρώματα λιπιδίων με ενσωματωμένα πρωτεϊνικά μόρια. Διαχωρίζεται ως εξής :α) στην εξωτερική, η οποία είναι ουδέτερα φορτισμένη και έτσι δεν παίρνει μέρος στην αιμόσταση και β) στην εσωτερική, που αποτελείται από φωσφατιδυλοσερίνη και φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη με αρνητικό φορτίο και προπηκτικές ιδιότητες. Το αιμοπετάλιο αποτελεί ενεργό στοιχείο του αίματος[19-21]. Έχει χρόνο ζωής 8-12 ημέρες, στο τέλος των οποίων οι ζωτικές του λειτουργίες φαίνεται να εξαντλούνται και αποσύρεται από την κυκλοφορία, κατά κύριο λόγο, με το σύστημα των ιστικών μακροφάγων, με τα περισσότερα από τα μισά αιμοπετάλια να απομακρύνονται από τα μακροφάγα μέσα στο σπλήνα (δικτυοενδοθηλιακό σύστημα του σπληνός).

Η λειτουργία των ΑΜΠ.

Η πρωτογενής αιμόσταση περιλαμβάνει τους μηχανισμούς που καταλήγουν στη δημιουργία ενός διαλυτού (εύθρυπτου) αιμοπεταλιακού θρόμβου μέσα σε λίγα λεπτά από τη στιγμή του τραυματισμού. Ο θρόμβος αυτός σταματά προς στιγμήν την απώλεια του αίματος, όμως δεν είναι αρκετά σταθερός για να αποτρέψει την αιμορραγία. Η ανεπιθύμητη αύξηση του μεγέθους του θρόμβου ελέγχεται από το γειτονικό αγγειακό ενδοθήλιο με την παραγωγή του NO και της προστακυκλίνης, που αναστέλλουν την ενεργοποίηση των ΑΜΠ και προκαλούν αγγειοδιαστολή.

Η επιδιόρθωση των «ανοιγμάτων-οπών» στα αγγεία, επιτελείται μέσω ορισμένων σημαντικών λειτουργιών του ιδίου του αιμοπεταλίου:

(α) την προσκόλληση των ΑΜΠ στο υπενδοθήλιο (adhesion) [22-24]:

όταν τα αιμοπετάλια έρθουν σε επαφή με την αγγειακή επιφάνεια που έχει υποστεί την βλάβη (όπως είναι οι αποκεκαλυμμένες ίνες του κολλαγόνου στο αγγειακό τοίχωμα ή τα ενδοθηλιακά του

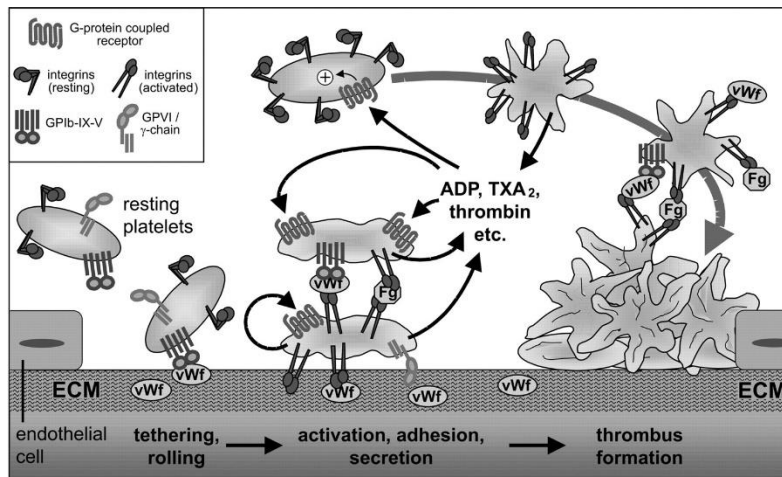
κύτταρα που εμφανίζουν βλάβη), υφίστανται άμεση και δραστική μεταβολή των χαρακτηριστικών τους. Η προσκόλληση των ΑΜΠ στο ενδοθήλιο του τραυματισμένου αγγείου επιτυγχάνεται μέσω του παράγοντα von Willebrand (vWF)[20, 25]. Το μόριο αυτό συνδέεται με το κολλαγόνο του υπενδοθηλίου και στη συνέχεια με τον υποδοχέα της γλυκοπρωτεΐνης Ib (GPIb) που βρίσκεται στην επιφάνεια των ΑΜΠ. Αμέσως μετά την προσκόλληση, τα ΑΜΠ ενεργοποιούνται.

(β) την αντίδραση απελευθέρωσης κοκκίων από το αιμοπετάλιο (release reaction) [26, 27].

Η ενεργοποίηση των ΑΜΠ είναι υπεύθυνη για την αλλαγή του σχήματος τους και την απελευθέρωση των κοκκίων τους (αντίδραση απελευθέρωσης). Αρχίζουν να διογκώνονται και προσλαμβάνουν διάφορα ακανόνιστα σχήματα, με πολλές ακτινοειδείς προσεκβολές στην επιφάνειά τους. Οι συσταλτικές πρωτεΐνες των αιμοπεταλίων συσπώνται με δύναμη και προκαλούν την απελευθέρωση των κοκκίων, τα οποία περιέχουν πολλαπλούς δραστικούς παράγοντες.

(γ) τη συσσώρευση των ΑΜΠ για τη δημιουργία θρόμβου (aggregation)[2].

Το περιεχόμενο των κοκκίων (που προαναφέρθηκε) έχει ιδιότητες ενεργοποιητού της συσσώρευσης των ΑΜΠ. Τα αιμοπετάλια καθίστανται κολλώδη, με αποτέλεσμα να προσκολλούνται στις ίνες του κολλαγόνου και να εκκρίνουν μεγάλα ποσά ADP, ενώ παράλληλα, στο κυτταρόπλασμά τους ενισχύεται η μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε A2 θρομβοξάνη (TxA2) που επιτείνει την αγγειοσυστολή. Η ADP και η θρομβοξάνη με τη σειρά τους, επιδρούν σε γειτονικά αιμοπετάλια για να τα ενεργοποιήσουν, με αποτέλεσμα η παραγόμενη κολλώδης επιφάνειά τους να συντελέσει στην προσκόλληση τους πάνω στα αιμοπετάλια που είχαν ενεργοποιηθεί από πριν, ενισχύοντας την διαδικασία της συσσώρευσης [2, 28]. Το ινωδογόνο, η φιβρονεκτίνη και η βιτρονεκτίνη, αποτελούν τα μόρια μέσω των οποίων συνενώνονται μεταξύ τους τα ενεργοποιημένα ΑΜΠ. Επιπλέον, η γλυκοπρωτεΐνη GPIIb/IIIa και η γλυκοπρωτεΐνη GPIb των ΑΜΠ, παίζουν το ρόλο της «γέφυρας», συμμετέχοντας ενεργά στη δημιουργία ενός πρωτογενούς αιμοστατικού θρόμβου-αιμοπεταλιακού θρόμβου [20, 22, 25]. Ο θρόμβος αυτός ονομάζεται και «λευκός θρόμβος», γιατί στο εσωτερικό του δεν υπάρχουν «παγιδευμένα» ερυθρά αιμοσφαίρια. Πρόκειται μάλλον για έναν χαλαρό θρόμβο που θα μπορούσε να πετύχει την αναστολή της περαιτέρω εκροής αίματος, εφόσον το άνοιγμα στο αγγείο είναι μικρό. Στη συνέχεια, κατά την διάρκεια της διεργασίας της πήξης του αίματος, σχηματίζονται δοκίδες ινώδους, οι οποίες προσκολλώνται στα αιμοπετάλια, ώστε να σχηματίζεται ένας ανθεκτικός και ανένδοτος (αδιάλυτος) θρόμβος. Εάν το άνοιγμα στο αγγείο είναι μικρό, ο λευκός θρόμβος από μόνος του μπορεί να αναστείλει πλήρως την απώλεια αίματος, εάν όμως η οπή είναι μεγάλη, ο σχηματισμός του «πλήρους» θρόμβου αίματος είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την αναστολή της αιμορραγίας.

Σχήμα 3. Ενεργοποίηση και προσκόλληση των αιμοπεταλίων [29]

1.3 Δευτερογενής αιμόσταση

1.Η Πήξη του αίματος

Περισσότερες από 50 διαφορετικές ουσίες που αφορούν στην πήξη του αίματος έχουν ανευρεθεί στο αίμα και στους ιστούς. Αυτές που προάγουν την πήξη ονομάζονται πηκτικοί παράγοντες, ενώ εκείνες που αναστέλλουν την πήξη ονομάζονται αντιπηκτικοί παράγοντες. Η πήξη του αίματος εξαρτάται από το βαθμό ισορροπίας που υφίσταται μεταξύ των δυο αυτών ομάδων [30]. Φυσιολογικά υπερिशύουν οι αντιπηκτικοί παράγοντες και κατά συνέπεια, το αίμα παραμένει σε ρευστή μορφή. Όταν όμως επέλθει αγγειακή ρήξη, οι πηκτικοί παράγοντες στην περιοχή της βλάβης “ενεργοποιούνται” και υπερτερούν κατά μεγάλο βαθμό έναντι των αντιπηκτικών παραγόντων, με συνέπεια το σχηματισμό θρόμβου [30]. Το σύστημα της πήξης αποτελείται από πρωτεΐνες του πλάσματος (παράγοντες πήξης και φυσικοί αναστολείς της πήξης), κυτταρικά στοιχεία (αιμοπετάλια, λευκά αιμοσφαίρια) και συστατικά του αγγειακού ενδοθηλίου [30-33]. Σε φυσιολογικές συνθήκες, οι περισσότεροι παράγοντες του συστήματος είτε δεν είναι εκτεθειμένοι στην κυκλοφορία, είτε κυκλοφορούν με την μορφή αδρανών ζυμογόνων (προενζύμων) σε ποσότητες πολύ μεγαλύτερες από εκείνες που απαιτούνται για την πήξη. Οι περισσότεροι παράγοντες είναι πρωτεΐνες-ένζυμα που έχουν ένα ενεργό ενζυμικό κέντρο το οποίο περιέχει σερίνη και είναι γνωστοί ως «πρωτεάσες της σερίνης». Μοναδική εξαίρεση αποτελεί το ασβέστιο (Ca-IV). Η πρόκληση αγγειακής βλάβης, έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης και τη μετατροπή των παραγόντων αυτών από την μορφή αδρανών ζυμογόνων σε ενζυμικά ενεργείς μορφές, «αποκόπτοντας» ένα τμήμα τους και «αποκαλύπτοντας» το ενεργό ενζυμικό τους κέντρο. Η ενεργοποιημένη μορφή των παραγόντων υποδηλώνεται με το γράμμα “a” (activated) που αναγράφεται δίπλα στο λατινικό αριθμό τους. Από τις πρωτεΐνες της πήξης, οι παράγοντες II, VII, IX και X παρουσιάζουν μεγάλο

βαθμού ομολογία ως προς την ενζυμική τους δραστικότητα, ενώ οι παράγοντες V και VIII είναι μόνο συμπαράγοντες χωρίς ενζυμική δράση. Η σύνθεση των παραγόντων γίνεται στα ηπατικά κύτταρα, με εξαίρεση τον VIII που συντίθεται πιθανώς στα ηπατικά κολποειδή από άλλα κύτταρα, καθώς και σε άλλες περιοχές του σώματος. Σε περίπτωση ηπατικής ανεπάρκειας έχουμε αιμορραγική διάθεση. Η σύνθεση των βιολογικά δραστικών μορφών των παραγόντων II, VII, IX και X αλλά και των πρωτεϊνών-C και -S, εξαρτάται από τη βιταμίνη K. Στην τελευταία αυτή σχέση οφείλεται και η δράση των κουμαρινικών αντιπηκτικών. Στο ήπαρ παράγονται επίσης το ινωδογόνο και οι αναστολείς των πρωτεασών, των οποίων οι συγκεντρώσεις τους είναι δυνατόν να ελαττωθούν σε περιπτώσεις ηπατοπάθειας, αλλά η φυσιολογική σύνθεση και η λειτουργία τους δεν απαιτούν την παρουσία της βιταμίνης K. Ο παράγων του vonWillebrand, όπως και ο ιστικός παράγοντας ενεργοποίησης του πλασμινογόνου συντίθενται στο αγγειακό ενδοθήλιο. Μολονότι ο παράγων vonWillebrand κυκλοφορεί στο αίμα σε μακρομοριακό σύμπλεγμα με τον παράγοντα VIII, οι δύο αυτές ουσίες παράγονται σε διαφορετικές θέσεις, ρυθμίζονται από διαφορετικά γονίδια και έχουν τελείως διαφορετική δομή και λειτουργία.

Σχήμα 4. Περιγραφή κύριων παραγόντων πήξης.

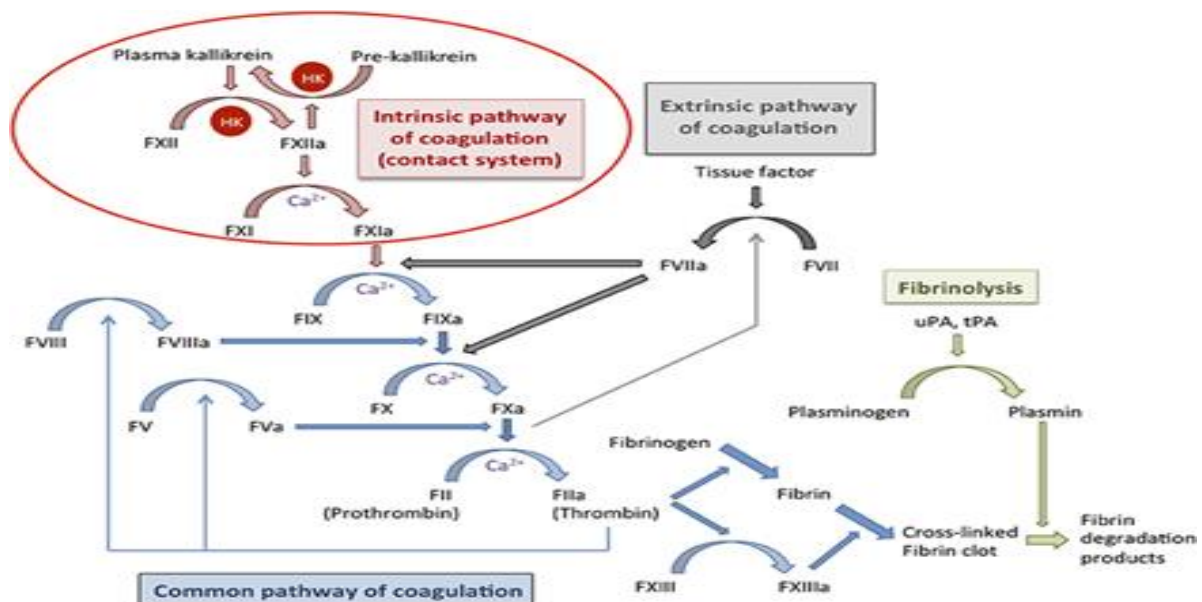
Παράγοντας	Περιγραφή	Λειτουργικότητα
Ινωδογόνο Ι	μοριακό βάρος (MW) = 340,000 daltons (Da), γλυκοπρωτεΐνη	αποτελεί το υπόστρωμα της θρομβίνης- αποτελεί και πρωτεΐνη οξείας φάσης
Προθρομβίνη ΙΙ	MW = 72,000 Da βιταμινο-Κ εξαρτώμενη πρωτεάση σερίνης	αποτελεί βασικό ζυμογόνο της πήξης
ΙΙΙ Ιστικός παράγοντας ή θρομβοπλαστίνη	MW = 37,000 Da	ο αρχικός παράγοντας ενεργοποίησης της εξωγενούς οδού
Ασβέστιο ΙV		
Παράγοντας V ή Labile	MW = 330,000 Da	επιταχυντής της ενεργοποίησης της προθρομβίνης
Παράγοντας VII (proconvertin)	MW = 50,000 Da βιταμινο-Κ εξαρτώμενη πρωτεάση σερίνης	μαζί με τον ιστικό παράγοντα ενεργοποιεί την εξωγενή οδό
Παράγοντας VIII Αντιαιμοφιλική σφαιρίνη A	MW = 330,000 Da στο πλάσμα κυκλοφορεί ως σύμπλεγμα, που δημιουργεί με τον παράγοντα vWF	συμπαράγοντας για την ενεργοποίηση του X στην ενδογενή οδό
Παράγοντας IX Αντιαιμοφιλική σφαιρίνη B Christmas factor	MW = 55,000 Da βιταμινο-Κ εξαρτώμενη πρωτεάση σερίνης	ενεργοποίηση του X στην ενδογενή οδό
Παράγοντας X ή Stuart Prower factor	MW = 58,900 Da βιταμινο-Κ εξαρτώμενη	αποτελεί βασικό ζυμογόνο της κοινής οδού της πήξης
Παράγοντας XI	MW = 160.000 ανήκει στις πρωτεάσες σερίνης	ενεργοποίηση του X στην ενδογενή οδό
Παράγοντας XII ή Hageman factor	MW = 80.000 ανήκει στις πρωτεάσες σερίνης	ο αρχικός παράγοντας ενεργοποίησης της ενδογενούς οδού
Παράγοντας XIII	MW = 320,000 Da	σταθεροποίηση του ινώδους
κινογόνο μεγάλου μοριακού βάρους (KMMB ή HMWK)	MW = 110000 Da	συμπαράγοντας του παράγοντα XI
προκαλλικρεΐνη	MW = 85000 Da	συμπαράγοντας για την ενεργοποίηση του XII στην ενδογενή οδό
Παράγοντας vonWillebrand	MW=500 έως 20,000 kDa	συμμετέχει στο μηχανισμό συσσώρευσης των ΑΜΠ και είναι πρωτεΐνη μεταφορέας του παράγοντα VIII.

Η διεργασία της πήξης του αίματος πραγματοποιείται σε τρία βασικά στάδια [34-37]:

1. σχηματισμός του ενεργοποιητή της προθρομβίνης σε απάντηση του οργανισμού στη ρήξη του αγγείου είτε σε φλεγμονώδη διέγερση.
2. ο ενεργοποιητής της προθρομβίνης καταλύει τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη.
3. η δράση της θρομβίνης ως ένζυμο για να μετατρέψει το ινωδογόνο σε δοκίδες ινώδους, μέσα στο

δίκτυο των οποίων εγκλωβίζονται αιμοπετάλια, ερυθροκύτταρα και άλλα κύτταρα του αίματος μαζί με πλάσμα για το σχηματισμό του θρόμβου.

Ο μηχανισμός της πήξης αποτελείται από ένα σύνολο διαδοχικών-αλυσιδωτών αντιδράσεων («καταρράκτης»), οι οποίες ενεργοποιούνται με καταλυτικούς μηχανισμούς και έχουν ως τελικό στόχο τη μετατροπή του διαλυτού ινωδογόνου σε αδιάλυτο ινώδες και στη συνέχεια σε δίκτυο ινικής. Οι καταλυτικές αυτές αντιδράσεις αλληλορυθμίζονται με μηχανισμούς θετικής ή αρνητικής ανάδρασης. Το κλασικό μοντέλο της πήξης περιγράφει έναν «καταρράκτη» από αντιδράσεις (Σχήμα 5 [38]), οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα τη διαδοχική ενεργοποίηση των διαφόρων παραγόντων της πήξης μέσω δύο ξεχωριστών οδών (ενδογενής-εξωγενής). Η ενεργοποίηση της «ενδογενούς» οδού, γίνεται μέσω του συστήματος «επαφής» και της «εξωγενούς», μέσω του ιστικού παράγοντα.



Σχήμα 5. Το κλασικό μοντέλο του «καταρράκτη» της πήξης μέσω των δύο διαφορετικών οδών: της εξωγενούς (extrinsic pathway), με ενεργοποίηση του ιστικού παράγοντα και της ενδογενούς (intrinsic pathway) με ενεργοποίηση του συστήματος επαφής (Front Cell Infect Microbiol. 2014).

Η ενδογενής οδός της πήξης πυροδοτείται με ενεργοποίηση του παράγοντα XII επάνω στην αλλοιωμένη αγγειακή επιφάνεια (ενδοθηλίο και υπενδοθηλιακή στιβάδα) ή σε άλλη αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια, π.χ. μια γυάλινη επιφάνεια. Συμπαράγοντες ή προαγωγοί της ενεργοποίησης του παράγοντα XII, είναι η προκαλλικρεΐνη, το κινινογόνο μεγάλου μοριακού βάρους (KMMB) και ο παράγοντας XI. Σχηματίζεται έτσι ένα σύμπλεγμα πάνω στην αλλοιωμένη αγγειακή επιφάνεια, το οποίο ενεργοποιεί με αποτελεσματικό τρόπο τον παράγοντα XII. Στη συνέχεια ο ενεργοποιημένος παράγων (XIIa) δρώντας σαν ένζυμο, καταλύει την ενεργοποίηση του παράγοντα

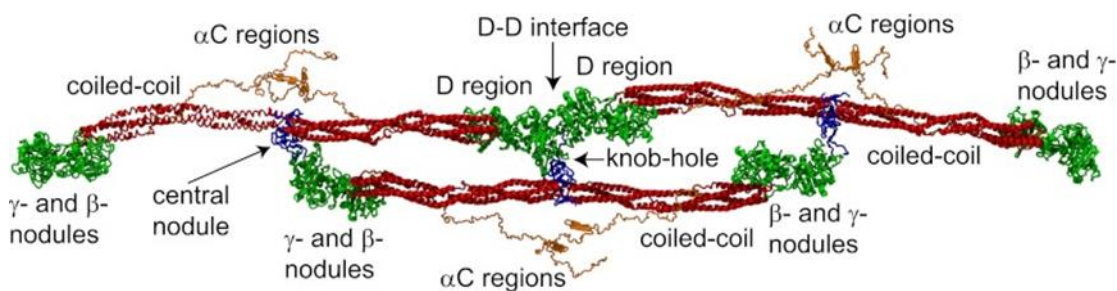
XI και της προκαλλικρεΐνης που έχουν συνδεθεί με το σύμπλεγμα, στις αντίστοιχες δραστικές μορφές τους XIa και καλλικρεΐνη και η τελευταία με τη σειρά της διασπά το KMMB και σχηματίζει την βραδυκινίνη [37, 39]. Ο XIa ακολούθως ενεργοποιεί τον παράγοντα IX. Η ενεργοποίηση του παράγοντα IX από τον XIa απαιτεί την παρουσία ιόντων ασβεστίου («παράγων IV» / Ca^{++}). Όταν ενεργοποιηθεί ο παράγοντας IX συνδέεται με τον παράγοντα VIII (αντιαιμοφιλικό παράγοντα). Με τη μεσολάβηση ιόντων ασβεστίου και ενός φωσφολιποειδούς (προϊόν απελευθέρωσης των αιμοπεταλίων σαν αποτέλεσμα προσκόλλησης αυτών στο τραυματισμένο αγγειακό τοίχωμα), ο ενεργοποιημένος παράγων IX ενεργοποιεί τον παράγοντα X σε Xa. Η ενεργοποίηση του παράγοντα X σε Xa πραγματοποιείται συνήθως στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, μπορεί όμως να γίνει και επάνω στο αγγειακό ενδοθήλιο [40].

Η εξωγενής οδός ενεργοποιείται όταν ο ιστικός παράγοντας (tissue factor-TF) απελευθερώνεται και εκτίθεται στην κυκλοφορία. Ο TF είναι μία γλυκοπρωτεΐνη, η οποία εκφράζεται σε διάφορα είδη κυττάρων, όπως στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα μονοκύτταρα, στα εγκεφαλικά κύτταρα, στα κύτταρα του έξω αγγειακού χιτώνα, στα κύτταρα του δέρματος και των βλεννογόνων. Μετά από αγγειακή βλάβη ή φλεγμονώδη διέγερση, ο εκτεθειμένος στην επιφάνεια των κυττάρων TF έρχεται σε επαφή με τον παράγοντα VII (FVII), με τον οποίο εμφανίζει υψηλή συγγένεια και σχηματίζει πάνω στην επιφάνεια του κυττάρου ισχυρό σύμπλεγμα με την ενεργοποιημένη μορφή του (σύμπλεγμα TF/ FVIIa). Το σύμπλεγμα TF/FVIIa-με την παρουσία Ca^{++} - έχει ως στόχο την ενεργοποίηση του παράγοντα X σε Xa, άλλα μπορεί να ενεργοποιήσει και τον παράγοντα IX σε IXa [30, 41].

Στην κοινή οδό, ο FXa σχηματίζει αμέσως σύμπλεγμα με τα φωσφολιποειδή των ιστών που απελευθερώνονται ως συστατικά της θρομβοπλαστίνης των ιστών είτε από τα αιμοπετάλια, καθώς και με τον παράγοντα V πάνω στην επιφάνεια του αιμοπεταλίου (**σύμπλεγμα προθρομβινάσης – ενεργοποιητή προθρομβίνης**: Va, Xa, Ca^{++} , φωσφολιπίδια), το οποίο σύμπλεγμα καταλύει τη μετατροπή μεγάλων ποσοτήτων προθρομβίνης σε θρομβίνη [42, 43]. Στην αρχή, ο παράγων V που βρίσκεται μέσα στο σύμπλεγμα προθρομβινάσης είναι ανενεργός, με την έναρξη όμως της διεργασίας της πήξης, η πρωτεολυτική ενέργεια της θρομβίνης προκαλεί την ενεργοποίησή του. Με αυτόν τον τρόπο, ο παράγοντας V καθίσταται ένας ισχυρός και επιπρόσθετος επιταχυντής της ενεργοποίησης της προθρομβίνης. Έτσι στο τελικό σύμπλεγμα του ενεργοποιητού της προθρομβίνης, ο Xa αποτελεί την πραγματική πρωτεάση η οποία προκαλεί την διάσπαση της προθρομβίνης σε θρομβίνη, ο Va επιταχύνει σε μεγάλο βαθμό την πρωτεολυτική αυτή δραστηριότητα, τα δε φωσφολιποειδή λειτουργούν ως «οχήματα», τα οποία προκαλούν περαιτέρω επιτάχυνση της διεργασίας. Αυτή η «εκρηκτική» παραγωγή θρομβίνης (πρωτεϊνικό ένζυμο, με πρωτεολυτικές ικανότητες) είναι ικανή να αποσπάσει από το ινωδογόνο τα ινωδοπεπτίδια A και B

και να ενεργοποιήσει τον παράγοντα FXIII-έχει δηλαδή ιδιότητες τρανσγλουταμινάσης. Τα παραγόμενα μονομερή του ινώδους πολυμερίζονται, δημιουργούν έναν ασταθή θρόμβο και αυτός υπό την επίδραση της γλουταμινάσης (παράγοντα XIIIa), μετατρέπεται σε αδιάλυτο θρόμβο ινώδους. Ο θρόμβος αυτός προστατεύεται από την ινωδόλυση, από τον ενεργοποιημένο από τη θρομβίνη αναστολέα της ινωδόλυσης (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor-TAFI), ο οποίος δραστηριοποιείται σε περιβάλλον με υψηλές συγκεντρώσεις θρομβίνης [43].

Σχήμα 6. Ο πολυμερισμός του ινωδογόνου και τα προϊόντα λύσεως του ινώδους.[44]



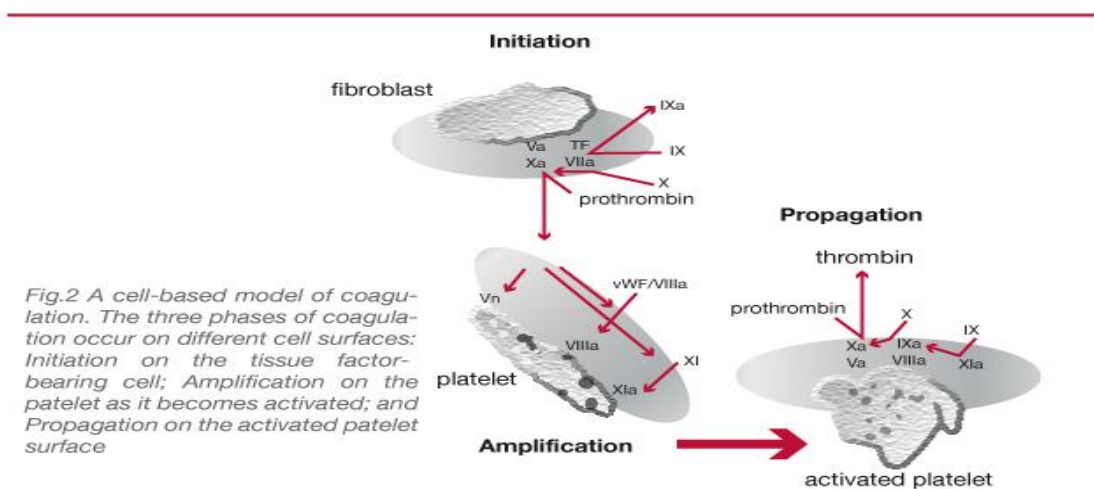
Το μοντέλο αυτό της πήξης αφήνει ανεξήγητες πολλές παρατηρήσεις στη διαδικασία της αιμόστασης *in vivo*. Δεν μπορεί π.χ. να ερμηνεύσει γιατί η ανεπάρκεια των παραγόντων του συστήματος επαφής (XII, MMBK) δεν προκαλεί αιμορραγία ή γιατί η έλλειψη των παραγόντων VIII και IX σχετίζονται με σοβαρές αιμορραγίες παρά την ύπαρξη της εξωγενούς οδού[43]. Τα τελευταία χρόνια, ένα νέο μοντέλο πήξης, το “κυτταρικό μοντέλο πήξης”, έχει περιγραφεί και είναι αποδεκτό από τους περισσότερους ερευνητές. Κεντρική ιδέα του μοντέλου αυτού το οποίο προτάθηκε από τους Hoffman & Monroe, είναι ότι η αιμοστατική διαδικασία συμβαίνει *in vivo* και σε συγκεκριμένες κυτταρικές επιφάνειες οι οποίες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ρύθμιση του μηχανισμού ανάλογα με το είδος των υποδοχέων που φέρουν στην μεμβράνη τους [3, 45]. Η διαδικασία της πήξης συντελείται σε τρεις αλληλοεπικαλυπτόμενες φάσεις, (έναρξη – ενίσχυση - εξάπλωση) που συμβαίνουν στην κυτταρική μεμβράνη διαφόρων κυττάρων, τα οποία παρέχουν ως υπόστρωμα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια και στα οποία συνδέονται τα προπηκτικά συμπλέγματα των πρωτεϊνών της πήξης.

Το πρώτο «βήμα» της πήξης συμβαίνει όταν ιστικός παράγοντας (TF, Tissue Factor) εκλύεται είτε από τους εκτεθειμένους υπενδοθηλιακούς ινοβλάστες (όταν υπάρχει ιστική βλάβη, π.χ. σε τραύμα ή έγκαυμα), είτε από μονοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα τα όποια ενεργοποιούνται από κυτοκίνες (π.χ. σε σήψη). Ενώ ο TF είναι ο κύριος παράγοντας έναρξης της πήξης, η ενδοτοξίνη (των Gram-αρνητικών βακτηρίων), ξένα σώματα και αρνητικά φορτισμένα μόρια μπορούν επίσης να συμβάλουν στην πρωτογενή ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού. Ο TF σε άμεση συνεργική

αλληλεπίδραση με τον παράγοντα VIIa (activated VII) ενεργοποιούν τόσο τον παράγοντα IX, όσο και το σύμπλοκο προθρομβινάσης πάνω στα ΑΜΠ, καταλύοντας τη μετατροπή μικρών ποσοτήτων προθρομβίνης σε θρομβίνη. Ο μηχανισμός αυτός ακολουθείται από μαζική και πολλαπλασιαστική ενίσχυση της παραγωγής θρομβίνης από το προθρομβινικό σύμπλεγμα (παράγοντας Xa και παράγοντας Va), γεγονός που λαμβάνει χώρα στην επιφάνεια των ήδη ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Η προαγωγή της πήξης ενισχύεται περαιτέρω από μηχανισμούς θετικής ανάδρασης. Συγκεκριμένα, οι μικρές αυτές ποσότητες θρομβίνης είναι ικανές να ενεργοποιήσουν αναδραστικά: (α) τα αιμοπετάλια, (β) τον FVIII με αποτέλεσμα αυτός να αποσυνδέεται από τον παράγοντα vonWillebrand (vWF) με τον οποίο κυκλοφορεί ως σύμπλεγμα, (γ) τον παράγοντα V, οποίος εκκρίνεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και (δ) τον παράγοντα XI.

Επιπλέον, τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, προσφέρουν το έδαφος στον ενεργοποιημένο από τη θρομβίνη FIXa να σχηματίσει σύμπλεγμα με το συμπαραγοντά του FVIIIa (σύμπλεγμα τενάσης). Το σύμπλεγμα αυτό έχει τη δυνατότητα να μετατρέπει μεγαλύτερες ποσότητες FX σε FXa, να ενεργοποιεί το σύμπλοκο προθρομβινάσης και άρα να προωθεί τη δημιουργία μεγαλύτερων ποσοτήτων θρομβίνης. Έτσι στο “κυτταρικό μοντέλο”, η διαδικασία της πήξης συμβαίνει σε συγκεκριμένες κυτταρικές επιφάνειες οι οποίες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ρύθμιση του μηχανισμού, παύοντας να διακρίνεται πλέον σε εξωγενή και ενδογενή οδό, αλλά ολοκληρούμενη σε 3 επικαλυπτόμενα στάδια (έναρξης, ενίσχυσης, επέκτασης) πάνω σε κύτταρα που φέρουν TF και στα αιμοπετάλια. Το “νέο μοντέλο πήξης” δεν συμπεριλαμβάνει στον ορισμό του τους παράγοντες του ενδογενούς συστήματος FXII, MMBK και καλλικρεΐνη, οι οποίοι δεν φαίνεται και να είναι απαραίτητοι για την αιμόσταση.

Σχήμα 7. Το κυτταρικό μοντέλο της πήξης[45].



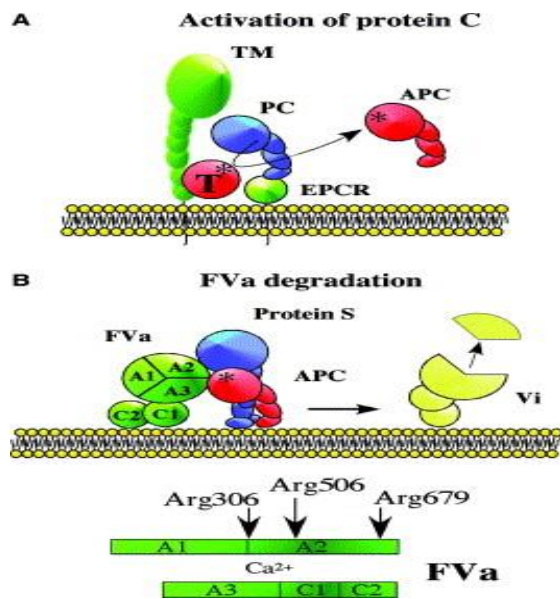
Αναστολείς του μηχανισμού πήξης

Το σύστημα της πήξης του αίματος έχει την ικανότητα να ελέγχει και να ρυθμίζει αποτελεσματικά τα ενζυμα της αιμόστασης, έτσι ώστε το ινώδες-θρόμβος, αφενός να περιορίζεται στο σημείο της βλάβης και αφετέρου να λύεται ικανοποιητικά όταν αυτό απαιτείται, χωρίς να γενικεύεται η όλη διαδικασία της πήξης [43, 46]. Στους φυσικούς αναστολείς της πήξης που ρυθμίζοντας τη δράση της θρομβίνης αποτρέπουν τη γενικευμένη πήξης του αίματος, περιλαμβάνονται:

(α) ένα σύστημα άμεσων αναστολέων των πρωτεασών της σερίνης, που περιλαμβάνει την αντιθρομβίνη (AT) και τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (Tissue Factor Pathway Inhibitor) TFPI. Η AT ανήκει στην μεγάλη οικογένεια των σερπινών (serpin-serine protease inhibitors) και απενεργοποιεί κυρίως τη θρομβίνη και τους παράγοντες IXa, Xa, XIa, δημιουργώντας μαζί τους συμπλέγματα 1:1. Η αναστολή της θρομβίνης από την AT χωρίς την παρουσία συμπαραγοντών είναι ήπια, ενώ με την παρουσία της ηπαρίνης ή της θειϊκής ηπαρίνης της επιφάνειας του ενδοθηλίου, δημιουργείται το σύμπλεγμα ηπαρίνη-AT το οποίο λειτουργεί ως αντιπηκτική ουσία με αποτελεσματικότητα μέχρι και χίλιες φορές μεγαλύτερη της AT. Το σύμπλεγμα αυτό απενεργοποιεί εκτός της θρομβίνης και διαφόρους άλλους ενεργοποιημένους παράγοντες πήξης όπως οι XII, XI, IX και X, με αποτέλεσμα την περαιτέρω ενίσχυση της αντιπηκτικής του δραστηριότητας[43, 47].

Ο TFPI είναι πρωτεΐνη του πλάσματος συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνη και σχηματίζει τετραμερές σύμπλεγμα με τον ιστικό παράγοντα και τους ενεργοποιημένους παράγοντες VII και V, αναστέλλοντας έτσι την εξωγενή οδό [43, 48, 49].

(β) ένα σύστημα έμμεσων αναστολέων, που αποτελείται από την πρωτεΐνη C (PC) και τον συμπαραγοντά της, την πρωτεΐνη S (PS). Είναι K-βιταμινοεξαρτώμενες πρωτεΐνες με κεντρικό ρόλο στην φυσική αντιπηκτική οδό, στην οποία συμμετέχει η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C. Η θρομβίνη με την παρουσία της θρομβομοδουλίνης (TM) που βρίσκεται στην επιφάνεια του ενδοθηλίου, σχηματίζει το σύμπλεγμα θρομβίνης/θρομβομοδουλίνης, με αποτέλεσμα να εξουδετερώνεται η πηκτική της δραστηριότητα και να ενισχύεται η ικανότητα της να ενεργοποιήσει την πρωτεΐνη C. Η ενεργοποιημένη PC (APC) με την παρουσία του συμπαραγοντά της (την PS), αδρανοποιεί ακολούθως τους Va και VIIIa αναστέλλοντας αποτελεσματικά το σύμπλεγμα της προθρομβινάσης και το σύμπλεγμα της τενάσης. Επιπλέον, η ενεργοποιημένη PC διεγείρει την ινωδόλυση [43, 50, 51].

Σχήμα 8. Η οδός της πρωτεΐνης C [52]

1.4 Μηχανισμός ινωδόλυσης

Το τελικό στάδιο της διαδικασίας της πήξης είναι η ινωδόλυση (διάλυση του θρόμβου) που κινητοποιείται με τη δράση της θρομβίνης στη διάρκεια της πήξης [53]. Με τη βλάβη ενός αγγείου και την αποκάλυψη του υπενδοθηλιακού κολλαγόνου, ενεργοποιείται ο μηχανισμός της πήξης με αποτέλεσμα τη δημιουργία θρόμβου στην περιοχή της βλάβης, που οδηγεί στη μερική ή ολική απόφραξη του αγγείου. Παράλληλα με τη δημιουργία του θρόμβου, δραστηριοποιείται και το ινωδολυτικό σύστημα, που έχει σκοπό τη λύση του θρόμβου και την αποκατάσταση της κυκλοφορίας στο αγγείο. Πρόκειται για ένα σύνολο ενζύμων και αναστολέων που απαρτίζουν τον κύριο αμυντικό μηχανισμό προστασίας από τη θρόμβωση. Περιλαμβάνει ένα ανενεργό προένζυμο, το πλασμινογόνο, το οποίο αφού μετατραπεί σε ενεργό ένζυμο (πλασμίνη), αποδομεί το ινώδες σε διαλυτά προϊόντα [53, 54]. Το πλασμινογόνο είναι μια β2-σφαιρίνη του αίματος, που παράγεται από το ήπαρ και κυκλοφορεί στο αίμα προσκολλημένο πάνω στο ινωδογόνο, γεγονός το οποίο ερμηνεύει και την παρουσία του στο εσωτερικό του θρόμβου. Το υπόστρωμα δράσης του πλασμινογόνου είναι το ινωδογόνο και το ινώδες. Είναι γνωστό ότι για να εκδηλωθεί η δράση του πλασμινογόνου πρέπει να ενεργοποιηθεί από διάφορες ουσίες, τους ενεργοποιητές του πλασμινογόνου και να σχηματισθεί έτσι ένα πρωτεολυτικό ένζυμο, η πλασμίνη.

Ενεργοποιητές του πλασμινογόνου είναι:

- (α) ο ιστικός ενεργοποιητής (tPA), γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων
- (β) ο ενεργοποιητής τύπου ουροκινάσης (uPA), πολυπεπτίδιο που παράγεται στα νεφρικά κύτταρα
- (γ) πλασματικοί ενεργοποιητές όπως οι παράγοντες XI, XII, το μεγάλο μοριακού βάρους κινινογόνο (MMBK) και η καλλικρεΐνη (KK) που δρουν κυρίως με την ενεργοποίηση της ουροκινάσης
- (δ) βακτηριακοί ενεργοποιητές με κύριο εκπρόσωπο τη στρεπτοκινάση, πολυπεπτίδιο που παράγεται από β-αιμολυτικούς στρεπτοκόκκους.

Η δραστηριότητα των ιστικών παραγόντων ενεργοποίησης του πλασμινογόνου επαυξάνεται από τη σύνδεση τους με το ινώδες και έτσι αρχίζει η παραγωγή της πλασμίνης στο θρόμβο. Η πλασμίνη δρα προκαλώντας:

- (α) αδρανοποίηση των παραγόντων V, VIII, XIII,
- (β) διάσπαση του ινωδογόνου (ινωδογονόλυση) παράγοντας μονομερή D και E, και
- (γ) διάσπαση ινώδους (ινωδόλυση), παράγοντας μονομερή E και D-διμερή.

Το ινωδογόνο παράγεται στο ήπαρ. Είναι πρωτεΐνη μεγάλου μοριακού βάρους και εξαιτίας αυτού υπό φυσιολογικές συνθήκες, ελάχιστο μόνο ινωδογόνο διαφεύγει προς το μεσοκυττάριο υγρό και εφόσον αποτελεί και έναν από τους ουσιαστικούς παράγοντες πήξης, τα μεσοκυττάρια υγρά εμφανίζουν πενιχρή μόνο, είτε και καθόλου ηηκτικότητα. Εντούτοις, όταν η διαπερατότητα των τριχοειδών αυξηθεί παθολογικά, ινωδογόνο διηθείται προς το μεσοκυττάριο υγρό των ιστών σε αρκετά μεγάλα ποσά, έτσι ώστε να επιτρέπει την πήξη τους στον ίδιο βαθμό με το πλάσμα ή με το ολικό αίμα. Ανήκει στις πρωτεΐνες οξείας φάσης. Αποτελεί το υπόστρωμα της θρομβίνης, η οποία αποσπά τα ινωδοπεπτίδια A και B από το ινωδογόνο, με αποτέλεσμα το υπόλοιπο μόριο να πολυμερίζεται σε ινική. Το μόριο του ινωδογόνου εμφανίζει 3 «οζώδεις» περιοχές, μία στο μέσον του μορίου που φέρεται ως περιοχή E, και δύο στα άκρα του μορίου εκατέρωθεν της περιοχής E, που φέρονται ως περιοχές D. Η πλασμίνη διασπά δυναμικούς δεσμούς τόσο του ινωδογόνου, όσο και του ινώδους, παράγοντας έτσι τα αποκαλούμενα προϊόντα αποδομής ινώδους και ινωδογόνου (F/FDPs-fibrin/fibrinogen degradation products). Η δράση της πλασμίνης επί του ινωδογόνου (ινωδογονόλυση) προκαλεί αρχικά διάσπαση του τριμερούς D-E-D και την απελευθέρωση των μονομερών πεπτιδίων D και E. Από τη διάσπαση του ινώδους με τη δράση της πλασμίνης (ινωδόλυση) προκύπτουν διάφορα κλάσματα, από τα οποία με τη συνεχιζόμενη δράση της

πλασμίνης, σχηματίζονται τα τελικά προϊόντα αποδομής του ινώδους που είναι τα E μονομερή και τα D-διμερή θραύσματα (D-d, D-dimers), τα οποία ανιχνεύονται με εργαστηριακές δοκιμασίες. Στην ανίχνευση των D-διμερών του ινώδους βασίζεται η διαγνωστική προσπέλαση της θρόμβωσης και θρομβόλυσης [53, 54].

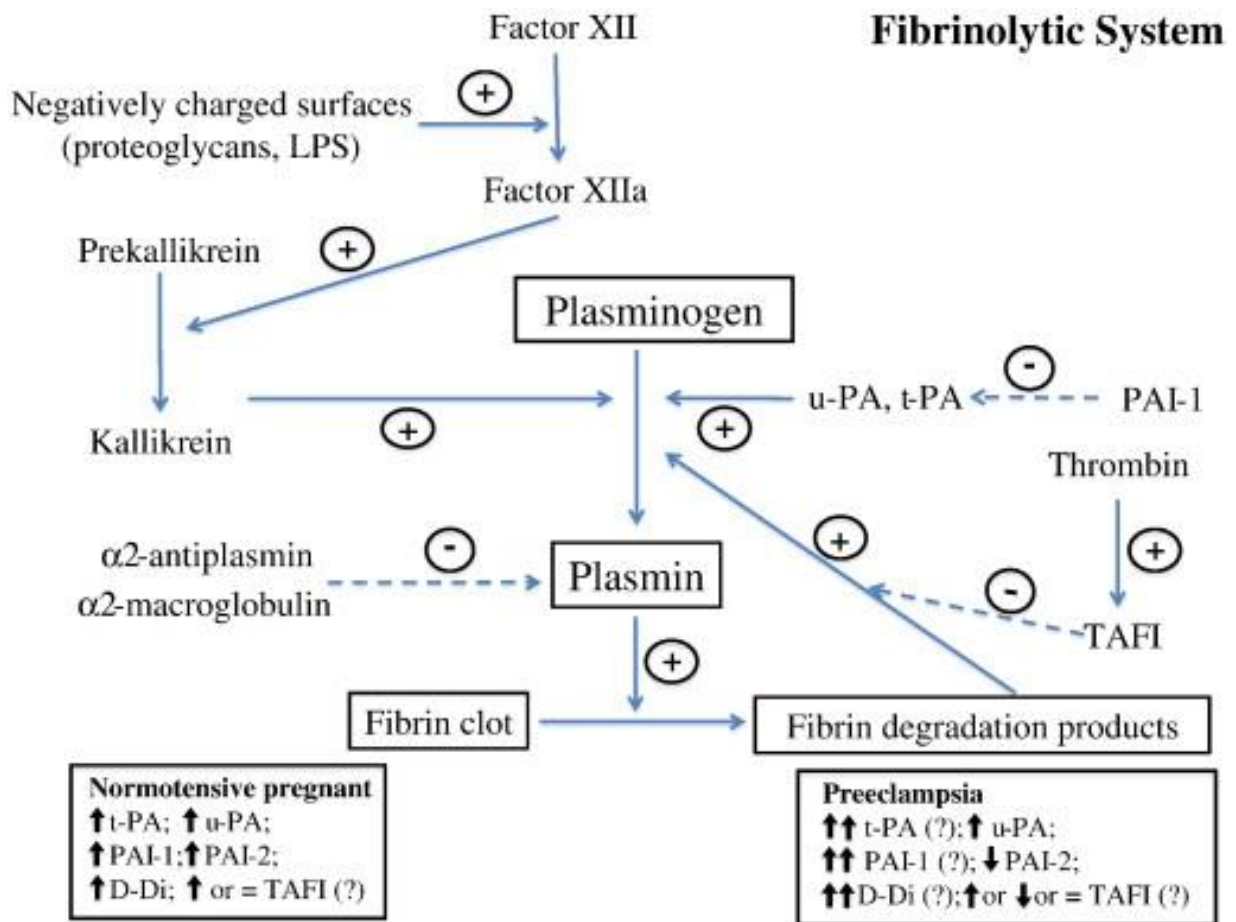
Αναστολείς του ινωδολυτικού μηχανισμού

Οι αναστολείς του ινωδολυτικού μηχανισμού ταξινομούνται σε δύο ομάδες: α) στους αναστολείς της ενεργοποίησης του πλασμινογόνου και β) στους αδρανοποιητές της ενεργοποιημένης μορφής του ενζύμου, της πλασμίνης. Στους αναστολείς της ενεργοποίησης του πλασμινογόνου υπάγονται:

- a) ο αναστολέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1): είναι γλυκοπρωτεΐνη μονής αλυσού χωρίς κυστεΐνη και εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μικροφάγα, τα μονοκύτταρα, τα ηπατοκύτταρα, τα λιποκύτταρα και τα αιμοπετάλια. Αδρανοποιεί τον t-PA.
- b) ο αναστολέας-2 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-2): είναι μέλος της οικογενείας της σερπίνης. Παράγεται κυρίως στον πλακούντα, στα ουδετερόφιλα, ίσως από τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα. Αδρανοποιεί κυρίως την ουροκινάση και δευτερευόντως τον ιστικό ενεργοποιητή.
- c) η θρομβοσπονδίνη.
- d) αναστολέας της ινωδόλυσης μέσω ενεργοποίησης της θρομβίνης (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor, TAFI ή Carboxypeptidase B2). Ο TAFI είναι ένζυμο που παράγεται στο ήπαρ, ενεργοποιείται από την θρομβίνη αλλά και από τη θρομβομοδουλίνη και επιφέρει εξασθένιση της ινωδολυτικής δραστηριότητας, διότι αποκόπτει C τελικά τμήματα του ινώδους που είναι απαραίτητα για την ένωση αυτού με το πλασμινογόνο.

Κύριος αναστολέας της πλασμίνης θεωρείται η α2 αντιπλασμίνη. Στην ίδια ομάδα εντάσσονται επίσης η α1 αντιθρυψίνη και η α2 μακροσφαιρίνη. Ως φαρμακευτικοί αναστολείς της ινωδόλυσης χρησιμοποιούνται το ε- αμινοκαπροϊκό οξύ και το τρανεξαμικό οξύ.

Σχήμα 9. Ρύθμιση του ινωδολυτικού μηχανισμού [55].



2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ

Η εργαστηριακή διερεύνηση της αιμόστασης περιλαμβάνει τον ποσοτικό ή/και λειτουργικό έλεγχο όλων των συστημάτων που συμμετέχουν σε αυτή. Αναλυτικότερα:

- (α) το αγγειακό σύστημα,
- (β) τα αιμοπετάλια,
- (γ) τους παράγοντες της πήξης (ενδογενείς και εξωγενείς),
- (δ) το ινωδολυτικό σύστημα,
- (ε) τους φυσικούς αναστολείς της πήξης.

Η διάγνωση μιας ενδεχόμενης διαταραχής του αιμοστατικού μηχανισμού πρέπει να βασίζεται τόσο στη λήψη λεπτομερούς ατομικού και οικογενειακού ιστορικού, όσο και στην προσεκτική κλινική εξέταση του ασθενούς, σε συνδυασμό με μια σειρά εργαστηριακών δοκιμασιών. Οι διάφορες δοκιμασίες ελέγχου της αιμόστασης κατά την εκτέλεση τους στο εργαστήριο, προσπαθούν να μιμηθούν όσο το δυνατόν πιστότερα διαδικασίες που συμβαίνουν *in vivo* στον οργανισμό μας, έτσι ώστε να μας καθοδηγήσουν όσο πιστότερα γίνεται στη διερεύνηση των διαταραχών της πήξης και της ινωδόλυσης.

Η αιμόσταση μελετάται με δοκιμασίες σφαιρικής εμβέλειας και με αναλυτικές δοκιμασίες. Με τις πρώτες παίρνουμε πληροφορίες για τη συνολική εικόνα της αιμόστασης (αρχική αιμόσταση, πήξη και ινωδόλυση), ενώ οι δεύτερες παρέχουν πληροφορίες για τα επίπεδα ενός εκάστου συντελεστή της αιμόστασης.

2.1. Έλεγχος του αγγειακού συστήματος και των αιμοπεταλίων

Η αρίθμηση των αιμοπεταλίων

Η γενική αίματος περιλαμβάνει τον προσδιορισμό του αριθμού και άλλων παραμέτρων των αιμοπεταλίων.

Η μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων με τους σύγχρονους αιματολογικούς αναλυτές είναι συνήθως ακριβής και αξιόπιστη.

Υπάρχουν περιπτώσεις «ψευδοθρομβοπενίας» οπού τα αποτελέσματα της γενικής αίματος μπορεί να αλλοιωθούν από την παρουσία άλλων κυτταρικών στοιχείων στο αίμα του ασθενούς ή τη δημιουργία σωρών αιμοπεταλίων, στις οποίες είναι απαραίτητη η εκτίμηση του αριθμού αιμοπεταλίων μικροσκοπικά, σε επίχρισμα περιφερικού αίματος.

Παράμετροι αιμοπεταλίων:

1. Μέσος Όγκος Αιμοπεταλίων (Mean platelet volume, MPV)-είναι μια υπολογιστική παράμετρος η οποία εκφράζει το μέσο μέγεθος των αιμοπεταλίων του αίματος και περιλαμβάνεται στη γενική αίματος, έχοντας εύρος τιμών αναφοράς 7.5 – 11.5 fL. Εκτιμά την παραγωγή των αιμοπεταλίων από το μυελό των οστών ή τον βαθμό καταστροφής τους στην περιφέρεια. Φυσιολογικά, υπάρχει αντίστροφη σχέση μεταξύ των τιμών του αριθμού των αιμοπεταλίων και του MPV.
2. Εύρος κατανομής (του μεγέθους) των αιμοπεταλίων (Platelet Distribution Width, PDW) – υπολογιστική παράμετρος που εκφράζει το μέτρο της «ανισοκυττάρωσης» των αιμοπεταλίων.
3. Αιμοπεταλιοκρίτης (Plateletcrit, PCT) – δείκτης της εκατοστιαίας αναλογίας αιμοπεταλίων ανά μονάδα όγκου αίματος.
4. Κλάσματα άωρων αιμοπεταλίων (Immature Platelet Fractions IPF) –εκφράζει τα νεαρά άωρα αιμοπετάλια με άφθονο RNA και έχει μέση τιμή 3.4%, ενώ το εύρος των φυσιολογικών τιμών του είναι 1.1 – 6.1%. Αυξημένες τιμές IPF υποδηλώνουν περιφερική καταστροφή τους ή οξεία απώλεια αίματος, ενώ μειωμένες τιμές IPF υποδηλώνουν υποπλασία ή απλασία του μυελού των οστών.

Τα αιμοπετάλια μετρούνται στο περιφερικό επίχρισμα σε δείγμα φλεβικού, αρτηριακού ή τριχοειδικού αίματος, με το τελευταίο να δίνει μικρότερες τιμές αιμοπεταλίων. Επί σειρά πολλών ετών η μέτρηση των αιμοπεταλίων με οξαλικό αμμώνιο και η οπτική πλάκα αρίθμησης σε μικροσκόπιο αντιθέτου φάσεως, ήταν η μέθοδος αναφοράς για τη μέτρηση των αιμοπεταλίων. Σήμερα, η Διεθνής Εταιρεία Εργαστηριακής Αιματολογίας-International Society of Laboratory Haematology (ISLH), προτείνει ως μέθοδο αναφοράς στην καταμέτρησή τους την κυτταρομετρία ροής, χρησιμοποιώντας ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα έναντι αντιγόνων επιφανείας των αιμοπεταλίων (π.χ. anti-CD41 και anti-CD61), τα οποία είναι συζευγμένα με κατάλληλο φορέα φθορισμού. Η μέθοδος επίσης συνεισφέρει στη μελέτη των κληρονομικών και επίκτητων διαταραχών των αιμοπεταλίων (διαταραχές που αφορούν σε υποδοχείς και εκκρινόμενες από τα αιμοπετάλια ουσίες) και στη μελέτη των αλλαγών της διαμόρφωσης των αιμοπεταλιακών γλυκοπρωτεϊνών, δίνοντας πληροφορίες για το μέγεθος και την εσωτερική δομή (forward scatter και side scatter) των αιμοπεταλίων, ενώ διαθέτει μεγαλύτερα πλεονεκτήματα στην εκτίμηση της λειτουργικότητας τους από παλαιότερες.

Διαθέτει τέλος πολύ μεγαλύτερη ευαισθησία και χρησιμοποιεί σαν πηγή φωτός το laser [56-59].

Λειτουργικές δοκιμασίες αιμοπεταλίων

Ο έλεγχος της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων

Η αιμορραγική διάθεση που προκύπτει από διαταραχές των αιμοπεταλίων οφείλεται είτε σε ελαττωμένο αριθμό τους, είτε σε λειτουργικές διαταραχές αυτών. Ο φυσιολογικός αριθμός τους δεν αντικατοπτρίζει πάντα και την άρτια λειτουργικότητά τους. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι κάποιες διαταραχές των αιμοπεταλίων που κατατάσσονται ως ποιοτικές, συνοδεύονται και από θρομβοπενία, αλλά στις περιπτώσεις αυτές η αιμορραγική διάθεση του ασθενούς προκύπτει από την ποιοτική διαταραχή τους και όχι από το χαμηλό τους αριθμό. Ενδεχόμενες ελλείψεις γλυκοπρωτεϊνών στην επιφάνειά των αιμοπεταλίων ή στο πλάσμα προκαλούν λειτουργικές διαταραχές στη διαδικασία της **προσκόλλησης** (adhesion) [έλλειψη της GpIb (BernardSoulier), έλλειψη του παράγοντα vonWillebrand] και της **συσσώρευσης** τους (aggregation) [έλλειψη της γλυκοπρωτεΐνης GpIIb/IIIa (Θρομβασθένεια Glanzmann), νόσος των δεξαμενών (storage pool disease)]. Ο λειτουργικός έλεγχος των αιμοπεταλίων γίνεται χρησιμοποιώντας πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα ή ολικό αίμα, από ειδικούς αναλυτές που παρακολουθούν φωτομετρικά τη δημιουργία συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων, μετά από την προσθήκη παραγόντων που προκαλούν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τέτοιοι παράγοντες είναι το ADP, το κολλαγόνο, η επινεφρίνη, το αραχιδονικό οξύ, η θρομβίνη και τα ιόντα ασβεστίου. Για τον έλεγχο της λειτουργικότητας των μορίων που συμμετέχουν στη διαδικασία της προσκόλλησης, χρησιμοποιείται η ριστοσεΐνη, μια ουσία που συνδέει τα αιμοπετάλια μεταξύ τους μέσω του παράγοντα vWF. Πρόκειται για ένα σπουδαίο εργαστηριακό εργαλείο για τη διάγνωση της νόσου vonWillebrand [56, 60-63].

Ο χρόνος ροής (Μέθοδος του Ivy)

Πρόκειται για in vivo δοκιμασία που ελέγχει την προσκόλληση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων με τιμές αναφοράς που κυμαίνονται από 3 έως 9 λεπτά [64, 65]. Έχει περιορισμένη κλινική εφαρμογή διότι είναι δύσκολο να προτυποποιηθεί [56].

Διενεργείται ως εξής: εφαρμόζεται μανομετρική περιχειρίδα στο βραχίονα του ασθενούς, ασκείται πίεση των 40mmHg και στη συνέχεια γίνονται 3 τομές με ειδικό σκαριφιστήρα βάθους περίπου 1mm κάτωθεν της περιχειρίδας (διατομή μικρών τριχοειδών και όχι μεγάλων αγγείων) και στο εσωτερικό τμήμα του βραχίονα, ενώ το αίμα που εκρέει αναρροφάται με διηθητικό χαρτί κατά διαστήματα, μέχρι να σταματήσει η αιμορραγία. Ο χρόνος ροής ισούται με το μέσο όρο των 3 χρόνων (ένας για κάθε τομή) που απαιτούνται για να σταματήσει η αιμορραγία. Παράταση του χρόνου ροής μπορεί να οφείλεται σε:

- (α) ανωμαλίες του αγγείου (πορφύρα Henoch-Schönlein, σύνδρομο Ehlers-Danlos),
- (β) ποσοτική ή λειτουργική διαταραχή των αιμοπεταλίων ή λήψη αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων,
- (γ) νόσο von Willebrand.

PFA 100 (platelet function analyser)

Η μέθοδος αφορά στον έλεγχο της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και τείνει να αντικαταστήσει το χρόνο ροής, παρέχοντας μια in vitro αξιολόγηση της πρωτογενούς αιμόστασης. Η λειτουργία της βασίζεται στη χρήση μικρής ποσότητας ολικού αίματος-περί τα 800 μl (με προσθήκη κιτρικού νατρίου), το οποίο τοποθετείται σε μια μεμβράνη με κολλαγόνο τύπου II και υπόκειται σε διατμητική τάση καθώς αναρροφάται πάνω σε αυτή. Η ενεργοποίηση δηλαδή των αιμοπεταλίων επιτυγχάνεται με την επαφή τους με μία μεμβράνη εμποτισμένη με ουσίες-αγωνιστές, όπως το κολλαγόνο, η επινεφρίνη και ADP. Ο αναλυτής στη συνέχεια μετρά τον χρόνο σύγκλεισης (CT-Closure Time) που απαιτείται για να αποφράξει η μάζα των αιμοπεταλίων ένα διάφραγμα που είναι τοποθετημένο επάνω στη μεμβράνη και με αυτό τον τρόπο αξιολογείται εμμέσως η λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων που έχουν ενεργοποιηθεί διερχόμενα από αυτή τη μεμβράνη- χρόνος δημιουργίας ενός λευκού θρόμβου in vitro. Πρόκειται για μία μέθοδο με μεγάλη θετική προγνωστική αξία, αλλά σχετικά χαμηλή ειδικότητα ως προς τη διάγνωση συγκεκριμένης νόσου. Είναι ευαίσθητη και χρήσιμη μέθοδος ιδιαίτερα για τον προεγχειρητικό έλεγχο ασθενών, για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων, αλλά και για τη διερεύνηση της νόσου vonWillebrand [66-69].

2.2 Ο έλεγχος της ενδογενούς και της εξωγενούς οδού της πήξης

Ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (partial thromboplastin time-PTT) [70, 71]

Μετρά τον χρόνο πήξης του αίματος μετά από ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού με την προσθήκη στο πλάσμα του ασθενούς ειδικά επεξεργασμένης θρομβοπλαστίνης. Από την ιστική θρομβοπλαστίνη λαμβάνεται με ειδική επεξεργασία με αιθέρα ή χλωροφόρμιο θρομβοπλαστίνη πτωχή σε ιστικό παράγοντα και πλούσια σε φωσφολιπίδια (κεφαλίνη). Η θρομβοπλαστίνη αυτή αποτελεί μέρος της πλήρους ιστικής θρομβοπλαστίνης, ονομάζεται μερική ή ατελής θρομβοπλαστίνη και είναι αυτή που χρησιμοποιείται για την εκτέλεση της εξέτασης PTT. Η

δοκιμασία αυτή δίνει πληροφορίες για την κοινή οδό μετρώντας την επάρκεια των παραγόντων V, X, προθρομβίνης και ινωδογόνου, είναι ευαίσθητη στην επίδραση κυκλοφορούντων αντιπηκτικών όπως το αντιπηκτικό του λύκου, σε αναστολείς παραγόντων και στην επίδραση της ηπαρίνης. Ο ΡΤΤ με την προσθήκη καολίνης μετατρέπεται στον ενεργοποιημένο χρόνο μερικής (ατελούς) θρομβοπλαστίνης (αΡΤΤ) ή χρόνο κεφαλίνης – καολίνης, παρέχοντάς μας πληροφορίες για την επάρκεια της ενδογενούς οδού και του συστήματος επαφής (ΜΜΒΚ, ΚΚ, παράγοντες XI και XII). Με τη δοκιμασία αυτή ελέγχονται οι παράγοντες VIII, IX, XI, XII και οι παράγοντες της κοινής οδού II, V, X υπό την προϋπόθεση ότι η συγκέντρωση του ινωδογόνου είναι φυσιολογική. Παράταση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης μπορεί να οφείλεται:

(α) σε έλλειψη των παραγόντων της ενδογενούς οδού:

-έλλειψη παράγοντα VIII (Αιμορροφιλία Α)

-έλλειψη παράγοντα IX (Αιμορροφιλία Β)

-έλλειψη παράγοντα XI (Αιμορροφιλία C)

(β) σε μεγάλη έλλειψη παραγόντων της κοινής οδού (II, V X,) (π.χ. Διάχυτη Ενδαγγειακή Πήξη)

(γ) σε ύπαρξη αυτοαντισωμάτων έναντι του παράγοντα VIII

(δ) σε λήψη κλασικής ηπαρίνης

(ε) σε ύπαρξη αυτοαντισωμάτων και αντιπηκτικών του λύκου

(στ) σε έλλειψη καλικρεΐνης.

Η παράταση του αΡΤΤ επισυμβαίνει συνήθως όταν τα δραστικά επίπεδα των προαναφερθέντων παραγόντων στον οργανισμό είναι < 40% του φυσιολογικού. Έτσι, στις περιπτώσεις όπου υπάρχει σοβαρή υποψία ήπιας αιμορροφιλίας με φυσιολογικές τιμές αΡΤΤ, η μέτρηση των επιπέδων των αντίστοιχων παραγόντων πήξης είναι απαραίτητη. Μεμονωμένη παράταση αΡΤΤ χωρίς να υπάρχει αιμορραγική διάθεση του ασθενούς, συνήθως υποκρύπτει έλλειψη παράγοντα XII.

Ο χρόνος προθρομβίνης (PT) [70, 72]

Η δοκιμασία αυτή μέτρα τον χρόνο που απαιτείται, για να δημιουργηθεί πήγμα από το πλάσμα μετά από προσθήκη σε αυτό ιστικής θρομβοπλαστίνης και ιόντων ασβεστίου. Ελέγχει την εξωγενή οδό της πήξης και την κοινή οδό αυτής και συγκεκριμένα τους παράγοντες VII, X, V και προθρομβίνης και ινωδογόνου. Λόγω της μη υψηλής καθαρότητας της θρομβοπλαστίνης που προστίθεται, η εξέταση αυτή ελέγχει, αλλά σε μικρότερο βαθμό και τον παράγοντα VIII. Στη δοκιμασία αυτή η συγκέντρωση του ινωδογόνου πρέπει να είναι μέσα στα φυσιολογικά επίπεδα, για να αξιολογηθεί το αποτέλεσμα.

Στο εμπόριο κυκλοφορούν θρομβοπλαστίνες που παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές στη δραστηριότητα τους. Για να είναι συγκρίσιμα τα αποτελέσματα των διαφόρων εργαστηρίων, έχει καθιερωθεί η χρήση του INR (International Normalised Ratio), το οποίο καθορίζεται από το δείκτη ευαισθησίας του χρησιμοποιούμενου αντιδραστηρίου ISI (International Sensitivity Index). Ο ISI εκφράζει την ευαισθησία της χρησιμοποιούμενης θρομβοπλαστίνης σε σχέση με την πρότυπη θρομβοπλαστίνη αναφοράς του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO –World Health Organization) που εξ' ορισμού έχει δείκτη ISI 1.0: **INR = (PT ασθενούς/PT μάρτυρα)^{ISI}**.

Τα κυριότερα αίτια παράτασης του χρόνου προθρομβίνης είναι:

- Χορήγηση κουμαρινικών αντιπηκτικών σκευασμάτων. Η ρύθμιση της δόσης των αντιπηκτικών per os γίνεται πάντα με μέτρηση του INR
- Έλλειψη παράγοντα της κοινής οδού (II, V, X) (θα υπάρχει και παράταση του aPTT)
- Ανεπάρκεια Βιταμίνης K (κακή απορρόφηση)
- Ύπαρξη αυτοαντισωμάτων-αντιπηκτικών του λύκου
- Ηπατικά νοσήματα όπως ηπατική ανεπάρκεια, αποφρακτικός ίκτερος και άλλα
- Παρατεταμένη παρεντερική σίτιση του ασθενούς
- Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη
- Έλλειψη του παράγοντα VII ή ύπαρξη αναστολέα του.

Η μέτρηση του Ινωδογόνου κατά Clauss[70, 73]

Είναι η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό της βιοχημικής δραστηριότητας του ινωδογόνου. Πραγματοποιείται μετά από αραίωση του πλάσματος του ασθενούς και την εν συνεχεία προσθήκη πυκνού διαλύματος θρομβίνης. Η προσθήκη ισχυρού διαλύματος θρομβίνης είναι αναγκαία, ώστε ο χρόνος πήξης να είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωση της θρομβίνης στο υπό εξέταση πλάσμα. Η αραίωση του πλάσματος αποσκοπεί στην ελάττωση της συγκέντρωσης πιθανών αναστολέων, όπως της ηπαρίνης, των FDPs και των D-dimers. Οι φυσιολογικές τιμές ινωδογόνου στο πλάσμα κυμαίνονται από 200 έως 400mg/dl. Αν και το ινωδογόνο είναι μια πρωτεΐνη οξείας φάσης και τα επίπεδα του μπορεί να κυμαίνονται κατά την εξέλιξη μιας λοίμωξης, υψηλά επίπεδα ινωδογόνου χωρίς αιτιολογία θεωρούνται σήμερα ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για θρομβωτικά επεισόδια.

Εκτός από τις προαναφερθείσες μεθόδους προσδιορισμού του, η σπουδαιότητα του μορίου του ινωδογόνου στην αιμόσταση αλλά και η πολυπλοκότητά του, απαιτούν και τη χρήση άλλων μεθόδων για τον προσδιορισμό ποσοτικών ή λειτουργικών ανωμαλιών του. Ο ποσοτικός

προσδιορισμός του μορίου, γίνεται με ανοσοενζυμικές μεθόδους (ELISA, νεφελομετρία), ενώ με την ηλεκτροφόρηση σε δυο διαστάσεις, την κρυσταλλογραφία και τη μοριακή ανάλυση του γονιδίου του και για τις τρεις πεπτιδικές αλυσίδες του, μπορούν να ανιχνευθούν λειτουργικές διαταραχές του μορίου του ινωδογόνου.

Ο χρόνος θρομβίνης (ΤΤ) [70]

Ο χρόνος θρομβίνης (ΤΤ) μετρά τον χρόνο που χρειάζεται ένα δείγμα αίματος να σχηματίσει θρόμβο όταν προστίθεται θρομβίνη στο δείγμα. Ελέγχει την τελική φάση της πήξης, δηλαδή τη μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες. Είναι δοκιμασία ευαίσθητη αλλά όχι ειδική στη χορήγηση ηπαρίνης και χρησιμοποιείται για την εκτίμηση διαταραχών στην πήξη του αίματος στις οποίες υπάρχουν ανωμαλίες στην μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες, όπως η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (DIC) και οι ηπατικές νόσοι, καθώς και για την παρακολούθηση ασθενών που λαμβάνουν ινωδολυτική θεραπεία.

Λειτουργικός έλεγχος και ποσοτικός προσδιορισμός παραγόντων πήξης και αναστολέων.

Οι παράγοντες της πήξης είναι ένζυμα τα οποία λειτουργούν επάνω σε ένα συγκεκριμένο υποστρώμα, αποκόπτοντας σε ένα συγκεκριμένο σημείο την πεπτιδική αλυσίδα του μορίου του υποστρώματος. Για τη μέτρηση της δραστηριότητας των παραγόντων πήξης χρησιμοποιούνται χρωμογονικές μέθοδοι, οι οποίες βασίζονται στην πρωτεολυτική ιδιότητα των παραγόντων της πήξης. Το μόριο που παίζει το ρόλο του υποστρώματος συνδέεται ομοιοπολικά με χρωμογόνο ουσία (π.χ. παρανιτροανιλίνη-pNA), η οποία όταν απελευθερώνεται μέσω της πρωτεολυτικής δράσης του προς μέτρηση παράγοντα, αλλάζει χρώμα. Η αλλαγή του χρώματος μετρείται φωτομετρικά και αντιστοιχεί στη δραστηριότητα του παράγοντα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των μορίων γίνεται με τη χρήση ανοσοενζυμικών τεχνικών (ELISA, νεφελομετρία με χρήση αντισώματος). Όταν ο ποσοτικός προσδιορισμός ενός παράγοντα ή ενός αναστολέα είναι φυσιολογικός αλλά η δραστηριότητά του είναι χαμηλή, τότε έχουμε λειτουργική διαταραχή στο μόριο του.

Μοριακός έλεγχος των γονιδίων που συνδέονται με διαταραχές της αιμόστασης.

Ο μοριακός έλεγχος βασίζεται στη τεχνική της PCR (Polymerase Chain Reaction), με τροποποιήσεις της που επιτρέπουν σήμερα τον ταυτόχρονο έλεγχο πολλών μεταλλάξεων ή πολυμορφισμών του DNA στα γονίδια των παραγόντων VIII, IX και vonWillebrand, όπως επίσης τη χαρτογράφηση γονιδίων και την περιγραφή πολυμορφισμών των αναστολέων της πήξης AT, PC, PS. Έχει επίσης συμβάλει καθοριστικά στην ανακάλυψη σημειακής μετάλλαξης του FV (FVR506Q ή FV Leiden), στη μελέτη της μοριακής βάσης της ανεπάρκειας της θρομβομοδουλίνης, της υπερομοκυστειναιμίας και

της μετάλλαξης στο γονίδιο της προθρομβίνης (αλληλίο 20210), παράγοντες οι οποίοι ευθύνονται για την συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων κληρονομικής θρομβοφιλίας [74]. Ο μοριακός έλεγχος μπορεί επιπλέον να εφαρμοστεί και στο μόριο του ινωδογόνου, στα μόρια του ινωδολυτικού συστήματος, σε πρωτείνες που παίζουν ρόλο υποδοχέα στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων και στη μελέτη του ενδοθηλίου.

Ο χρόνος ρεπτιλάσης[70]

Ο χρόνος ρεπτιλάσης (RT) μετρά το χρόνο πήξης του πλάσματος μετά την προσθήκη του ενζύμου ρεπτιλάση, ενός δηλητηρίου φιδιού που δρα σαν τη θρομβίνη αλλά δεν επηρεάζεται από τη χορήγηση ηπαρίνης. Επομένως, ταυτόχρονα παρατεταμένος χρόνος TT και φυσιολογικός RT, αποτελεί ένδειξη ηπαρίνης, λεπιρουδίνης ή νταναπαροΐδης στο αίμα. Χρησιμοποιείται για τον έλεγχο δυσινωδογοναιμίας (δομική ανωμαλία του μορίου) και υποϊνωδογοναιμίας (χαμηλότερα επίπεδα).

2.3.Έλεγχος του μηχανισμού της ινωδόλυσης

Προσδιορισμός D-διμερών (D-dimers)

Τα Δ-διμερή (D-Dimers) αποτελούν τα τελικά προϊόντα της διάσπασης του ινώδους από την πλασμίνη και είναι ένα από τα μετρήσιμα υποπροϊόντα του ινωδολυτικού συστήματος. Η μέτρηση των δ-διμερών αξιολογεί την ενεργοποίηση του ινωδολυτικού συστήματος και την ενδαγγειακή θρόμβωση. Αποτελεί ένα πολύ χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο για τον αποκλεισμό της οξείας φλεβικής θρομβοεμβολικής νόσου, όπως και της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης (DVT) ή της πνευμονικής εμβολής. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί μαζί με άλλες εξετάσεις, για τη διάγνωση της διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (DIC). Υψηλά επίπεδα Δ-διμερών μπορούμε να συναντήσουμε και σε μετεγχειρητικούς ασθενείς και καρκινοπαθείς, χωρίς το αποτέλεσμα αυτό να έχει κάποια διαγνωστική αξία. Η μέτρηση των Δ-διμερών είναι επίσης πολύ χρήσιμη και κατά την παρακολούθηση της αντιπηκτικής αγωγής με ηπαρίνη ή κουμαρινικά αντιπηκτικά, αφού τα επίπεδα των Δ-διμερών μπορούν να προβλέψουν πιθανή υποτροπή της θρόμβωσης και να καθορίσουν τη διάρκεια και τη δοσολογία της αντιπηκτικής αγωγής [70].

Προσδιορισμός του Πλασμινογόνου

Το πλασμινογόνο είναι η ανενεργής πρόδρομη μορφή του ενζύμου πλασμίνη. Κυκλοφορεί στο

πλάσμα σε ανενεργό μορφή και μετατρέπεται σε πλασμίνη (ενεργός μορφή) με την παρέμβαση του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA). Ο προσδιορισμός του πλασμινογόνου είναι απαραίτητος για την εκτίμηση της κατάστασης του ινωδολυτικού συστήματος, περιλαμβάνει δε τον έλεγχο της δραστηριότητας και της συγκέντρωσής του στο πλάσμα. Χαμηλά επίπεδα δραστηριότητας του πλασμινογόνου μπορεί να οφείλονται σε ποσοτική έλλειψη ή ποιοτική διαταραχή του μορίου και αποτελούν παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση θρόμβωσης [75].

Προσδιορισμός του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA)

Αυξημένα επίπεδα του tPA (κληρονομική υπερिनωδόλυση), μπορούν να οδηγήσουν σε αιμορραγική διάθεση, ενώ αντίθετα, παράγοντα κινδύνου για θρόμβωση, αποτελούν τα μειωμένα επίπεδά του. Παροδικά αυξημένα επίπεδα tPA ανευρίσκονται σε καταστάσεις εμφράγματος του μυοκαρδίου, αγγειακής βλάβης, στάσης αίματος και ενδοθηλιακής υπερδραστηριότητας. Ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου(tPA) είναι εκείνος που ελέγχεται συχνότερα σε περιπτώσεις διαταραχών της αιμόστασης, όμως συχνά τελευταία ελέγχεται και ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPA) [76].

Αναστολέας του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1)

Αύξηση στα επίπεδα του PAI-1 παρατηρείται σε περιπτώσεις θρομβώσεων, εμφράγματος του μυοκαρδίου, σε κακοήθειες, ηπατοπάθειες, στη μετεγχειρητική περίοδο και στη σηπτική καταπληξία. Επίσης, μελετάται η αλληλοσυσχέτιση των επιπέδων PAI-1 και παραγόντων κινδύνου για αθηρωμάτωση, όπως είναι η παχυσαρκία, η υπερινσουλιναμία και η υπερτριγλυκεριδαμία [77].

α2-αντιπλασμίνη.

Η μέτρηση της α2-αντιπλασμίνης είναι χρήσιμη για την ανίχνευση σπάνιων συγγενών ανεπαρκειών (νόσος Miyasato), στον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της ινωδολυτικής θεραπείας (ελάττωση των επιπέδων της σχετίζεται με θετική ανταπόκριση στη θεραπεία) και στη διάγνωση της διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (ΔΕΠ). Συγγενής έλλειψη της α2-αντιπλασμίνης συνδέεται με αιμορραγική διάθεση, ενώ ελαττωμένα επίπεδά της ανιχνεύονται επίσης σε περιπτώσεις ηπατικής ανεπάρκειας και στη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ) [78].

Η θρομβοελαστογραφία

Η θρομβοελαστογραφία είναι μια σφαιρική εξέταση (global assay) η οποία περιγράφει σε

πραγματικό χρόνο τη δημιουργία θρόμβου. Ολικό αίμα του ασθενούς εισάγεται σε μια ειδική κυψελίδα μέσα στην οποία περιστρέφεται ένα έμβολο. Η ενεργοποίηση της πήξης και η δημιουργία θρόμβου παρεμποδίζει την περιστροφή του εμβόλου. Η όλη αυτή διαδικασία παριστάνεται γραφικά και ποσοτικοποιείται με συγκεκριμένες παραμέτρους που αφορούν στην κινητική, στο μέγεθος του θρόμβου που σχηματίζεται και στο βαθμό λύσης του. Η μέθοδος αυτή είναι πολυτιμότερη ως εξέταση παρά την κλίνη του ασθενούς, καθώς σε περιπτώσεις εκτεταμένων χειρουργικών επεμβάσεων ή/και μαζικής αιμορραγίας, μπορεί να μας καθοδηγήσει ακριβέστατα -ως κλινικούς γιατρούς - προς τη χορήγηση στον ασθενή του απόλυτα ενδεδειγμένου παραγώγου ή/και παράγοντα (μετάγγιση πλάσματος ή αιμοπεταλίων, αντινωδολυτική αγωγή).

3. Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΗΞΗΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΕΜΒΡΥΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ

Η αιμόσταση του εμβρύου είναι ένα δυναμικό σύστημα που σταδιακά εξελίσσεται προς στην κατάσταση του ενήλικα, αλλά και που πάντα διατηρεί ισορροπία μεταξύ των πηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων καθ' όλη τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής μέχρι τη γέννηση [79].

Η κύηση συνδέεται με υπερπηκτική δραστηριότητα του αίματος, η οποία γίνεται πιο έντονη κυρίως προς το τέλος της. Το νεογνό από την άλλη πλευρά, έχει γενικότερα μια ελαφρά ανεπάρκεια του συστήματος πήξης κατά τη γέννηση. Φαίνεται λοιπόν ότι η μητρική-νεογνική διαφορά στα επίπεδα των παραγόντων πήξης οφείλεται στο φραγμό του πλακούντα, αλλά η πληρότητα αυτού του φραγμού είναι αβέβαια [80]. Στα νεογνά, το σύστημα αιμόστασης είναι πλέον καλά μελετημένο και δυναμικά καθορισμένο, καθώς έχουν δημοσιευθεί τιμές αναφοράς για τους περισσότερους παράγοντες πήξης σε υγιή νεογνά και βρέφη. Αντίθετα, λίγα είναι γνωστά για το σύστημα πήξης στο ανθρώπινο έμβρυο κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής. Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει μικρές διαφορές του αιμοστατικού συστήματος μεταξύ πρόωρων νεογνών ηλικίας κύησης μεγαλύτερης των 30 εβδομάδων σε σύγκριση με τελειόμηνα νεογνά [81-84]. Επιπλέον, στα πρόωρα νεογνά έχει παρατηρηθεί μια επιτάχυνση της ωρίμανσης του συστήματος αιμόστασης [79].

Οι τιμές αναφοράς για τις πρωτεΐνες πήξης του εμβρύου σε όλη τη διάρκεια της κύησης δεν έχουν καθοριστεί μέχρι σήμερα, εξαιτίας των δυσκολιών στη λήψη δείγματος αίματος από το έμβρυο. Επιπλέον, αποτελέσματα σε δείγματα από εξαιρετικά πρόωρα νεογνά ή από έμβρυα μετά από θεραπευτικές αμβλώσεις και στη συνέχεια μελέτη τους μέσω φωτοσκόπησης, έδειξαν μεγάλη ποικιλομορφία-διακύμανση στις τιμές των παραγόντων πήξης, η οποία θα μπορούσε να αποδοθεί τόσο στη νόσο του εμβρύου, όσο και στην ηλικία κύησης [79, 84-86]. Η απευθείας παρακέντηση του ομφαλίου λώρου μέσω υπερήχων που πιο πρόσφατα έχει χρησιμοποιηθεί και καθιερωθεί για την προγεννητική διάγνωση ερυθράς, τοξοπλάσμωσης, αιμοσφαιρινοπάθειων και άλλων γενετικών διαταραχών, έχει επίσης συμβάλει στο να καθοριστούν αρκετές αιματολογικές παράμετροι-παράγοντες πήξης σε υγιή έμβρυα που κυμαίνονται μεταξύ των 18 και 30 εβδομάδων κύησης [79, 87-90]. Στην εμβρυϊκή ζωή οι αιμοστατικοί μηχανισμοί είναι προφανώς ανώριμοι, αλλά η διαδικασία της γέννησης η ίδια, φαίνεται να μεταβάλλει έναν αριθμό παραμέτρων της πήξης. Οι ακριβείς μηχανισμοί ή τα ερεθίσματα που ενεργοποιούν αυτές τις τροποποιήσεις δεν έχουν περιγραφεί πλήρως. Το στρες που σχετίζεται με την διαδικασία του τοκετού, δύναται επίσης να συμβάλει στην ωρίμανση του συστήματος πήξης. Ο Johnson και οι συνεργάτες του ανέφεραν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα του παράγοντα vonWillebrand στα νεογνά που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό, συγκριτικά με τα νεογνά που γεννήθηκαν με καισαρική τομή [91].

Οι γνώσεις μας σχετικά με την φυσιολογία της αιμόστασης στα νεογνά και τα βρέφη παραμένουν ανεπαρκείς, σε σύγκριση με τις γνώσεις μας για αυτό το θέμα στους ενήλικες. Αρκετοί είναι οι λόγοι που συμβάλλουν σε αυτό το έλλειμμα γνώσεων: α) στα νεογνά και στα βρέφη, απαιτούνται πολλαπλές και επαναλαμβανόμενες τιμές αναφοράς (και μεταξύ τους συγκρίσεις), επειδή αυτοί οι ασθενείς έχουν ταχέως εξελισσόμενα συστήματα, β) η δειγματοληψία αίματος στα νεογνά και στα βρέφη είναι τεχνικά δύσκολη, γ) μπορούν να ληφθούν μόνο μικρά δείγματα αίματος και για αυτό το λόγο απαιτούνται μικροτεχνικές και δ) η μεγαλύτερη μεταβλητότητα στις συγκεντρώσεις στο πλάσμα που παρουσιάζουν οι παράγοντες πήξης των νεογνών, απαιτούν τη χρήση μεγάλων αριθμών δειγμάτων για να καθοριστεί το εύρος των τιμών αναφοράς [92-95].

Οι πρωτεΐνες πήξης εκφράζονται νωρίς στην εμβρυική ζωή. Το mRNA για πολλαπλές ενδοθηλιακές πρωτεΐνες συμπεριλαμβανομένων του παράγοντα vonWillebrand (VWF), της θρομβομοδουλίνης (TM), του ιστικού παράγοντα (TF) και του αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (Tissue Factor Pathway Inhibitor) TFPI, μπορεί να ανιχνευθεί από την 4η μόλις εβδομάδα κύησης [96-98]. Από την 5η εβδομάδα κύησης, τα εμβρυικά ηπατοκύτταρα είναι ικανά να συνθέσουν παράγοντες πήξης. Το εμβρυικό πλάσμα, ήδη από την 10η εβδομάδα κύησης, παρουσιάζει θρομβώτικη και ινωδολυτική δραστηριότητα –ιδιότητα.

Πολλοί παράγοντες εξηγούν τα πολλά μοναδικά χαρακτηριστικά της αιμόστασης του εμβρύου. Η «οντογένεση» της πήξης, χαρακτηρίζεται από διαφορετικά πρότυπα έκφρασης και λειτουργίας ορισμένων παραγόντων πήξης [97].

Υπάρχουν λίγες μόνο αναφορές σχετικά με την αιμόσταση στο νεογέννητο και το ρόλο του φραγμού του πλακούντα. Την δεκαετία του '60 ο Szirmai [99] συνοψίζει τη βιβλιογραφία σχετικά με το θέμα αυτό, τα αποτελέσματα της οποίας μέχρι τότε ήταν αμφιλεγόμενα και δημοσιεύει τα πειράματά του το 1961 σύμφωνα με τα οποία οι παράγοντες πήξης είναι σε θέση να διασχίσουν τον φραγμό του πλακούντα. Το 1969 ο Cade και οι συνεργάτες του συλλέγοντας αίμα ομφαλίου λώρου από 66 πρόωρα νεογνά με διάρκεια κύησης 25-37 εβδομάδων, διενήργησαν στα δείγματα δοκιμασίες πήξης, ενώ ταυτόχρονα σύγκριναν τα αποτελέσματα αυτά με αποτελέσματα δοκιμασιών που έγιναν σε δείγματα αίματος μητέρας και νεογνών [80, 99]. Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στα δείγματα μεταξύ των νεογνών και των μητέρων και ιδιαίτερα όσον αφορά στους παράγοντες VII και X. Αντίθετα, δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές στις δοκιμασίες πήξης που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα ομφαλίου λώρου και αρτηριακά δείγματα αίματος των νεογνών. Βασιζόμενοι σε αυτά τα αποτελέσματα, οι συγγραφείς αναφέρθηκαν σε ένα σχεδόν πλήρη φραγμό του πλακούντα για τους παράγοντες πήξης.

Μέχρι τη δεκαετία του 1980, γενικώς επικρατούσε η άποψη ότι το αιμοστατικό σύστημα στα παιδιά ήταν ισοδύναμο με εκείνο των ενηλίκων [100]. Ο όρος «αναπτυξιακή αιμόσταση» εισήχθη για πρώτη φορά από την Maureen Andrews στη δεκαετία του '80 για να περιγράψει τις σχετικές με την ηλικία φυσιολογικές μεταβολές του συστήματος της πήξης, καθώς αναπτύσσεται προοδευτικά με την πάροδο του χρόνου από το εμβρυϊκό, στο νεογνικό, στο παιδιατρικό έως και το ενήλικο και γηριατρικό σύστημα πήξης [92-94].

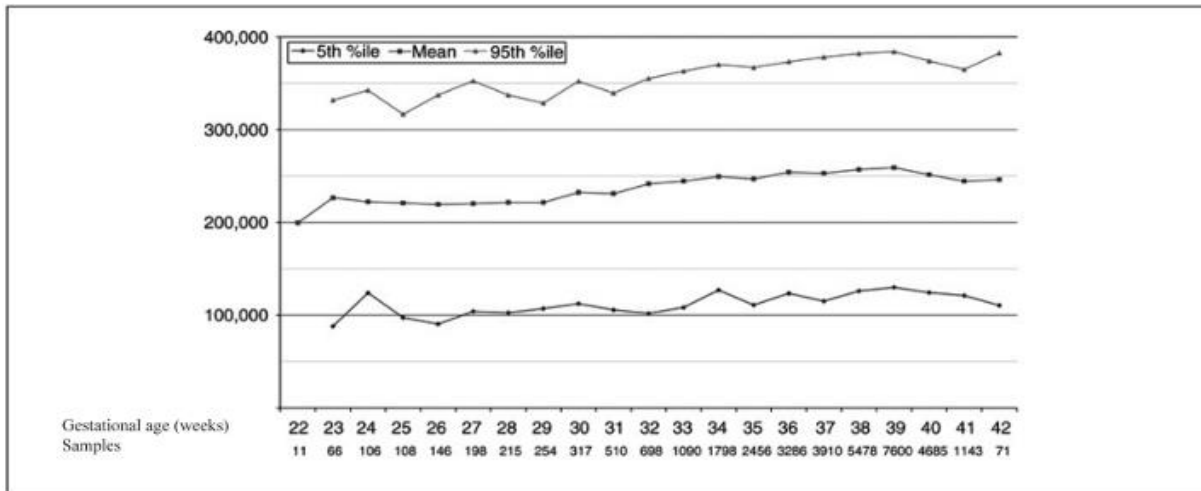
Ο Male και οι συνεργάτες του [101] μελετώντας τα επίπεδα παραγόντων πήξης σε έμβρυα σε διαφορετικές εβδομάδες κύησης και σε νεογνά και βρέφη τους πρώτους 6 μήνες της ζωής τους, μας δηλώνουν ότι οι πρωτεΐνες πήξης του πλάσματος δε διασχίζουν το φράγμα του πλακούντα, αλλά συντίθενται από το ίδιο το έμβρυο.

Ο Reverdiau-Moalic και οι συνεργάτες του αναφέρονται πρόσφατα στη ύπαρξη του φραγμού του πλακούντα όσον αφορά τους παράγοντες πήξης [79, 102]. Μελετώντας τα επίπεδα των παραγόντων πήξης σε έμβρυα σε διαφορετικές ηλικίες κύησης, σε τελειόμηνα νεογνά και σε ενήλικες, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αιμόσταση του εμβρύου είναι ένα δυναμικό και εξελικτικό σύστημα που εξελίσσεται σταδιακά προς την νεογνική κατάσταση και στη συνέχεια προς την ενήλικη κατάσταση.

3.1 Πρωτογενής αιμόσταση

Η πολύπλοκη διαδικασία της παραγωγής αιμοπεταλίων από τους προγόνους των μεγακαρυοκυττάρων έως τα μεγακαρυοκύτταρα και στη συνέχεια στα αιμοπετάλια, αρχίζει νωρίς κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής. Στην 8η εβδομάδα κύησης τα μεγακαρυοκύτταρα ανιχνεύονται στο ήπαρ και στην κυκλοφορία του εμβρύου. Κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής, ο αριθμός των αιμοπεταλίων ακολουθεί γραμμική συσχέτιση με την πρόοδο της κύησης, φθάνοντας έτσι κοντά στις συγκεντρώσεις των ενηλίκων την 22η περίπου εβδομάδα κύησης [103-105]. Τα αιμοπετάλια ανιχνεύονται στην εμβρυϊκή κυκλοφορία από την 11η εβδομάδα κύησης. Τα πρόωρα νεογνά εμφανίζουν χαμηλότερο αριθμό αιμοπεταλίων σε σχέση με τα τελειόμηνα, άλλα πάντα εντός των φυσιολογικών για την ηλικία ορίων.

Σχήμα 9. Εύρος αναφοράς του αριθμού των αιμοπεταλίων κατά τη γέννηση, σε νεογνά με ηλικία κύησης μεταξύ 22 και 42 εβδομάδων [106].



Ο Sola-Visner περιγράφει σχηματικά τη διαδικασία της παραγωγής αιμοπεταλίων στους ενήλικες ως ολοκληρούμενη σε τέσσερα βήματα: (1) παραγωγή θρομβοποιητικών παραγόντων (κυρίως θρομβοποιητίνης), (2) πολλαπλασιασμό προγονικών μορφών μεγακαρυοκυττάρων, (3) ωρίμανση μεγακαρυοκυττάρων και (4) παραγωγή και απελευθέρωση αιμοπεταλίων στην κυκλοφορία. Αυτά τα τέσσερα βήματα είναι ουσιαστικά τα ίδια και για τα νεογνά, παρόλο που υπάρχουν σημαντικές αναπτυξιακές διαφορές στη βιολογία των εμβρυϊκών / νεογνικών μεγακαρυοκυττάρων στις οποίες θα μπορούσε να οφείλεται και η διαφορετική απάντηση των εμβρυϊκών / νεογνικών μεγακαρυοκυττάρων στη θρομβοπενία [105].

Τα υγιή νεογνά έχουν υψηλότερη συγκέντρωση θρομβοποιητίνης στο πλάσμα σε σύγκριση με τους υγιείς ενήλικες, ενώ αντιθέτως τα νεογνά με θρομβοπενία έχουν συνήθως χαμηλότερη θρομβοποιητίνη από ότι οι ενήλικες με θρομβοπενία [103, 107]. Επιπλέον, στα νεογνά τα άωρα μεγακαρυοκύτταρα έχουν ισχυρότερη δυνατότητα πολλαπλασιασμού και είναι πιο ευαίσθητα στην θρομβοποιητίνη από ότι τα προγονικά μεγακαρυοκύτταρα των ενηλίκων. Αντιθέτως, τα εμβρυϊκά /νεογνικά μεγακαρυοκύτταρα είναι μικρότερα, με μικρότερο ποσοστό πλοειδίας (ο αριθμός πολλαπλασίων των απλών χρωμοσωμάτων ενός κυττάρου) από τα ενήλικα μεγακαρυοκύτταρα και παράγουν λιγότερα αιμοπετάλια ανά μεγακαρυοκύτταρο. Έτσι, στα νεογνά με θρομβοπενία συνήθως αυξάνεται ο αριθμός των μεγακαρυοκυττάρων, αλλά όχι και το μέγεθος τους [103]. Το μικρότερο μέγεθός τους και η χαμηλότερη συγκέντρωση (πλοειδία) του DNA στα εμβρυϊκά/νεογνικά μεγακαρυοκύτταρα, πιθανώς σχετίζεται με το μικροπεριβάλλον τους και με άλλους εγγενείς παράγοντες. Οι ερευνητές υποθέτουν ότι αυτές οι αναπτυξιακές διαφορές συμβάλλουν στην αυξημένη ευαισθησία των νεογνών στην θρομβοπενία [108, 109].

Η πήξη του πλάσματος έχει μελετηθεί επαρκώς στα νεογνά, αλλά περιορισμένα είναι τα διαθέσιμα δεδομένα όσον αφορά στη λειτουργία των αιμοπεταλίων, λόγω της δυσκολίας λήψης επαρκούς όγκου αίματος για την επιτέλεση των διαφόρων δοκιμασιών λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων στο νεογνό. Αν και τα πρόωρα νεογνά διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο αιμορραγίας από ό, τι τα τελειόμηνα, οι περισσότερες έρευνες σχετικά με τη λειτουργία των αιμοπεταλίων στη νεογνική ζωή έχουν διενεργηθεί σε τελειόμηνα νεογνά και στην πλειοψηφία αυτών των μελετών χρησιμοποιήθηκαν δείγματα αίματος ομφαλίου λώρου. Ωστόσο, δεν έχει καταστεί ακόμη σαφές εάν τα αιμοπετάλια από το αίμα του ομφαλίου λώρου είναι ένα ακριβές μοντέλο εκτίμησης της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων μόνο κατά τη διάρκεια της εμβρυικής ζωής ή και για τις ακόλουθες ώρες-μέρες της νεογνικής ζωής [110, 111].

Οι μηχανισμοί ωρίμανσης και οι αναπτυξιακές αλλαγές που συμβαίνουν στο έμβρυο και στο νεογνό μετά την γέννηση, επηρεάζουν άμεσα την παραγωγή και τη λειτουργία των αιμοπεταλίων [103]. Οι γλυκοπρωτείνες επιφανείας των αιμοπεταλίων είναι παρούσες στα νεογνικά αιμοπετάλια, άλλα έχουν διαφορετικό βαθμό σύνδεσης/πρόσφυσης με/στους «αγωνιστές» τους σε σύγκριση με αυτού των ενηλίκων. Στις πρώτες ημέρες μετά τη γέννηση, η πρόσφυση των αιμοπεταλίων είναι αυξημένη σε σύγκριση με τους ενήλικες. Η GPIb εμφανίζεται νωρίς στα εμβρυικά αιμοπετάλια (18 έως 26 εβδομάδων) και παρομοίως οι συγκεντρώσεις του vWF στο πλάσμα, είναι μεγαλύτερες από εκείνες που βρέθηκαν σε ενήλικες [104]. Στο νεογνικό πλάσμα, περιέχεται επίσης αυξημένη αναλογία (σε σχέση με ενήλικα) λειτουργικών, μεγάλου μοριακού βάρους μορφών vWF, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα την ενισχυμένη προσκόλληση των αιμοπεταλίων. Το τελευταίο, μπορεί να αντισταθμίσει τη μειωμένη ενδογενή ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων σε υγιή νεογνά, αλλά όχι στα πάσχοντα νεογνά τα οποία μπορεί και να διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας [105]. Η GPIIb / IIIa εκφράζεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων από τα αρχικά στάδια της κύησης. Το ίδιο ισχύει και για το ινωδογόνο, το οποίο από τις πρώτες εβδομάδες κύησης βρίσκεται σε συγκεντρώσεις παρόμοιες με εκείνες των ενηλίκων και συνδέεται κανονικά με τα εμβρυικά / νεογνικά αιμοπετάλια [103, 111, 112]. Σε ανάλυση με κυτταρομετρία ροής δείγματος ομφαλικού και περιφερικού αίματος, καταδεικνύεται γενικευμένη υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων τις πρώτες ημέρες της ζωής σε ενεργοποιητές όπως η επινεφρίνη, το ADP, το κολλαγόνο, η θρομβίνη και το U-46619 (ανάλογο της θρομβοξανής A2), λόγω μειωμένης έκφρασης των αντίστοιχων υποδοχέων επιφανείας τους. Αυτή η αντίδραση φτάνει στα φυσιολογικά επίπεδα των ενηλίκων μεταξύ της 5ης και της 9ης ημέρας ζωής. Δεν είναι σαφές αν αυτή η νεογνική υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων προκαλεί κλινικά σημαντική μείωση της αποτελεσματικότητας της αιμόστασης, αλλά η επιμονή της μετά τη 10η ημέρα της ζωής, μπορεί να υποκρύπτει κάποια διαταραχή των αιμοπεταλίων [113]. Ο

βαθμός υποαντιδραστικότητας των νεογνικών αιμοπεταλίων εξαρτάται από την ηλικία κύησης και ίσως αυτή η παροδική αναπτυξιακή δυσλειτουργία τους προστατεύει τα νεογνά από τις βλαβερές συνέπειες του στρες του τοκετού[114].

Αρχικά, η παροδική υποαντιδραστικότητα των νεογνικών αιμοπεταλίων είχε θεωρηθεί ως αποτέλεσμα της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και της αποκοκκιοποίησης τους κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του τοκετού, άλλα πιο πρόσφατες μελέτες δεν υποστήριξαν αυτή τη θεωρία [115, 116]. Οι πιο αποδεκτές θεωρίες είναι αυτές που υποστηρίζουν ότι στα νεογνικά αιμοπετάλια παρατηρείται μειωμένη κινητοποίηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου και συνεπώς και μειωμένη ενδοκυττάρια σηματοδότηση, περιορισμένη αποκοκκίωση και ελαττωμένη συγκόλληση και συσσώρευση τους, λόγω έκφρασης μειωμένου αριθμού υποδοχέων προσκόλλησης GPII/bIIIa [116].

Ορισμένες μητρικές ασθένειες ενδέχεται να επηρεάσουν τη λειτουργικότητα των νεογνικών αιμοπεταλίων [117]. Για παράδειγμα, τα νεογνά που γεννιούνται από μητέρες με υπέρταση της κύησης, μπορεί να είναι θρομβοπενικά και τα αιμοπετάλια τους να έχουν εξασθενημένη λειτουργία. Η υπέρταση που προκαλείται από την εγκυμοσύνη, μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει-διαφοροποιήσει και τα μητρικά αιμοπετάλια. Νεογνά που γεννιούνται από μητέρες με αρτηριακή υπέρταση στην κύηση, μπορεί να έχουν μειωμένη έκφραση της Ρ-σελεκτίνης και των CD63, GPIIb / IIIa και CD9.2 στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων τους.

Μελέτες σε πειραματόζωα, έχουν δείξει μειωμένη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων σε νεογνά μητέρων με Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) κύησης. Στους πιθανούς παθογενετικούς μηχανισμούς, περιλαμβάνεται και η αυξημένη παραγωγή ινσουλίνης από το εμβρυικό πάγκρεας, η οποία αναστέλλει τη βιοσύνθεση του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF - Platelet Activating Factor), ελαττώνει της σύνθεση της θρομβοξάνης και συνεπώς και την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, μελέτη σε νεογνά μητέρων με ΣΔ τύπου 1 ανέδειξε την ύπαρξη νεογνικής θρομβοπενίας, μέσω εμπλοκής της χαμηλού βαθμού υπάρχουσας φλεγμονής και των αυξημένων επιπέδων λεπτίνης. Η λεπτίνη συνδεδεμένη με τους αντίστοιχους υποδοχείς των αιμοπεταλίων, επάγει τη συσσώρευσή τους και άρα και την κατανάλωσή τους, με αποτέλεσμα τη νεογνική θρομβοπενία. Επιπλέον, τα αιμοπετάλια των ασθενών με διαβήτη είναι υπερκινητικά, κάτι που σε συνδυασμό με τα χαμηλά επίπεδα του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και την επακόλουθη «εξασθένηση» τους, [117-119], είναι άγνωστο αν προκαλούν τις κατάλληλες συνθήκες που είναι υπεύθυνες ή έστω συμβάλλουν στη συχνότητα και τη σοβαρότητα της ενδοκοιλιακής αιμορραγίας σε αυτούς τους πληθυσμούς νεογνών. Δεν είναι γνωστό αν οι αναπτυξιακές αλλαγές που αφορούν στην παραγωγή και στη λειτουργία των αιμοπεταλίων στα νεογνά, επηρεάζουν και

την ανοσολογική απάντησή τους σε διάφορα ερεθίσματα. Η σκέψη αυτή ενισχύεται μετά την παρατήρηση ότι, ειδικά σε εξαιρετικά πρόωρα νεογνά, θρομβοπενία και διαταραχές της λειτουργίας των αιμοπεταλίων παρατηρούνται σε αυξημένο ποσοστό στις νεογνικές λοιμώξεις [113, 115].

Η κλινική αξιολόγηση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων, ξεκινά αρχικά με την καταμέτρηση των αιμοπεταλίων σε επίχρισμα περιφερικού αίματος. Στη νεογνολογία, όπως και στους ενήλικες, η κυτταρομετρία ροής αποτελεί την μέθοδο αναφοράς στην καταμέτρηση των αιμοπεταλίων, χρησιμοποιώντας ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα έναντι αντιγόνων επιφανείας των αιμοπεταλίων (π.χ. anti-CD41 και anti-CD61), τα οποία είναι συζευγμένα με κατάλληλο φορέα φθορισμού.

Ο χρόνος ροής αποτελεί βασική εργαστηριακή δοκιμασία για την αξιολόγηση της πρωτογενούς αιμόστασης, δηλαδή της λειτουργίας των αιμοπεταλίων και του vWF. Ο χρόνος ροής στα τελειόμηνα νεογνά, δε διαφέρει από αυτόν των ενηλίκων, ενώ πρόωρα νεογνά με ηλικία κύησης μικρότερη των 33 εβδομάδων, έχουν την πρώτη ημέρα της ζωής τους χρόνο ροής σχεδόν διπλάσιο των τελειόμηνων [120]. Είναι μια παλιά, ιστορική εξέταση, που σήμερα τείνει να αντικατασταθεί από νεότερες μεθόδους.

Ο PFA -100 (platelet function analyser) αξιολογεί in vitro την πρωτογενή αιμόσταση. Όπως έχουμε ήδη προαναφέρει, ο PFA μετρά τον χρόνο σύγκλεισης (CT-Closure Time) - χρόνος δημιουργίας ενός λευκού θρόμβου in vitro. Τα τελειόμηνα νεογνά έχουν τον ίδιο ή βραχύτερο CT από μεγαλύτερα παιδιά ή ενήλικες [103].

Light transmission Platelet Aggregometry: ελέγχει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων σε απάντηση σε διάφορους ενεργοποιητές τους, όπως το ADP, το κολλαγόνο, η επινεφρίνη, το αραχιδονικό οξύ, η θρομβίνη και τα ιόντα ασβεστίου. Στα φυσιολογικά τελειόμηνα νεογνά παρατηρείται: α) μικρή ανταπόκριση νεογνικών αιμοπεταλίων στην επινεφρίνη οφειλόμενη σε μειωμένους αριθμούς α2-αδρενεργικών υποδοχέων τους, β) μειωμένη απόκριση σε κολλαγόνο λόγω μειωμένης κινητοποίησης ασβεστίου και γ) μειωμένη απόκριση στη θρομβοξάνη λόγω διαταραχής της μετάδοσης των ενδοκυττάρων σημάτων. Αντιθέτως, στα νεογνά η επαγόμενη από τη ριστοσετίνη προσκόλληση των αιμοπεταλίων είναι ενισχυμένη σε σύγκριση με τους ενήλικες. Η ενισχυμένη προσκόλληση των αιμοπεταλίων από τη ριστοσετίνη, οφείλεται στα υψηλότερα επίπεδα του κυκλοφορούντος vWF στο πλάσμα των νεογνών και στην αυξημένη αναλογία λειτουργικών μεγάλου μοριακού βάρους μορφών του. Η έλλειψη τιμών αναφοράς για τα νεογνά και η περιορισμένη διαθεσιμότητα της μεθοδολογίας, μειώνει σημαντικά την κλινική εφαρμογή της Light transmission Platelet Aggregometry στη νεογνολογία [120-122].

Συνοψίζοντας, ο *in vitro* έλεγχος της λειτουργίας των αιμοπεταλίων-μέχρι και σήμερα τουλάχιστον, αποκαλύπτει την φυσιολογική-όπως διαφαίνεται-υπάρχουσα υπολειτουργία των νεογνικών αιμοπεταλίων, σε σύγκριση με αυτή των αιμοπεταλίων των ενηλίκων. Αυτό το συμπέρασμα μερικές φορές ερμηνεύεται ως ένα λειτουργικό ελάττωμα της νεογνικής αιμόστασης. Αυτό έχει επηρεάσει τους νεογνολόγους έτσι, ώστε να επιθυμούν σχετικά υψηλότερους αριθμούς αιμοπεταλίων ως αποδεκτό κατώτερο όριο για τη μετάγγιση αιμοπεταλίων, προς αποφυγή σοβαρών αιμορραγικών συμβάντων στο πολύ ευαίσθητο αυτό πληθυσμό. Ο *in vivo* έλεγχος της λειτουργίας των αιμοπεταλίων και ο σύγχρονος *in vitro* έλεγχος αυτών, φανερώνουν μια φυσιολογική λειτουργία ή μια υπερλειτουργία των αιμοπεταλίων των νεογνών, σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια των ενηλίκων, εύρημα το οποίο θα πρέπει να επηρεάσει και να καθοδηγήσει την πρακτική μετάγγισης με αιμοπετάλια στη νεογνολογία [103]. Η συσχέτιση των *in vitro* και *in vivo* διαφορών στις δοκιμές της λειτουργίας των αιμοπεταλίων, μπορεί να μετριάσει την αρχική μας ανησυχία ότι η πρωτοπαθής αιμόσταση-λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων στα νεογνά είναι ελαττωματική και μπορεί να δώσει το έναυσμα στους νεογνολόγους για αναθεώρηση των κατευθυντήριων οδηγιών μεταγγισιοθεραπείας όσων αφορά στα αιμοπετάλια. Με αυτό τον τρόπο, θα διευκολυνθεί συνάμα και ο αρτιότερος ορισμός των αναπτυξιακών πτυχών όλων των αιμοστατικών στοιχείων, βοηθώντας μας να σχεδιάσουμε βέλτιστες πρακτικές για την πρόληψη αιμοστατικών προβλημάτων σε εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά.

3.2. Δευτερογενής αιμόσταση στην εμβρυϊκή και νεογνική ζωή.

Η θεμελιώδης αρχή της αναπτυξιακής αιμόστασης, είναι ότι τα λειτουργικά επίπεδα των πρωτεϊνών πήξης μεταβάλλονται κατά έναν προβλέψιμο τρόπο με την πάροδο της ηλικίας. [82]. Οι πρωτεΐνες πήξης εκφράζονται νωρίς στην εμβρυϊκή ζωή. Το ήπαρ είναι η θέση της σύνθεσης των περισσότερων πρωτεϊνών πήξης, ενώ οι επιφάνειες των αιμοπεταλίων και των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι οι θέσεις ενεργοποίησής τους. Αγγελιοφόρα RNA ενδοθηλιακών πρωτεϊνών συμπεριλαμβανομένων του παράγοντα vonWillebrand (VWF), της θρομβομοδουλίνης, του ιστικού παράγοντα και του αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI)-μπορούν να ανιχνευθούν στην εμβρυϊκή κυκλοφορία από την 4η εβδομάδα κύησης [98]. Από την 5η εβδομάδα κύησης, τα εμβρυϊκά ηπατοκύτταρα είναι ικανά να συνθέσουν παράγοντες πήξης. Το εμβρυϊκό πλάσμα ήδη από την 10η εβδομάδα κύησης, παρουσιάζει θρομβωτική και ινωδολυτική δραστηριότητα –ιδιότητα [79, 98]. Πολλοί παράγοντες εξηγούν τα πολλά μοναδικά χαρακτηριστικά της αιμόστασης του εμβρύου. Η «οντογένεση» της πήξης, χαρακτηρίζεται από διαφορετικά πρότυπα έκφρασης και

λειτουργίας ορισμένων παραγόντων της[96]. Ο ιστικός παράγοντας για παράδειγμα, εκφράζεται ευρύτερα κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής σε σύγκριση με τους ανατομικούς περιορισμούς που παρουσιάζει στον ενήλικα και φαίνεται να εξυπηρετεί και άλλες λειτουργίες έκτος της συμμετοχής του στο μηχανισμό πήξης, όπως είναι η ενεργή συμμετοχή του στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση [123]. Η ανάπτυξη "knock-out" γονιδίων, καθώς και η εισαγωγή τροποποιημένων γονιδίων (διαγονιδιακά μοντέλα-transgenic) σε πειραματικά μοντέλα ζώων, δείχνουν ότι η πλήρης απουσία του ιστικού παράγοντα, του TFPI ή της προθρομβίνης αποβαίνει θανατηφόρα για το έμβρυο του ποντικού, ενώ η απουσία του FVIII, του TPA, του PAI-1 και του πλασμινογόνου δεν επηρεάζουν την ανάπτυξη του εμβρύου.

Ποσοτικές διαφορές των παραγόντων πήξης στην εμβρυϊκή/νεογνική ζωή

Οι προπηκτικοί παράγοντες.

Η παραγωγή θρομβίνης στο φλεβικό σύστημα ενεργοποιείται από την χαμηλή ροή αίματος και την οξέωση, ενώ στην αρτηριακή κυκλοφορία ενεργοποιείται από ένα υψηλό ρυθμό διατμητικής τάσης που είναι χαρακτηριστικό της παρακώλυσης της ροής του αίματος. Η φλεγμονή συνήθως σχετίζεται με την παραγωγή θρομβίνης και με επίκτητες διαταραχές της πήξης. Η παραγωγή /έκφραση της θρομβίνης αφενός καθυστερεί και αφετέρου είναι μειωμένη στο πλάσμα του νεογέννητου σε σύγκριση με το πλάσμα των ενηλίκων, είναι όμως παρόμοια με αυτή που ανιχνεύεται σε πλάσμα από ενήλικες που λαμβάνουν θεραπευτικές δόσεις βαρφαρίνης ή ηπαρίνης. Έχει φανεί ότι τα εξαιρετικά πρόωρα νεογνά παρουσιάζουν αύξηση των συγκεντρώσεων της θρομβίνης ταχύτερα από ό, τι τα τελειόμηνα νεογνά και οι ενήλικες. Αυτή η διαπίστωση αποδίδεται τόσο στην αυξημένη συγκέντρωση του κυκλοφορούντος TF, όσο και στα μειωμένα επίπεδα του TFPI και της αντιθρομβίνης στο πλάσμα τους [124, 125]. Επιπλέον, στο ανθρώπινο έμβρυο και στο πρόωρο νεογνό έχει αποδειχθεί η αυξημένη παραγωγή TF στα μονοκύτταρα και στα ενδοθηλιακά κύτταρά τους σε σύγκριση με τον ενήλικα. Πρόσφατα τεκμηριωμένα στοιχεία, υποδηλώνουν ότι μια διαλυτή μορφή TF ανευρίσκεται φυσιολογικά στο πλάσμα των ενηλίκων. Το αν όμως υπάρχει διαλυτή μορφή του TF στο πλάσμα του νεογέννητου, δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί.

Οι εξαρτώμενες από την βιταμίνη Κ πρωτεΐνες, δηλαδή οι παράγοντες II, VII, IX, X, καθώς και οι πρωτεΐνες-C και -S, παρουσιάζουν γενικά μειωμένες συγκεντρώσεις κατά την ωρίμανση του εμβρύου [79, 126]. Η βιταμίνη Κ είναι απαραίτητη για την μετα-μεταφραστική γ-καρβοξυλίωση των πρωτεϊνών αυτών στο ηπατοκύτταρο, διαδικασία η οποία καθιστά τις πρωτεΐνες αυτές λειτουργικές. Πρόκειται για μια μετα-μεταφραστική τροποποίηση, η οποία εξαρτάται από τη βιταμίνη-Κ και πραγματοποιείται από μια ειδική γ-γλουταμυλ-καρβοξυλάση στο ενδοπλασματικό δίκτυο των

ηπατικών κυττάρων. Αυτή λοιπόν η τροποποίηση ορισμένων πρωτεϊνικών γ-καρβοξυ-γλουταμικών οξέων (με τελικό σκοπό την παραγωγή των ενεργών μορφών πρωτεϊνών-προκειμένου εδώ των πηκτικών παραγόντων) επισυμβαίνει στα πλαίσια του κυτταρικού κύκλου οξειδωσης / αναγωγής της βιταμίνης K και περιλαμβάνει ως κύρια ένζυμα την αναγωγή του εποξειδίου της βιταμίνης K και την γ-γλουταμυλ-καρβοξυλάση. Έχουν αναφερθεί σπάνιες ομόζυγες υπολειπόμενες ελλείψεις αυτών των ενζύμων, με αποτέλεσμα σοβαρές ανεπάρκειες όλων των πρωτεϊνών που εξαρτώνται από τη βιταμίνη K. Κατά τη διάρκεια της κύησης υπάρχει μια απότομη διαφορά συγκέντρωσης για τη βιταμίνη K, η οποία διαπερνά τον πλακούντα, με αποτέλεσμα τα εμβρυϊκά επίπεδα αυτής να διατηρούνται περίπου στο 10% των αντίστοιχων επιπέδων του μητρικού πλάσματος [127]. Αν και το τελεολογικό πλεονέκτημα των χαμηλών επιπέδων της εμβρυϊκής βιταμίνης K είναι υπό συζήτηση, γνωρίζουμε ότι η παρουσία της βιταμίνης K σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να είναι μεταλλαξιόγonos στο εμβρυϊκό DNA. Το ηπατικό mRNA που μεταγράφει τις εξαρτώμενες από την βιταμίνη K πρωτεΐνες, έχει βρεθεί σε αυξημένη συγκέντρωση σε εμβρυϊκά ζωικά μοντέλα, αντικατοπτρίζοντας άφθονες ενδοκυττάρια δεξαμενές των πρωτεϊνών αυτών. Οι K-βιταμινοεξαρτώμενοι παράγοντες πήξης είναι οι πιο εκτενώς μελετημένοι από την ομάδα των παραγόντων πήξης στην νεογνική και βρεφική ηλικία, αντανακλώντας έτσι την κλινική τους σημασία στην αιμορραγική νόσο του νεογνού (HDN) [93, 128]. Έχουν σημειωθεί βιοχημικές ενδείξεις ανεπάρκειας βιταμίνης K, συμπεριλαμβανομένων και μετρίως μειωμένων πρωτεϊνικών αντιγόνων, αλλά και σοβαρώς μειωμένων πρωτεϊνικών δραστηριοτήτων των παραγόντων II, VII, IX και X σε ποσοστό 2,7% των φυσιολογικών δειγμάτων αίματος ομφάλιου λώρου. Αναλογικά, σε περιπτώσεις υγιών νεογνών όπου η βιταμίνη K δε χορηγείται προφυλακτικά κατά την γέννηση, η μη καρβοξυλιωμένη προθρομβίνη ανιχνεύεται στο πλάσμα αυτών σε ποσοστό περίπου 3%. Περίπου ένα στα 1000 από αυτά τα νεογνά θα παρουσιάσει αιμορραγία που σχετίζεται με την ανεπάρκεια της βιταμίνης-K και 1 στα 10.000 από αυτά τα νεογνά θα παρουσιάσει αιμορραγία απειλητική για τη ζωή του (συνήθως ενδοκράνια αιμορραγία, αιμορραγία γαστρεντερικού συστήματος ή πνευμονική αιμορραγία). Μετά από ενδομυϊκή ή ενδοφλέβια χορήγηση βιταμίνης K, έχει μελετηθεί ότι επισυμβαίνει ταχεία ενδοκυττάρια καρβοξυλίωση και απελευθέρωση των προδρομών προσηματισμένων πρωτεϊνών πήξης, που οδηγούν σε ταχεία διόρθωση του παρατεταμένου χρόνου προθρομβίνης με σημαντική βελτίωση αυτού σε 4 ώρες. Οι δραστηριότητες των παραγόντων πήξης που εξαρτώνται από τη βιταμίνη K, μειώνονται άμεσα μεταγεννητικά παρά την προφυλακτική χορήγηση της βιταμίνης K και συμβάλλουν στην ήπια παράταση του χρόνου προθρομβίνης, η οποία είναι μεγαλύτερη την 3η ημέρα ζωής του νεογνού και επανέρχεται στα όρια των ενηλίκων την 5η ημέρα της ζωής του. Τα επίπεδα των K-βιταμινοεξαρτώμενων παραγόντων πήξης αυξάνονται παροδικά κατά τη διάρκεια της κύησης, έτσι ώστε στα μέσα αυτής τα επίπεδα τους να φτάνουν στο

10 – 30% αυτών των ενηλίκων, συγκεντρώνουν τις οποίες διατηρούν μέχρι τον τοκετό. Αμέσως μετά την γέννηση τα επίπεδά τους αυξάνονται με αργό αλλά σταθερό ρυθμό και η αύξηση αυτή βρίσκεται σε απόλυτη συνάρτηση με την ωρίμανση των ηπατικών κυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, αμέσως μετά τη γέννηση, τα επίπεδά τους αντιστοιχούν γενικά στο 30% έως 50% των επιπέδων των ενηλίκων. Η δραστικότητα του παράγοντα IX στα φυσιολογικά νεογνά μπορεί να είναι τόσο χαμηλή όσο το 15% της δραστικότητας αυτής των ενηλίκων και είναι δυνατόν να μην φθάσει τα επίπεδα των ενηλίκων, ακόμα και στους 9 πρώτους μήνες της ζωής. Επίσης, τα χαμηλά επίπεδα των παραγόντων II (FII), FVII, FIX και FX δεν εξηγούνται αποκλειστικά από την ανεπάρκεια της βιταμίνης K, καθώς χαμηλά επίπεδα αυτών μετρήθηκαν και σε νεογνά που έλαβαν προφυλακτικά βιταμίνη K κατά τη γέννηση.

Οι παράγοντες του συστήματος επαφής (XI, XII, προκαλλικρεΐνη, MMBK ή Μεγάλου MB Κινογονόνο) είναι παρόντες στο 30% έως 50% των φυσιολογικών επιπέδων των ενηλίκων κατά τη διάρκεια της κύησης. Τα χαμηλά επίπεδα αυτών των πρωτεϊνών είναι υπεύθυνα για τη χαρακτηριστική παράταση του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης που παρατηρείται στο νεογνικό πλάσμα. Ωστόσο, οι ανεπάρκειες αυτών των πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων των σοβαρών γενετικών ελλείψεων τους, δεν προκαλούν κλινική αιμορραγία εκτός από την ανεπάρκεια του παράγοντα XI, η οποία προκαλεί ποικίλης βαρύτητας σημεία κλινικής αιμορραγίας. Οι πρωτεΐνες του συστήματος επαφής φαίνεται να παίζουν πιο σημαντικό ρόλο στην διαδικασία έναρξης της φλεγμονής και της ινωδύωσης, παρά στην αυξημένη παραγωγή θρομβίνης.

Έτσι, στους πρώτους 6 μήνες ζωής, τα επίπεδα των K-βιταμινοεξαρτώμενων παραγόντων πήξης όπως επίσης και αυτά του συστήματος επαφής (προκαλλικρεΐνη, παράγοντες XI και XII), είναι αντίστοιχα αυτών των ενηλίκων, εκτός αυτών του παράγοντα IX και της πρωτεΐνης C. Η παράταση του aPTT κατά τους πρώτους μήνες της ζωής οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στα χαμηλά επίπεδα των παραγόντων του συστήματος επαφής. Η διάγνωση της ήπιας ανεπάρκειας του παράγοντα IX κατά την νεογνική περίοδο είναι δύσκολη, διότι ο συγκεκριμένος παράγοντας επιτυγχάνει τα φυσιολογικά επίπεδα δραστικότητάς του μετά τους πρώτους 9 μήνες της ζωής. Αμέσως μετά την γέννηση τα επίπεδα της πρωτεΐνης C και της προθρομβίνης παραμένουν χαμηλά και μόνο κατά την εφηβική ηλικία αγγίζουν τα φυσιολογικά επίπεδα των ενηλίκων [129].

Ωστόσο, μερικές πρωτεΐνες συμπεριλαμβανομένων του vWF, του παράγοντα VIII και του ινωδογόνου, παρουσιάζουν στα μέσα της κύησης συγκεντρώσεις στο εμβρυϊκό πλάσμα ίδιες ή κοντά στα επίπεδα των ενηλίκων [79, 126].

Η θρομβίνη ενεργοποιεί τους συμπαράγοντες πήξης V και VIII. Μετά την ενεργοποίησή τους, ο

καθένας μπορεί να λειτουργήσει σε ένα σύμπλεγμα που αυξάνει τις αντιδράσεις πήξης μέχρι και 1.000 φορές, αλλά όπως είδη έχει προαναφερθεί, κανένας από τους δύο αυτούς τους παράγοντες δεν είναι ένζυμο. Οι συγκεντρώσεις των παραγόντων V και VIII στο πλάσμα, φθάνουν τις τιμές των ενηλίκων στην ηλικία των 20 εβδομάδων κύησης. Επειδή ο παράγοντας VIII ωριμάζει νωρίς, η διάγνωση της αιμορροφιλίας λόγω ανεπάρκειας του παράγοντα VIII (αιμορροφιλία A) μπορεί να βασίζεται σε δείγματα που λαμβάνονται με δειγματοληψία ομφαλικού αίματος μετά από τις 18 εβδομάδες κύησης, καθώς και με γονιδιακό προσδιορισμό της σε ινοβλάστες οποιαδήποτε στιγμή μετά από τις πρώτες 8 εβδομάδες κύησης. Η μέση δραστηριότητα του παράγοντα VIII κατά τη γέννηση είναι 150% των φυσιολογικών επιπέδων των ενηλίκων, γεγονός που οφείλεται στο ότι ο παράγοντας vonWillebrand που χρησιμεύει ως πρωτεΐνη-φορέας για τον παράγοντα VIII, έχει συγκεντρώσεις στο πλάσμα μεγαλύτερες από εκείνες που βρέθηκαν σε ενήλικες [104]. Στο νεογνικό πλάσμα, περιέχεται επίσης αυξημένη αναλογία (σε σχέση με τον ενήλικα) λειτουργικών, μεγάλου μοριακού βάρους μορφών vWF. Τα επίπεδα τόσο του vWF, όσο και των μεγάλου μοριακού βάρους μορφών του, αυξάνονται κατά τη γέννηση έως και τους 3 πρώτους μήνες ζωής [130].

Άλλοι παράγοντες όπως οι VII, V και XIII, δείχνουν προοδευτική αύξηση των επιπέδων τους κατά τη διάρκεια της κύησης. Αντιθέτως κατά την γέννηση, τα επίπεδα των ινωδογόνου, FV, FVIII και FXIII στο πλάσμα είναι αντίστοιχα με αυτά των ενηλίκων.

Το ινωδογόνο

Τα επίπεδα του ινωδογόνου συνεχίζουν να αυξάνονται και μετά τη γέννηση. Το ινωδογόνο, η πρωτεΐνη του υποστρώματος για τη δημιουργία του θρόμβου του ινώδους, ανευρίσκεται σε μέσες συγκεντρώσεις και εντός της κλίμακας των ενηλίκων τις πρώτες εβδομάδες κύησης, αλλά κάτω από το μέσο όρο των τιμών των ενηλίκων μετά από τις 28 εβδομάδες κύησης. Για τη φυσιολογική αιμόσταση χρειάζονται συγκεντρώσεις ινωδογόνου 1,0 g/L (100 mg/dL). Οι συγκεντρώσεις του ινωδογόνου σε αίμα ομφάλιου λώρου είναι γενικά εντός του φυσιολογικού εύρους των ενηλίκων και μειώνονται συχνά μεταγεννητικά σε άρρωστα πρόωρα νεογνά.

Παράγοντας XIII.

Ο παράγοντας XIII ή παράγοντας σταθεροποίησης του ινώδους, είναι ένα ένζυμο του συστήματος της πήξης το οποίο χρησιμεύει στη σταθεροποίηση του δικτύου του ινώδους. Ο XIII ενεργοποιείται από τη θρομβίνη προς σχηματισμό του ενεργού/δραστικού παράγοντα XIIIa και σταθεροποιεί το ινώδες καθιστώντας το ανθεκτικό στην ινωδόλυση (η φυσιολογική διάσπαση των θρόμβων του αίματος). Επίπεδα του παράγοντα XIII αναπτύσσονται νωρίς στην εμβρυϊκή ζωή. Η ανεπάρκεια του

παράγοντα XIII κατά την εμβρυϊκή/νεογνική περίοδο συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ενδοκράνιας αιμορραγίας.

Η τελική ποσοτική και φαινοτυπική έκφραση των εμβρυϊκών πρωτεϊνών πήξης καθορίζεται κυρίως από τη διαδικασία μετάφρασής τους και δευτερευόντως από αυτή της μεταγραφής τους (που δε μας επιτρέπουν να αγνοούμε την τρισδιάστατη δομή τους). Σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της πήξης κατά την εμβρυϊκή ζωή και τη νεογνική περίοδο παίζει και η επιταχυνόμενη κάθαρση των πρωτεϊνών του πλάσματος, γεγονός που οφείλεται στον αυξημένο βασικό μεταβολισμό της πολύ νεαρής ηλικίας τους [131]. Για παράδειγμα, έχει περιγραφεί επιταχυνόμενη κάθαρση ινωδογόνου σε πρόωρα νεογνά με ή χωρίς σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας [132]. Γενικά, τα κυκλοφορούντα επίπεδα των παραγόντων πήξης του πλάσματος τα οποία είναι ανιχνεύσιμα στο έμβρυο από την 10η εβδομάδα της κύησης, παραμένουν σε χαμηλές συγκεντρώσεις για τους περισσότερους παράγοντες μέχρι λίγο πριν από την αυτόματη έναρξη της διεργασίας του τοκετού [79, 126]. Η ποσότητα της παραγόμενης θρομβίνης είναι άμεσα αναλογική προς τη συγκέντρωση της προθρομβίνης, ενώ ο βαθμός της δημιουργίας θρομβίνης αντανακλά τη συγκέντρωση άλλων προπηκτικών ουσιών [133].

Φυσικοί αναστολείς της πήξης

Η θρομβίνη αναστέλλεται άμεσα από την αντιθρομβίνη (AT), από τον συμπαράγοντα II της ηπαρίνης (HCII) και από την α2-μακροσφαιρίνη (α2M).

Η αντιθρομβίνη, ο πιο σημαντικός φυσιολογικός αναστολέας της θρομβίνης και των ενεργοποιημένων παραγόντων –πρωτεάσεων της σερίνης IXa, Xa και XIa, είναι παρούσα στο πλάσμα του εμβρύου σε συγκεντρώσεις περίπου 50% σε σχέση με τα φυσιολογικά της επίπεδα στους ενήλικες. Το μόριο της αντιθρομβίνης που υπάρχει στο νεογνικό πλάσμα είναι ισοδύναμα λειτουργικό με εκείνο του ενήλικα. Η ανασταλτική δράση της αντιθρομβίνης επιταχύνεται 1.000 φορές από την παρουσία μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης. Οι χαμηλές συγκεντρώσεις της αντιθρομβίνης στο πλάσμα του νεογέννητου συμβάλλουν στην αντοχή που παρουσιάζει στην ηπαρίνη και καθιστούν το νεογνό ευάλωτο στη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (DIC).

Ο συμπαράγοντας II της ηπαρίνης ανιχνεύεται στο πλάσμα του εμβρύου σε συγκέντρωση που αντιστοιχεί περίπου στο 25% της συγκέντρωσης της αντιθρομβίνης. Τη δραστηριότητα αυτού του συγκεκριμένου αναστολέα θρομβίνης (HCII), την υποκαθιστά στο έμβρυο μια φυσιολογική αντιπηκτική πρωτεογλυκάνη με ιδιότητες όμοιες με αυτές της θειϊκής δερματάνης, η οποία μπορεί να ανιχνευθεί στο πλακούντα και στο εμβρυϊκό πλάσμα [134]. Η πρωτεογλυκάνη αυτή του εμβρύου

είναι παρούσα στο πλάσμα του σε συγκεντρώσεις 0.29 mg / mL, έχει ένα μοριακό βάρος 150.000 kDa και καταλύει την αναστολή της θρομβίνης μέσω του φυσικού αναστολέα HCII. Το εμβρυϊκό αντιπηκτικό υπάρχει επίσης στο πλάσμα εγκύων γυναικών και παράγεται από τον πλακούντα [135]. Το χρονικό διάστημα κατά το οποίο κυκλοφορεί το εμβρυϊκό αυτό αντιπηκτικό στα νεογνά, δεν είναι γνωστό.

Η α2-μακροσφαιρίνη, δεύτερος και πολύ σημαντικός αναστολέας της θρομβίνης στο πλάσμα των νεογνών και κατά την βρεφική ζωή, βρίσκεται σε συγκεντρώσεις 150% - 200% αυτών που ανιχνεύονται στο πλάσμα των ενηλίκων. Συνέπεια της πιο αυξημένης συγκέντρωσής σε σχέση με την αντιθρομβίνη, η α2-μακροσφαιρίνη παίζει τον πιο σημαντικό ρόλο στην αναστολή της θρομβίνης κατά την πρώιμη ζωή. Επιπλέον, η α2-μακροσφαιρίνη αντισταθμίζει εν μέρει τα χαμηλά επίπεδα της AT στα νεογνά, ακόμη και στις ενδοθηλιακές κυτταρικές επιφάνειες. Ο χρόνος ημίσειας ζωής της AT σε υγιή νεογνά που απαιτείται να υποβληθούν σε αφαιμαξομετάγγιση (ΑΦΜ) είναι μικρότερος σε σχέση με αυτόν των ενηλίκων [136]. Παρά τις παραπάνω διαφορές, ο ρυθμός αναστολής της θρομβίνης είναι ακόμη πιο αργός στα νεογέννητα από ό, τι στους ενήλικες.

Η πρωτεΐνη C και οι συμπαράγοντές της πρωτεΐνης S και Z, είναι παρούσες σε μειωμένες συγκεντρώσεις κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής. Η συγκέντρωση της πρωτεΐνης C μπορεί να είναι φυσιολογικά τόσο χαμηλή όσο το 25% των επιπέδων της στους ενήλικες σε τελειόμηνα νεογνά και συχνά είναι χαμηλότερη από το αντίστοιχο 10% σε εξαιρετικά πρόωρα νεογνά. Έτσι, στη νεογνική ηλικία οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα της πρωτεΐνης C παραμένουν μειωμένες έως και την εφηβεία. Τα επίπεδα της πρωτεΐνης C στο πλάσμα των νεογνών ελαττώνονται γρήγορα σε καταστάσεις όπως η σήψη, η DIC και η αναπνευστική ανεπάρκεια. Οι συνολικές συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης S φθάνουν σε ένα μέσο επίπεδο περίπου του 40% στο πλάσμα των τελειόμηνων νεογνών σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις τους στο πλάσμα του ενήλικα. Στους ενήλικες, η πρωτεΐνη S κυκλοφορεί στο πλάσμα υπό την ελεύθερη μορφή της (40%) ή δεσμευμένη στη ρυθμιστική πρωτεΐνη C4 του συμπληρώματος (C4bBP). Ο βιολογικός χρόνος ημιζωής της είναι 2- 3 ημέρες. Η C4bBP ανήκει στις πρωτεΐνες οξείας φάσης και συνεπώς αυξάνεται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις προκαλώντας επίκτητη ελάττωση της ελεύθερης πρωτεΐνης S. Μόνο η ελεύθερη πρωτεΐνη S εμφανίζει αντιπηκτική δραστηριότητα. Η ελεύθερη πρωτεΐνη S χρησιμεύει ως απαραίτητος συμπαράγοντας για την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC), η οποία απενεργοποιεί πρωτεολυτικά τις ενεργοποιημένες μορφές των παραγόντων της πήξης V και VIII (Va και VIIIa). Είναι πολύ σημαντικό ότι το πλάσμα των νεογνών περιέχει αμελητέα επίπεδα πρωτεΐνης C4bBP. Συνεπώς, ουσιαστικά όλη η νεογνική πρωτεΐνη S είναι ελεύθερη να λειτουργήσει ως συμπαράγοντας της πρωτεΐνης C [137, 138]. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης S με την ενεργοποιημένη

πρωτεΐνη C στο πλάσμα του νεογνού, μπορεί να ρυθμίζεται από τα αυξημένα επίπεδα της α2Μ. Τα επίπεδα της θρομβομοδουλίνης του πλάσματος (η οποία είναι ένας επιφανειακός υποδοχέας των ενδοθηλιακών κυττάρων που λειτουργεί ως μεμβρανικός υποδοχέας της θρομβίνης, με την οποία συνδέεται και ενεργοποιεί ως σύμπλεγμα την πρωτεΐνη C), είναι αυξημένα στην νεογνική και πρώιμη παιδική ηλικία, σταδιακά μειούμενα στις τιμές των ενηλίκων στα τέλη της εφηβείας. Ωστόσο, η επίδραση της ηλικίας στην έκφραση των θρομβομοδουλίνης στο ενδοθηλιακό κύτταρο δεν έχει καθοριστεί [139, 140].

Ινωδόλυση

Το νεογνικό ινωδολυτικό σύστημα είναι σύμπλοκο. *In vitro* μελέτες αποκαλύπτουν στοιχεία ότι το πλάσμα νεογέννητου έχει μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα σε σύγκριση με το πλάσμα ενός υγιούς ενήλικα. Στο νεογνό τα επίπεδα του ινωδολυτικού ζυμογόνου, του πλασμινογόνου, είναι περίπου το 50% των επιπέδων των ενηλίκων. Οι συγκεντρώσεις του αναστολέα της πλασμίνης, α2-αντιπλασμίνης στο αίμα ομφαλίου λώρου τελειόμηνων νεογνών, είναι ίσες με αυτές στο πλάσμα ενηλίκων.

Τα επίπεδα του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου στα νεογνά είναι μειωμένα σε σχέση με τους ενήλικες, αλλά τα επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου είναι σε συγκεντρώσεις ίδιες με αυτές των ενηλίκων. Το νεογνικό πλάσμα περιέχει την εμβρυϊκή μορφή του μορίου του πλασμινογόνου που διαφέρει από τη μορφή του πλασμινογόνου του ενήλικα, λόγω αυξημένης περιεκτικότητάς του σε σιαλικό οξύ και φωσφορικά. Αυτό το μόριο ενεργοποιείται σε μικρότερο ποσοστό σε πλασμίνη σε σύγκριση με την ενήλικη μοριακή μορφή του. Ωστόσο παραδόξως, χρησιμοποιώντας δοκιμασίες όπως η θρομβοελαστογραφία (TEG) σε δείγμα αίματος ομφαλίου λώρου νεογνών, αναδείχθηκε αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα. Υπάρχει συνήθως μια απότομη αύξηση στην ινωδολυτική δραστηριότητα του πλάσματος σε υγιή νεογέννητα μέσα σε περίπου 4 ώρες μετά τη γέννηση, γεγονός που δεν παρατηρείται στο πλάσμα πρόωρων νεογνών με σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας. Επιπλέον, πρόσφατες έρευνες έχουν προσδιορίσει ότι η πλασμίνη που προέρχεται από εμβρυϊκό πλασμινογόνο είναι ανθεκτικότερη στην αδρανοποίησή της από την αντιπλασμίνη[127]. Έτσι, ενώ μελετώντας μεμονωμένα τα συστατικά του νεογνικού ινωδολυτικού συστήματος θα προσβλέπαμε σε μια πιθανότατη λειτουργική του ανεπάρκεια, το νεογνικό σύστημα λύσης του θρόμβου στην πραγματικότητα, είναι πολύ αποτελεσματικό. Ωστόσο, η ινωδολυτική δραστηριότητα φαίνεται να εξαντλείται εύκολα στο άρρωστο πρόωρο νεογνό. Η μειωμένη ινωδολυτική ικανότητα σε αυτά τα νεογνά, είναι ένας κακός προγνωστικός δείκτης[127].

Αιμοφόρα αγγεία

Λόγω της σχετικής δυσκολίας που περιλαμβάνει η μελέτη τους, οι κυτταρικές πρωτεΐνες και οι διεργασίες τους είναι τα τελευταία μελετώμενα πεδία έρευνας της νεογνικής αιμόστασης. Έτσι, μόλις πρόσφατα έχει καθοριστεί ότι η έκφραση των κυτταρο-σχετιζόμενων πρωτεϊνών πήξης, όπως ο ιστικός παράγοντας και η θρομβομοδουλίνη, μπορεί να ανιχνευθεί από την 8η εβδομάδα κύησης, ενώ αυτοί οι παράγοντες διανέμονται και ευρέως στους ιστούς πέραν του πλάσματος. Για παράδειγμα, μερικές πρωτεΐνες όπως ο τύπου ουροκινάσης-ενεργοποιητής του πλασμινογόνου, ο ιστικός παράγοντας και η θρομβίνη είναι κρίσιμες για την φυσιολογική ανάπτυξη των ιστών και τη διαφοροποίηση αυτών[127].

Το σύμπλεγμα TF/ FVIIa που σχηματίζεται όταν η υπενδοθηλιακή επιφάνεια εκτίθεται στον τραυματισμό, ενεργοποιεί τους FX και FIX και ξεκινά την διαδικασία της πήξης. Ανεπάρκεια του ιστικού παράγοντα δεν έχει περιγραφεί στους ανθρώπους, υποδεικνύοντας τη θεμελιώδη λειτουργία του στην αιμόσταση. Πιο συγκεκριμένα, η απουσία έκφρασης του ιστικού παράγοντα οδηγεί σε εμβρυϊκό θάνατο σε χρονικό διάστημα $8^{1/2}$ - $10^{1/2}$ ημερών στον ποντικό [141]. Μπορεί κανείς να δει λίμνες ερυθρών αιμοσφαιρίων στον λεκιθικό σάκο των εν λόγω ποντικών [142]. Το πιο ενδιαφέρον, ήταν ότι σε αυτά τα έμβρυα ήταν απόντα τα μεγάλα αγγεία που συνδέουν τον λεκιθικό ασκό και το εμβρυϊκό αγγειακό σύστημα και επίσης δεν παρατηρήθηκε ροή αίματος στα αγγεία του λεκιθικού ασκού των εν λόγω εμβρύων. Έτσι, ο ιστικός παράγοντας κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης είναι απαραίτητος όχι μόνο σαν πρωτεΐνη πήξης, αλλά και για την ανάπτυξη και την ακεραιότητα του αγγειακού συστήματος. Πιο πρόσφατα μελετημένα μοντέλα ποντικών, υποδηλώνουν ότι το τελευταίο ισχύει για έναν μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών πήξης [143]. Σε αντίθεση με τον ιστικό παράγοντα, οι ποντικοί με έλλειψη του FVII επιβίωσαν μέχρι τον τοκετό, αλλά η πλειοψηφία αυτών πέθανε στις πρώτες 24 ώρες ζωής από ενδοκοιλιακή αιμορραγία και οι υπόλοιποι πέθαναν μέσα στις πρώτες 3 με 4 εβδομάδες της ζωής [144]. Μοντέλα "knock-out" ποντικών, χρησιμοποιώντας κατευθυνόμενες διαγραφές γονιδίων, βοήθησαν στην εκτίμηση της φυσιολογικής συνάφειας των διαφόρων πρωτεϊνών της πήξης στη γενικότερη εμβρυϊκή αύξηση και ανάπτυξη. Εν κατακλείδι, πολλά δεν έχουν ανακαλυφθεί ακόμη όσον αφορά στη φυσιολογική ωρίμανση των αιμοφόρων αγγείων.

Ποιοτικές διαφορές των παραγόντων πήξης στην εμβρυϊκή/νεογνική ζωή

Η πλειοψηφία των δημοσιευμένων ερευνών που αφορά στη μελέτη του εμβρυϊκού και νεογνικού αιμοστατικού μηχανισμού έως σήμερα, έχουν επικεντρωθεί σε ποσοτικές διαφορές των πρωτεϊνών πήξης βασισμένες σε λειτουργικές δοκιμασίες. Ωστόσο, οι πρωτεΐνες πήξης έχουν πολύπλοκες

τριδιάστατες δομές, οι οποίες πιθανότατα σχετίζονται με πολλαπλές λειτουργίες αυτών [130]. Ως παράδειγμα, το ινωδογόνο του οποίου η συγκέντρωση στο πλάσμα του εμβρύου από την 27η εβδομάδα κύησης είναι παρόμοια με αυτή των ενηλίκων, έχει ήδη αποδειχθεί ότι υπάρχει στην «εμβρυϊκή» του μορφή, σε δείγμα αίματος ομφαλίου λώρου τελειόμηνων νεογνών. Αυτή η «εμβρυϊκή» μορφή του ινωδογόνου, έχει αυξημένη περιεκτικότητα σιαλικού οξέος σε σύγκριση με το ινωδογόνο των ενηλίκων, ενώ η περιεκτικότητά του σε φωσφόρο είναι μέχρι και τετραπλάσια σε σύγκριση με τη μορφή του ενήλικα. Επίσης, μεταξύ των τμημάτων του έχει μικρότερο μήκος ινιδίων, λεπτότερα ινίδια και μειωμένη N-τελική αλανίνη στην Αα αλυσίδα του σε σχέση με το ινωδογόνο στην ενήλικη ζωή [145, 146]. Επιπλέον, ο χρόνος πήξης της θρομβίνης είναι παρατεταμένος στα νεογνά, υποδηλώνοντας διαφορές στον πολυμερισμό του ινώδους από το νεογνικό ινωδογόνο, παρατήρηση που έχει οδηγήσει σε ισχυρισμούς ότι το ινωδογόνο στα βρέφη είναι «δυσλειτουργικό» [147, 148]. Η σημασία της αυξημένης συγκέντρωσης σιαλικού οξέος στο νεογνικό ινωδογόνο έγκειται στο γεγονός ότι τα σιαλικά υπολείμματα του ινωδογόνου συνδέονται άμεσα με Ca^{2+} , οδηγώντας σε μείωση της ενδομοριακής απώθησης μεταξύ των αλύσεων του ινωδογόνου, διευκολύνοντας έτσι τον πολυμερισμό του σε ινώδες [149]. Σε μια πρόσφατη μελέτη που διερευνά τις διαφορές μεταξύ του νεογνικού ινωδογόνου και του ινωδογόνου από ενήλικες, καθορίστηκε ότι το μοριακό βάρος της Αα αλυσίδας του ινώδους ήταν σταθερά υψηλότερο έως και 1500 Da σε νεογνά και παιδιά σε σύγκριση με τους ενήλικες [150, 151]. Το υψηλότερο αυτό μοριακό βάρος των αλυσίδων του ινωδογόνου σε νεότερες ηλικιακές ομάδες, οφείλεται επίσης και στις αλυσίδες Βb και γ οι οποίες έχουν διαφορές με τις αντίστοιχες αλυσίδες του ινωδογόνου των ενηλίκων μέχρι 400 και 500 Da αντίστοιχα. Αυτές οι διαφορές στις αλυσίδες ινωδογόνου θα μπορούσαν να αντιπροσωπεύουν (να αποδοθούν) και πολλαπλά πρόσθετα μόρια σιαλικού οξέος ή κατάλοιπα που σχετίζονται με αυξημένη διακλάδωση γλυκάνης, στο νεογνικό και παιδιατρικό ινωδογόνο σε σύγκριση με τη ενήλικη μορφή αυτής της πρωτεΐνης. Η ίδια μελέτη έδειξε επίσης σημαντικές διαφορές στη χρωματογραφία του ινωδογόνου σε νεογνά και παιδιά σε σύγκριση με τους ενήλικες, γεγονός που υποδηλώνει διαφορές στην αλληλεπίδραση του μορίου του ινωδογόνου σε κάθε ηλικιακή ομάδα με τη χρωματογραφική στήλη που χρησιμοποιείται, πράγμα που αντικατοπτρίζει και τις δομικές διαφορές στη κατανομή του ινωδογόνου σε αυτές τις ηλικιακές ομάδες [150, 151]. Ελάχιστες έρευνες έχουν ασχοληθεί με την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ της μετα-μεταφραστικής τροποποίησης (PTM) άλλων πρωτεϊνών πήξης και της ηλικίας και καμία από αυτές δεν αφορά σε ανθρώπους.

Εκτός από το ινωδογόνο, μια «νεογνική» μορφή της πρωτεΐνης C έχει ανιχνευθεί στο έμβρυο των προβάτων [152]. Σε σύγκριση με το ενήλικο διάλυσο μόριο, η «νεογνική» πρωτεΐνη C έχει αυξημένη

αναλογία μορίων μονής αλυσίδας. Έχουν επίσης αναφερθεί σε προκαταρκτικές μελέτες, ότι στα νεογνά επικρατούν περισσότερο οι μορφές της πρωτεΐνης C με αυξημένη γλυκοσυλίωση, ενώ στους ενήλικες όχι. Το βασικό ερώτημα παραμένει ως προς το γιατί τα επίπεδα των πρωτεϊνών πήξης στο πλάσμα διαφέρουν με την ηλικία. Ενδεχομένως, αυτό δεν έχει σε τίποτα να κάνει με την πήξη. Όπως συζητήθηκε προηγουμένως, οι πρωτεΐνες πήξης είναι παράδειγμα πρωτεϊνών ευρείας δράσης, όπως οι σερπίνες και πολλές από αυτές έχουν αποδειχθεί ότι έχουν δράσεις σε πολλαπλές βασικές βιολογικές διαδικασίες, όπως η αγγειογένεση [153, 154]. Οι εξαρτώμενες από την ηλικία αλλαγές των απαιτήσεων αυτών των βιολογικών συστημάτων, παρέχουν εξίσου τη λογική αλληλουχία για τις αναπτυξιακές αλλαγές στο αιμοστατικό σύστημα, οι οποίες επομένως θεωρούνται ως απαραίτητες αντισταθμίσεις και επιτρέπουν την κανονική αιμοστατική λειτουργία. Έτσι, η δελεαστική θεωρία ότι είναι οι απαιτήσεις ενός, δύο ή μείγματος αυτών των βασικών συστημάτων που εμπλέκονται στην επιβίωση των πολυκυττάρων οργανισμών αυτών που καθορίζουν τα επίπεδα στο πλάσμα αυτών των πολυ-λειτουργικών πρωτεϊνών, παραμένει να επαληθευθεί.

Είναι γνωστό ότι η AT, αποτελεί έναν σημαντικό αναστολέα πρωτεάσης σερίνης πλάσματος (serpin) που αναστέλλει την παραγωγή θρομβίνης και του ενεργοποιημένου παράγοντα X (FXa), που προκύπτουν κατά την ενεργοποίηση του αιμοστατικού συστήματος [155]. Η τρισδιάστατη δομή της AT έχει καθοριστεί περισσότερο από 15 χρόνια πριν, από δύο ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες [156, 157]. Η AT αναστέλλει τη θρομβίνη και επί παρουσίας μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης (UFH), η ανασταλτική ικανότητα της AT αυξάνεται κατά 1000 φορές [158]. Η AT περιγράφεται πως εμφανίζεται σε δύο διακριτές ισομορφές, τη φυσική (native) AT (NAT) και τη λανθάνουσα (latent) AT(LAT). Προκαταρκτικά πειράματα δείχνουν ότι η συγκέντρωση της ισομορφής LAT αυξάνεται σημαντικά στον υγιή πληθυσμό με την ηλικία, έτσι ώστε τα βρέφη των 1 έως 3 ημερών να έχουν 30% LAT σε σύγκριση με τα επίπεδα των ενηλίκων (*Vera Ignjatovic, μη δημοσιευμένα δεδομένα*). Επιπρόσθετα στη NAT και στη LAT, η AT που απομονώθηκε από το πλάσμα ενηλίκων έχει δειχθεί ότι κυκλοφορεί ως δύο γλυκομορφές [159]: η a-AT έχει τέσσερα πανομοιότυπα και συζευγμένα με σιαλικό οξύ σύμπλοκα ολιγοσακχαρίτων που συνδέονται με ασπαραγίνες και αντιπροσωπεύουν το 15% των 58 kDa της συνολικής μάζας, ενώ η b-AT γλυκοζυλιώνεται μόνο σε τρεις από τις τέσσερις πιθανές θέσεις της ασπαραγίνης [160]. Στους ενήλικες, η a-AT αποτελεί το 90-95% της κυκλοφορούσης AT σε σύγκριση με την b-AT που αποτελεί το 5-10%, αλλά η b-AT έχει υψηλότερη συγγένεια με την UFH και τις ενδοθηλιακές επιφάνειες και είναι ο περισσότερο αποτελεσματικός αναστολέας της θρομβίνης [160-162]. Όλα αυτά υποδηλώνουν φυσιολογικά και κλινικά εξειδικευμένες λειτουργίες των γλυκομορφών της AT, όπου η b-AT μπορεί να είναι ζωτικής σημασίας στο να ελέγχει των θρομβωτικά επεισόδια που προκύπτουν από βλάβη του αγγειακού

τοιχώματος, ενώ η α-AT μπορεί να είναι ευρέως υπεύθυνη για την αναστολή της διαλυτής φάσης θρομβίνης. Η παρουσία πλαγίας αλύσου υδατανθράκων στη θέση Asn-135 της α-AT (και η απουσία της από την β-AT) επεμβαίνει στη δέσμευση της UFH, λόγω της εγγύτητάς της στη θέση δέσμευσης της ηπαρίνης [163]. Αυτό καταδεικνύει ότι η γλυκοζυλίωση ή η απογλυκοζυλίωση ενός και μόνο αμινοξέος, ιδιαίτερα αν αυτό βρίσκεται σε στενή γειτνίαση με τη θέση δέσμευσης της ηπαρίνης στην AT, έχει σημαντικές λειτουργικές επιπτώσεις στη λειτουργία του μορίου της AT. Παρά την κλινική σημασία της αναλογίας της α-AT προς τη β-AT όσον αφορά στην αλληλεπίδρασή τους με UFH, στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν ακόμα μελέτες που να μας πληροφορούν για το αν αυτός ο λόγος αλλάζει με την ηλικία ή την κατάσταση υγείας. Πρόσφατα, η AT έχει αποδειχθεί ότι εκτός του ότι αποτελεί ένα σημαντικό αντιπηκτικό έχει, και ισχυρή ανασταλτική δράση στην αγγειογένεση-αντιαγγειογενετική δράση [164]. Η AT έχει δείχθει ότι καταστέλλει αρκετά προ-αγγειογενετικά γονίδια, ενώ και διεγείρει και αυξάνει την έκφραση διαφόρων αντι-αγγειογενετικών γονιδίων. Οι αντι-αγγειογενετικές μορφές της AT είναι γνωστό ότι περιλαμβάνουν υποδοχείς σύνδεσης ηπαρίνης και η ηπαρίνη φαίνεται να ενισχύει αυτό το αντι-αγγειογενετικό αποτέλεσμα [164]. Ο τελευταίος, είναι ένας από τους πιθανολογούμενους μηχανισμούς της ευεργετικής δράσης των ηπαρινοειδών στην επιβίωση του καρκινοπαθών και είναι ανεξάρτητος από την πρωτογενή αντιθρομβωτική τους ιδιότητα [165-167]. Τα επίπεδα της AT βρίσκονται φυσιολογικά στα νεογνά μειωμένα έως και <50% των επιπέδων που παρατηρούνται στους ενήλικες και στη συνέχεια αυξάνονται σταδιακά, έτσι ώστε κατά την ηλικία των 6 περίπου μηνών να προσεγγίζουν τα επίπεδα των ενηλίκων. Διαφορές επίσης υπάρχουν στην ισορροπία των ισομορφών του μορίου της AT στα νεογνά συγκριτικά με τους ενήλικες.

Ένας υποτιθέμενος λόγος για τα μειωμένα επίπεδα της AT (και της μεταβαλλόμενης ισορροπίας των ισομορφών της) που παρατηρείται στα νεογνά, σχετίζεται με το ρόλο αυτής της πρωτεΐνης στην αγγειογένεση [168]. Η περίοδος της εμβρυϊκής και της νεογνικής ζωής είναι μια εποχή υπερ-παραγωγικής αγγειογένεσης και μάλιστα πολύ περισσότερο από οποιοδήποτε μεταγενέστερο στάδιο της ζωής. Λόγω λοιπόν των γνωστών αντι-αγγειογενετικών ιδιοτήτων της AT, τα χαμηλά επίπεδα αυτής της πρωτεΐνης είναι μάλλον ωφέλιμα για την υγιή και φυσιολογική ανάπτυξη. Ως εκ τούτου, η θεραπεία υποκατάστασης με AT κατά τη διάρκεια της νεογνικής ζωής μπορεί να είναι επιβλαβής, μεταβάλλοντας τη φυσιολογική ισορροπία της αγγειογένεσης. Στη μόνη δημοσιευμένη τυχαίοποιημένη μελέτη για τη χρήση της AT στα νεογνά ως θεραπεία υποκατάστασης (ως θεραπεία για το σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας-πνευμονικής νόσου του πρόωρου), υπήρξαν επτά (11,5%) θάνατοι στην ομάδα νεογνών που λάμβαναν AT ως θεραπεία και τρεις (4,9%) θάνατοι στην ομάδα των νεογνών που λάμβαναν εικονικό φάρμακο (ομάδα χωρίς θεραπεία) [169].

Συνοψίζοντας έτσι, τα προκαταρκτικά στοιχεία δείχνουν ότι οι σχετιζόμενες με την ηλικία αλλαγές στην ποσότητα, τη δομή και τη λειτουργία της AT παίζουν σημαντικό ρόλο στην φυσιολογική ανάπτυξη, με πολύ ευρύτερες επιπτώσεις της από αυτές στο σύστημα της πήξης μόνο.

Η αναπτυξιακή αιμόσταση έχει ιδιαίτερη σημασία και σχετίζεται άμεσα με τη δευτερογενή αιμόσταση κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής και νεογνικής ζωής. Η κατανόηση των διαφορών στις φυσιολογικές τιμές παίζει κρίσιμο ρόλο στην ακριβή διάγνωση πιθανών αιμορραγικών και θρομβωτικών διαταραχών. Οι πολυπλοκότητες αυτών των διαφόρων είναι σημαντικές όταν κάποιος επικεντρώνεται: α) στα αποτελέσματα της σύγκρισης δειγμάτων αίματος του ομφάλιου λώρου με αυτά δειγμάτων αίματος από το νεογνό, β) στην επίδραση των συστημάτων ανάλυσης με διαφορετικά αντιδραστήρια στα αποτελέσματα και γ) στη ραγδαία ταχύτητα των αλλαγών στις πρώτες ημέρες της ζωής, όπως αυτή αποδεικνύεται από πολλές μελέτες που έχουν συγκρίνει τις τιμές που λαμβάνονται κατά την 1η και 3η ημέρα της ζωής.

Εκτός από τις επιπτώσεις στη διάγνωση, η αναπτυξιακή αιμόσταση έχει επιπτώσεις και στις θεραπευτικές παρεμβάσεις που στοχεύουν σε διαταραχές του αιμοστατικού συστήματος και έτσι, η έκταση και οι επιπτώσεις αυτές παραμένουν αντικείμενο έρευνας. Τέλος, ο ρόλος των πρωτεϊνών πήξης του πλάσματος σε άλλα συστήματα εντός του σώματος, αποτελεί ένα αναδυόμενο πεδίο συνεχώς αυξανόμενης κατανόησης και ενός χώρου που απαιτεί σημαντική διερεύνηση. Μόνο όταν κατανοήσουμε την αλληλεξάρτηση όλων των εμπλεκόμενων συστημάτων, θα είμαστε πραγματικά σε θέση να κατανοήσουμε και τις συνέπειες των αιμοστατικών χειρισμών μας στα νεογνά.

4. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ

Οι διαταραχές της αιμόστασης αποτελούν καθημερινό και μεγίστης σημασίας πρόβλημα ανάμεσα σε αυτά που προκύπτουν κατά τη διάρκεια της νοσηλείας των νεογνών στις μονάδες εντατικής θεραπείας. Συνίστανται σε σοβαρές και απειλητικές για τη ζωή του νεογνού διαταραχές, η διάγνωση και η αντιμετώπιση των οποίων αποτελούν άμεση προτεραιότητα του νεογνολόγου. Η θρομβοπενία, είναι πιθανώς η πιο συνήθης αιτία αιμορραγίας, αλλά παρατηρούνται επίσης και διαταραχές του συστήματος πήξης και συχνά, τα δύο αυτά προβλήματα συνυπάρχουν.

Τα νεογνά παρουσιάζουν σε μεγαλύτερη συχνότητα επίκτητες διαταραχές της αιμόστασης, ενώ οι κληρονομικές διαταραχές της πήξης συμβαίνουν σπάνια. Ωστόσο, όταν οι τελευταίες ανακύψουν, δύνανται να παρουσιάσουν την πρώτη εκδήλωσή τους κατά τη νεογνική περίοδο. Η κατάλληλη διάγνωση και διαχείριση αυτών των καταστάσεων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την έγκαιρη αναγνώριση της κλινικά έκδηλης αιμορραγίας και την έναρξη των κατάλληλων διερευνητικών εργασιών. Παρόλο που οι επίκτητες διαταραχές της αιμόστασης εμφανίζονται συχνότερα σε πάσχοντα τελειόμηνα ή πρόωρα νεογνά, οι κληρονομικές διαταραχές της πήξης εκδηλώνονται σε υγιή νεογνά. Επομένως, η αναγνώριση της κλινικής κατάστασης εξαιτίας της οποίας λαμβάνει χώρα μία αιμορραγία, είναι ένα σημαντικό βήμα για την υποκείμενη διάγνωση της διαταραχής. Η διερεύνηση απαιτεί προσεκτική παρατήρηση των εξαρτώμενων από την ηλικία στοιχείων, τα οποία είναι ιδιαίτερα σημαντικά κατά τις πρώτες εβδομάδες της ζωής. Ορισμένες κλινικές παράμετροι είναι σημαντικές στη διερεύνηση ενός νεογνού με ένα αιμορραγικό πρόβλημα και μια πιθανή υποκείμενη διαταραχή της πήξης. Η πιο σημαντική από αυτές, είναι ίσως το κλινικό περιβάλλον-υπόβαθρο μέσα στο οποίο συμβαίνει η αιμορραγία. Έτσι, η αιμορραγία η οποία εκδηλώνεται σε ένα κατά τα άλλα υγιές νεογνό είναι πολύ πιο υποδηλωτική για υποκείμενη κληρονομική διαταραχή της πήξης ή για ανοσοδιαμεσολαβούμενη θρομβοκυτταροπενία, ενώ ένα πάσχον πρόωρο νεογνό είναι πιο πιθανό να έχει αντίστοιχα μια επίκτητη διαταραχή της πήξης-π.χ. διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ). Η παρουσία οικογενειακού ιστορικού θετικού για κληρονομικές διαταραχές της πήξης (π.χ. επεισόδια αιμορραγίας στην οικογένεια ή ύπαρξη προηγούμενου βρέφους- παιδιού που έχει προσβληθεί), μπορεί επίσης να είναι ένας σημαντικός διαγνωστικός δείκτης. Οι μαιευτικές επιπλοκές και τα προβλήματα κατά τον τοκετό μπορεί επίσης να επηρεάσουν το αιμοστατικό σύστημα, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της πήξης και τη ΔΕΠ. Τέλος, τόσο τα φάρμακα που λαμβάνει η μητέρα όσο και τα φάρμακα που χορηγούνται στο νεογνό και ιδιαίτερα αυτά που σχετίζονται με το μεταβολισμό της βιταμίνης Κ, μπορεί να έχουν ιδιαίτερο σημαντικό ρόλο σε αυτή τη φάση.

4.1 Κληρονομικές διαταραχές της πήξης.

Αιμορροφιλία

Οι αιμορροφιλίες A και B είναι οι συνηθέστερες κληρονομικές αιμορραγικές διαταραχές που παρουσιάζονται στη νεογνική περίοδο. Οφείλονται σε ανεπάρκειες των FVIII και FIX αντίστοιχα και είναι ποικίλης βαρύτητας, γεγονός που αντικατοπτρίζει την ετερογενή φύση των υποκείμενων μοριακών ανωμαλιών. Και οι δύο κληρονομούνται με το φυλοσύνδετο χρωμόσωμα και η γυναίκα φορέας μεταβιβάζει το παθολογικό γονίδιο στο πάσχον αγόρι. Οι κλινικές εκδηλώσεις στις αρχές της ζωής περιορίζονται σχεδόν πάντα στα αγόρια. Τουλάχιστον το ένα τρίτο όλων των περιπτώσεων αιμορροφιλίας εμφανίζονται χωρίς θετικό οικογενειακό ιστορικό και ως εκ τούτου, σε αυτές τις περιπτώσεις, δεν υπάρχει η υποψία κατά τη γέννηση. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι το 15-33% των περιπτώσεων μπορεί να παρουσιάσει αιμορραγικές εκδηλώσεις κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα της ζωής [170, 171]. Η κλινική εκδήλωση της νόσου κατά τη διάρκεια της νεογνικής περιόδου διαφέρει από αυτή που παρατηρείται σε μεγαλύτερα παιδιά, ενώ σε ένα σημαντικό ποσοστό οι αιμορραγίες αυτές είναι ιατρογενούς προέλευσης (αιμορραγία από τον νυγμό της πτέρνας, από αρτηριοκέντηση ή φλεβοκέντηση). Έτσι, μόνο το 30-50% των αιμορροφιλικών εκφράζουν την νόσο κατά την νεογνική περίοδο και μάλιστα συνήθως μετά από τραυματισμό ή χειρουργική επέμβαση. Η παρατεταμένη εκροή αίματος ή ο σχηματισμός αιματώματος μετά από φλεβοκέντηση ή ενδομυϊκή χορήγηση βιταμίνης K, είναι σχετικά κοινές εκδηλώσεις. Τόσο η μεγάλη ενδοκράνια εγκεφαλική αιμορραγία, όσο και η εξωκράνια αιμορραγία όπως το κεφαλαιμάτωμα, αναγνωρίζονται επίσης σε νεογνά με βαριά ή ακόμη και με ήπια μορφή της νόσου, ιδιαίτερα όταν ο τοκετός είναι εργώδης. Σε πρόσφατη βιβλιογραφική ανασκόπηση, το 41% όλων των αναφερόμενων περιπτώσεων αιμορραγίας κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα ζωής περιελάμβανε την εγκεφαλική αιμορραγία[171]. Αυτός ο τύπος αιμορραγίας συχνά σχετίζεται με τραύμα κατά τον τοκετό και συνδέεται με κακή έκβαση του νεογνού[172].

Στον έλεγχο της πήξης με τα συμβατικά τεστ αιμόστασης, τόσο η αιμορροφιλία A όσο και η B οδηγούν συνήθως σε μεμονωμένη παράταση του APTT, η οποία σε ένα κατά τα άλλα υγιές άρρεν νεογνό με έκδηλη εικόνα αιμορραγίας εγείρει σοβαρά την υποψία της διάγνωσης. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης απαιτεί μέτρηση των συγκεντρώσεων των παραγόντων FVIII και FIX. Καθώς οι συγκεντρώσεις του παράγοντα FVIII βρίσκονται εντός του φυσιολογικού εύρους των τιμών των ενηλίκων ή είναι ελαφρώς αυξημένες κατά τη γέννηση, είναι συνήθως εφικτή η επιβεβαίωση της διάγνωσης της αιμορροφιλίας A ανεξάρτητα από τη σοβαρότητα της πάθησης ή την ηλικία κύησης του νεογνού. Η μόνη εξαίρεση είναι η ήπια αιμορροφιλία A, όπου ένα αρχικό αποτέλεσμα στις

κατώτερες τιμές του φυσιολογικού εύρους μπορεί να δικαιολογήσει επανάληψη της εξέτασης σε μεγαλύτερη βρεφική ηλικία. Οι συγκεντρώσεις του FIX από την άλλη πλευρά, είναι μειωμένες κατά τη γέννηση, γεγονός που αποκλείει τη διάγνωση των ήπιων μορφών αιμορροφιλίας Β μέχρι την ηλικία των 3-6 μηνών λόγω αλληλοεπικάλυψης με το φυσιολογικό εύρος τιμών σε αυτήν την ηλικία. Είναι σημαντικό για τα νεογνά που εμφανίζουν ανεξήγητη αιμορραγία, να υποβάλλονται σε κατάλληλη έρευνα για πιθανή αιμορροφιλία και άλλες κληρονομικές αιμορραγικές διαταραχές. Δυστυχώς, η βιβλιογραφία υποδηλώνει ότι καθυστέρηση στην διάγνωση είναι συνηθισμένη σε αυτές τις συνθήκες [173, 174]. Αυτό μπορεί να αντανakλά αρχικά την αστοχία αναγνώρισης της αιμορραγίας ως ανεξήγητης ή προβλήματα στην έναρξη ή την ερμηνεία των κατάλληλων εξετάσεων. Συγκεκριμένα, η φυσιολογική παράταση του ΑΡΤΤ πρέπει να ερμηνεύεται με προσοχή και θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι μια ελαφρά μειωμένη συγκέντρωση FVIII δεν είναι ασυμβίβαστη με ένα φυσιολογικό ΑΡΤΤ. Οι δοκιμασίες παράγοντα θα πρέπει συνεπώς να εκτελούνται πάντα εάν η αιμορραγία είναι υπερβολική ή/και ανεξέλεγκτη. Μόλις τεθεί η διάγνωση, η διαχείριση γίνεται συνήθως σε συνεννόηση με παιδίατρο-αιματολόγο με εμπειρία στη διαχείριση της αιμορροφιλίας. Η αντιμετώπιση των προβλημάτων αιμορραγίας απαιτεί κατάλληλη θεραπεία υποκατάστασης με τον παράγοντα που λείπει, ενώ στον ανεπτυγμένο κόσμο τα ανασυνδυασμένα παράγωγα αποτελούν τώρα τη θεραπεία εκλογής [175].

Νόσος von Willebrand

Η νόσος του von Willebrand (vWD) είναι μια σχετικά κοινή κληρονομική αιμορραγική διαταραχή η οποία προκύπτει είτε από ποσοτικές, είτε από ποιοτικές ανωμαλίες της πρωτεΐνης vWF. Η πάθηση μπορεί να χωριστεί σε τρεις ευρείς υποτύπους, εκ των οποίων η τύπου I νόσος vWB είναι η συνηθέστερη και συνήθως οδηγεί σε σχετικά ήπιο κλινικό φαινότυπο [176]. Λόγω των φυσιολογικά αυξημένων συγκεντρώσεων του vWF κατά τη γέννηση, η τύπου I νόσος vWB συνήθως δεν εκδηλώνεται στην νεογνική ηλικία, ώστε ακόμη κι όταν υπάρχει θετικό οικογενειακό ιστορικό, δεν είναι συνήθως δυνατή η διάγνωση αυτής της κατάστασης κατά τη διάρκεια της νεογνικής περιόδου. Μερικοί υπότυποι της νόσος vWB τύπου II σχετίζονται με θρομβοπενία, η οποία μπορεί να είναι εμφανής κατά τη νεογνική περίοδο και μπορεί να οδηγήσει σε αιμορραγία. Ο νόσος vWB τύπου III, είναι σπάνια αυτοσωμική υπολειπόμενη κατάσταση, η οποία είναι πιο συχνή σε πληθυσμούς όπου οι γάμοι μεταξύ συγγενών είναι συνηθισμένοι. Συνήθως και οι δύο γονείς είναι ασυμπτωματικοί, ενώ επειδή οι συγκεντρώσεις του vWF σχεδόν απουσιάζουν το αποτέλεσμα είναι σοβαρή τάση αιμορραγίας που μπορεί να εμφανιστεί κατά τη διάρκεια της νεογνικής περιόδου. Οι κλινικές εκδηλώσεις είναι μεταβλητές, αν και η αιμορραγία από τους βλεννογόνους είναι συχνότερη από αυτή στην αιμορροφιλία. Στον τύπο III της vWD, όπως και στην αιμορροφιλία, ο έλεγχος της πήξης

με τα συμβατικά τεστ συνήθως οδηγεί σε ανεύρεση μεμονωμένης παράτασης του ΑΡΤΤ και η διάγνωση επιβεβαιώνεται με τη μέτρηση των επιπέδων του αντιγόνου και της δραστικότητας του FVIII και του vWF. Η αντιμετώπιση της αιμορραγίας στη νόσο του vWD τύπου III είναι συνήθως η υποκατάσταση του παράγοντα και γι' αυτό χρησιμοποιείται συμπυκνωμένο διάλυμα του παράγοντα FVIII ενδιάμεσης καθαρότητας που περιέχει τα πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους του vWF [175].

Σπάνιες κληρονομικές διαταραχές της αιμόστασης.

Οι αποκαλούμενες σπάνιες διαταραχές της πήξης περιλαμβάνουν ομάδα αυτοσωμικών υπολειπόμενων ελλείψεων των παραγόντων II, V, VII, X, XI, XII και XIII, οι οποίες είτε σε ομόζυγη, είτε σε σύνθετη ετεροζυγωτική κατάσταση μπορούν να προκαλέσουν σημαντική κλινική αιμορραγική διάθεση. Λόγω του τρόπου κληρονομικότητας τους, αυτές οι ανωμαλίες εμφανίζονται συχνότερα σε χώρες ή πληθυσμούς όπου ο γάμος μεταξύ συγγενών είναι συνήθης. Οι δημοσιευμένες πληροφορίες σχετικά με τις κλινικές εκδηλώσεις και τη διαχείριση των ανωτέρω διαταραχών είναι σχετικά περιορισμένες, αλλά είναι σαφές ότι ορισμένες από αυτές συνδέονται με σοβαρή τάση αιμορραγίας, η οποία δύναται να εκδηλωθεί τις πρώτες ημέρες της ζωής [177, 178]. Οι σοβαρές ανεπάρκειες του ινωδογόνου και των παραγόντων VII, X και XIII, είναι οι πιο πιθανές διαταραχές πήξης που μπορούν να εκδηλωθούν κατά την νεογνική περίοδο. Οι αιμορραγίες στους μαλακούς ιστούς και στους βλεννογόνους όπως και η αιμορραγία από τον ομφαλό, είναι χαρακτηριστικές εκδηλώσεις, με την αιμορραγία από τον ομφαλό μετά την απόπτωση του κολοβώματος να αναφέρεται στο 80% των περιπτώσεων σοβαρής ανεπάρκειας του FXIII. Είναι επίσης σαφές ότι η εγκεφαλική αιμορραγία είναι ένα σχετικά κοινό χαρακτηριστικό αυτών των διαταραχών. Καθίσταται έτσι απόλυτη η ανάγκη να αποκλειστεί κληρονομική διαταραχή της πήξης σε οποιοδήποτε νεογνό εμφανίζει ανεξήγητη εγκεφαλική αιμορραγία. Ιδιαιτερότητες παρουσιάζει η βαριά ανεπάρκεια του παράγοντα VII, γιατί σε ορισμένα άτομα εκφράζεται με ήπια αιμορραγική διάθεση, ενώ σε άλλα με βαριά από τις πρώτες ημέρες της ζωής. Η βαριά μορφή αυτής εκδηλώνεται με εγκεφαλική αιμορραγία η οποία συνήθως οδηγεί σε θάνατο λόγω του ότι δεν ελέγχεται με τη θεραπεία υποκατάστασης είτε με φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα (FFP), είτε και με συμπυκνωμένο παράγοντα VII, δεδομένου του μικρού χρόνου ημίσειας ζωής του παράγοντα (4-6 ώρες). Η ανεπάρκεια των παραγόντων XI και XII ανακαλύπτεται κυρίως από τον έλεγχο της αιμόστασης σε τυχαίο προεγχειρητικό έλεγχο του ασθενούς. Άτομα με βαριά ανεπάρκεια FXI, παρουσιάζουν αιμορραγική διάθεση μόνο μετά από τραυματισμό ή χειρουργική επέμβαση, η οποία αντιμετωπίζεται επιτυχώς με τη χορήγηση FFP. Αντιθέτως η ανεπάρκεια του FXII, δεν συνεπάγεται την εκδήλωση αιμορραγίας, ούτε ακόμα και μετά από χειρουργική παρέμβαση.

Εκτός από την ανεπάρκεια του FXIII, όλες αυτές οι σπάνιες κληρονομούμενες ανεπάρκειες είναι πιθανό να οδηγήσουν σε κάποια διαταραχή στη διερεύνηση της αιμόστασης και- όπως και στην αιμορροφιλία- προβλήματα με την ερμηνεία παθολογικών αποτελεσμάτων των συμβατικών δοκιμασιών μπορεί να οδηγήσουν σε καθυστερημένη διάγνωση. Σε κάθε περίπτωση, απαιτείται ο προσδιορισμός του συγκεκριμένου παράγοντα για την επιβεβαίωση της διάγνωσης. Η ανεπάρκεια FXIII, ακόμη και στην πιο σοβαρή μορφή της, σχετίζεται με φυσιολογικές τιμές των συμβατικών δοκιμασιών της πήξης και πρέπει γι' αυτό να αξιολογείται συγκεκριμένα με τη χρήση είτε μιας δοκιμασίας διαλογής, είτε μιας δοκιμασίας χημικής ανάλυσης του FXIII, που είναι και οι μόνες ευαίσθητες μέθοδοι. Η δοκιμασία προσυμπτωματικού ελέγχου του FXIII, είναι ευαίσθητη μόνο στις πιο σοβαρές μορφές της ανεπάρκειας και υπάρχει σήμερα συζήτηση για εφαρμογή βέλτιστων στρατηγικών ελέγχου. Οι δοκιμασίες ελέγχου των σπάνιων αυτών διαταραχών δεν είναι ευρέως διαθέσιμες και υπάρχει συνήθως ένα τοπικό κέντρο αναφοράς και ελέγχου των παθήσεων αυτών. Η αντιμετώπιση των αιμορραγικών επεισοδίων σε αυτή την ομάδα των ασθενών - νεογνών πρέπει να γίνεται με το συγκεκριμένο συμπυκνωμένο παράγοντα, όπου αυτός είναι διαθέσιμος. Λόγω του υψηλού κινδύνου εμφάνισης εγκεφαλικής αιμορραγίας, η προφυλακτική θεραπεία πρέπει να ξεκινήσει άμεσα μόλις τεθεί η διάγνωση ανεπάρκειας του FXIII και αυτή θα πρέπει επίσης να ληφθεί υπόψη και στη σοβαρή ανεπάρκεια τόσο του FVII, όσο και του FX.

4.2 Επίκτητες διαταραχές της αιμόστασης.

Αιμορραγία λόγω ανεπάρκειας βιταμίνης K (VKDB)

Η αιμορραγία λόγω ανεπάρκειας της βιταμίνης K (VKDB) είναι η αιμορραγία που εμφανίζεται σαν συνέπεια έλλειψης της βιταμίνης K στους πρώτους έξι μήνες ζωής. Παλαιότερα ήταν γνωστή ως αιμορραγική νόσος του νεογνού, αλλά μετονομάστηκε για να τονίσει ότι τα προβλήματα αιμορραγίας κατά τη διάρκεια της νεογνικής περιόδου δεν περιορίζονται σε αυτά που προκύπτουν μόνο από ανεπάρκεια της βιταμίνης K, αλλά και να δείξει και ότι η αιμορραγία που οφείλεται σε δευτερογενή ανεπάρκεια της βιταμίνης K μπορεί να συμβεί και πέρα από τον πρώτο μήνα ζωής[179]. Οι συγκεντρώσεις των παραγόντων που εξαρτώνται από τη βιταμίνη K (FII, FVII, FIX και FX) είναι μειωμένες στη νεογνική περίοδο και είναι λειτουργικά αδρανείς λόγω απουσίας βιταμίνης K. Η VKDB έχει παραδοσιακά ταξινομηθεί στην πρώιμη, στην κλασσική και στην όψιμη μορφή της ανάλογα με το χρόνο της εκδήλωσής της. Αυτή η ταξινόμηση αντικατοπτρίζει τους διαφορετικούς παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με αυτή την κατάσταση. Η πρώιμη μορφή της VKDB σχετίζεται τυπικά με την προγενέστερη κατανάλωση εκ μέρους της μητέρας φαρμάκων που παρεμποδίζουν το

μεταβολισμό της βιταμίνης K, ενώ η κλασική και οι όψιμη μορφή της νόσου σχετίζονται με τη γαλουχία/μητρικό θηλασμό και τη δυσαπορρόφηση της βιταμίνης K. Οι εκδηλώσεις αιμορραγίας είναι μεταβλητές, αλλά υπάρχει σχετικά υψηλή συχνότητα εγκεφαλικής αιμορραγίας, ιδιαίτερα στην όψιμη μορφή της VKDB, η οποία σχετίζεται με σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα. Η υποψία της διάγνωσης της ανεπάρκειας βιταμίνης K μπορεί να εγερθεί από τα αποτελέσματα των συμβατικών δοκιμασιών πήξης, όπου αρχικά υπάρχει μεμονωμένη παράταση του χρόνου προθρομβίνης, ακολουθούμενη από παράταση του APTT και σε συνδυασμό με φυσιολογική συγκέντρωση ινωδογόνου και φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης απαιτεί μέτρηση των ειδικών παραγόντων που εξαρτώνται από τη βιταμίνη K (II, VII, IX, X) οι οποίοι-όταν διαγνωστεί μεμονωμένη ανεπάρκεια βιταμίνης K και οι συγκεντρώσεις τους είναι χαμηλές, διορθώνονται με τη χορήγηση βιταμίνης K [178]. Δηλαδή, μόλις επιβεβαιωθεί η διάγνωση, θα πρέπει να χορηγηθεί ενδοφλέβια βιταμίνη K για να διορθωθεί η υπάρχουσα ανεπάρκεια. Σε περιπτώσεις που υπάρχει μόνο υπόνοια ανεπάρκειάς της, η βιταμίνη K μπορεί να χορηγηθεί, ενώ εκκρεμούν τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων των παραγόντων. Σε περίπτωση μεγάλης αιμορραγίας, μπορεί να απαιτηθεί θεραπεία υποκατάστασης παραγόντων με φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα ή με συμπυκνωμένο διάλυμα συμπλόκου προθρομβίνης (FII, FIX, FX) ή με συμπυκνωμένο διάλυμα τεσσάρων παραγόντων που περιέχει όλους τους παράγοντες που εξαρτώνται από τη βιταμίνη K [180]. Οι βέλτιστες μέθοδοι για την πρόληψη της VKDB αποτέλεσαν αντικείμενο σημαντικής συζήτησης τα τελευταία χρόνια, ενώ η αναγκαιότητα πλήρους επίλυσης του προβλήματος αυτού παραμένει. Είναι γενικά αποδεκτό ότι, μολονότι μία μόνο ενδομυϊκή δόση βιταμίνης K που χορηγείται μετά τη γέννηση θα αποτρέψει τόσο την κλασική όσο και την όψιμη VKDB, μία εφάπαξ από του στόματος δόση δεν θα προστατεύσει όλα τα βρέφη έναντι της όψιμης VKDB. Η ασφάλεια της ενδομυϊκής βιταμίνης K αμφισβητήθηκε πριν από μερικά χρόνια και αν και τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δεν έχουν επιβεβαιωθεί, πολλά κέντρα προτίμησαν να χρησιμοποιήσουν ένα πρωτόκολλο από του στόματος χορήγηση βιταμίνης K για προφύλαξη. Η βέλτιστη δοσολογία για προφύλαξη με την από του στόματος βιταμίνη K παραμένει να καθοριστεί, αλλά είναι σαφές ότι τα σχήματα που αποτελούνται από πολλαπλές δόσεις είναι πιο αποτελεσματικά, ιδιαίτερα για θηλάζοντα βρέφη [181, 182]. Πρόσφατα στοιχεία έχουν επίσης δείξει ότι η από του στόματος χορήγηση μικτών μικυλλιακών μορφών βιταμίνης K δεν είναι ανώτερη από τις παλαιότερες τεχνικές παρασκευής βιταμίνης K [183].

Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ). Disseminated intravascular coagulation (DIC)

Το σύνδρομο της ΔΕΠ αποτελεί την πιο συχνή και σοβαρή διαταραχή της αιμόστασης που συμβαίνει σε πάσχοντα νεογνά, ενώ η νεογνική ηλικιακή ομάδα φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε

αυτή. Η ΔΕΠ εμφανίζεται πάντοτε ως δευτερογενές συμβάν και πολλά περιγεννητικά και νεογνικά προβλήματα συνδέονται με αυτή την επιπλοκή. Οι πιο συχνοί προδιαθεσικοί παράγοντες για ΔΕΠ είναι η περιγεννητική ασφυξία, η καταπληξία, η οξέωση, το βαρύ σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας, η εγκεφαλική βλάβη, η υποθερμία, το γιγαντιαίο αιμαγγείωμα, η κακοήθεια και κυρίως η σηψαιμία.

Κλινικές καταστάσεις που συνοδεύονται από ΔΕΠ

Μαιευτικές επιπλοκές

προδρομικός πλακούντας
αποκόλληση πλακούντα
εκλαμψία/προεκλαμψία κύησης
νεκρό έμβρυο σε πολύδυμη κύηση
εμβολή αμνιακού υγρού
επιπλεγμένη εμβρυουλκία

Νεογνικές λοιμώξεις

Σηψαιμία
Συγγενείς λοιμώξεις (TORCH, ιός του AIDS, ηπατίτιδα Β ή C)

Διάφορες άλλες καταστάσεις

υποθερμία
ασφυξία/βαριά υποξία
οξέωση
σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας-ΣΑΔ
βάρια ερυθροβλάστωση
αιμόλυση
μαζικές μεταγγίσεις
γιγαντιαίο αιμαγγείωμα
καθετηριασμός ομφαλικών αγγείων
θρόμβωση νεφρικής φλέβας
κακοήθεια

Όπως και στα μεγαλύτερα παιδιά και στους ενήλικες, όταν εγκατασταθεί, το σύνδρομο της ΔΕΠ συνδέεται συχνά με αυξημένη θνησιμότητα. Αν και η ΔΕΠ θεωρείται συχνά ως ένα γενικευμένο αιμοστατικό πρόβλημα, είναι στην πραγματικότητα μια πολύπλοκη συστηματική διαδικασία που περιλαμβάνει ενεργοποίηση και δυσλειτουργία τόσο του συστήματος της πήξης, όσο και των συστημάτων-διεργασιών της φλεγμονής. Βασική παθογενετική διαταραχή είναι η ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης στην κυκλοφορία, συνοδευόμενη από την δευτεροπαθή ενεργοποίηση του συστήματος ινωδόλυσης. Την κινητοποίηση της ανωτέρω διαδικασίας προκαλούν: α) η απελευθέρωση από το σύστημα μονοπύρηνων/μικροφάγων στο αίμα ουσιών με προπηκτική δραστηριότητα (κυτοκίνες, ιστικός παράγοντας) με συνοδό ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού και β) ποικίλοι παράγοντες που δρουν βλαπτικά στο ενδοθήλιο των αγγείων και ενεργοποιούν κυρίως τα αιμοπετάλια και την ενδογενή οδό.

Η αλληλουχία των παθοφυσιολογικών φαινομένων είναι η ακόλουθη:

- Έκθεση του αίματος στα προπηκτικά - η βλάβη των ιστών από την αρχική πρωτοπαθή ασθένεια έχει σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση προπηκτικών ουσιών στην κυκλοφορία του αίματος.
- Σχηματισμός ινώδους στην κυκλοφορία - τα προπηκτικά προκαλούν αιμόσταση κυρίως μέσω της αλληλεπίδρασης του ιστικού παράγοντα και του παράγοντα VII, προάγοντας έτσι τον σχηματισμό ινώδους και την εναπόθεση αυτού εντός της μικροκυκλοφορίας.
- Ινωδόλυση - ο σχηματισμός ινώδους ενεργοποιεί τον μηχανισμό ινωδόλυσης, με αποτέλεσμα την παραγωγή πλασμίνης που διασπά το ινωδογόνο και το ινώδες, δημιουργώντας έτσι προϊόντα αποικοδόμησης ινικής και ινωδογόνου (D-Dimers και FDPs, αντίστοιχα). Τα FDPs παρεμποδίζουν τον πολυμερισμό του ινώδους και μειώνουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων.
- Εξάντληση παραγόντων πήξης και αιμοπεταλίων – η συνεχής ενεργοποίηση του συστήματος πήξης και η συνεχής εναπόθεση ινώδους, οδηγούν σε αυξημένη κατανάλωση των παραγόντων της πήξης και των αιμοπεταλίων.
- Βλάβη στο τελικό όργανο – η εναπόθεση ινώδους στη μικροκυκλοφορία των οργάνων έχει ως αποτέλεσμα την ισχαιμία των ιστών και την οργανική βλάβη.
- Αιμόλυση – το ενδαγγειακό πλέγμα ινώδους προκαλεί μηχανική διάτμηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων με αποτέλεσμα την μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία.

Συνοψίζοντας, η αλληλουχία των παθοφυσιολογικών φαινομένων του συνδρόμου της ΔΕΠ είναι:

1. Ανεξέλεγκτη παραγωγή θρομβίνης σε συστηματικό ή τοπικό επίπεδο με ακόλουθη διάσπαρτη μικροαγγειακή θρόμβωση και διαταραχή της αιμάτωσης των οργάνων.
2. Ολική ή μερική απόφραξη αγγείων από το πλέγμα του ινώδους, με αποτέλεσμα την εκδήλωση θρομβοπενίας και αιμολυτικού ενδαγγειακού συνδρόμου.
3. Δευτεροπαθής ινωδόλυση στην προσπάθεια του οργανισμού να διατηρήσει την κυκλοφορία του αίματος στα αγγεία που συνεπάγεται την περαιτέρω κατανάλωση αιμοπεταλίων, παραγόντων πήξης και ανασταλτών αυτής, με τελικό αποτέλεσμα την αιμορραγία.
4. Απολύτως ανάλογες της διαταραγμένης ισορροπίας μεταξύ της δημιουργίας θρομβίνης, της ινωδόλυσης και της αναστολής της ινωδόλυσης, είναι και οι κύριες εκδηλώσεις της ΔΕΠ που περιλαμβάνουν τη μικροαγγειακή θρόμβωση ή/και την αιμορραγία.

Τα νεογνά και ιδιαίτερα τα πολύ πρόωρα, αδυνατούν να απομακρύνουν από την κυκλοφορία τους ενεργοποιημένους παράγοντες πήξης λόγω της ανωριμότητας του δικτυοενδοθηλιακού τους συστήματος τους και έτσι ευοδώνεται η θρομβωτική προδιάθεση. Η θρόμβωση αφορά κυρίως στη μικροκυκλοφορία των οργάνων, με αποτέλεσμα ισχαιμία αυτών και κατά συνέπεια ηπατική δυσπραγία, δυσπραγία νεφρών, πνευμόνων κ.ά.. Η ενεργοποίηση του ινωδολυτικού συστήματος δευτεροπαθώς, καταλήγει στην αυξημένη παραγωγή πλασμίνης η οποία έχει στόχο τη λύση του θρόμβου και την αποκατάσταση της βατότητας των αγγείων. Σε περίπτωση όμως υπερπαραγωγής πλασμίνης, η πρωτεολυτική δράση του ενζύμου αυτού εκφράζεται και στους παράγοντες I, V και VIII, με αποτέλεσμα η μείωση των παραγόντων αυτών σε συνδυασμό με τη θρομβοπενία να οδηγεί στην αιμορραγία.

Κλινικά μπορεί να εμφανισθούν τόσο αιμορραγικά, όσο και θρομβωτικά επεισόδια και ιδιαίτερα τυπικές είναι οι μικροαγγειακές θρομβώσεις. Η αποτυχία ρύθμισης της διαδικασίας της πήξης οδηγεί σε μαζική και ανεξέλεγκτη παραγωγή θρομβίνης, με εκτεταμένη εναπόθεση ινώδους και κατανάλωση αιμοπεταλίων και πρωτεϊνών πήξης. Η ΔΕΠ, ιδιαίτερα στα αρχικά στάδια, μπορεί να είναι δύσκολο να διαγνωστεί και η πλήρης κλινική εγκατάσταση αυτής μπορεί να είναι το αρχικό παρατηρούμενο σύμπτωμα. Η κατάσταση αυτή παρατηρείται πολύ συχνότερα στο άρρωστο νεογνό, που μπορεί να έχει εμφανή σηψαιμία ή άλλες επιπλοκές, όπως η νεκρωτική εντεροκολίτιδα. Το είδος και η βαρύτητα των συμπτωμάτων της ΔΕΠ εξαρτώνται από την υποκείμενη νόσο. Η αιμορραγική της διάθεση παρουσιάζεται συχνότερα από τα σημεία των φλεβοκεντήσεων, από τους βλεννογόνους ή/και ως πνευμονική, εγκεφαλική αιμορραγία, αιμορραγία γαστρεντερικού ή/και

ουροποιητικού συστήματος. Αντιθέτως από την αιμορραγία, ως εκδήλωση της ΔΕΠ που είναι εντυπωσιακή, η θρόμβωση στη μικροκυκλοφορία είναι πλέον επιβλαβής, γιατί οδηγεί σε μη αναστρέψιμη βλάβη των οργάνων, ισχαιμικές αλλοιώσεις και θάνατο. Το μεγαλύτερο ποσοστό των νεογνών με ΔΕΠ είναι βαρέως πάσχοντα και παρουσιάζουν σκληροίδημα, καταπληξία ή /και συμπτωματολογία ανάλογα με το όργανο που δυσπραγεί.

Ο ακριβής προσδιορισμός του ορισμού και η διάγνωση της ΔΕΠ στα νεογνά δεν είναι εύκολα. Η Διεθνής Εταιρεία Θρόμβωσης και Αιμόστασης (ISTH) δεν έχει ακόμα ολοκληρώσει και επικυρώσει το σύστημα βαθμολόγησης της ΔΕΠ για τα τελειόμηνα ή τα πρόωρα νεογνά. Οι διαταραχές της πήξης, η ταχεία κατανάλωση αιμοπεταλίων και ο συνδυασμός εξασθενημένης μικροκυκλοφορίας των οργάνων, σοβαρής μεταβολικής οξέωσης και αιμορραγίας, παρατηρούνται συχνά σε πάσχοντα τελειόμηνα και πρόωρα νεογνά που πληρούν τα κριτήρια για την ΔΕΠ σύμφωνα με το ISTH. Το 1998 αναπτύχθηκε για πρώτη φορά το σύστημα βαθμολόγησης της ΔΕΠ για τα πολύ χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά [184]. Παρομοίως με το σύστημα βαθμολόγησης της ISTH για την ΔΕΠ στους ενήλικες, αυτό το νεογνικό σκορ περιλαμβάνει τον αριθμό των αιμοπεταλίων, τα επίπεδα του ινωδογόνου και των προϊόντων αποδόμησής του. Θεωρεί δε, ότι η ενεργοποίηση του συνδρόμου της ΔΕΠ προϋποθέτει-για την εκδήλωση συμπτωμάτων της όπως η αιμορραγία-καταστάσεις όπως η οξέωση, η αρτηριακή υπόταση και η ιστική υποξία οι οποίες αντικατοπτρίζουν μια ήδη προυπάρχουσα διαταραγμένη μικροκυκλοφορία. Ωστόσο, αυτό το σκορ αναπτύχθηκε βασιζόμενο σε αναδρομικές μελέτες και η αξιοπιστία και η εγκυρότητά του δεν έχουν ακόμα αποδειχθεί από μια πολυκεντρική ανάλυση. Ως εκ τούτου, το σύστημα βαθμολόγησης της ΔΕΠ στα νεογνά την παρούσα στιγμή δεν τυγχάνει ευρείας κλινικής χρήσης και η διάγνωση του οξέος συνδρόμου ΔΕΠ επισφραγίζεται με μια δέσμη κλασικών δοκιμασιών όπως:

1. Η γενική αίματος και το περιφερικό επίχρισμα.

Έχουν κύρια χαρακτηριστικά ευρήματα τη θρομβοπενία, τη λευκοκυτταρική λεμφοπενία και λόγω του αιμολυτικού ενδαγγειακού συνδρόμου, την πτώση του αιματοκρίτη, την αύξηση των ΔΕΚ και την παρουσία σχιστοκυττάρων. Η προοδευτική θρομβοπενία είναι πιθανώς ένα από τα πιο συνηθισμένα ευρήματα εγκατάστασης της ΔΕΠ στα νεογνά. Η μείωση του αριθμού των αιμοπεταλίων κάτω από $150 \times 10^9/L$ έδειξε ευαισθησία 39%, ειδικότητα 88% και θετικές και αρνητικές προβλέψεις 81% και 54% αντιστοίχως, ποσοστά που μπορούν να υποδείξουν εν συνεχεία την αυξημένη παραγωγή θρόμβων καθώς και πλασμίνης σε τελειόμηνα και πρόωρα νεογνά καθώς και την αύξηση των συγκεντρώσεων του συμπλέγματος θρομβίνης/αντιθρομβίνης III(TAT) και του από το πλασμινογόνο αποσπώμενου ινωδοπεπτιδίου B-beta 1-42[185] του ινωδογόνου (όλα πιθανότατα διαγνωστικά

στοιχεία της ΔΕΠ). Ωστόσο, αυτή η ενεργοποίηση στο νεογνό του συστήματος της πήξης δεν συνδέεται απαραίτητα πάντοτε με το φαινόμενο της θρόμβωσης ή την κλινική διάγνωση της ΔΕΠ [186]. Η θρομβοπενία μπορεί να είναι μια πρώιμη εκδήλωση της ΔΕΠ, αλλά είναι και μια εξαιρετικά κοινή αιματολογική επιπλοκή κατά τη νεογνική περίοδο, ιδιαίτερα στον νοσηλεύόμενο πληθυσμό στις μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών. Δημοσιευμένες μελέτες υποδεικνύουν ότι η θρομβοκυτοπενία αναπτύσσεται έως και στο 22-35% των νεογνών που εισάγονται στη μονάδα εντατικής θεραπείας νεογνών και είναι σοβαρή σε ποσοστό 20% [109]. Μέχρι πρόσφατα η θρομβοκυτοπενία αποδιδόταν συχνά στη ΔΕΠ, αλλά τώρα φαίνεται ως πιθανότερο ότι πολλά από τα επεισόδια μιας φαινομενικά αυτοπεριοριζόμενης θρομβοκυτοπενίας σχετίζονται με την μειωμένη παραγωγή των αιμοπεταλίων δευτερογενώς λόγω ανεπάρκειας του πλακούντα [187]. Αυτό όμως έρχεται σε αντίθεση με καταστάσεις επίμονης θρομβοπενίας λίγες μέρες μετά τον τοκετό, η οποία είναι πιθανότερο να οφείλεται σε μια υποκείμενη ΔΕΠ.

2. Δοκιμασίες διαταραχών πήξης, όπως η ελάττωση των επιπέδων του ινωδογόνου και άλλων παραγόντων πήξης.

Ως πρωτεΐνη οξείας φάσης, τα επίπεδα του ινωδογόνου στο πλάσμα είναι αυξημένα κατά τη διάρκεια επεισοδίων λοίμωξης. Ο συνδυασμός όμως θρομβοπενίας και χαμηλών επιπέδων ινωδογόνου μπορεί να υποδηλώνει ΔΕΠ. Επίσης, επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος $<1,5 \text{ g / L}$ έχουν ευαισθησία 12% και ειδικότητα 98% για την ανίχνευση αυξημένης παραγωγής θρομβίνης και πλασμίνης σε πάσχοντα νεογνά [185, 188]. Τα επίπεδα του ινωδογόνου πρέπει πάντα να ερμηνεύονται σε σχέση με τα επίπεδα άλλων πρωτεϊνών οξείας φάσης (π.χ. C-αντιδρώσα πρωτεΐνη), των οποίων η αύξηση δείχνει σηψαιμία ή άλλη φλεγμονώδη διαδικασία. Για παράδειγμα, επίπεδα ινωδογόνου στο φυσιολογικό εύρος στην οξεία σήψη, μπορεί να αποτελούν ένδειξη για συνύπαρξη ΔΕΠ. Μειώσεις άλλων παραγόντων υποδηλωτικών της ΔΕΠ, είναι οι χαμηλές συγκεντρώσεις της αντιθρομβίνης III και της πρωτεΐνης C, ενώ παρατάσεις των PT, aPTT και INR επίσης συνυπάρχουν στη ΔΕΠ. Ο PT είναι παρατεταμένος περίπου στο 75% των ασθενών, ενώ ο aPTT στο 50 – 60 % των ασθενών και αυτά τα ποσοστά δεν είναι 100% λόγω της παρουσίας στο πλάσμα ενεργοποιημένων μορφών παραγόντων πήξης, όπως η θρομβίνη και Χα με αποτέλεσμα τα χαμηλά επίπεδα άλλων παραγόντων να μην επηρεάζουν τις δοκιμασίες αυτές (PT, aPTT). Ο χρόνος προθρομβίνης (PT) και το INR αντιπροσωπεύουν την εξωγενή οδό του συστήματος πήξης (δηλαδή τη λειτουργία των παραγόντων πήξης VII, X και II). Οι συμβατικές δοκιμασίες είναι επίσης ευαίσθητες στον προσδιορισμό των παραγόντων V και I σε πάσχοντα νεογνά, ενώ είναι συχνά παθολογικές λόγω της σχετικής ανεπάρκειας της νεογνικής βιταμίνης K, κάτι που ανιχνεύεται με τη δοκιμασία PT. $\text{INR} > 1,5$ έχει ευαισθησία 11% και ειδικότητα 95% στην ανίχνευση αυξημένης παραγωγής θρομβίνης και

πλασμίνης σε πάσχοντα νεογνά. Ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) αντικατοπτρίζει τη λειτουργία της ενδογενούς οδού του καταρράκτη της πήξης (ενεργοποίηση του συστήματος επαφής) και της κοινής οδού (δηλαδή, τη δραστικότητα των παραγόντων XII, XI, IX, VIII, X, V, II και I), δεν παρέχει πληροφορίες όμως για τον παράγοντα VII, τον παράγοντα XIII ή τον παράγοντα von Willebrand. aPTT εντός φυσιολογικού εύρους διορθωμένου βάσει ηλικίας, αποκλείει με υψηλή πιθανότητα μια εξασθενημένη πήξη του πλάσματος. Παράταση του aPTT μπορεί να υποδηλώνει διαταραχή του μηχανισμού πήξης λόγω ΔΕΠ ή αιμορροφιλίας. Το aPTT επίσης παρατείνεται εάν υπάρχουν αναστολείς που εμποδίζουν τη δραστηριότητα ορισμένων παραγόντων πήξης (π.χ. του παράγοντα VIII) ή εάν ο ασθενής λαμβάνει νεότερα αντιπηκτικά (ιρουδίνη, αναστολείς FXa, άμεσοι αναστολείς θρομβίνης και ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C). Τα επίπεδα στο πλάσμα της πρωτεΐνης C και της αντιθρομβίνης III έχουν τεκμηριωθεί ως μετρίως ευαίσθητοι δείκτες για τη ΔΕΠ στους ενήλικες [189, 190]. Στα νεογνά, η σηψαιμία και η ΔΕΠ είναι σχεδόν πάντα συνδεδεμένες με μειωμένα επίπεδα πρωτεΐνης C και αντιθρομβίνης III (ATIII) [191-193]. Έχει διαπιστωθεί ότι η μειωμένη δραστικότητα της πρωτεΐνης C στο πλάσμα είναι πιο έντονη σε σύγκριση με τα χαμηλά επίπεδα της ATIII στα νεογνά με σηψαιμία και ΔΕΠ [194]. Επιπλέον, τα χαμηλά επίπεδα πρωτεΐνης C του πλάσματος έχουν περιγραφεί ως δείκτης πτωχής πρόγνωσης σε σηπτικά νεογνά [195]. Σημειώνεται επίσης και η ελάττωση του πλασμινογόνου, της α2-αντιπλασμίνης και η παρουσία συμπλεγμάτων πλασμίνης –αντιπλασμίνης. Η ανίχνευση δημιουργίας θρομβίνης, π.χ. με μέτρηση θραύσματος προθρομβίνης-1 και -2, TAT, ή των προϊόντων που παράγονται από τον σχηματισμό θρομβίνης (όπως το ινωδοπεπτιδίο A και η διαλυτή ινική), έχει επιδείξει κάποια πιθανότητα να αποκαλύπτει μη έκδηλη ΔΕΠ στα αρχικά στάδια. Ωστόσο, τα περισσότερα κλινικά εργαστήρια δεν είναι ακόμα σε θέση να εκτελέσουν οποιαδήποτε από αυτές τις συστηματικές εξετάσεις. Μείζονος σημασίας είναι και η παρουσία FDPs στο 75% των περιπτώσεων της ΔΕΠ λόγω της δευτεροπαθούς ινωδογονόλυσης και των D-διμερών στο 93% των περιπτώσεων λόγω ινωδόλυσης. Τα αυξημένα επίπεδα των D-διμερών στο πλάσμα, προκαλούνται από τη διάσπαση του ινώδους μέσω της πλασμίνης και αποτελούν σημάδι ενεργοποίησης του μηχανισμού πήξης και ινωδόλυσης γενικότερα. Έτσι, τα D-διμερή είναι αυξημένα κατά τη διάρκεια της θρόμβωσης, της εμβολής, του τραυματισμού ιστού, μετά τη γέννηση κ.ο.κ. Το σύστημα πήξης ενεργοποιείται επίσης σε λοιμώξεις, κακοήθειες και ιστική υποξία και επομένως οι τιμές των D-διμερών είναι αυξημένες και σε αυτές τις περιπτώσεις. Ως εκ τούτου, ενώ η αύξηση των D-διμερών είναι μάλλον μη ειδική, αυτή η παράμετρος είναι χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο (και ιδιαίτερα ευαίσθητο και συγκεκριμένο) για τον αποκλεισμό θρομβοεμβολικών συμβάντων κι έτσι αρνητικό αποτέλεσμα για τα επίπεδα των D-διμερών αποκλείει με κάποια βεβαιότητα τη ΔΕΠ.

3. Βιοχημικές εξετάσεις.

Η έμμεση υπερχολερυθριναμία, η αυξημένη LDH λόγω της μικροαγγειοπαθητικής αιμολυτικής αναιμίας και της ισχαιμίας των ιστών, η αύξηση ουρίας και κρεατινίνης λόγω νεφρικών βλαβών, η αύξηση των τρανσαμινασών και η υπολευκωματιναμία λόγω ηπατικής δυσλειτουργίας κ.ά., είναι μερικές από τις βασικές παθολογικές βιοχημικές τιμές που δύνανται να ανακύψουν στο ευρύτερο φάσμα της πλήρως εγκατεστημένης ΔΕΠ.

Η διάγνωση της ΔΕΠ δεν είναι πάντα εύκολη. Το σύνδρομο έχει δυναμική που μεταβάλλεται συνεχώς και εξαρτάται κάθε φορά από τη βαρύτητα της υποκείμενης νόσου, την ηπατική λειτουργία, την κατάσταση του μυελού, καθώς και από την λειτουργικότητα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος. Ο καθένας από τους παράγοντες αυτούς χωριστά ή και όλοι μαζί ή και σε διάφορους συνδυασμούς, μπορούν να επηρεάσουν το ρυθμό εξέλιξης και τη βαρύτητα έκφρασης της ΔΕΠ και δεδομένου των ανωτέρω, τα εργαστηριακά ευρήματα της ΔΕΠ ποικίλουν όχι μόνο από ασθενή σε ασθενή, αλλά ακόμη και στον ίδιο ασθενή σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Οι συμβατικές δοκιμασίες πήξης και οι μεταβλητές τους, τουλάχιστον αρχικά, μπορεί να είναι ελάχιστα διαταραγμένες και μπορεί να υπάρχουν δυσκολίες στο να διακρίνουμε αν αυτό που αντιπροσωπεύει ένα ανώμαλο αποτέλεσμα ιδιαίτερα σε πρόωρα νεογνά είναι ΔΕΠ ή όχι. Παρομοίως, δεν υπάρχουν αξιόπιστες φυσιολογικές κλίμακες μέτρησης για τα D-διμερή, ενώ υπάρχουν περιορισμένα στοιχεία από μελέτες που υποδηλώνουν ότι οι συγκεντρώσεις και οι τιμές αναφοράς αυτών μπορεί να είναι υψηλότερες κατά τη διάρκεια της νεογνικής περιόδου [196]. Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις ινωδογόνου φυσιολογικά κατά τις πρώτες ημέρες της ζωής είναι ελαφρώς αυξημένες και μπορεί αρχικά να διατηρηθούν σε αυτά τα επίπεδα. Καθώς λοιπόν η ΔΕΠ είναι μια δευτερογενής διαδικασία, εξαιρετικά σημαντική πτυχή της διαχείρισης της επιπλοκής αυτής είναι η άμεση και αποτελεσματική θεραπεία της υποκείμενης αιτίας. Παρόλο που αυτή είναι η λογική θεραπευτική προσέγγιση, όταν η ΔΕΠ είναι καλά εδραιωμένη, η απενεργοποίηση των σχετικών διαδικασιών αυτής είναι δύσκολη. Δεν υπάρχουν κατευθυντήριες γραμμές βασισμένες σε αποδεικτικά στοιχεία για άλλους ειδικούς τρόπους θεραπείας αυτής στα νεογνά, γεγονός που αντικατοπτρίζει την απουσία πρόσφατων τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων δοκιμών σε αυτή την ηλικιακή ομάδα. Υπάρχει έντονο ενδιαφέρον για τη χρήση ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C, η οποία έχει αποδειχθεί ότι είναι επωφελής για τη ΔΕΠ που σχετίζεται με σήψη στους ενήλικες, αλλά υπάρχουν μόνο περιορισμένες πληροφορίες σχετικά με τη χρήση αυτού του παράγοντα στη νεογνική περίοδο [197]. Μεγάλο μέρος της διαχείρισης της ΔΕΠ συνεχίζει έτσι να επικεντρώνεται γύρω από τη χρήση υποστηρικτικής θεραπείας με φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα, κρυσταλλοειδή και αιμοπετάλια, ώστε το νεογνό να διατηρήσει επαρκή αιμόσταση [179, 198]. Παρόλο που η χρήση

προϊόντων αίματος και τα κατώτατα όρια που έχουν οριστεί για τη μετάγγιση είναι σε μεγάλο βαθμό εμπειρικά, είναι λογικό και σημαντικότερο να θεσπιστεί πρωτόκολλο θεραπείας υποκατάστασης, ιδίως όταν υπάρχει αυξημένος κίνδυνος αιμορραγίας. Οι οδηγίες για τη μετάγγιση των αιμοπεταλίων υποδηλώνουν ότι ο αριθμός των αιμοπεταλίων θα πρέπει να διατηρείται πάνω από $50 \times 10^9 / L$ με τη μετάγγιση αιμοπεταλίων (10-15 ml / kg) [179]. Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα (10-15 ml/kg) για την υποκατάσταση των αιμοστατικών πρωτεϊνών, αν και το κρουϊζήμα (5-10 ml / kg) αποτελεί την καλύτερη πηγή ινωδογόνου, τα επίπεδα του οποίου πρέπει να διατηρούνται πάνω από 1 g / L [177].

4.3 Επίκτητες και συγγενείς θρομβωτικές διαταραχές των νεογνών.

Στον παιδιατρικό πληθυσμό, τα νεογνά είναι αυτά που συνήθως θα παρουσιάσουν είτε ένα μεμονωμένο ασυμπτωματικό επεισόδιο θρόμβωσης, είτε σοβαρή θρομβοεμβολική νόσο. Μεταξύ δε των νεογέννητων, τα νεογνά τα οποία βρίσκονται σε βαρεία ή/και κρίσιμη κατάσταση, τόσο τα τελειόμηνα όσο και τα πρόωρα, διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης συμπτωματικής θρομβοεμβολικής νόσου.

Κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα ζωής, η πιθανότητα εμφάνισης θρομβωτικών επιπλοκών (επεισόδιο θρόμβωσης, είτε σοβαρή θρομβοεμβολική νόσος) είναι 40 φορές υψηλότερη από οποιαδήποτε άλλη περίοδο της παιδικής ηλικίας και ειδικότερα σε βαρέως πάσχοντα νεογνά ή νεογνά που φέρουν κεντρικό καθετήρα. Ο καθετηριασμός είναι αναμφισβήτητα ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου τόσο για την αρτηριακή, όσο και για τη φλεβική θρόμβωση [199-201]. Η παρουσία ενός κεντρικού καθετήρα ευνοεί την εμφάνιση του θρομβωτικού επεισοδίου με διάφορους μηχανισμούς, είτε μονωμένα, είτε συνδυαστικά με άλλους παράγοντες. Έτσι, ο καθετήρας μπορεί να προκαλέσει μηχανική βλάβη στο αγγειακό τοίχωμα και επιβράδυνση ή διακοπή της ροής του αίματος σε αυτό, το υλικό με το οποίο κατασκευάζονται οι καθετήρες ενδεχομένως να είναι θρομβογόνο, ενώ μέσω καθετήρων είναι δυνατόν να εγχέονται παράγοντες που βλάπτουν το αγγειακό τοίχωμα [199]. Στους λοιπούς προδιαθεσικούς παράγοντες που σχετίζονται άμεσα με τα θρομβωτικά επεισόδια στα νεογνά περιλαμβάνονται η περιγεννητική ασφυξία, η προωρότητα, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η σηψαιμία, η υποξία και το νεογνό μητέρας με σακχαρώδη διαβήτη κύησης. Συγγενείς προθρομβωτικές διαταραχές διαδραματίζουν μικρότερο ρόλο σε αυτή την περίοδο. Η συχνότητα θρομβωτικών ή θρομβοεμβολικών επεισοδίων στα νοσηλευόμενα νεογνά των μονάδων εντατικής νοσηλείας νεογνών, είναι περίπου 2,4 ανά 1000 εισαγωγές [199, 201]. Έχει αναφερθεί σε μελέτες ότι μόνο το 1% των νεογνών που φέρουν κεντρικό

καθετήρα έχουν συμπτώματα ενδεικτικά θρόμβωσης [202] και επίσης εκτιμάται ότι η συχνότητα εμφάνισης σχετιζόμενης με καθετήρα ασυμπτωματικής θρόμβωσης σε αυτό τον πληθυσμό νεογνών είναι 20-30% [203-206]. Η επαρκής διαχείριση της θρόμβωσης στα νεογνά είναι γενικά περίπλοκη και ιδιαίτερα αν επιχειρήσει κάποιος να επεκτείνει στα νεογέννητα τις τεχνικές διαχείρισης της θρόμβωσης του ενήλικου πληθυσμού. Ωστόσο, κατά τα τελευταία έτη, μεγάλες διαφορές σχετιζόμενες με την ηλικία οι οποίες έχουν παρατηρηθεί σε αυτή την περίπτωση (επιδημιολογία, διαγνωστικές δοκιμασίες, φαρμακοκινητική των αντιθρομβωτικών παραγόντων), έχουν ευνοήσει τη χρήση κατάλληλων διαγνωστικών και θεραπευτικών διαδικασιών για αυτή την περίοδο της ζωής. Η επίδραση της αναπτυξιακής αιμόστασης στην αντιθρομβωτική θεραπεία, θα πρέπει επίσης να εξετασθεί [152]. Για παράδειγμα, τα νεογνά μπορεί να απαιτούν υψηλότερη συγκέντρωση tPA για να προκληθεί με επιτυχία ινωδολύση και χαμηλότερες δόσεις αντι-ινωδολυτικών για την πρόληψή της.

Αξιοσημείωτο είναι το ότι η φτωχή συσχέτιση μεταξύ της δοκιμασίας aPTT και των επίπεδων του anti-Xa στα νεογνά και τα βρέφη που υποβλήθηκαν σε αγωγή με μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη (UFH), μπορεί να υποδηλώνει ότι η τιμή των επιπέδων του anti-Xa-και όχι η δοκιμασία aPTT-είναι αυτή που θα πρέπει να χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της θεραπείας με UFH σε παιδιά ηλικίας μικρότερης του 1 έτους [207]. Μια πρόσφατη μελέτη που δείχνει υψηλό ρυθμό λύσης του θρόμβου στα νεογνά και στα βρέφη ηλικίας μικρότερης των 6 μηνών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με UFH, λόγω της καθυστέρησης στην επίτευξη θεραπευτικών επιπέδων anti-Xa που παρατηρήθηκε, αμφισβητεί αυτή τη σύσταση και θέτει μια ερώτηση σχετικά με τις απαιτούμενες θεραπευτικές δόσεις της UFH σε αυτή την ηλικιακή ομάδα. Αυτά τα παραδείγματα και πολλά άλλα, υπογραμμίζουν τη σημασία της εφαρμογής ειδικών για την ηλικία κατευθυντηρίων οδηγιών για την αρτιότερη διαχείριση της νεογνικής θρόμβωσης [208].

Οι θρομβωτικές διαταραχές στα νεογνά μπορούν γενικά να ταξινομηθούν ως κληρονομικές και επίκτητες, ενώ πρέπει επίσης να επισημανθεί ότι δεν υπάρχουν ακόμη σαφείς συστάσεις όσον αφορά στην αξιολόγηση και στη διαχείριση της θρομβοφιλίας στα νεογνά [209].

Επίκτητες θρομβωτικές διαταραχές-Σχετικές με την ύπαρξη κεντρικού καθετήρα (CRT).

Με την πάροδο των ετών, η φαινομενική αύξηση της θρομβωτικής νόσου στα νεογνά μπορεί να αποδοθεί στο μεγαλύτερο ποσοστό επιβίωσης των πολύ πρόωρων νεογνών, στην αυξημένη χρήση κεντρικών καθετήρων και στην αυξημένη ευαισθησία των απεικονιστικών εξετάσεων στη διάγνωση της θρόμβωσης. Παλαιότερα, το 89% των θρομβωτικών επεισοδίων αποδιδόταν στους κεντρικούς καθετήρες, αλλά τα νεότερα δεδομένα υποδεικνύουν ότι μόνο το 54% των φλεβικών και το 27% των αρτηριακών θρομβωτικών συμβάντων σχετίζονται με τον καθετήρα [201, 209]. Αυτή η μείωση της

συχνότητας εμφάνισης θρόμβωσης σχετιζόμενης με καθετήρα, πιθανότατα οφείλεται στην προφυλακτική χορήγηση ηπαρίνης και στη βελτίωση της φροντίδας της κεντρικής γραμμής. Η αιτιολογία της CRT είναι συνήθως πολυπαραγοντική και συμπεριλαμβάνει την παρουσία του ξένου σώματος, της ενδοθηλιακής βλάβης, της απώλειας-μέσω ροής-αίματος, της φλεγμονής και της έγχυσης υπέρτονων διαλυμάτων. Η παρουσία του καθετήρα συχνά οδηγεί στο σχηματισμό ενός πλέγματος ινώδους γύρω από αυτόν, το οποίο προάγει τη βακτηριακή προσκόλληση και την εν συνεχεία ανάπτυξη των βακτηρίων, φαινόμενο που με τη σειρά του οδηγεί σε φλεγμονώδη αντίδραση και επέκταση του θρόμβου[209, 210].

Ομφαλικοί φλεβικοί καθετήρες (UVCs) σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης που περιλαμβάνει και την πυλαία φλέβα. Συνήθως η διάγνωση γίνεται με τη χρήση υπερήχων Doppler στην ύποπτη περιοχή. Για νεογνά με λειτουργικούς κεντρικούς καθετήρες και CRT, συνιστάται θεραπευτική αντιπηκτική αγωγή για 6 έως 12 εβδομάδες. Μετά την ολοκλήρωση της αντιπηκτικής θεραπείας, συνιστάται έναρξη προφυλακτικής αντιπηκτικής χορήγησης έως ότου αφαιρεθεί ο καθετήρας. Εάν ο καθετήρας δε λειτουργεί ή η παρουσία του δεν απαιτείται, προτείνεται η χορήγηση για 3 έως 5 ημέρες θεραπευτικής αντιπηκτικής αγωγής πριν από την αφαίρεσή του[211].

Το αρτηριακό CRT διαγιγνώσκεται συχνότερα στον καθετηριασμό της ομφαλικής αρτηρίας (UAC) και στον καθετηριασμό της μηριαίας αρτηρίας. Το θρομβωτικό αρτηριακό επεισόδιο το σχετιζόμενο με τον καθετηριασμό της ομφαλικής αρτηρίας (UACRT) είναι συνήθως ασυμπτωματικό και σχετίζεται με την τεχνική τοποθέτησης και τη διάρκεια παραμονής του καθετήρα[212]. Δύνανται όμως να υπάρξουν και επιπλοκές του UACRT, με τις βραχυπρόθεσμες να περιλαμβάνουν ισχαιμία των κάτω άκρων, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, μειωμένη νεφρική λειτουργία και υπέρταση, ενώ έχει επίσης αναφερθεί νεκρωτική εντεροκολίτιδα ως επιπλοκή μετά από εμβολή της άνω μεσεντερίου αρτηρίας και με τις μακροπρόθεσμες να προκαλούν νεφραγγειακή υπέρταση και ανωμαλίες ανάπτυξης των κάτω άκρων [211]. Τέλος, η θρόμβωση της μηριαίας αρτηρίας ακολουθεί συχνά τις διαδικασίες καθετηριασμού της καρδιάς. Η UACRT δυσλειτουργία/θρόμβωση μπορεί να προληφθεί με τη σωστή τοποθέτηση του καθετήρα μεταξύ των επιπέδων T6 έως T9 και με την έγχυση χαμηλής δόσης μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης (UFH) μέσω UAC σε δόσεις 25 έως 200 U/kg/ημέρα, έτσι ώστε να διατηρείται η βατότητα του αγγείου. Για νεογνά με περιφερικούς αρτηριακούς καθετήρες, συνιστάται η χορήγηση UFH (0,5 U/mL) σε ρυθμό 1 mL/h, έτσι ώστε να αποτρέπει τη δυσλειτουργία του καθετήρα. Για την πρόληψη της θρόμβωσης κατά τον καρδιακό καθετηριασμό, προτείνεται μια μόνο δόση 100 U/kg UFH εφάπαξ. Το αρτηριακό CRT αντιμετωπίζεται με θεραπευτική αντιπηκτική αγωγή για 5 έως 7 ημέρες [211].

Επίκτητες θρομβωτικές διαταραχές-Μη σχετικές με την ύπαρξη κεντρικού καθετήρα.

Αρτηριακό ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο

Η επίπτωση του νεογνικού αρτηριακού ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (AIS) είναι 1 στα 4.000 ζώντα νεογνά[213]. Το υποξαιμικό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι η πιο κοινή αιτία της εγκεφαλικής παράλυσης σε νεογνά [214]. Ο "τεκμαιρόμενος" όρος «περιγεννητικά ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια», αφορίζει ένα παιδί με φυσιολογικό περιγεννητικό νευρολογικό ιστορικό, αλλά με νευρολογικά ελλείμματα που οφείλονται σε απομακρυσμένο εστιακό έμφρακτο, το οποίο με τη σειρά του εντοπίζεται στο νευροαπεικονιστικό έλεγχο αργότερα κατά την παιδική ηλικία [214, 215]. Συχνότερα, το εστιακό αυτό έμφρακτο παρουσιάζεται με πρώιμη πάρεση χειρός και η τυπική κατανομή του είναι η μέση εγκεφαλική αρτηρία. Η υποστηρικτική θεραπεία είναι αυτή που συνιστάται για το πρώτο AIS επί απουσίας καρδιοεμβολικής εστίας, ενώ η αντιπηκτική θεραπεία με UFH ή χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη (LMWH) χορηγείται επί ανιχνεύσιμης καρδιοεμβολικής εστίας. Για τα βρέφη με υποτροπιάζον AIS, συνιστάται αντιπηκτική αγωγή ή χορήγηση ασπιρίνης (1-5 mg/kg/d). Ωστόσο, η βέλτιστη διάρκεια της αντιπηκτικής αγωγής ή της θεραπείας με ασπιρίνη δεν έχει απόλυτα προσδιοριστεί και καθοριστεί.

Θρόμβωση του άνω οβελιαίου κόλπου του εγκέφαλου

Η θρόμβωση του άνω οβελιαίου κόλπου του εγκέφαλου είναι η πιο συχνή θέση θρόμβωσης μεταξύ των φλεβωδών κόλπων του εγκεφάλου και η εκλεκτικότητα ως προς την προσβολή του, παρατηρείται επειδή ο άνω οβελιαίος κόλπος αποτελεί φλεβική θέση χαμηλής πίεσης, χωρίς βαλβιδικό σύστημα και η εκβολή του προς τους λοιπούς φλεβώδεις κόλπους στο «ληνό του Ηρόφιλου» γίνεται υπό οξεία γωνία. Η επίπτωση της θρόμβωσης του άνω οβελιαίου κόλπου του εγκέφαλου στα νεογνά ανέρχεται στις 2,6 ανά 100.000 ζώσες γεννήσεις και με ελαφρά προτίμηση στο άρρεν φύλο [216]. Τα συμπτώματα που συνήθως εκδηλώνονται είναι σπασμοί-επιληπτικές κρίσεις και εγκεφαλοπάθεια. Η υποξική ισχαιμική εγκεφαλοπάθεια, η επιπλεγμένη εγκυμοσύνη / τοκετός, η αφυδάτωση, η προωρότητα, οι συγγενείς καρδιοπάθειες και η σηψαιμία είναι μερικοί από τους παράγοντες κινδύνου [217] για την εμφάνιση της θρόμβωσης. Η αξονική τομογραφία (CT) ή μαγνητική τομογραφία (MRI) και η αγγειογραφία είναι οι προτιμώμενες εξετάσεις διάγνωσης, αξιολόγησης και παρακολούθησης. Το υπερηχογράφημα εγκεφάλου (Doppler) μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την αρχική διάγνωση. Η θεραπεία περιλαμβάνει αντιπηκτική αγωγή για 6 έως 12 εβδομάδες, με την προϋπόθεση ότι δεν συσχετίζεται με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης ενδοκράνιας αιμορραγίας (ICH). Επιβάλλεται έτσι να συνυπολογίζονται τα οφέλη της αντιπηκτικής αγωγής και οι

συνδεδεμένοι με αυτήν κίνδυνοι για ICH. Εάν λοιπόν ο κίνδυνος για αιμορραγία είναι σημαντικός, τότε η συχνή παρακολούθηση για πιθανή επέκταση του θρόμβου μπορεί να είναι από μόνη της ο πιο κατάλληλος τρόπος αντιμετώπισης, ενώ η αντιπηκτική αγωγή είναι δικαιολογημένη μόνο εάν παρατηρηθεί επέκταση της θρόμβωσης.

Θρόμβωση νεφρικής φλέβας

Η θρόμβωση της νεφρικής φλέβας (RVT) είναι ο πιο συνηθισμένος τύπος ιδιοπαθούς φλεβικής θρόμβωσης. Στο 57% σχεδόν των περιπτώσεων είναι αμφοτερόπλευρη και περίπου οι μισές από αυτές επεκτείνονται και στην κάτω κοίλη φλέβα (IVC). Στους παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνονται η περιγεννητική ασφυξία, η ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, η σήψη και η πολυκυτταραιμία-πολυερυθραιμία. Η κλασική τριάδα της ψηλαφητής κοιλιακής μάζας, της αιματουρίας και της θρομβοπενίας δεν συναντάται πάντα στο νεογνικό πληθυσμό [218]. Όταν υπάρχει επέκταση στην IVC, μπορεί να εμφανιστούν κρύα, κυανά και οιδηματώδη κάτω άκρα. Η θρομβοπενία είναι ένα σύνηθες εργαστηριακό εύρημα και τα νεογνά με μεμονωμένη θρομβοπενία πρέπει να διερευνώνται για πιθανή RVT. Η διάγνωσή της μπορεί να γίνει εύκολα με ένα υπερηχογράφημα και Doppler μελέτη της κοιλίας. Αξιοσημείωτο τέλος είναι το ότι η διαχείριση των νεογνών με RVT εξακολουθεί να εξελίσσεται. Έτσι, οι περισσότεροι ειδικοί συμφωνούν στο ότι η αντιμετώπιση της RVT που σχετίζεται με ουραιμία, επέκταση στην IVC και η αμφοτερόπλευρη RVT, πρέπει να γίνεται με τη χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής για 6 - 12 εβδομάδες. Για την ετερόπλευρα εντοπιζόμενη RVT χωρίς ουραιμία και χωρίς επέκταση στην IVC, προτιμώνται η υποστηρικτική θεραπεία και η ακτινολογική –υπερηχογραφική παρακολούθηση. Για την αμφοτερόπλευρη RVT με νεφρική δυσλειτουργία/ανεπάρκεια, η εξαρχής εφαρμογή θρομβόλυσης είναι επίσης μια επιλογή [211]. Τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα της RVT περιλαμβάνουν τη μείωση της νεφρικής λειτουργίας και την εγκατάσταση συστηματικής υπέρτασης[219].

Θρόμβωση της πυλαίας φλέβας

Η νεογνική θρόμβωση της πυλαίας φλέβας (PVT) εκτιμάται ότι επισυμβαίνει σε 3,6 ανά 1.000 εισαγωγές νεογνών σε μονάδα εντατικής θεραπείας νεογνών. Ο σημαντικότερος προδιαθεσικός παράγοντας είναι η παρουσία ομφαλικού φλεβικού καθετήρα (UVC) [220]. Οι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη PVT σε νεογνά με UVC είναι η παρατεταμένη διάρκεια παραμονής των καθετήρων και η διαδικασία της αφαιμαξομετάγγισης μέσω UVC. Η διάγνωση της PVT γίνεται μέσω υπερήχων Doppler. Τα νεογνά με PVT είναι ως επί το πλείστον ασυμπτωματικά, αλλά μπορεί και να παρουσιάζουν μεμονωμένη θρομβοπενία ή με/ή χωρίς αυξημένα ηπατικά ένζυμα [221]. Ο κύριος θεραπευτικός στόχος είναι η πρόληψη εμφάνισης πυλαίας υπέρτασης [222]. Σε μία προοπτική

μελέτη, στην πλειοψηφία των ασθενών με μερική απόφραξη της PV (70%) αναδείχθηκε μερική ή πλήρης λύση του θρόμβου μετά από χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής, ενώ μόνο στο 31% των πλήρως αποφραγμένων PVs επήλθε πλήρης λύση του θρόμβου [223]. Μία μελέτη παρακολούθησης νεογνών με PVT μετά από τη λήψη αντιπηκτικής αγωγής, ανέδειξε ότι το 28% αυτών εμφάνισε ασυμπτωματική ατροφία αριστερού ηπατικού λοβού, ενώ το 7% παρουσίασε βραδεία προοδευτική σπληνομεγαλία [222]. Η ταχεία λύση του θρόμβου και η ασυμπτωματική ατροφία του αριστερού λοβού του ήπατος, μας οδήγησαν στην αμφισβήτηση του ρόλου της αντιπηκτικής αγωγής. Κατά συνέπεια, η θεραπεία με αντιπηκτική αγωγή συνιστάται σε αποκλειστικά εξατομικευμένη βάση και μόνο αν τα οφέλη της υπερβαίνουν τους κινδύνους [221].

Θρομβοφιλία

Ανεπάρκεια PC και PS

Η ανεπάρκεια της PC είναι συχνότερη κατά τη νεογνική περίοδο, ενώ λιγότερο συχνή είναι η ανεπάρκεια της PS [224].

Στην ομόζυγη μορφή της, η ανεπάρκεια της πρωτεΐνης C αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο για φλεβικά θρομβοεμβολικά επεισόδια. Σε αυτούς τους ασθενείς τα φλεβικά θρομβοεμβολικά επεισόδια εμφανίζονται αμέσως μετά τη γέννηση.

Οι κλινικές επιπτώσεις των διαταραχών αυτών είναι κυρίως η εμφάνιση θρόμβωσης των φλεβών του μεσεντερίου, της πυλαίας, των νεφρικών φλεβών, των εγκεφαλικών φλεβών και της οφθαλμικής φλέβας. Χαρακτηριστική εκδήλωση της νόσου είναι επίσης και η εμφάνιση δερματικών νεκρώσεων και ιδιαίτερα κατά την έναρξη της θεραπείας με βιταμίνη K. Η ομόζυγος έλλειψη της πρωτεΐνης C είναι πολύ σπάνια και οδηγεί στο σύνδρομο της κεραυνοβόλου νεογνικής πορφύρας. Οι κοινές κλινικές εκδηλώσεις της είναι ο ενδομήτριος εγκεφαλικός και/ ή οφθαλμικός τραυματισμός και η εμφάνιση δερματικών νεκρώσεων αμέσως μετά τη γέννηση. Περιστασιακά, μπορεί να εμφανιστεί και θρόμβωση μεγάλων αγγείων. Η κεραυνοβόλος νεογνική πορφύρα είναι ένα οξύ σύνδρομο ταχέως εξελισσόμενης αιμορραγικής νέκρωσης του δέρματος, είναι αποτέλεσμα δερματικών αγγειακών θρομβώσεων και σχετίζεται με διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC) [225]. Μπορεί να εμφανιστούν δερματικές νεκρώσεις στα άκρα και σε διάφορα σημεία που δέχονται πίεση, όπως το τριχωτό της κεφαλής, η κοιλιά, οι γλουτοί και το όσχεο.

Ομοίως, η ομόζυγη μορφή ανεπάρκειας της πρωτεΐνης S αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο για φλεβικά θρομβοεμβολικά επεισόδια και πανομοιότυπα και σε αυτούς τους ασθενείς, τα επεισόδια αυτά εμφανίζονται αμέσως μετά τη γέννηση.

Ανεπάρκεια Αντιθρομβίνης III [224]

Η κληρονομική ανεπάρκεια της αντιθρομβίνης III έχει αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα και η ομόζυγη μορφή αυτής είναι σπάνια, κυρίως λόγω της κακής έκβασης των κυήσεων και του αυξημένου ποσοστού ενδομήτριων θανάτων σε αυτές τις περιπτώσεις (μη συμβατή με τη ζωή). Στην ετερόζυγη μορφή της, η ανεπάρκεια της αντιθρομβίνης III ανευρίσκεται περίπου στο 0,02-0,05% του γενικού πληθυσμού. Αφορά στο 2% περίπου των ασθενών με φλεβική θρόμβωση και μπορεί ενδεχομένως να εκδηλωθεί σαν αντίσταση στην ηπαρίνη. Αν και η αντιθρομβίνη III είναι ο κυριότερος φυσικός αναστολέας της αιμόστασης, η ετερόζυγη ανεπάρκεια της εκδηλώνεται σπάνια στην νεογνική περίοδο, διότι στην περίοδο αυτή η α2-αντιπλασμίνη είναι ο παράγοντας που παίζει τον κυρίαρχο ρόλο στην αναστολή της αιμόστασης.

Ανεπάρκεια παράγοντα V (Leiden) [224]

Είναι η πιο κοινή από τις κληρονομικές αιτίες θρομβοφιλίας και ανευρίσκεται σε ετερόζυγο μορφή στο 12-20% των ασθενών με φλεβική θρόμβωση και στο 40-50% των ασθενών με υποτροπιάζουσες ή οικογενείς εν τω βάθει θρομβοφλεβίτιδες. Η πιθανότητα για θρόμβωση εγκεφαλικών φλεβών είναι επίσης αυξημένη στην ανωτέρω κατάσταση. Τέλος, η μετάλλαξη του παράγοντα V-πιθανώς μέσω θρομβώσεων των αγγείων του πλακούντα-μπορεί να διαδραματίζει κάποιον αιτιολογικό ρόλο στις ανεξήγητες αποβολές και σε άλλες επιπλοκές της εγκυμοσύνης, αλλά σπανίως εκδηλώνεται στη νεογνική ηλικία.

Μετάλλαξη της Προθρομβίνης G20210A [224]

Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός της θρόμβωσης στην περίπτωση αυτή, αποδίδεται στην αυξημένη μεταγραφή αγγελιοφόρου mRNA και κατά συνέπεια στην αυξημένη παραγωγή προθρομβίνης, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε αυξημένη σύνθεση θρομβίνης. Η μετάλλαξη σχετίζεται με την εμφάνιση φλεβικής θρόμβωσης, όχι όμως κατά τη νεογνική περίοδο και ο κίνδυνος θρόμβωσης αυξάνεται σημαντικά όταν η μετάλλαξη συνυπάρχει με άλλες διαταραχές (κυρίως με τον V-Leiden) ή σε συνδυασμό με άλλους επίκτητους παράγοντες υψηλού κινδύνου.

Αυξημένα επίπεδα παραγόντων της πήξης

Πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι αυξημένα επίπεδα παραγόντων της πήξης του αίματος σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για θρόμβωση. Αυξημένα επίπεδα των παραγόντων II, VIII, IX και XI είχαν αρχικά συσχετισθεί με πιθανότητα εμφάνισης φλεβικής θρόμβωσης, ενώ αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου και παραγόντων V, VII και von Willebrand με πιθανότητα εμφάνισης αρτηριακών θρομβώσεων. Δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί αν η αύξηση ενός μόνο παράγοντα πήξης ορίζεται από μόνη της ως αιτία θρομβοφιλίας ή αποτελεί μία απάντηση σε άλλες καταστάσεις και ερωτήματα που παραμένουν άγνωστα. Δεν είναι επίσης γνωστό αν οι αυξήσεις παραγόντων πήξης οφείλονται σε πολυμορφισμούς του καθεαυτού γονιδίου τους ή αν προκύπτουν από την επίδραση

άλλων ρυθμιστικών παραγόντων. Στη νεογνική ηλικία πάντως, σπάνια ενοχοποιούνται ως αίτια θρομβωτικής νόσου.

Οι οδηγίες για τη θεραπεία της θρομβωτικής νόσου του νεογνού, βασίζονται κυρίως σε μελέτες που έχουν γίνει σε ενήλικες. Η βιβλιογραφία για τη διαχείριση της νόσου από την άλλη πλευρά, συνήθως βασίζεται σε δεδομένα μεμονωμένων κέντρων ή σε αναφορές σε μεμονωμένα κλινικά περιστατικά. Συνοψίζοντας λοιπόν, θα λέγαμε ότι σε γενικές γραμμές, οι στόχοι της θεραπείας της θρομβωτικής νόσου του νεογνού είναι η πρόληψη: 1) της υποτροπής της νόσου, 2) των άμεσων και απειλητικών για την ζωή επιπλοκών και 3) των μακροπρόθεσμων επιπλοκών της και όλα αυτά, προσπαθώντας πάντα ως κλινικοί γιατροί να μην αυξάνουμε τον κίνδυνο εμφάνισης αιμορραγικών συμβαμάτων [224].

5. ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ-ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑΣ/ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑΣ

Η ακρίβεια στην εργαστηριακή ανάλυση των δειγμάτων αίματος είναι καίρια για τη διάγνωση και τη θεραπευτική παρακολούθηση της νεογνικής αιμόστασης. Σε καμία άλλη ηλικιακή ομάδα δεν είναι τόσο σημαντική η προσοχή που πρέπει να δίδεται στους προ-αναλυτικούς παράγοντες [226]. Επιπρόσθετα, οι πρακτικές δυσκολίες της αιμοληψίας έχουν διερευνηθεί και μελετηθεί πολύ καλά για την ηλικιακή αυτή ομάδα, ενώ οι εργαστηριακοί παράγοντες της ανάλυσης είναι εξίσου σημαντικοί και αυτό επεκτείνεται ακόμη και στην επιλογή του είδους του αναλυτή. Υπάρχουν λοιπόν δύο βασικοί τύποι αναλυτών πήξης: οι αναλυτές που ανιχνεύουν τον σχηματισμό θρόμβου μηχανικά μέσω της μείωσης της κίνησης του βιολογικού δείγματος σε μια μεταλλική μπάλα, μιμούμενοι τον σχηματισμό θρόμβου και οι αναλυτές που βασίζονται σε αλλαγές στην οπτική απορρόφηση του φωτός λέιζερ που διέρχεται μέσα από το θρόμβο καθώς αυτός σχηματίζεται. Τα οπτικά συστήματα επηρεάζονται από την παρουσία της χολερυθρίνης και των λιπιδίων και τα δύο από τα οποία είναι ιδιαίτερα ανιχνεύσιμα στο νεογνικό πλάσμα. Ανεξάρτητα από οποιαδήποτε προτίμηση για το ένα ή το άλλο είδος αναλυτή που μπορεί να υπάρχει-και να είναι όλες αποδεκτές-σε άλλες περιόδους της ζωής (πλην της νεογνικής), τα εργαστήρια που εξυπηρετούν τις ΜΕΝΝ μπορεί να χρειαστεί να εξετάσουν ενδελεχώς την ανάγκη για πρόσβαση σε ένα μηχανικό σύστημα πολύ εξειδικευμένο για την ανάλυση των δειγμάτων του νεογνικού αίματος [227, 228]. Όλα τα ανωτέρω, καθώς και οι προ-αναλυτικές και αναλυτικές μεταβλητές σε συνδυασμό με την ευρεία διακύμανση των αποτελεσμάτων των δοκιμασιών ακόμη και στον απλό έλεγχο πήξης-που εξαρτώνται από την ηλικία κύησης και τη δυσκολία απόκτησης επαρκούς αριθμού δειγμάτων από «φυσιολογικά-υγιή» νεογνά, καθιστούν σχεδόν αδύνατη την προσπάθεια να στοιχειοθετηθούν στον πληθυσμό αυτό όρια φυσιολογικών τιμών αναφοράς. Έτσι, οι εισηγμένες στο εργαστήριο φυσιολογικές τιμές για τα νεογνά στηρίζονται σε μεγάλο βαθμό σε δημοσιευμένα ιστορικά δεδομένα και εξ αυτών, σε ένα σχετικά μικρό αριθμό «νεογνών-μαρτύρων». Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της πήξης στα νεογνά δεν είναι μία «επιστήμη ακριβείας» και έτσι, η εργαστηριακή διάγνωση των αιμοστατικών διαταραχών στα νεογνά μπορεί να είναι δύσκολο να διαπιστωθεί, λόγω της ανάγκης να προσαρμοστούν οι εργαστηριακές δοκιμασίες στο πολύ μικρό δείγμα αίματος που λαμβάνεται [226]. Η διατήρηση της ακεραιότητας του δείγματος είναι ένα άλλο σημαντικό πρόβλημα στις νεογνικές μελέτες πήξης και η μεγάλη προσοχή που οφείλει να δίδεται στην επαναληψιμότητα των μετρήσεων των δειγμάτων είναι σημαντική για να αποφευχθούν εσφαλμένα αποτελέσματα [179, 227]. Η υπερδιάγνωση και η λανθασμένη διάγνωση είναι συχνότατες όταν δε λαμβάνονται υπόψη αμφότερα η ηλικία και ο αναλυτής και δε χρησιμοποιούνται ειδικά

αντιδραστήρια αναφοράς για αυτές της ηλικίας. Η ωρίμανση του αιμοστατικού συστήματος στα παιδιά είναι μια διαδικασία σύνθετη, με πολλές σχετιζόμενες με την ηλικία ποσοτικές και ποιοτικές διαφοροποιήσεις. Στις αρχές της δεκαετίας του 1980, η ανάπτυξη των μικροαναλύσεων επέτρεψε στους ερευνητές να προσδιορίσουν τα από την ηλικία εξαρτώμενα χαρακτηριστικά του συστήματος πήξης και τις καθιερωμένες τιμές αναφοράς για υγιή παιδιά [95, 229]. Ωστόσο οι προσπάθειές τους να κατανοήσουν τις αναπτυξιακές διαφορές στο αιμοστατικό σύστημα των νεογνών σε σχέση με αυτό των παιδιών, έχουν μέχρι σήμερα επικεντρωθεί και περιοριστεί κυρίως στις ποσοτικές διαφορές των πλασματικών συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών πήξης. Αυτή η προσέγγιση μπορεί να προσδιορίσει κλινικά σημαντικές διαφορές στην πρωτεϊνική λειτουργία στις δύο ομάδες, παρά τις ελάχιστες ποσοτικές τους διαφορές. Οι πρωτεΐνες πήξης έχουν πολύπλοκες τρισδιάστατες δομές, οι οποίες - δευτερογενώς με μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις - μπορεί να ασκήσουν πολλαπλές λειτουργίες ή μπορεί να θεωρηθούν δυσλειτουργικές. Ειδικότερα, το ινωδογόνο στα νεογνά έχει αποδειχθεί ότι προϋπάρχει σε μια «δυσλειτουργική» εμβρυϊκή μορφή, με αυξημένη συγκέντρωση σε σιαλικό οξύ και σε φωσφόρο σε σύγκριση με το ώριμο ινωδογόνο του ενήλικα. Ομοίως, παρά την έλλειψη των διαφορών στην ποσότητα και στη δομή των αιμοπεταλίων στα νεογνά σε σύγκριση με τους ενήλικες, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα νεογνικά αιμοπετάλια έχουν ποιοτικές διαφορές σχετιζόμενες με την ηλικία όσον αφορά στη μειωμένη δέσμευση του ινωδογόνου, στην έκκριση κοκκίων, στη συσσώρευσή τους και στην ανταπόκρισή τους σε ανταγωνιστές [229, 230]. Επιπλέον, η χρήση των τυπικών για τους ενήλικες εργαστηριακών εξετάσεων συχνά αμφισβητείται ως προς τα αποτελέσματά της στα νεογνά, λόγω των τεχνικών δυσκολιών στη δειγματοληψία αίματος στα νεογνά και του σχετικά μεγάλου όγκου αίματος που απαιτείται για μια ολοκληρωμένη δοκιμασία πολλαπλών πρωτεϊνών-στόχων (που αδυνατεί φυσικά να ληφθεί από τα νεογνά). Όλοι οι προαναφερθέντες παράγοντες μαζί, μπορούν να περιορίσουν ουσιαστικά τη χρησιμότητα των τυποποιημένων εργαστηριακών προσδιορισμών των πρωτεϊνών πήξης και επομένως και την εκτίμηση των διαταραχών της πήξης σε νεογνά και μικρά παιδιά. Οι εργαστηριακές λοιπόν δοκιμασίες οι οποίες παγκοσμίως χρησιμοποιούνται ως πρώτο βήμα στη διερεύνηση των διαταραχών της αιμόστασης, είναι οι ακόλουθες:

1 -προσδιορισμός αριθμού αιμοπεταλίων

2 -προσδιορισμός χρόνου προθρομβίνης (PT) που εκφράζεται με το διεθνή δείκτη ομαλοποίησης (INR)

3 -προσδιορισμός ενεργοποιημένου χρόνου μερικής θρομβοπλαστικής (aPTT)

4 -προδιορισμός ινωδογόνου

5 -προσδιορισμός Δ-Διμερών(D-Dimers) –προϊόντα αποδομής του ινώδους.

Οι δοκιμασίες αυτές προϋποθέτουν κατάλληλη συλλογή δειγμάτων αίματος, ώστε να παρέχεται ακρίβεια στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Ωστόσο, σε καμία άλλη ομάδα ασθενών οι αιμοληψίες δε διενεργούνται σε τόσο δύσκολες και αντίξοες συχνά συνθήκες, όσο στα νεογνά. Επιπλέον, οι προαναφερθείσες συμβατικές εξετάσεις δεν παρέχουν καμία πληροφορία- ένδειξη για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων ή για το σύστημα της ινωδόλυσης [231].

Δεδομένου ότι η διαδικασία της αιμόστασης πραγματοποιείται μέσα από μια περίπλοκη συνεργασία μεταξύ αιμοπεταλίων, ενδοθηλιακών κύτταρων, φλεγμονωδών κύτταρων, παραγόντων πήξης και ινωδογόνου, έχει επανειλημμένως αποδειχθεί ότι είναι από δυσχερές έως αδύνατο να προσδιοριστεί οποιαδήποτε εξειδικευμένη διαταραχή της αιμόστασης χρησιμοποιώντας μόνο τα συμβατικά τεστ πηκτικότητας [232].

Στη νεογνολογία συχνότατα, η επείγουσα φύση των αντιμετωπιζόμενων συμβαμάτων δεν επιτρέπει την επανάληψη των δοκιμασιών επί αμφιβόλων αποτελεσμάτων, ώστε αυτές αυτόματα να κατατάσσονται ως δυσλειτουργικές, ανεπιθύμητες και χρονοβόρες. Έτσι, η παρακολούθηση και ανάλυση των μηχανισμών αιμόστασης και ινωδόλυσης με μία μόνο εύχρηστη και μη ογκώδη συσκευή που να απαιτεί μικρό δείγμα αίματος και να παρέχει άμεση διαθεσιμότητα των αποτελεσμάτων και αρωγή στην άμεση χορήγηση θεραπείας, είναι αναμφίβολα μια ελκυστική πρόκληση για τους νεογνολόγους [232].

Η θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία (TEG/TEM) αντιπροσωπεύει επάξια μία διαγνωστική μέθοδο κατάλληλη για τη βέλτιστη έως τώρα κάλυψη της ανωτέρω ανάγκης. Η μεθοδολογία της TEM, χρησιμοποιεί μια συσκευή άμεσης και ταχείας παρακολούθησης των σταδίων της πήξης, παρέχοντας γενικές πληροφορίες σχετικά με τη δυναμική της ανάπτυξης και της λύσης του θρόμβου [233, 234]. Είναι η μοναδική δοκιμασία που δίνει πληροφορίες σχετικά με τις εξής πολύτιμες παραμέτρους:

- 1- Δημιουργία του θρόμβου
- 2- Κινητική του θρόμβου
- 3- Σταθερότητα και ελαστικότητα του θρόμβου

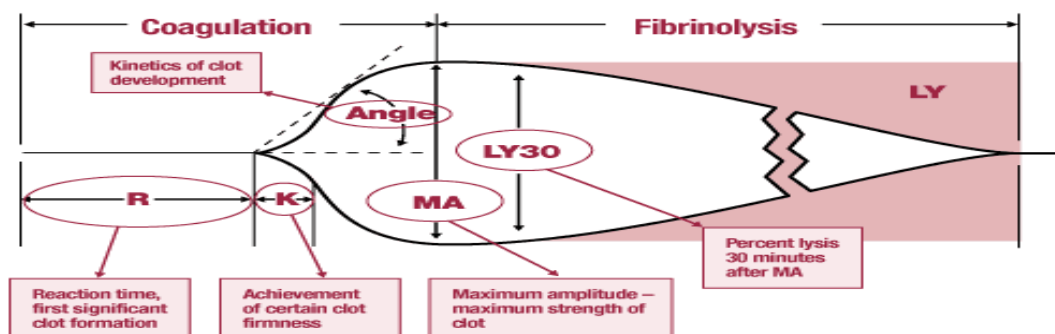
- 4- Λύση του θρόμβου
- 5- Αναπαράσταση των ιξωδο-ελαστικών αλλαγών που συμβαίνουν κατά τη διαδικασία αποδόμησης του ινώδους
- 6- Διαφορική διάγνωση των συγγενών και επίκτητων πρωτοπαθών διαταραχών της πήξης από την αιμορραγία χειρουργικής /τραυματικής αιτιολογίας. [234]

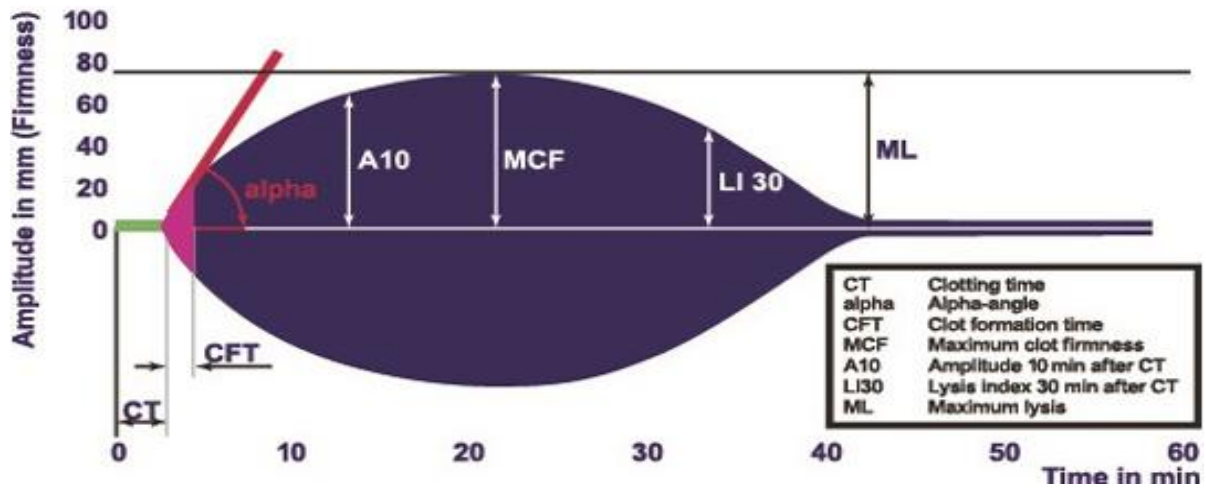
Η TEG περιγράφεται για πρώτη φορά από τον Hellmut Hartert το 1948 στη Χαϊδελβέργη, κατά το Β' Παγκόσμιο πόλεμο, στο άρθρο: “ Μελέτη της ανεπάρκειας παραγόντων της πήξης”. Από εκεί και πέρα και για πάνω από 25 χρόνια, δεν εφαρμόζεται στη κλινική πράξη, μέχρι που ο Dr Kang και οι συνεργάτες του αποφασίζουν την ευρεία χρησιμοποίησή της στην καρδιοχειρουργική και στις μεταμοσχεύσεις ήπατος. Από το 1990 και μετά, η TEG/TEM έχει βρει αξιόλογη εφαρμογή σε συγκεκριμένα κέντρα-με μικρό ακόμα εύρος αναδυόμενων κλινικών και εργαστηριακών μελετών που την υποστηρίζουν όμως σθεναρά, όπως σε πολυτραυματίες των ΜΕΘ, στη μαιευτική, στην παιδιατρική, στη νευροχειρουργική, στην αναισθησιολογία, αλλά και σε αμιγώς παθολογικούς ασθενείς (όπως κίρρωτικούς, αιματολογικούς και σηπτικούς), καθώς ο κατάλογος των εφαρμογών της διευρύνεται συνεχώς [233, 235-238].

5.1 Η τεχνική της θρομβοελαστογραφίας/θρομβοελαστομετρίας (TEG/TEM).

Οι δύο συσκευές που διατίθενται σήμερα και χρησιμοποιούν τις αρχές της θρομβοελαστογραφίας είναι: 1. TEG[®] 500 Haemostatic Analyzer System και 2. ROTEM[®] δέλτα (TEM Innovations GmbH, München). Και τα δύο αυτά μηχανήματα είναι συνδεδεμένα με υπολογιστή, ο οποίος με τη χρήση ενσωματωμένου μαθηματικού αλγόριθμου εξάγει τα πολύτιμα για εμάς συμπεράσματα. Οι παράμετροι που μετρούν και τα δύο είναι παρόμοιες, αλλά έχουν διαφοροποιημένες ονομασίες [239, 240]:

Εικόνα 10: Αναλυτική γραφική αναπαράσταση φυσιολογικών μετρήσεων TEG/TEM[241]





1-Χρόνος πήξης R (κατά TEG® 500) και CT (κατά ROTEM):

Αντιπροσωπεύει το χρονικό διάστημα από την έναρξη της εξέτασης, έως την έναρξη σχηματισμού του θρόμβου. Πιο συγκεκριμένα, είναι ο χρόνος από την αρχή της εξέτασης μέχρι η κυματομορφή να φτάσει το πλάτος των 2mm. Αυξημένος χρόνος R ή CT επισυμβαίνει σε καταστάσεις όπως:

- A. ανεπάρκεια παραγόντων πήξης
- B. χορήγηση αντιπηκτικών
- C. σοβαρή υποϊνωδογοναμία
- D. σοβαρή θρομβοπενία.

Μειωμένος χρόνος R ή CT επισυμβαίνει σε καταστάσεις όπως:

- σύνδρομο υπερπηκτικότητας

Αντανακλά διαταραχές σε επίπεδο παραγόντων πήξης, οι οποίες δε σχετίζονται πάντα με διαταραχές των PT και aPTT.

2-Σταθερά K (κατά TEG® 500) και CFT (κατά ROTEM) ή χρόνος δημιουργίας θρόμβου:

Αντιπροσωπεύει το χρόνο που είναι απαραίτητος για να επιτευχθεί ικανό και ασφαλές επίπεδο αντοχής και ισχύος του θρόμβου (χρόνος μηδέν = χρόνος R ή CT). Ισοδυναμεί με το χρόνο που απαιτείται για να αυξηθεί το πλάτος της κυματομορφής του θρόμβου κατά 20 mm πάνω από τα αρχικά 2mm. Αυξημένος χρόνος K ή CFT επισυμβαίνει σε καταστάσεις όπως:

- A. ανεπάρκεια παραγόντων πήξης
- B. θρομβοπενία
- C. υποϊνωδογοναμία

D. διαταραχές λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων.

Μειωμένος χρόνος K ή CFT επισυμβαίνει σε καταστάσεις όπως:

- σύνδρομα υπερπηκτικότητας

3- Γωνιά α (και για τα δύο μηχανήματα):

Μετρά την ταχύτητα σύνθεσης – ενίσχυσης του θρόμβου. Μετρά το ποσοστό του σχηματισμένου θρόμβου σε συγκεκριμένο χρόνο (ίδιος με αυτόν της σταθερά K ή CFT) και έχει φυσιολογικό εύρος τιμών 22^ο-38^ο (σε ολικό αίμα) και 53^ο-67^ο (σε ολικό αίμα παρουσία καολίνης).

Μεγαλύτερες τιμές γωνίας α είναι ενδεικτικές αυξημένης ταχύτητας δημιουργίας θρόμβου. Επομένως, αυξημένες τιμές γωνίας α, επισυμβαίνουν σε καταστάσεις όπως:

- σύνδρομα υπερπηκτικότητας

Μειωμένες τιμές γωνίας α, επισυμβαίνουν σε καταστάσεις όπως:

- A. θρομβοπενία
- B. υποϊνωδογοναιμία

4- Μέγιστη σταθερότητα θρόμβου MA (κατά TEG[®] 500) και MCF (κατά ROTEM):

Αντιπροσωπεύει τη μέγιστη ισχύ και ανθεκτικότητα του θρόμβου. Αποτελεί άμεση συνάρτηση της μέγιστης δυναμικής ιδιότητας του ινώδους και της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων μέσω των υποδοχέων GPIIb/IIIa. Σχετίζεται κατά 80% με τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και κατά 20% με τη λειτουργικότητα του ινωδογόνου. Ο MCF/MA, εκφράζει τελικά τη μέγιστη αντοχή του τελικού αιμοστατικού πήγματος.

Αυξημένες τιμές MCF/MA επισυμβαίνουν σε καταστάσεις όπως:

- σύνδρομα υπερπηκτικότητας

Μειωμένες τιμές MCF/MA επισυμβαίνουν σε καταστάσεις όπως:

- A. μειωμένη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων
- B. θρομβοπενία
- C. υποϊνωδογοναιμία.

A10, A20 και A30: αντιπροσωπεύουν τη σταθερότητα του θρόμβου στα 10, 20 και 30 λεπτά αντίστοιχα, μετά από τη δημιουργία του CT, επηρεάζονται επίσης από τον αριθμό των

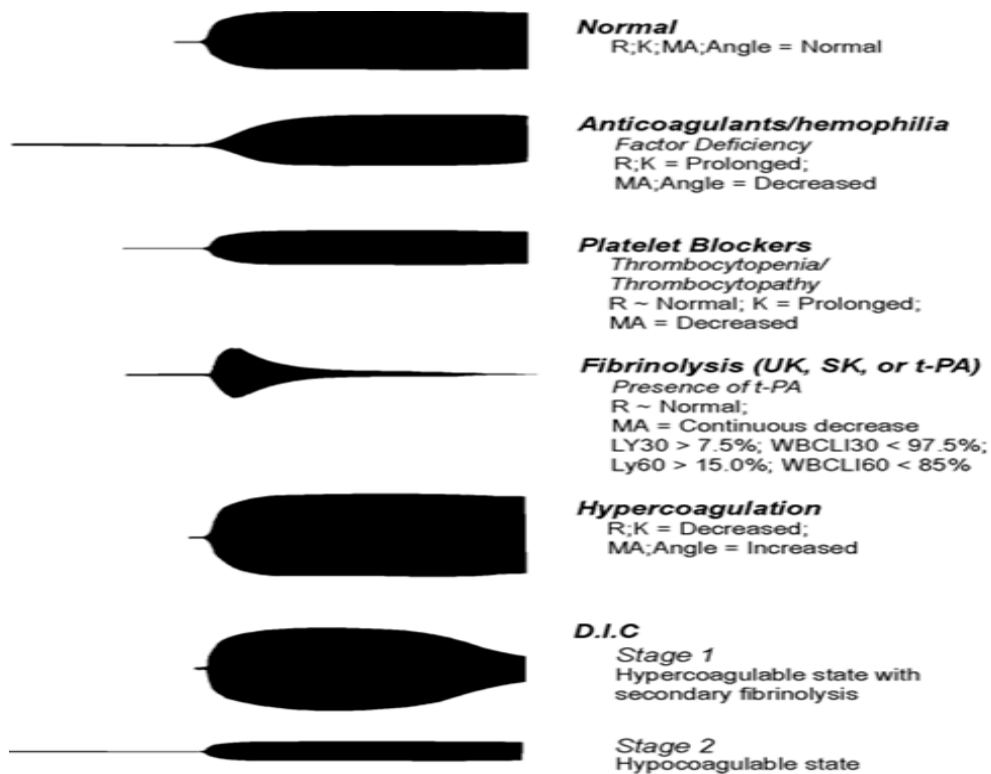
αιμοπεταλίων και είναι πολύ προβλεπτικοί για την τιμή του MCF.

6-Σταθερά G ή MCE : είναι ένα αριθμητικό μέτρο της συνολικής ισχύος του θρόμβου, το οποίο εξάγεται από το πλάτος (A/MCF)του θρόμβου με ενσωματωμένη τη συνεισφορά ενζύμων και αιμοπεταλίων : $G=(5000 \cdot A \text{ ή } MCF)/(100-A \text{ ή } MCF)$.

7 - Lysis Index - (%): Ο δείκτης λύσης είναι μια παράμετρος που αντιπροσωπεύει την ινωδόλυση σε ένα καθορισμένο χρονικό σημείο. Έτσι το LI30%, LI45%, LI60%: μετρά το ποσοστό μείωσης του πλάτους του θρόμβου 30, 45 και 60min αντίστοιχα μετά από το CT ή R.

8.ML (%): Η μέγιστη λύση είναι μια παράμετρος που περιγράφει το βαθμό ινωδόλυσης σε σχέση με το MCF που επιτυγχάνεται κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Μετρά το ποσοστό μείωσης του πλάτους του θρόμβου μετά από MCF/MA σε σχέση την MCF/MA και αντανακλά το βαθμό-ρυθμό της ινωδόλυσης. Αυξημένη τιμή ML σημαίνει υπερινωδόλυση.

Σχήμα 11: Βασικά σχεδιαγράμματα[242]

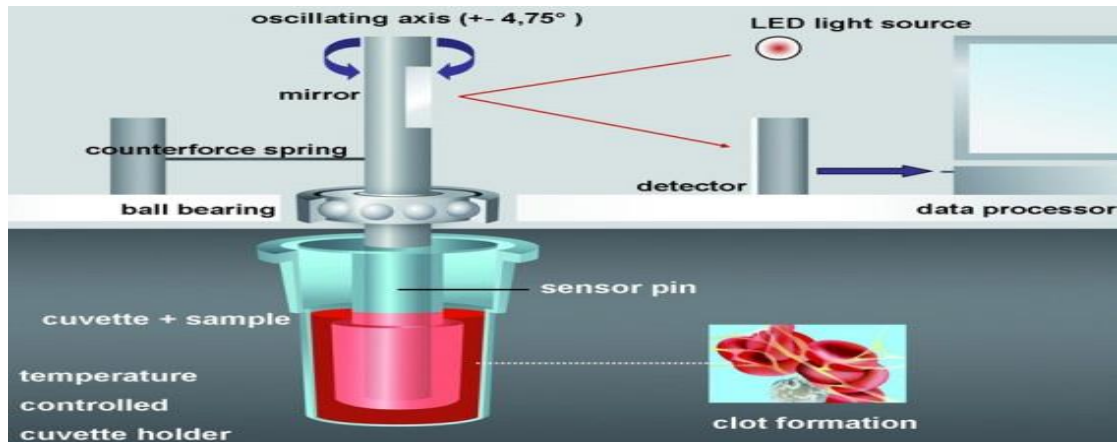


Στην «κλασσική» θρομβοελαστογραφία του Hartert, το δείγμα ολικού αίματος τοποθετείται σε μια

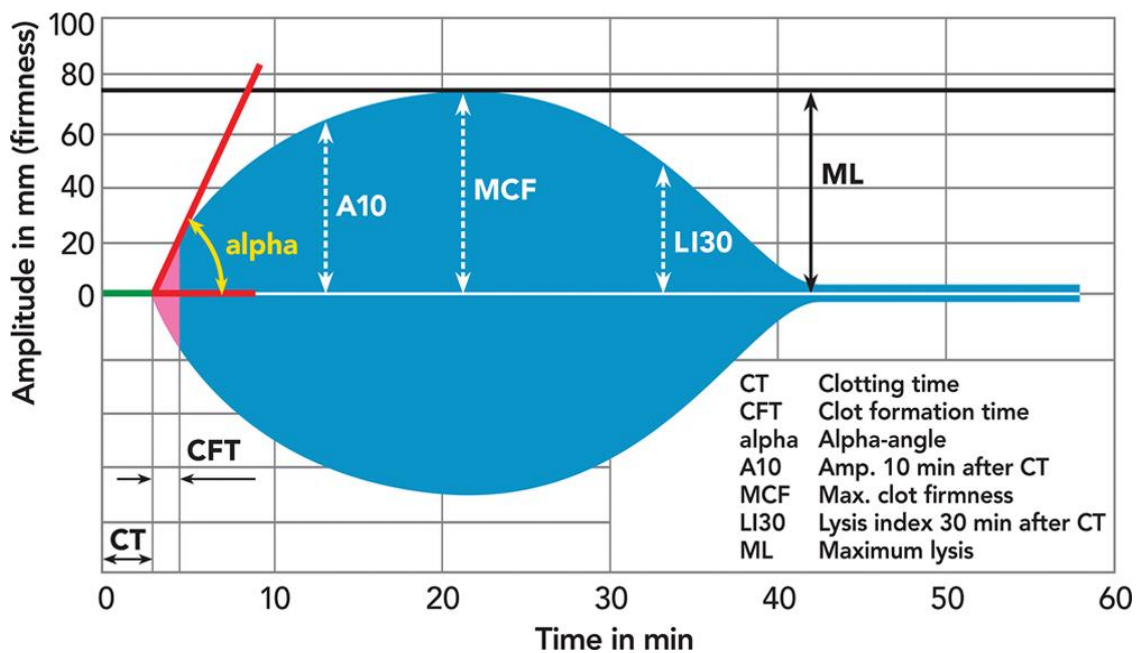
«κυβέτα» (πολύ μικρό δοχείο) η οποία περιστρέφεται αργά με ένα ρυθμό 6 κύκλων ανά λεπτό. Η «μη-φυσιολογική» επιφάνεια της κυβέτας με την προσθήκη «ιόντων ασβεστίου» ενεργοποιεί τον μηχανισμό της πήξης. Ο «αισθητήρας» του μηχανήματος ο οποίος έχει τη μορφή μιας ακίδας -“rip”, όντας συνδεδεμένος με ένα ειδικό «σύρμα», εισέρχεται εντός του δείγματος. Ο σχηματισμένος θρόμβος φέρει σε επαφή -ως ένα είδος «φυσιολογικού» κυκλώματος- την έσω επιφάνεια της κυβέτας και την επιφάνεια του αισθητήρα. Οι αλλαγές στην ελαστικότητα του δείγματος αίματος μέσα στην κυβέτα ανιχνεύονται με διαφορετικό τρόπο βασισμένο στη βοήθεια των τεχνολογικών δυνατοτήτων κάθε εποχής. Το «θερμογραφικό» χαρτί της περιόδου του Hellmut Hartert έχει πλέον αντικατασταθεί από ένα ηλεκτρονικό υπολογιστή. Λόγω της ελεύθερης ανάρτησης του αισθητήρα, το θρομβοελαστογράφημα, σύμφωνα με τον Hartert, είναι εξαιρετικά ευαίσθητο σε μηχανικούς κραδασμούς. Αυτό το ελάττωμα ξεπερνιέται από το σύστημα ROTEM® το οποίο χρησιμοποιεί έναν περιστρεφόμενο αισθητήρα – rip, στερεωμένο σε έναν άξονα χάλυβα που σταθεροποιείται από ένα μοναδικό ρουλεμάν και την ακριβή μέθοδο οπτικής ανίχνευσης. Σήμερα η μέθοδος είναι πλήρως αυτοματοποιημένη, εκτελείται αεροστεγώς στους 37 °C και μπορεί να παραταθεί από 1 έως 2 ώρες υπό τις συνήθεις κλινικές καταστάσεις, έως 24 ώρες ή και περισσότερο στις περιπτώσεις μελέτης της ινωδολύσης εάν αυτό κριθεί απαραίτητο. Γενικά η σύγχρονη εμπειρία από την εφαρμογή της μεθόδου, τείνει να θεωρεί επαρκές το χρονικό όριο των 30-90 λεπτών για να δουλευτεί/επεξεργαστεί το δείγμα από τη στιγμή της λήψης του και την παράταση της λειτουργίας της μεθόδου στα 60-90 λεπτά από το χρόνο πήξης ως ένα ασφαλές και κατάλληλο χρονικό περιθώριο για μια ολική εκτίμηση του αιμοστατικού μηχανισμού. Στο σύστημα ROTEM® (σχήμα 12), η ακίδα-«αισθητήρας» είναι προσαρμοσμένη στην άκρη ενός περιστρεφόμενου άξονα ο οποίος οδηγείται από ένα ηλεκτρονικά ελεγχόμενο σύστημα υψηλής ακρίβειας που φέρει μεταλλικά σφαιρίδια. Δείγμα ολικού αίματος τοποθετείται σε κυβέτα μέσα στην οποία βυθίζεται ο κυλινδρικός αισθητήρας-ακίδα. Μεταξύ του αισθητήρα και της κυβέτας παραμένει ένα κενό 1 mm, γεφυρωμένο από το αίμα. Ο άξονας, συνδεδεμένος με ένα ειδικό ελατήριο που ανιχνεύει τη μεταβολή στην ελαστικότητα του δείγματος, κινείται από δεξιά προς τα αριστερά σε μια γωνία (+/- 4,75°) με περιοδικό χρόνο 10 κύκλων ανά λεπτό. Η ακριβής θέση του άξονα ανιχνεύεται με την αντανάκλαση του φωτός σε έναν μικρό καθρέπτη, που είναι προσαρμοσμένος στον άξονα. Όσο το αίμα είναι σε υγρή μορφή, η κίνηση είναι απεριόριστη. Όταν το αίμα αρχίζει να θρομβώνει, ο θρόμβος περιορίζει όλο και περισσότερο την περιστροφή του άξονα ανάλογα πάντα με την αυξανόμενη σταθερότητα του θρόμβου. Η απώλεια της ελαστικότητας με την ανάπτυξη θρόμβου εντός του δείγματος, οδηγεί στη μεταβολή της γωνίας κίνησης του άξονα. Οι μεταβολές αυτές αναλύονται από έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή και καταγράφονται οπτικά με μια γραφική απεικόνιση με την «τυπική» όπως λέγεται εικόνα του θρομβοελαστογραφικού γραφήματος δίκην «ποτηριού σαμπάνιας» (“champagne glass”)

(Σχήμα 13).

Σχήμα 12: Το σύστημα ROTEM



Σχήμα 13: Θρομβοελαστογραφικό γράφημα[243]



Η προηγμένη τεχνολογία του ROTEM® σε συνδυασμό με την αυτοματοποιημένη πιπέτα, την οθόνη αφής και το φιλικό προς το χρήστη λογισμικό στο ROTEM®, έχει βελτιστοποιήσει το TEM® ως POC (point-of-care medical device) και το καθιστά ικανό για χρήση ακόμα και σε εργαστήρια έκτακτης ανάγκης[239].

5.2 Η καθολική εμπειρία της χρήσης της θρομβοελαστογραφίας /θρομβοελαστομετρίας (TEG/TEM) στη νεογνολογία.

Η θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία (TEG/TEM) παρέχει μια σφαιρική αξιολόγηση της λειτουργικότητας της πήξης και της ινωδόλυσης. Άπτεται περισσότερο των σύγχρονων εννοιών του μηχανισμού πήξης, χρησιμοποιεί πραγματικές κυτταρικές επιφάνειες για την παρακολούθηση του μηχανισμού πήξης και φυσικά, μπορεί και εκτιμά τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων. Είναι δυναμική δοκιμασία με εξαγωγή γρήγορων αποτελεσμάτων, με δυνατότητες ταχείας παρακολούθησης διαταραχών της πήξης και υποστήριξη άμεσης παρέμβασης και όλα αυτά, χρησιμοποιώντας μόνο 1 ml ολικού αίματος του ασθενούς.

Η καθολική εμπειρία της χρήσης της θρομβοελαστογραφίας/θρομβοελαστομετρίας στα παιδιά, όπως και στους ενήλικες, είναι σχετικά περιορισμένη, αν και έχει αρχίσει να διευρύνεται, με κύρια χρήση της στην καρδιοχειρουργική, νευροχειρουργική στην αναισθησιολογία και για χρήση στην εξωσωματική οξυγόνωση με μεμβράνη (ECMO – Extracorporeal membrane oxygenation)[244-246]. Τα μέχρι σήμερα δεδομένα στα νεογνά περιορίζονται σε μελέτες που έγιναν σε μικρό αριθμό υγιών νεογνών, ενώ απύσες είναι μελέτες με ευρήματα και πληροφορίες για εξαιρετικά πολύ χαμηλού βάρους γέννησης (ΕΠΧΒΓ) νεογνά [232, 247, 248].

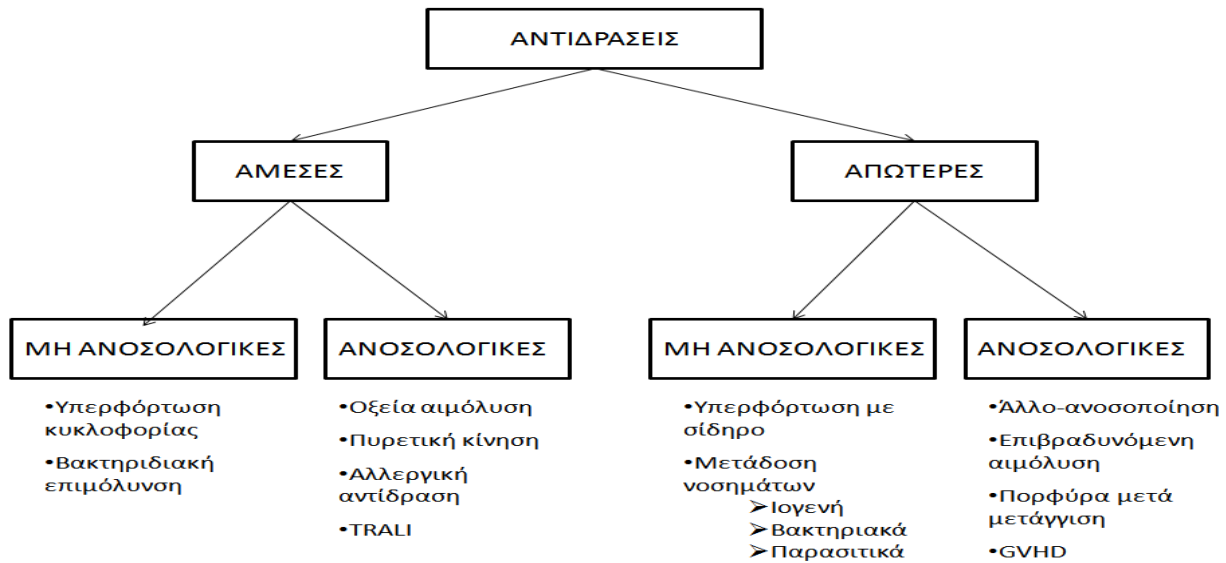
Πρόσφατα, ο Oswald και οι συνεργάτες του παρουσίασαν τιμές αναφοράς για τις παραμέτρους της TEM εξαρτώμενες από την ηλικία του ασθενούς, κάτι που δε συμβαίνει στις τιμές αναφοράς των συμβατικών δοκιμασιών πήκτικότητας που είναι ενιαίες για όλες τις ηλικιακές ομάδες [248]. Παρατήρησαν (στηριζόμενοι σε δεδομένα εξαγόμενα από την TEM) ότι η έναρξη της πήξης και η δημιουργία του θρόμβου, παρουσιάζουν σημαντική εξάρτηση από την ηλικία, ενώ η σταθερότητα του θρόμβου και η ινωδόλυση, είναι παρόμοιες σε όλες τις ηλικιακές ομάδες.

Το ουσιωδέστερο εύρημα της μελέτης αυτής, ήταν ότι αν και τα παιδιά ηλικίας 0-3 μηνών συγκριτικά με τους ενήλικες παρουσιάζουν παρατεταμένους χρόνους πήκτικότητας σύμφωνα με τις συμβατικές δοκιμασίες πήξης, με βάση παραμέτρους της TEM αναδείχθηκε σε αυτά μια επιταχυνόμενη επαγωγή της πήξης, ενώ η σταθερότητα του θρόμβου ήταν εντός του εύρους των ενηλίκων.

Μολονότι η θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία δεν έχει υποβληθεί στην ίδια εκτενή αξιολόγηση όπως οι συμβατικές αιμοστατικές δοκιμασίες, η ίδια, καθοδηγώντας -ανάλογα με τα εξαγόμενά της- την καθιέρωση αλγόριθμων θεραπευτικής χορήγησης παραγώγων αίματος, μειώνει σημαντικά τις μεταγγίσεις και την συνολική απώλεια αίματος σε πολύπλοκες χειρουργικές επεμβάσεις παιδιών και ενηλίκων [249, 250].

Η μετάγγιση αίματος, πλάσματος και παραγώνων τους στο νεογνό αποτελεί ιδιαίτερο κλινικό τομέα για τους ασχολούμενους με την ιατρική της μετάγγισης. Η μεταγγισιοθεραπεία στα νεογνά απαιτεί προσεκτική συνεκτίμηση πολλών παραγόντων, οι οποίοι είναι χαρακτηριστικοί και συχνά ειδικοί για αυτόν τον πληθυσμό ασθενών [251]. Μεταγγίσεις στα νεογνά πραγματοποιούνται σε ποικίλες καταστάσεις [252]. Πολλές φορές όμως συνδυάζονται με επιπλοκές οι οποίες μπορούν να αποβούν μοιραίες για τη ζωή του νεογνού [251-255]:

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΛΟΚΩΝ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΓΙΣΕΩΝ



Επομένως, η μετάγγιση δεν είναι μια απλή και ακίνδυνη διαδικασία και ο πιο ασφαλής τρόπος περιορισμού των συμβαμάτων από αυτή, είναι-απλούστατα-η μείωση του αριθμού των άσκοπων μεταγγίσεων. Η σοβαρή αιμορραγία-με την άμεση αναγκαιότητα για αλλογενή μετάγγιση αίματος, είναι συχνή επιπλοκή στη μονάδα εντατικής θεραπείας και σχετίζεται με αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα. Η ταχεία αναγνώριση και η ορθή θεραπεία των αιτίων μιας αιμορραγίας καθίσταται απαραίτητη για τον αποτελεσματικό έλεγχο της αιμορραγίας και συμβάλλει στον εξορθολογισμό της χρήσης αλλογενών συστατικών του αίματος, αποτρέποντας την εμφάνιση των δυνητικών δυσμενών επιπτώσεών τους [240, 255]. Συμβατικές δοκιμασίες πήξης όπως ο χρόνος προθρομβίνης και ο χρόνος μερικώς ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης, παρουσιάζουν περιορισμούς στην πρόβλεψη μιας αιμορραγίας και στην καθοδήγηση της θεραπείας με μετάγγιση σε ασθενείς με κρίσιμη νόσο [238, 240]. Οι ιξωδοελαστικές όμως δοκιμασίες όπως η θρομβοελαστογραφία και η περιτροφική θρομβοελαστομετρία, επιτρέπουν την ταχεία ανίχνευση διαταραχών της πήξης και κατευθύνουν με ακρίβεια τη θεραπεία με συγκεκριμένα από του στόματος αιμοστατικά φάρμακα. Η νέα εποχή της

Θρομβοελαστομετρίας βασίζεται στην αποτελεσματικότητα, στην πρακτικότητα και στην αναπαραγωγιμότητα των αποτελεσμάτων της ως κύρια χαρακτηριστικά της και στην πολύ καλή αναλογική σχέση κόστους /αποτελεσματικότητας και αναμένεται να εδραιωθεί ως σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο και οδηγός μετάγγισης στους ασθενείς με σοβαρή ενεργή αιμορραγία [240].

Η έγκυρη διάγνωση -με τη βοήθεια της TEM- των διαταραχών αιμόστασης στα νεογνά και η ταχεία και ορθή λήψη αποφάσεων σχετικά με τις θεραπευτικές στρατηγικές, αποτελούν μεγάλη πρόκληση για τους νεογνολόγους. Έτσι, η θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία θα μπορούσε να αποβεί ένα χρήσιμο εργαλείο για την πρόβλεψη και την καθοδήγηση της θεραπείας νεογνών με αιμορραγική διάθεση ή αυξημένη δραστηριότητα του πηκτικού μηχανισμού.

ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΣΗΨΑΙΜΙΑ

Η ύπαρξη σαφών και κοινά αποδεκτών ορισμών για κάθε νόσο ή σύνδρομο είναι αναγκαία, ώστε να είναι δυνατή η καταγραφή, η μελέτη και ο καθορισμός θεραπευτικών χειρισμών. Για τη σήψη και τα συνοδά αυτής σύνδρομα, το American College of Chest Physicians και η Society of Critical Care Medicine (ACCP/ SCCM) [256-261] πρότειναν το 1991 ορισμούς που μέχρι σήμερα είναι καθολικά αποδεκτοί από την παγκόσμια ιατρική κοινότητα:

SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome): Το σύνδρομο της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης, αποτελεί τη συνδυασμένη απάντηση των μηχανισμών άμυνας του ανθρώπινου οργανισμού σε διάφορους παράγοντες, που δρουν τοπικά ή συστηματικά και όχι απαραίτητα λοιμώδους αιτιολογίας (πχ. τραύμα, θερμική κάκωση, άσηπτη φλεγμονή). Χαρακτηρίζεται από την παρουσία δύο ή περισσότερων από τα κάτωθι [260, 261]

- θερμοκρασία σώματος $> 38^{\circ}\text{C}$ ή $< 36^{\circ}\text{C}$
- ταχυκαρδία: που ορίζεται ως η καρδιακή συχνότητα 2 SD πάνω από τη μέση για την ηλικία καρδιακή συχνότητα (επί απουσίας εξωτερικών ερεθισμάτων, χρήσης φάρμακων ή επώδυνων ερεθισμάτων) ή βραδυκαρδία: που ορίζεται ως η καρδιακή συχνότητα με ρυθμό $< 10\%$ από το μέσο για την ηλικία καρδιακό ρυθμό (επί απουσίας εξωτερικών ερεθισμάτων του πνευμονογαστρικού, χρήσης β-αποκλειστών ή συγγενούς καρδιοπάθειας) ή -διαφορετικά- η ανεξήγητη επίμονη βραδυκαρδία χρονικής διάρκειας μισής με 1 ώρας.
- αυξημένη αναπνευστική συχνότητα: Η μέση αναπνευστική συχνότητα 2 SD πάνω από την προβλεπόμενη μέση για την ηλικία αναπνευστική συχνότητα ή η αναγκαιότητα για οξεία εφαρμογή μηχανικού αερισμού, τα οποία αμφότερα δε σχετίζονται με υποκείμενη νευρομυϊκή ασθένεια ή χορήγηση αναισθησίας.
- λευκά αιμοσφαίρια $> 15000/\text{mm}^3$ ή $< 4000/\text{mm}^3$ ή λόγος άωρων μορφών πολυμορφοκυττάρων/συνολικό αριθμό πολυμορφοκυττάρων $\geq 0,2$, ή CRP $> 10\text{ mg/L}$

Σήψη: Η συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση σε λοίμωξη. Οι εκδηλώσεις της σήψης είναι ίδιες με αυτές που προσδιορίστηκαν ως SIRS, επιπλέον όμως συνυπάρχει και επιβεβαιωμένη λοίμωξη.

Σοβαρή σήψη: Η σήψη η οποία συνοδεύεται από ανεπάρκεια τουλάχιστον ενός οργάνου.

Σηπτική καταπληξία (shock): Η συνύπαρξη σήψης, υπότασης ανθεκτικής στη χορήγηση υγρών, γαλακτικής οξέωσης, ολιγουρίας και διαταραχών επιπέδου συνείδησης.

Υπόταση: (συστολική αρτηριακή πίεση υποδιπλάσια της προβλεπόμενης για την ηλικία SD?) εδώ αναφέρεται ως η υπόταση που είναι ανθεκτική στη θεραπεία με υγρά, ινότροπα και αγγειοσυσπαστικά φάρμακα.

Σύνδρομο ανεπάρκειας πολλαπλών οργάνων (*Multiple Organ Dysfunction Syndrome, MODS* [246, 250]: Η παρουσία επηρεασμένης λειτουργίας πολλαπλών οργάνων σε οξέως πάσχοντες αρρώστους, για τη διατήρηση της ομοιόστασης των οποίων απαιτείται εξωγενής παρέμβαση: Δυσλειτουργία καρδιαγγειακού συστήματος :

1. Υπόταση (συστολική πίεση κάτω από την 5^η εκατοστιαία θέση ή 2 SD κάτω από τη μέση προβλεπόμενη για την ηλικία κύησης ή μέση αρτηριακή πίεση-ΜΑΠ< 30 mmHg) που εμμένει παρά την προσπάθεια αναπλήρωσης του ενδαγγειακού όγκου με ενδοφλέβια χορήγηση κρυσταλλοειδών ή κολλοειδών διαλυμάτων σε δόση 10-60 ml/kg (10 ml/kg σε νεογνά με ηλικία κύησης < 32 εβδομάδες) επί μία ώρα.
2. Ανάγκη χρήσης αγγειοσυσπαστικών φαρμάκων (ινότροπα: ντοπαμίνη – ντομπουταμίνη - νορεπινεφρίνη) για τη διατήρηση της αρτηριακή πίεσης εντός φυσιολογικών ορίων.
3. Παρουσία δυο από τα ακόλουθα ευρήματα:
 - Ανεξήγητη μεταβολική οξέωση: έλλειμμα βάσης>7,0 mEq / L
 - Αυξημένη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στο αρτηριακό αίμα δυο φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο
 - Ολιγουρία : παραγωγή ούρων <0,5 ml / kg /h
 - Παρατεταμένος χρόνος επαναπλήρωσης τριχοειδών (>4 sec στα τελειόμηνα και >5 sec στα πρόωρα)
 - Διαφορά κεντρικής και περιφερικής θερμοκρασίας σώματος πάνω από 3 °C
4. Δυσλειτουργία αναπνευστικού συστήματος :
 1. PaO₂/FiO₂<300 (επί απουσίας κυανωτικής καρδιοπάθειας ή προϋπάρχουσας πνευμονοπάθειας)
 2. PaCO₂ > 55mmHg ή 20 mmHg πάνω από την αρχική τιμή PaCO₂ στα αέρια αίματος
 3. Αποδεδειγμένη ανάγκη χορήγησης > 50% FiO₂ για να διατηρείται ο κορεσμός > 92%
 4. Ανάγκη για μη εκλεκτική ή μη επεμβατική μηχανική υποστήριξη της αναπνοής
5. Δυσλειτουργία κεντρικού νευρικού συστήματος: Οξεία μεταβολή της νοητικής κατάστασης-αλλαγή επιπέδου συνείδησης (σύγχυση, λήθαργος, διέγερση, υπνηλία, σπασμοί).
6. Δυσλειτουργία αιμοποιητικού συστήματος:
 1. Αριθμός αιμοπεταλίων < 80.000/mm³ ή μείωση κατά 50% του αριθμού των αιμοπεταλίων

από την υψηλότερη τιμή που έχει καταγραφεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων 3 ημερών παρακολούθησης

2. Παράταση PT, PTT, INR δυο φορές πάνω από τις φυσιολογικές για την ηλικία τιμές

7. Νεφρική δυσλειτουργία

- Κρεατινίνη ορού δυο φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό για την ηλικία όριο ή αύξηση της κρεατινίνης ορού δυο φορές πάνω από την τιμή που έχει καταγραφεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων τριών ημερών παρακολούθησης.

8. Ηπατική δυσλειτουργία :

1. Υπερχοληρυθριναιμία - Παθολογική αύξηση τιμών ολικής και άμεσης χοληρυθρίνης ορού
2. Αύξηση τρανσαμινασών (κυρίως ALT) δυο φορές πάνω από το ανώτερο για την ηλικία φυσιολογικό όριο ή αύξηση κατά 50% πάνω από της βασικές τιμές του ασθενούς.

Παρά το ότι η σημαντική πρόοδος της νεογνολογίας στη φροντίδα και διαχείριση του νεογέννητου έχει βελτιώσει την επιβίωση και έχει μειώσει αισθητά τις επιπλοκές στα πρόωρα νεογνά, η νεογνική σηψαιμία θεωρείται μία από τις προεξάρχουσες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας στις μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών (NICU). Η συχνότητα της μικροβιακής σηψαιμίας υπολογίζεται σε 1 έως 10 περιπτώσεις για κάθε 1000 γεννήσεις ζώντων νεογνών, ενώ ο κίνδυνος για τα πρόωρα νεογνά είναι 4 έως 10 φορές μεγαλύτερος και εκτιμάται σε 1 για κάθε 250 γεννήσεις. Κάθε χρόνο, περίπου 4 εκατομμύρια βρέφη πεθαίνουν κατά τη νεογνική περίοδο. Τα 3/4 αυτών των θανάτων εμφανίζονται κατά την πρώτη εβδομάδα ζωής και σχεδόν το 99% αυτού σε χώρες χαμηλού - μεσαίου εισοδήματος. Σε παγκόσμιο επίπεδο, το 26% των νεογνικών θανάτων εκτιμάται ότι οφείλεται σε πρώιμες λοιμώξεις[262, 263].

Η πρώιμη διάγνωση της σηψαιμίας κατά τη νεογνική περίοδο δεν είναι πάντα εύκολη. Η καθυστερημένη έναρξη θεραπείας μέχρι να καταστούν πιο φανερά τα συμπτώματα της νόσου αυξάνει τη θνησιμότητα από τη μία πλευρά και από την άλλη, η θεραπεία των νεογνών βάσει αμβληχρών και μόνο σημείων ή μόνο με την ύπαρξη παραγόντων κινδύνου, έχει ως αποτέλεσμα την υπερθεραπεία. Τα πρώιμα προειδοποιητικά «στίγματα» της σηψαιμίας είναι συχνά μη ειδικά, αλλά η κλινική πορεία της νόσου είναι συνήθως θορυβώδης, οδηγώντας σε σηπτικό σοκ, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (DIC) και θάνατο μέσα σε ώρες από την εμφάνισή της [264, 265].

Η σήψη και το σηπτικό σοκ ως προοδευτική κατάσταση φτωχής ιστικής διάχυσης, οδηγούν σε σοβαρές μεταβολικές διαταραχές και βλάβες οργάνων κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης και εξέλιξης της νόσου. Οι μεταβολές στο αγγειακό ενδοθήλιο θεωρείται ότι είναι βασικής σημασίας

στην παθοφυσιολογία της σηψαιμίας και της διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (DIC) και έχουν σαν αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή θρομβίνης και την εναπόθεσή της στο μικροαγγειακό σύστημα[266].

Στη σηψαιμία έχει βρεθεί ότι υπάρχει μετατόπιση της ευαίσθητης ισορροπίας μεταξύ των προθρομβοτικών και των αντιθρομβωτικών παραγόντων προς την υπερπηκτικότητα αρχικά και την υποπηκτικότητα αργότερα. Οι μεταβολές στον καταρράκτη της πήξης ενεργοποιούν επίσης και άλλα κυτταρικά και χημικά συστήματα, όπως το συμπλήρωμα και το σύστημα καλλικρεΐνης-βραδυκινίνης[267]. Έτσι, η σχέση μεταξύ αιμοστατικής ανισορροπίας και φλεγμονώδους αντίδρασης είναι σημαντική στην παθογένεση της σοβαρής σήψης [268]. Οι διαταραχές επίσης των παραγόντων πήξης και των αιμοπεταλίων είναι χρήσιμοι δείκτες διάγνωσης και επιδείνωσης της σήψης, συνδεόμενοι με κακή πρόγνωση της νόσου[269]. Αναλυτικότερα, καθώς η μεταβολή στο αγγειακό ενδοθήλιο θεωρείται ότι είναι υψίστης σημασίας στην παθοφυσιολογία της σήψης και της ΔΕΠ, έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή θρομβίνης και την εναπόθεσή αυτής στα μικρά αγγεία. Η αιμοστατική ανεπάρκεια κατά την πορεία της ΔΕΠ, προκύπτει ως αποτέλεσμα της μαζικής ενεργοποίησης και υπερσυσσώρευσης των αιμοπεταλίων και της άμετρης ενεργοποίησης και επομένως και υπερκατανάλωσης των παραγόντων της πήξης.

Στη σήψη λοιπόν, υφίσταται απομάκρυνση από τη φυσιολογική λεπτή ισορροπία μεταξύ προθρομβοτικών και αντιθρομβωτικών παραγόντων, με αποτέλεσμα αρχικά να παρουσιάζεται αυξημένη δραστηριότητα του μηχανισμού της πήξης και εν συνεχεία, αιμορραγική διάθεση. Επομένως η στενή σχέση μεταξύ αιμοστατικών διαταραχών και φλεγμονώδους ανταπόκρισης του πάσχοντος, είναι σημαντική παράμετρος στην παθογένεια μιας σοβαρής λοίμωξης.

Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες προφλεγμονωδών κυτοκινών οι οποίες με τη σειρά τους οδηγούν στην ενεργοποίηση της πήξης. Η ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού προκαλείται από την αύξηση της έκφρασης του ιστικού παράγοντα στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών και μονοκύτταρων κυττάρων. Ταυτόχρονα, η αναστολή της ινωδόλυσης και η μειωμένη δραστηριότητα των φυσικών αναστολέων της πήξης συμβάλλουν στη παραγωγή και εναπόθεση ινώδους στο αγγειακό δίκτυο. Σε ασθενείς με σήψη, τα βακτηριδιακά παράγωγα και οι κυτοκίνες επίσης ενεργοποιούν την πήξη μέσω αύξησης της σύνθεσης του ιστικού παράγοντα (TF) και μείωσης της ινωδόλυσης με αύξηση του επιπέδου του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου 1 (PAI-1). Η σήψη συχνά στην πορεία της περιπλέκεται με την εμφάνιση της DIC, η οποία προκύπτει από τη συσσώρευση ινώδους σε μικρά αγγεία και την απόφραξη τριχοειδών αγγείων με μικροθρόμβους [270].

Η ενεργοποίηση της πήξης που προκύπτει από τη σήψη συνοδεύεται από εξασθενημένη λειτουργία

των κύριων αντιπηκτικών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της αντιθρομβίνης, του συστήματος αναστολέων της οδού του ιστικού παράγοντα και της ινωδόλυσης [271, 272]. Οι προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες και άλλοι μεσολαβητές της σήψης, είναι ικανοί να ενεργοποιούν το σύστημα πήξης και να ρυθμίζουν προς τα κάτω σημαντικές φυσιολογικές αντιπηκτικές οδούς του [273, 274]. Αυτές οι διεργασίες συλλογικά, οδηγούν σε αυξημένα επίπεδα ενδαγγειακού ινώδους και σε σχηματισμό μικροαγγειακών θρόμβων και συνεπώς σε ισχαιμικές δυσλειτουργίες πολλαπλών οργάνων που οδηγούν σε νέκρωση αυτών [261, 275].

Συνοπτικά, η ενεργοποίηση της πήξης στη σήψη χαρακτηρίζεται από :

A) Αυξημένη παραγωγή θρομβίνης [276]. Η ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού στη σήψη διαπιστώνεται από τα υψηλά επίπεδα των προθρομβινικών θραυσμάτων 1 και 2 (F1+2), των D-διμερών και του συμπλέγματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης (TAT). Η υπερπαραγωγή της θρομβίνης είναι ιδιαίτερα επιβλαβής, καθώς προκαλεί τη διέγερση των προφλεγμονωδών διαδικασιών, την εναπόθεση του ινώδους στη μικροκυκλοφορία και την ανάπτυξη του συνδρόμου ανεπάρκειας ή δυσλειτουργίας οργάνων [277]

B) Ανεπαρκής ινωδόλυση [261, 278, 279]. Η υπέρμετρη ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού στη σήψη συνδυάζεται πολύ συχνά με σχετική ανεπάρκεια του ινωδολυτικού συστήματος και έτσι δημιουργείται μια κατάσταση υπερπηκτικότητας η οποία οδηγεί στο σχηματισμό των μικροθρόμβων στο αγγειακό δίκτυο.

Η βακτηριαμία και η ενδοτοξιναιμία οδηγούν αρχικά στην αύξηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας λόγω της απελευθέρωσης των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου από τα κύτταρα του ενδοθηλίου. Η προ-ινωδολυτική όμως αυτή αντίδραση, ακολουθείται σχεδόν αμέσως από την καταστολή του ινωδολυτικού συστήματος. Φαίνεται ότι η ινωδόλυση στη σήψη, αν και είναι ενεργοποιημένη, δεν επαρκεί για να αντισταθμίσει το σχηματισμό του ινώδους. Περιγράφεται ότι η αυξημένη παραγωγή του ινώδους η οποία σχετίζεται με την εξασθενημένη ινωδόλυση, μπορεί άμεσα να οδηγήσει σε δυσλειτουργία οργάνων και στο θάνατο ασθενών με σήψη [261, 273, 277].

Γ) Δυσλειτουργία των φυσικών αναστολέων της πήξης (αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C -AT,PrC) [261, 277, 278]. Η ύπαρξη μειωμένων συγκεντρώσεων των αναστολέων της πήξης πρωτεΐνης C και αντιθρομβίνης στο πλάσμα έχει τεκμηριωθεί να είναι μετρίως ευαίσθητος βιοδείκτης για τη DIC στους ενήλικες [189, 280]. Στα νεογνά, η σηψαιμία και η DIC είναι σχεδόν πάντα συνδεδεμένες με μειωμένα επίπεδα πρωτεΐνης C και αντιθρομβίνης (AT) [192, 281, 282]. Έχει διαπιστωθεί ότι η μείωση της δραστηριότητας της πρωτεΐνης C του πλάσματος είναι πιο ευαίσθητος δείκτης σε σύγκριση με τα χαμηλά επίπεδα AT στην αντιμετώπιση της νεογνικής σήψης με DIC. Επιπλέον, τα χαμηλά επίπεδα πρωτεΐνης C στο πλάσμα έχουν περιγραφεί ως χρήσιμος βιοδείκτης των φτωχών σε πρόγνωση πρόωρων νεογνών με σήψη.

Η ανεπαρκής δραστηριότητα των φυσικών αναστολέων της πήξης επηρεάζει λοιπόν την παραγωγή της θρομβίνης και την εναπόθεση του ινώδους. Επιπρόσθετα, η μη φυσιολογική λειτουργία του ήπατος των ασθενών με φλεγμονή μπορεί επίσης να επηρεάσει τον πηκτικό μηχανισμό με τη μείωση της σύνθεσης των πρωτεϊνών πήξης (συμπεριλαμβανομένων και των αναστολέων πήξης) και τη μειωμένη κάθαρση των ενεργοποιημένων παραγόντων και συμπλεγμάτων ενζύμων-αναστολέων.

Το μέγεθος της κλινικής σχέσης μεταξύ σήψης και DIC αντικατοπτρίζεται από επιδημιολογικά δεδομένα που πιστοποιούν ότι από τη μία πλευρά η DIC είναι μια μάλλον συχνή επιπλοκή σε ασθενείς με σηψαιμία (DIC παρατηρείται σε έως και 50% των ασθενών με σηψαιμία και είναι ισχυρός προγνωστικός παράγοντας θνησιμότητας), ενώ από την άλλη πλευρά του νομίσματος, η σηψαιμία είναι μακράν η πιο συχνή υποκείμενη κατάσταση που εντοπίζεται σε ασθενείς με DIC. Όταν τα διαγνωστικά κριτήρια που στοιχειοθετούν τη DIC ή την πολυοργανική ανεπάρκεια πληρωθούν, η πρόγνωση και η έκβαση των σηπτικών νεογνών είναι κακή.

Τα συμπτώματα της νεογνικής λοίμωξης μπορεί αρχικά να απουσιάζουν, να είναι ήπια ή μη ειδικά και συχνά αποδίδονται λανθασμένα σε άλλες μη λοιμώδεις καταστάσεις. Η πρώιμη διάγνωση και αντιμετώπισή τους καθορίζει την έκβαση της πορείας των πασχόντων νεογνών. Η αδυναμία να αποκλειστεί επαρκώς η διάγνωση της νεογνικής σηψαιμίας, μπορεί να οδηγήσει σε άσκοπη και παρατεταμένη χορήγηση αντιβιοτικών. Η ανεύρεση έτσι ενός ιδανικού βιοδείκτη (biomarker) για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της νεογνικής λοίμωξης, αποτελεί βασικό στόχο πολλών μελετών στη νεογνολογία.

Κλινικά χαρακτηριστικά ενός ιδανικού βιοδείκτη

- Να έχει ευαισθησία και αρνητική προγνωστική αξία σχεδόν 100%.
- Η ειδικότητα και η θετική προγνωστική αξία του να είναι >85%.
- Να έχει σαφώς καθορισμένα όρια φυσιολογικών-παθολογικών τιμών (cut-off values).
- Να μπορεί να αναγνωρίσει τη λοίμωξη κατά την έναρξη των συμπτωμάτων της και να παραμένει αυξημένος για τουλάχιστον 12-24 ώρες μετά την έναρξη της κατάλληλης θεραπείας προκειμένου να συμβάλλει στη διάγνωση.
- Να μπορεί να διακρίνει βακτηριδιακές από ιογενείς ή μυκητιασικές λοιμώξεις ή/και να αναγνωρίζει ειδικά παθογόνα ή ομάδα παθογόνων (π.χ. Gram⁻ μικρόβια)
- Να αποτελεί έναν καλό δείκτη ανταπόκρισης στη θεραπεία.
- Να έχει την ικανότητα να προβλέψει νωρίς κατά την έναρξη των συμπτωμάτων τη βαρύτητα της νόσου και την έκβαση της [283].

Εργαστηριακά χαρακτηριστικά ενός ιδανικού βιοδείκτη

- Η σταθερότητά του σε βιολογικά υγρά κατά τη μεταφορά και τη φύλαξη τους
- Η δυνατότητα ποσοτικής μέτρησης των τιμών του με αυτοματοποιημένη και εύκολη μέθοδο μέτρησης
- Ο χρόνος από τη λήψη του δείγματος μέχρι την ανακοίνωση των αποτελεσμάτων να είναι μικρός (<6 ώρες, turn-around time)
- Να προσδιορίζεται σε μικρή ποσότητα δείγματος (π.χ. <0,5 mL αίματος)
- Να έχει διαθεσιμότητα στην καθ' ημέρα κλινική πράξη
- Να έχει χαμηλό κόστος

Πρόσφατα διάφοροι αιματολογικοί και βιοχημικοί παράμετροι έχουν αξιολογηθεί ως δυνητικοί ιδανικοί βιοδείκτες για την έγκαιρη διάγνωση και αναγνώριση των σηπτικών νεογνών[283, 284]:

1. Η καλλιέργεια αίματος

Η καλλιέργεια αίματος θεωρείται το χρυσό πρότυπο του διαγνωστικού ελέγχου, αλλά έχει χαμηλή ευαισθησία στα πρώιμα στάδια και απαιτείται αρκετός χρόνος για την απόκτηση το αποτελέσματος (48-72 ώρες).

2. Ειδικό βιοδείκτες λοίμωξης

Είναι δείκτες που μπορούν να διαγνώσουν τη λοίμωξη με ακρίβεια και να αναγνωρίσουν το είδος του παθογόνου μικροοργανισμού και την αντοχή του ή όχι στα αντιβιοτικά εντός λίγων ωρών από την εμφάνιση των συμπτωμάτων.

Σε αυτούς ταξινομούνται η αναγνώριση των παθογόνων με:

- PCR
- FISH
- Microarray-based τεχνικές

3. Κυτταροκίνες & χημειοκίνες

Σήμερα μπορούν να μετρηθούν πολλές κυτταροκίνες με τεχνολογία multiplex σε ελάχιστη ποσότητα αίματος. Όμως η μέτρησή τους δεν έχει μπει στην καθ' ημέρα κλινική πράξη, διότι έχει υψηλό κόστος και δεν είναι αυτοματοποιημένη- η μέθοδος μέτρησης δεν είναι απλή, καθώς απαιτεί εμπειρία και δε μπορεί να εφαρμοστεί οποιαδήποτε στιγμή.

4. Πρωτεΐνες οξείας φάσης & άλλες πρωτεΐνες

CRP (C αντιδρώσα πρωτεΐνη) ορού

Στην αρχική φάση της λοίμωξης έχει ευαισθησία < 60% και ειδικότητα 60-96%. Η ευαισθησία μπορεί να αυξηθεί σημαντικά (79-98%) με την επανάληψη της μέτρησης σε 12-24 ώρες, όμως μειονεκτεί στο ότι δεν είναι πολύ καλός προγνωστικός δείκτης- αδυνατεί να προβλέψει την εξέλιξη σε σηπτική καταπληξία ή θάνατο.

PCT - Προκαλσιτονίνη ορού

Σε σύγκριση με τη CRP, είναι καλύτερος βιοδείκτης για τη διάγνωση της λοίμωξης σε αρχικά στάδια αυτής. Έχει ευαισθησία 77-93% και ειδικότητα 81-84%. Μειονεκτήματα της είναι: - το υψηλότερο κόστος και το γεγονός ότι τα επίπεδά της μπορεί να είναι αυξημένα τις πρώτες 2-3 ημέρες ζωής ακόμη και σε νεογνά χωρίς λοίμωξη.

5. Αιματολογικές παράμετροι

Αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων (>15,000/μL ή <4,000/μL), αριθμός πολυμορφοκυττάρων (>10,000/μL ή <1000/μL), άωρες μορφές πολυμορφοκυττάρων, λόγος άωρων μορφών πολυμορφοκυττάρων/συνολικό αριθμό πολυμορφοκυττάρων μεγαλύτερο ή ίσο με 0.2, μορφολογία πολυμορφοκυττάρων (π.χ. τοξική κοκκίωση). Και οι αιματολογικές αυτές παράμετροι απέτυχαν επίσης να προσεγγίσουν την υψηλή επιθυμητή ευαισθησία και ειδικότητα που απαιτούνται σε αυτή την παθολογική οντότητα.

Συνοπτικά

Αρκετοί είναι οι βιοδείκτες που εκφράζονται κατά τη σηπτική διεργασία χωρίς ωστόσο να έχουν σταθμιστεί τα επίπεδα τους ώστε να αποτελούν εργαλείο πρόγνωσης, διάγνωσης και έκβασης της σήψης [284].

6.1 Η διάγνωση της DIC στη σήψη και ο ρόλος των συμβατικών δοκιμασιών πήκτικότητας ως βιοδείκτες στη σήψη.

Παρόλο που η συμβολή των εργαστηριακών εξετάσεων στη διάγνωση της DIC είναι αναμφισβήτητη, κανένα αποτέλεσμα/δοκιμασία από μόνο του δεν μπορεί να τεκμηριώσει ή να αποκλείσει με βεβαιότητα την ασθένεια. Κατά την προσέγγιση επομένως των ασθενών με υποψία DIC, είναι απαραίτητο να εξετάζεται ένα ευρύ φάσμα παραμέτρων, συμπεριλαμβανομένων των κλινικών

συμπτωμάτων, της σημειολογίας, του εντοπισμού πιθανής υποκείμενης νόσου και τέλος, των αποτελεσμάτων των εργαστηριακών εξετάσεων. Όταν επιλέγουμε ανάμεσα στη πληθώρα των δοκιμασιών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να βοηθήσουν στη διάγνωση, θα πρέπει πρώτα να σκεφτούμε ότι αυτές που κάθε φορά επιλέγουμε, μπορεί τελικά μονάχα να αντικατοπτρίζουν τις αλλαγές στην αιμοστατική λειτουργία και απλά να συμβαδίζουν με την κρίσιμη φύση αυτής της κατάστασης και να μην αποτελούν άρτια διαγνωστικά και προγνωστικά εργαλεία. Έτσι, οι συμβατικές δοκιμασίες πηκτικότητας όπως το PT, το APTT, το ινωδογόνο και ο αριθμός των αιμοπεταλίων, παρέχουν σημαντικά στοιχεία για την ενεργοποίηση της πήξης του αίματος και την κατανάλωση παραγόντων πήξης, αλλά η διαγνωστική αποτελεσματικότητά τους είναι αμφισβητήσιμη. Οι ινωδολυτικοί δείκτες (όπως το D-διμερές) αντικατοπτρίζουν αξιόπιστα την έκταση της ενεργοποίησης τόσο της πήξης όσο και της ινωδόλυσης, έτσι ώστε η εύρεση φυσιολογικών τιμών τους να μπορεί να χρησιμοποιηθεί αξιόπιστα για να αποκλειστεί η ασθένεια. Η διαγνωστική-προγνωστική συμβολή άλλων δοκιμασιών αιμόστασης όπως η αντιθρομβίνη και η πρωτεΐνη C, παραμένει ακόμα αμφισβητήσιμη. Τα μειωμένα επίπεδα αυτών των φυσικών αναστολέων είναι ένας δείκτης της υποκείμενης ιστικής υποξίας και παρατηρούνται συχνά σε σηπτικούς ασθενείς με DIC, αλλά δεν ενσωματώνονται επί του παρόντος σε κανέναν από τους τρεις ευρέως χρησιμοποιούμενους διαγνωστικούς αλγόριθμους για τη DIC. Οι προαναφερθείσες συμβατικές δοκιμασίες πηκτικότητας δε δύναται να παρέχουν καμία πληροφορία-ένδειξη για την λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων ή για το σύστημα της ινωδόλυσης. Επίσης προϋποθέτουν κατάλληλη συλλογή δειγμάτων αίματος ώστε να παρέχεται ακρίβεια στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων [285, 286].

Η εκτίμηση της κατάστασης της πήξης σε σηπτικά νεογνά είναι πολύπλοκη. Η θρομβοελαστογραφία (TGG)/θρομβοελαστομετρία (TEM) αποτελεί μια διαγνωστική μέθοδο που αφενός μεν παρέχει γενικές πληροφορίες σχετικά με τη δυναμική της ανάπτυξης και της λύσης του θρόμβου, αφετέρου δε αποτελεί και τη μοναδική δοκιμασία παρακολούθησης των σταδίων της πήξης. Δεδομένου λοιπόν ότι η TEM μετρά την δυναμική της πήξης του αίματος από την ενεργοποίηση των παραγόντων της πήξης, το σχηματισμό του ινώδους και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων μέχρι και την πλήρη λύση του θρόμβου, μπορούμε να αναγνωρίσουμε προοπτικά τις παραμέτρους της TEM ως πρώιμους-πρόδρομους ή προγνωστικής αξίας βιοδείκτες σήψης [285, 287]. Ο μικρός όγκος αίματος που απαιτείται προς ανάλυση και η άμεση διαθεσιμότητα των αποτελεσμάτων της, κάνουν την θρομβοελαστογραφία/ θρομβοελαστομετρία ελκυστική για την μελέτη του μηχανισμού της πήξης στα νεογνά. Επιπλέον, αν και ο νεογνολόγος δεν είναι τεχνικός εργαστηρίου, είναι αναμφίβολα ο πιο αρμόδιος ιατρός που καλείται να ερμηνεύσει τα αποτελέσματα αυτά υπό το

πρίσμα των κλινικών συμπτωμάτων που μόνο αυτός δύναται να αναγνωρίσει.

6.2. Διαγνωστικά και προγνωστικά scores

Η κλινική όμως εμπειρία είναι αναγκαία για την αναγνώριση πρώιμων σημείων σήψης προτού τεκμηριωθεί η διάγνωση αυτής με εργαστηριακή επιβεβαίωση. Έχουν θεσπιστεί πολλές κλίμακες (scores) για τη διάγνωση και την αξιολόγηση της βαρύτητας της νόσου για χρήση στις μονάδες εντατικής νοσηλείας νεογνών, όπως:

- το **TOLLNER SCORE** (σύστημα βαθμολόγησης βασισμένο σε κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα με απώτερο σκοπό την έγκαιρη διάγνωση της σήψης σε νεογνά)[288, 289].

Η σηψαιμία είναι η πιο συχνή ασθένεια που σχετίζεται με τη DIC. Περίπου 20 έως 40% όλων των ασθενών με σήψη επιπλέκονται με DIC [290]. Το ποσοστό θνησιμότητας των ασθενών με σήψη που περιπλέκονται με DIC είναι σαφώς υψηλότερο από αυτό των ασθενών χωρίς DIC. Επομένως, η έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία της DIC που προκαλείται από σήψη είναι κρίσιμης σημασίας για τη βελτίωση της πρόγνωσης του ασθενούς [290]. Στο πλαίσιο αυτής της προσπάθειας έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι έγκαιρου προσδιορισμού μεσολαβητών για χρήση τους ως προγνωστικοί δείκτες βαρύτητας-θνησιμότητας, ωστόσο οι μεσολαβητές δύσκολα ανιχνεύονται, κοστίζουν ακριβά και δεν εφαρμόζονται εύκολα στην κλινική πράξη. Επίσης, οι κλίμακες (scores) οι οποίες προτείνονται για χρήση βοηθούν στην κατάταξη των ασθενών από άποψη βαρύτητας και πρέπει να χρησιμοποιούνται όχι απλά για στατιστικά δεδομένα, αλλά πρωταρχικά για την εντατικότερη και ταχύτερη εφαρμογή δραστικών παρεμβάσεων ("decision making").

Δεδομένου ότι τα νοσηλευόμενα νεογνά στις MENN αποτελούν διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες, η έκβαση της πορείας και η θνησιμότητα των νεογνών δεν καθορίζεται μόνο από τη νόσο ή τη διάγνωσή της, αλλά και από τις διαταραχές-παρεκκλίσεις από το φυσιολογικό πρότυπο των τελειόμηνων νεογνών. Είναι γεγονός ότι η βαρύτητα της νόσου ως έννοια, χρησιμοποιείται με έναν μη ειδικό τρόπο για το χαρακτηρισμό πολλών και ετερόκλητων καταστάσεων. Ωστόσο, αν και δεν υπάρχει ένας κοινά αποδεκτός ορισμός για τη βαρύτητα μιας νόσου, είναι κοινή η διαπίστωση ότι υφίστανται σημαντικές διαφορές σε όλα τα στάδια της ασθένειας στα νεογνά με το ίδιο νόσημα και ότι ένα μεγάλο μέρος αυτών των διαφορών αφορά ακριβώς στη βαρύτητα του νοσήματος. Για περισσότερες από δύο δεκαετίες, κλινικοί ερευνητές και εντατικολόγοι έχουν επιδοθεί στην ανάπτυξη και αξιολόγηση διαφόρων συστημάτων βαθμολόγησης της βαρύτητας της νόσου σε ασθενείς που νοσηλεύονται σε ΜΕΘ-MENN, σε μια προσπάθεια αξιοποίησης της συλλογικής κλινικής εμπειρίας από το χώρο της εντατικής φροντίδας υγείας και της προσέγγισης ζητημάτων όπως είναι η αποτελεσματικότητα, η αποδοτικότητα, η ισότητα και η ποιότητα της παρεχόμενης εντατικής φροντίδας υγείας. Η χρήση των συστημάτων βαθμολόγησης της βαρύτητας της νόσου

στους ασθενείς έχει προταθεί για σκοπούς ελέγχου και διασφάλισης της ποιότητας της παρεχόμενης φροντίδας υγείας τους, βελτίωσης της κατανομής των πόρων, υποβοήθησης της δημιουργίας κλινικών πρωτοκόλλων και υποστήριξης της κρίσης του θεράποντα ιατρού κατά τη διαδικασία λήψης κλινικών αποφάσεων.

Η ώθηση που προκάλεσε η ανάγκη για διαβάθμιση της σοβαρότητας της ασθένειας, είχε σαν αποτέλεσμα τη θέσπιση πολλών και διαφορετικών κλιμάκων (σκορ), προς χρήση τους στις μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών, όπως το SNAP-PE (Score for Neonatal Acute Physiology - Perinatal Extension) - Σύστημα εκτίμησης οξέων διαταραχών της φυσιολογίας και περιγεννητικών προβλημάτων υγείας των νεογνών (σχήμα 14). Το σύστημα αυτό έχει επικυρωθεί ως μέσο ακριβούς εκτίμησης των βαρέως πασχόντων νεογνών και ως εκ τούτου έχει σχεδιαστεί προκειμένου να προβλεφθεί η κλινική τους εκβαση [291-293].

Σχήμα 14: SNAP-PE score κατά SFAR

Mean B.P. (mmHg), maximum <input type="text" value="0"/>	Mean B.P. (mmHg), minimum <input type="text" value="0"/>	Temperature <input type="text" value="0"/>
Heart Rate, maximum <input type="text" value="0"/>	Heart Rate, minimum <input type="text" value="0"/>	Respiratory rate <input type="text" value="0"/>
PaO2 (mmHg) <input type="text" value="0"/>	PaO2/ FIO2 (FIO2 in %) <input type="text" value="0"/>	PaCO2 (mmHg) <input type="text" value="0"/>
Oxygenation Index (help) <input type="text" value="0"/>	Hematocrit, maximum <input type="text" value="0"/>	Hematocrit, minimum <input type="text" value="0"/>
W.B.C. (/ microL) <input type="text" value="0"/>	Immatures Ratio (help) <input type="text" value="0"/>	Absolute neutrophils <input type="text" value="0"/>
Platelets (/ microL) <input type="text" value="0"/>	B.U.N. <input type="text" value="0"/>	Creatinine <input type="text" value="0"/>
Urine Output (mL/kg/h) <input type="text" value="0"/>	Indirect Bilirubin <input type="text" value="0"/>	Direct Bilirubin <input type="text" value="0"/>
Sodium (mEq/L) maximum <input type="text" value="0"/>	Sodium (mEq/L) minimum <input type="text" value="0"/>	Stool Guaiac <input type="text" value="0"/>
Potassium (mEq/L) maximum <input type="text" value="0"/>	Potassium (mEq/L) minimum <input type="text" value="0"/>	Glucose maximum <input type="text" value="0"/>
Bicarbonate (mEq/L) maximum <input type="text" value="0"/>	Bicarbonate (mEq/L) minimum <input type="text" value="0"/>	Glucose minimum <input type="text" value="0"/>
Calcium (Ionised, max) <input type="text" value="0"/>	Calcium (Total, max) <input type="text" value="0"/>	Serum pH <input type="text" value="0"/>
Calcium (Ionised, min) <input type="text" value="0"/>	Calcium (Total, min) <input type="text" value="0"/>	SNAP =0 <input type="text"/> <input type="button" value="Clear"/>
Apnea <input type="text" value="0"/>	Seizures <input type="text" value="0"/>	

Perinatal Extension

Birth weight <input type="text" value="0"/>	$\text{logit} = -14.6889 + (8.6774 * (1/(\text{birthweight in kilograms}))) + (1.4414 * (1 \text{ if Apgar at 5 minutes} < 7, 0 \text{ if Apgar} \geq 7)) + (1.0898 * (1 \text{ if } < 5\% \text{ for gestational age}, 0 \text{ if } \geq 5\% \text{ for gestational age})) + (0.7422 * (\text{SNAP}) * (1 \text{ if } \text{SNAP} \leq 15, 0 \text{ if } \text{SNAP} > 15)) + (0.6251 * (\text{SNAP}) * (1 \text{ if } \text{SNAP} \geq 16 \text{ and } \leq 20, 0 \text{ if } \text{SNAP} < 16 \text{ or } > 20)) + (0.4674 * (\text{SNAP}) * (1 \text{ if } \text{SNAP} \geq 21 \text{ and } \leq 27, 0 \text{ if } \text{SNAP} < 21 \text{ or } > 27)) + (0.4073 * (\text{SNAP}) * (1 \text{ if } \text{SNAP} \geq 28, 0 \text{ if } \text{SNAP} < 28)) - (0.5429 * (\text{SNAP}/\text{birthweight}) * (1 \text{ if } \text{SNAP} \leq 15, 0 \text{ if } \text{SNAP} > 15)) - (0.4088 * (\text{SNAP}/\text{birthweight}) * (1 \text{ if } \text{SNAP} \geq 16 \text{ and } \leq 20, 0 \text{ if } \text{SNAP} < 16 \text{ or } > 20)) - (0.2809 * (\text{SNAP}/\text{birthweight}) * (1 \text{ if } \text{SNAP} \geq 21 \text{ and } \leq 27, 0 \text{ if } \text{SNAP} < 21 \text{ or } > 27)) - (0.2399 * (\text{SNAP}/\text{birthweight}) * (1 \text{ if } \text{SNAP} \geq 28, 0 \text{ if } \text{SNAP} < 28))$ Predicted Death Rate = $e^{(\text{logit})} / (1 + e^{(\text{logit})})$
Apgar Score at 5 min <input type="text" value="0"/>	
Small for Gestational Age (help on following) <input type="text" value="0"/>	
SNAP-PE =0 <input type="text"/>	Predicted death rate = <input type="text"/> <input type="button" value="Compute"/> <input type="button" value="Clear"/>

Week gestation <input type="text"/>	<input type="button" value="Compute"/> <input type="button" value="Clear"/>	Weight at 5th% for body weight =0 <input type="text"/> g
$\text{weight at 5th\% for body weight} = -0.06217 * (\text{weeks})^4 + 7.585979 * (\text{weeks})^3 - 337.3942 * (\text{weeks})^2 + 6583.4774 * (\text{weeks}) - 47312.4$		

6.3 Θεραπευτική προσέγγιση

Σκοπός κατά την αντιμετώπιση ενός σηπτικού νεογνού είναι: 1) Έγκαιρη ανίχνευση των ευαίσθητων δεικτών που προλέγουν τις ύπουλες διεργασίες της σήψης 2) Έγκαιρη αναγνώριση-εκτίμηση των κλινικών σημείων. 3) Έγκαιρη έναρξη της ιδανικής- στοχευμένης αντιμικροβιακής αγωγής και υποστηρικτικής θεραπείας, καθόσον το νεογνό με τις ιδιαιτερότητές του δεν επιτρέπει καθυστερήσεις στην θεραπευτική αντιμετώπιση.

Τα νεογνά είναι γνωστό ότι διαθέτουν έναν ευαίσθητο και πολύ ευάλωτο οργανισμό. Αυτό σημαίνει ότι η ενημέρωση του νεογνολόγου, ως προς τα νεώτερα διαγνωστικά, θεραπευτικά και προγνωστικά μέσα, πρέπει να είναι συνεχής και η εφαρμογή τους επιλεγμένη και προσεκτική με στόχο την βέλτιστη αντιμετώπιση της ιδιαίτερα ευαίσθητης αυτής πληθυσμιακής ομάδας.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ

Πρώτος στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να καθορισθεί το εύρος των φυσιολογικών τιμών των παραμέτρων της TEM στα υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά.

Δεύτερος στόχος, ήταν να στοιχειοθετηθούν οι μεταβολές των παραμέτρων της TEM που σχετίζονται με το σηπτικό νεογνό και να αξιολογηθούν προοπτικά ως πρώϊμοι διαγνωστικοί και προγνωστικοί δείκτες σήψης, έτσι ώστε να μπορούν να προβλέψουν την ανάγκη και να επιτρέψουν την εφαρμογή μιας αμεσότερης και ταχύτερης θεραπευτικής παρέμβασης.

2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στο χρονικό διάστημα της διετίας Ιούνιος 2014 –Φεβρουάριος 2016 μελετηθήκαν 282 υγιή και 91 πάσχοντα νεογνά με υποψία ή επιβεβαιωμένη σήψη.

Στην ομάδα των υγιών νεογνών συμπεριλήφθησαν:

- **198 τελειόμηνα υγιή νεογνά** που γεννήθηκαν στο μαιευτήριο του Γ.Ν. Νίκαιας. Ως υγιή τελειόμηνα νεογνά ορίστηκαν τα νεογνά με ηλικία κύησης μεγαλύτερη από 36⁺⁶ εβδομάδες και κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης (AGA), τα οποία γεννηθήκαν με φυσιολογικό τοκετό ή προγραμματισμένη/ εκλεκτική καισαρική τομή, με ελεύθερο περιγεννητικό ιστορικό και χωρίς προβλήματα από το 1^ο 24ωρο ζωής έως και την έξοδο τους από το μαιευτήριο. Τα τελειόμηνα νεογνά που γεννηθήκαν με επείγουσα καισαρική ή χρειάστηκαν νοσηλεία στη MENN αποκλείστηκαν από τη μελέτη.
- **84 πρόωρα νεογνά χωρίς παθολογία** που νοσηλεύτηκαν στη MENN του ίδιου νοσοκομείου. Ως υγιή πρόωρα νεογνά ορίστηκαν τα νεογνά με ηλικία κύησης μικρότερη από 37 εβδομάδες και κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης (AGA). Πρόωρα νεογνά που κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους εκδήλωσαν κλινική σημειολογία συμβατή με διαταραχές της πηκτικότητας όπως αιμορραγική διάθεση- σοβαρό αιμορραγικό επεισόδιο και χρειάστηκαν μετάγγιση με παράγωγα αίματος (PLT, FFP ή κρουϊζημα αναλόγως της διαταραχής) ή με θρόμβωση/θρομβοεμβολική νόσο, αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Ως σοβαρό αιμορραγικό επεισόδιο ορίστηκε η κλινικά εμφανής αιμορραγία των βλεννογόνων, του αναπνευστικού, του γαστρεντερικού ή του ουροποιητικού συστήματος, η οποία:

1. συνδέθηκε με πτώση του επιπέδου αιμοσφαιρίνης ≥ 2 g / dL εντός των 24 ωρών,
2. για την επίτευξη της αιμόστασης χρειάστηκε το νεογνό να υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση ή σε μετάγγιση με παράγωγα αίματος όπως συμπυκνωμένα ερυθρά, αιμοπετάλια, φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα ή κρουϊζημα,
3. εκδηλώθηκε ως οξεία αιμορραγία οργάνων (ενδοκράνια, πνευμονική κ.ά.).

Επίσης, από τη μελέτη αποκλείστηκαν όλα τα νεογνά (πρόωρα ή τελειόμηνα) με:

- a. ιστορικό περιγεννητικής απώλειας αίματος,
- b. ιστορικό περιγεννητικής υποξίας/ασφυξίας,

- c. ατομικό ή οικογενειακό ιστορικό αιμορραγικών διαταραχών,
- d. γνωστές ή ύποπτες μείζονες συγγενείς διαμαρτυρίες /ή χρωμοσωμιακή ανωμαλία,
- e. ύποπτη ή επιβεβαιωμένη σηψαιμία,
- f. μεταβολικές διαταραχές,
- g. αιμόλυση από ασυμβατότητα ομάδας αίματος ή Rh.

Τα πάσχοντα νεογνά ταξινομήθηκαν σε δύο ομάδες:

- **Ομάδα A:** 35 νεογνά με επιβεβαιωμένη σήψη. Ως νεογνά με επιβεβαιωμένη σήψη ορίστηκαν τα νεογνά τα όποια πληρούσαν τα εξής κριτήρια: παρουσία > 3 θετικών κλινικών συμπτωμάτων που σχετίζονται με τη σήψη και/ή παρουσία > 2 θετικών εργαστηριακών ευρημάτων-δεικτών που σχετίζονται με τη σήψη ή/και παρουσία θετικής καλλιέργειας (κ/α) αίματος ή άλλων βιολογικών υγρών. Τα νεογνά της ομάδας A κατηγοριοποιήθηκαν περαιτέρω σε δύο υποομάδες ανάλογα με την παρουσία ή όχι κλινικά εμφανούς αιμορραγικής διάθεσης (αιμορραγία από τους βλεννογόνους, αιμορραγία αναπνευστικού, γαστρεντερικού ή ουροποιητικού συστήματος και στα σημεία νυγμού μετά από φλεβο/αρτηριο-κέντηση).
- **Ομάδα B:** 56 νεογνά με υποψία σήψης. Στη ομάδα αυτή κατατάχθηκαν νεογνά με κλινικά συμπτώματα και/ή σημεία ύποπτα λοίμωξης που έχρηζαν αντιμικροβιακής αγωγής, χωρίς όμως εργαστηριακή επιβεβαίωση σήψης (<2 εργαστηριακά ευρήματα και αρνητική κ/α αίματος ή άλλων βιολογικών υγρών).

Τα κλινικά συμπτώματα και σημεία που σχετίζονται με τη σήψη περιλαμβάνουν: (i) θερμική αστάθεια (θερμοκρασία σώματος >38°C ή <36°C ή διαφορά κεντρικής και περιφερικής θερμοκρασίας σώματος >3°C), (ii) διαταραχές σίτισης, (iii) κοιλιακή διάταση, ηπατομεγαλία, (iv) άπνοια/ανάγκη οξυγονοθεραπείας ή μηχανικής υποστήριξης της αναπνοής, (v) βραδυ-/ταχυ-καρδία (βραδυκαρδία ορίζεται ως μέσος καρδιακός ρυθμός <10^ο για την ηλικία εκατοστημόριο, απουσία χορήγησης φαρμάκων όπως β-αναστολείς, συγγενούς καρδιακής νόσου ή άλλης ανεξήγητης επίμονης βραδυκαρδίας, ταχυκαρδία δε που ορίζεται ως μέσος καρδιακός ρυθμός > 2 τυπικές αποκλίσεις (SD) άνω του φυσιολογικού για την ηλικία απουσία εξωτερικών ερεθισμάτων, χρόνιων ταχυκαρδιακών φαρμάκων ή επώδυνων ερεθισμάτων ή άλλης ανεξήγητης ανθεκτικής ταχυκαρδίας σε χρονική

περίοδο 0,5 έως 4 ωρών), (vi) ιστική υποξία, υπόταση (μείωση της αρτηριακής πίεσης $<5^{\circ}$ για την ηλικία εκατοστημόριο ή συστολική αρτηριακή πίεση > 2 SD κάτω από το φυσιολογικό για την ηλικία ή ανάγκη για αγγειοδραστικό φάρμακο για τη διατήρηση της αρτηριακής πίεσης σε κανονική κλίμακα), (vii) ευερεθιστότητα/λήθαργος /υποτονία, (viii) ωχρότητα, ίκτερος, αιμορραγικό εξάνθημα. Στους παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από το περιγεννητικό ιστορικό καταγράφηκαν η πρόωρη και παρατεταμένη ρήξη των μεμβρανών (> 18 ώρες), το εμπύρετο της μητέρας κατά τον τοκετό και η χοριοαμνιονίτιδα.

Εργαστηριακά ευρήματα ενδεικτικά σηψαιμίας: (i) μεταβολική οξέωση (έλλειμμα βάσεως >10 mEq/L ή/και αύξηση γαλακτικού οξέος >2 mmol /L), (ii) λευκοπενία (WBC $< 5000/\text{mm}^3$), (iii) απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων $>5400/\text{mm}^3$ ή $<500/\text{mm}^3$, (iv) σχέση αώρων /ολικά ουδετερόφιλα (I/T) > 0.2 , (v) θρομβοπενία (PLT $<100.000/\text{mm}^3$), (vi) αυξημένη CRP (>3 mg/L).

Από τη μελέτη αποκλείστηκαν τα νεογνά με συγγενείς δυσπλασίες, σοβαρή περιγεννητική ασφυξία και εκείνα που κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους χρειάστηκαν μετάγγιση με παράγωγα αίματος (PLT, FFP ή κρυσταλλικό αναλόγως της διαταραχής)-μετάγγιση η οποία προηγήθηκε της αιμοληψίας για τη διενέργεια της TEM.

Σε όλα τα νεογνά της μελέτης αμέσως μετά τον τοκετό είχε χορηγηθεί βιταμίνη K (im) κατά τη συνήθη πρακτική.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Σε όλα τα νεογνά της μελέτης ελήφθη λεπτομερές οικογενειακό, μαιευτικό, περιγεννητικό και νεογνικό ιστορικό. Επίσης έγινε καταγραφή των δημογραφικών στοιχείων των νεογνών

Λήψη ιστορικού

Οικογενειακό ιστορικό: χρόνια και κληρονομικά νοσήματα (ιδιαίτερη έμφαση δινόταν στο θετικό οικογενειακό ιστορικό για αιμορραγική νόσο ή θρομβοφιλία).

Μαιευτικό ιστορικό και ιστορικό παρούσας κύησης: προηγούμενοι τοκετοί, είδος τοκετού, επιπλοκές κύησης (σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) κύησης, εκλαμψία και προεκλαμψία), χορήγηση φαρμάκων, κάπνισμα, προ/περιγεννητική χορήγηση αντιπηκτικών φαρμάκων στη μητέρα, ιστορικό θρομβοφιλίας της μητέρας.

Λήψη περιγεννητικού ιστορικού: χρόνος ρήξης εμβρυϊκών υμένων, είδος τοκετού (κολπικός, καισαρική τομή, χρήση σικάας ή εμβρουσκου), εκτίμηση Apgar Score, αναγκαιότητα ή μη

ανάνηψης του νεογνού και το είδος ανάνηψης.

Το οικογενειακό-μαιευτικό ιστορικό λαμβανόταν από τους γονείς με προσωπική συνέντευξη, ενώ το περιγεννητικό ιστορικό λαμβανόταν από το μαιευτήρα και τη μαία ή το νεογνολόγο που ήταν παρόντες στον τοκετό.

Σε όλα τα νεογνά έγινε καταγραφή :

- Της εθνικότητας
- Του φύλου
- Της ηλικίας κύησης (ΗΚ) (σε συμπληρωμένες εβδομάδες) που υπολογίστηκε: (i) βάσει τελευταίας εμμήνου ρήσης (ΤΕΡ), (ii) βάσει U/S-υπερηχογραφήματος στην αρχή της κύησης (μεταξύ 8ης και 14ης εβδομάδας κύησης), (iii) επιβεβαίωση με τη βαθμολογία Ballard [294] (σε όλα τα νεογνά το 1^ο-2^ο 24ωρο ζωής γινόταν εκτίμηση της ηλικίας κύησης με τη βαθμολογία κατά Ballard από τον ίδιο ιατρό).

Σε όλα τα νοσηλευόμενα νεογνά καταγράφηκαν οι εξής διαγνώσεις:

- SGA (μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό). Ως μικρά για την ηλικία κύησης χαρακτηρίστηκαν τα νεογνά με βάρος γέννησης μικρότερο από την 10^η εκατοστιαία θέση για την ηλικία κύησης, βάσει των καμπυλών αναφοράς του Fenton [295]
- IUGR (νεογνό με ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης)
- ΣΑΔ (σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας του νεογνού)
- IVH (ενδοκοιλιακή-εγκεφαλική- αιμορραγία)
- ΝΕΚ (νεκρωτική εντεροκολίτιδα)
- Περιγεννητική ασφυξία – για τον ορισμό της χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια που έχουν θεσπιστεί από την Αμερικάνικη Παιδιατρική Εταιρία [296] (American Academy of Pediatrics, AAP) και από το Αμερικάνικο Κολέγιο των Μαιευτήρων και Γυναικολόγων (American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG): (i) Apgar Score 0-3 για πάνω από 5 λεπτά, (ii) μεταβολική ή μεικτή οξέωση με pH ομφαλίου λώρου (ομφαλική αρτηρία) πρώτης ώρας ζωής < 7 και έλλειμμα βάσης >12, (iii) κλινικά σημεία νεογνικής εγκεφαλοπάθειας (υποτονία, σπασμοί, κώμα), (iv) δυσλειτουργία πολλών οργάνων στην άμεση περιγεννητική περίοδο [297].
- BPD (βρογχοπνευμονική δυσπλασία)
- Συγγενής δυσπλασίες-δυσμορφίες
- Γενετικά σύνδρομα

- Μεταβολικά νοσήματα.

Κλινική εξέταση του νεογνού

Η κλινική εξέταση του νεογνού περιελάμβανε την επισκόπηση του νεογνού, τη νευρολογική εξέταση του νεογνού, τον έλεγχο των αρχέγονων αντανεκλαστικών και την εξέταση όλων των άλλων συστημάτων. Η παρακολούθηση των νεογνών περιελάμβανε την καθημερινή φυσική εξέταση, την καταγραφή των διαφόρων ιατρικών χειρισμών, της κάθε φαρμακευτικής αγωγής, καθώς και των απαιτούμενων εργαστηριακών εξετάσεων ανάλογα με την κλινική κατάσταση του νεογνού. Δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στην εντόπιση πιθανών διαταραχών της αιμόστασης όπως αιμορραγία-αιμορραγική διάθεση, θρόμβωση-θρομβωτική διάθεση. Καταγράφηκαν η φυσική εξέταση του νεογνού, οι παράμετροι αύξησης και αυτές των βασικών λειτουργιών (θερμοκρασία, καρδιακή και αναπνευστική συχνότητα, αρτηριακή πίεση, ρυθμός διούρησης), ενώ επίσης καταγράφηκαν η μέρα επίτευξης πλήρους εντερικής σίτισης και οι μέρες νοσηλείας των νεογνών.

Τρόπος αιμοληψίας

Σε όλα τα νεογνά η αιμοληψία γινόταν μετά από αρτηριοκέντηση περιφερικής αρτηρίας με βελόνα φλεβοκέντησης με πτερύγια -“πεταλούδα”- μεγέθους G23.

Χρόνος διενέργειας εξέτασης TEM

Στα υγιή τελειόμηνα νεογνά του μαιευτηρίου, την 2^η- 3^η ημέρα ζωής παράλληλα με τον απαιτούμενο εργαστηριακό έλεγχο για οποιονδήποτε ιατρικό λόγο (π.χ. καθορισμός ομάδας αίματος, μέτρηση χολερυθρίνης, κ.ά.), μικρό δείγμα αίματος από την αιμοληψία αυτή χρησιμοποιήθηκε και για τη διενέργεια της TEM. Στα υγιή πρόωρα νεογνά η εξέταση TEM διενεργήθηκε παράλληλα με τον απαιτούμενο εργαστηριακό έλεγχο και ανάλογα με την κλινική κατάσταση του νεογνού, τη 2η -7η ημέρα ζωής, μετά την σταθεροποίησή τους και όσον αφορά στην ανάγκη οξυγονοθεραπείας τους: στα νεογνά με ηλικία κύησης 32-36⁺⁶ εβδομάδων μετά την απεξάρτησή τους από το οξυγόνο, ενώ στα νεογνά με ηλικία κύησης <32 εβδομάδων όταν πλέον είχαν σταθεροποιηθεί σε ρινικό CPAP με FiO₂ 0,21 και τελοεκπνευστική πίεση (PEEP) 5 cm H₂O.

Στα πάσχοντα νεογνά, η εξέταση TEM γινόταν αμέσως με την υπόνοια της κλινικής σημειολογίας λοίμωξης και παράλληλα με τον ενδεικνυόμενο έλεγχο για τη λοίμωξη.

Ενδεικνυόμενος έλεγχος λοίμωξης

Σε όλα τα πάσχοντα νεογνά με την υπόνοια της κλινικής σημειολογίας λοίμωξης λαμβανόταν:

Καλλιέργεια αίματος – υπό άσηπτες συνθήκες και από περιφερική αρτηρία, δείγματα αίματος ελήφθησαν από κάθε νεογνό με αποστειρωμένη τεχνική και εμβολιάστηκαν (ενοφθαλμίστηκαν) σε αερόβια φιάλη αίματος (BacT Alert PF, Biomerieux, Lyon, France). Οι μικροοργανισμοί ταυτοποιήθηκαν μέσω του συστήματος BacT/ALERT που επιτρέπει την αυτόματη ανίχνευση βακτηριδίων με χρωματομετρική μέθοδο που στηρίζεται στην ανίχνευση της παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα (CO₂). Επίσης οι μικροοργανισμοί ταυτοποιήθηκαν ανάλογα με τη χρώση τους κατά Gram και την ανάπτυξή τους σε εκλεκτικό /διαφοροποιητικό θρεπτικό υλικό (άγαρ).

Γενική αίματος –ο προσδιορισμός του αριθμού και του τύπου των λευκών και του αριθμού των αιμοπεταλίων, γινόταν μέσω του αιματολογικού αναλυτή Sysmex XE-2100 (Roche, IL, USA) και ακολουθούσε οπτική επιβεβαίωση των ευρημάτων αυτών και ακριβής προσδιορισμός των άωρων μορφών των ουδετεροφύλων, που γινόταν με μικροσκοπική παρατήρηση επιχρίσματος περιφερικού αίματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα με χρώση Giemsa.

Οξεοβασική ισορροπία-γινόταν προσδιορισμός pH, ελλείμματος βάσεως και γαλακτικού οξέος στο περιφερικό αρτηριακό αίμα.

Πλήρης βιοχημικός έλεγχος- όλες οι βιοχημικές παράμετροι (τρανσαμινάσες, ουρία, κρεατινίνη, χολερυθρίνη, γλυκόζη, ασβέστιο, ηλεκτρολύτες κ.ά.) μετρήθηκαν με τον αναλυτή EXL DIMENSION Analyzer (SIEMENS, Healthcare Diagnostics, Newark, DE, USA). Η μέθοδος μέτρησης της CRP βασίζεται σε μία νεφελομετρική τεχνική ανοσοπροσδιορισμού της, ενισχυμένης με σωματίδια (PETIA-Particle Enhanced Turbidimetric Immunoassay Technique).

Σε όλα τα πάσχοντα νεογνά της μελέτης λαμβανόταν καλλιέργεια ούρων, εγκεφαλονωτιαίου υγρού και άλλων βιολογικών υγρών ανάλογα με κλινική κατάσταση του κάθε νεογνού και επίσης γινόταν διενέργεια απεικονιστικού ελέγχου (όπως ακτινογραφίες ή υπερηχογραφήματα) για τον εντοπισμό της εστίας λοίμωξης. Σε αυτά τα νεογνά ελήφθησαν επανειλημμένα δείγματα αίματος για παρακολούθηση των δεικτών σηψαιμίας, όποτε αυτό ήταν κλινικά ενδεδειγμένο και μέχρι την ολοκλήρωση της θεραπείας με αντιβιοτικά.

Τεχνική διενέργειας θρομβοελαστομετρίας TEM

Για της μετρήσεις TEM χρησιμοποιήθηκε η συσκευή «περιστροφικής θρομβοελαστομετρίας» 4 καναλιών (ROTEM® Whole Blood Haemostasis System Rotation Thromboelastography Tem

Innovations GmbH, Munich, Germany). Όλα τα δείγματα ολικού αίματος εξετάστηκαν στη συσκευή ROTEM® εντός ενός χρονικού διαστήματος 30 λεπτών από την αιμοληψία. Οι διενεργούμενες εξετάσεις – θρομβοελαστογραφικά γραφήματα- καταγράφονταν για έναν χρόνο παρατήρησης 90 λεπτών της ώρας.

Η TEM εξέταση έγινε σε δείγματα ολικού αίματος σε αντιπηκτικό 0,109 mol / L κιτρικού τρινατρίου (σε αναλογία 9: 1 αίματος/αντιπηκτικό) σε φιαλίδια κιτρικών αλάτων με επαναπροσθήκη ασβεστίου και διενεργήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή χρησιμοποιώντας τυποποιημένα αντιδραστήρια που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις ιστικού παράγοντα και φωσφολιπιδίων (ex-TEM® reagent). Η διαδικασία σχηματισμού του θρόμβου προκλήθηκε με ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού πήξης χρησιμοποιώντας 20μl CaCl₂ (0.2M) αντιδραστηρίου star-TEM, το οποίο αναμειγνυόταν με 20μl αντιδραστηρίου ex-TEM® (Pentapharm, Munich, Germany) εντός μιας πλαστικής κυβέτας. Ακολούθως, αφού τα αντιδραστήρια αναμειγνύονταν επαρκώς, 300 μL του κιτρικού ολικού αίματος προστίθεντο στην κυβέτα και η εξέταση TEM «έτρεχε» για τουλάχιστον 60 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της λύσης θρόμβου στα 30 λεπτά. Όλα τα δείγματα αίματος ελέγχονταν προσεκτικά για θρόμβους ινώδους και σε περίπτωση ύπαρξης μικροθρόμβων στο δείγμα, τότε το δείγμα απορριπτόταν.

Συνοπτικά, μετρήθηκαν οι ακόλουθες μεταβλητές EXTEM: Ο χρόνος πήξης (CT, σε δευτερόλεπτα), ο χρόνος σχηματισμού θρόμβων (CFT, σε δευτερόλεπτα), το μέγεθος-πλάτος του θρόμβου που καταγράφηκε στα 10, 20 και 30 λεπτά (A10, A20 και A30 αντίστοιχα), η α-γωνία (α°), η μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (MCF, σε mm) και ο δείκτης λύσης του θρόμβου στα 45 και 60 λεπτά (LI45 και LI60,%, αντίστοιχα).

Στα πάσχοντα νεογνά, αμέσως κατά την υπόνοια της κλινικής σημειολογίας λοίμωξης και παράλληλα με τον ενδεικνυόμενο έλεγχο λοίμωξης, γινόταν και προσδιορισμός του SNAPPE [292] και Tollner score [288, 289].

3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

3.1 Τιμές αναφοράς των παραμέτρων TEM σε υγιή πρόωρα και τελειόμηννα νεογνά

Η στατιστική ανάλυση για τον καθορισμό των τιμών αναφοράς των παραμέτρων TEM σε υγιή πρόωρα και τελειόμηννα νεογνά έγινε με τη χρήση του λογισμικού R, έκδοση 3.3.2. Για όλες τις μετρήσεις των παραμέτρων TEM (extem) υπολογίστηκαν και καθορίστηκαν ως τιμές αναφοράς, οι διάμεσες τιμές με τα αντίστοιχα όρια αναφοράς (2,5% και 97,5% εκατοστημόρια) σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του NCCLS[298]. Ο έλεγχος της κατανομής των δεδομένων για όλες τις παραμέτρους TEM αξιολογήθηκε με τη χρήση του γραφήματος Q-Q Plot και του Shapiro-Wilk test. Καθώς όλες οι μεταβλητές που ελέχθησαν είχαν μη κανονική κατανομή, για την στατιστική τους ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές μέθοδοι, ήτοι το Mann-Whitney test και ο συντελεστής συσχέτισης Spearman (r). Πραγματοποιήθηκε έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των παραμέτρων TEM και των χαρακτηριστικών των νεογνών με την εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης. Έγινε μη-κατευθυνόμενος έλεγχος υποθέσεων και ορίστηκε σαν στατιστικώς σημαντική, οριακή τιμή $p\text{-value} \leq 0.05$, άρα με τιμές $p\text{-value} \leq 0.05$ η μηδενική υπόθεση θα ήταν απορριφθείσα.

3.2 Μεταβολές των παραμέτρων TEM στα νεογνά με υποψία / ή επιβεβαιωμένη σηψαιμία.

Η στατιστική ανάλυση έγινε με την χρήση του στατιστικού πακέτου Stata 14 (Stata Corp., College Station, TX, USA). Έγινε αμφίπλευρος έλεγχος σημαντικότητας και ορίστηκε σαν στατιστικώς σημαντική, οριακή τιμή $p\text{-value} \leq 0.05$, άρα με τιμές $p\text{-value} \leq 0.05$ η μηδενική υπόθεση θα ήταν απορριφθείσα. Λόγω μη κανονικής κατανομής των μεταβλητών, υπολογίστηκαν οι διάμεσες τιμές με τα αντίστοιχα ποσοστημόρια και τις ποσοστιαίες αναλογίες για όλες τις κλινικές, βιοχημικές και TEM παραμέτρους. Για την εκτίμηση της στατιστικής σημαντικότητας των διαφορών των τιμών μεταβλητών των υπό μελέτη ομάδων (υγιή και πάσχοντα νεογνά – με υποψία /ή επιβεβαιωμένη σήψη) χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικά τεστ, [Wilcoxon rank sum test ή Wilcoxon-Mann-Whitney, και το Kruskal-Wallis test]. Η σύγκριση μεταξύ των ποσοστιαίων αναλογιών έγινε με το Fisher's exact test. Ο έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των παραμέτρων TEM και των κλινικών χαρακτηριστικών /ή εργαστηριακών ευρημάτων μεταξύ των νεογνών της κάθε ομάδας έγινε με εφαρμογή γραμμικής παλινδρόμησης- και τον συντελεστή συσχέτισης Spearman (r).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Τιμές αναφοράς των παραμέτρων TEM σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά

Τον πληθυσμό της μελέτης αποτέλεσαν 198 τελειόμηνα και 84 πρόωρα νεογνά με ηλικία κύησης $>36^{+6}$ και < 37 εβδομάδες αντίστοιχα. Τα κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά των νεογνών που συμπεριληφθήκαν στη μελέτη παρουσιάζονται στον πίνακα 1:

Πίνακας 1: Κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά των νεογνών της μελέτης

	Τελειόμηνα (N=198)	Πρόωρα (N=84)
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	38.65 ± 0.97	33.69 ± 2.29
Βάρος γέννησης (γραμμάρια)	3209.29 ± 440.08	2123.02 ± 503.24
Άρρεν/Θήλυ (%)	44.9/55.1	52.4/47.6
Φυσιολογικός τοκετός	120	12
Καισαρική τομή	78	72
Λήψη φαρμακευτικής αγωγής από τη μητέρα (%)	3	7.1
Νόσος-πάθηση της μητέρας κατά την κύηση (%)	20.2	22.6
ΣΑΔ (%)	-	29.7
ΙVΗ (%)	-	3.8

Οι μετρήσεις των παραμέτρων TEM (extem) για κάθε ομάδα νεογνών παρουσιάζονται στον πίνακα 2 ως διάμεσες τιμές με τα αντίστοιχα όρια αναφοράς (2,5% και 97,5% εκατοστημόρια):

Πίνακας 2: Μετρήσεις των παραμέτρων TEM (extem) για κάθε ομάδα νεογνών

	CT	CFT	A10	A20	A30	alpha	MCF	LI60
Διάμεσος τιμή, τελειόμηνα	41	70	58	65	65	77	66	97
Εύρος αναφοράς τιμών, τελειόμηνα	25.9 – 78	40 – 165.2	39.9 – 69	47 – 78.1	47.7 – 79.1	64.8 – 83	41 – 84.1	85 – 100
Διάμεσος τιμή, πρόωρα	44	64	57.5	62	63	79	64	95
Εύρος αναφοράς τιμών, πρόωρα	32 – 64.9	28.4 – 138.9	37 – 70.9	45.1 – 76.8	49 – 78.9	52.3 – 85.9	49.1 – 83.9	52.6 – 100

Οι τιμές των παραμέτρων TEM (extem) CT, CFT, A10, A20, α° και MCF ήταν συγκρίσιμες μεταξύ των τελειόμηνων και των πρόωρων νεογνών, ενώ οι τιμές A30, LI45 και LI60 ήταν μικρότερες στα πρόωρα συγκριτικά με τα τελειόμηνα νεογνά σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ($p = 0,041$ $p = 0.015$)

και $p = 0,006$ αντίστοιχα). Σύγκριση όλων των παραμέτρων TEM (extem) μεταξύ των τελειόμηνων και πρόωρων νεογνών παρουσιάζονται στον Πίνακα 3:

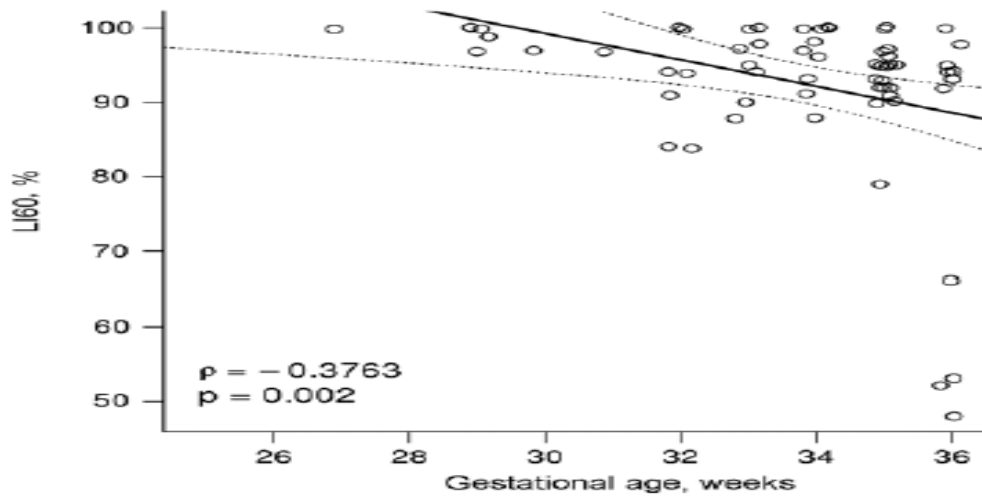
Πίνακας 3: Σύγκριση όλων των παραμέτρων TEM (extem) μεταξύ των τελειόμηνων και πρόωρων νεογνών

	Τελειόμηνα (διάμεσος)	πρόωρα (διάμεσος)	p-value*
CT	41	44	0.19
A10	58	57.5	0.9
A20	65	62	0.15
A30	65	63	0.041
CFT	70	64	0.06
MCF	66	64	0.17
Alpha	77	79	0.45
LI45	98	97	0.015
LI60	97	95	0.006

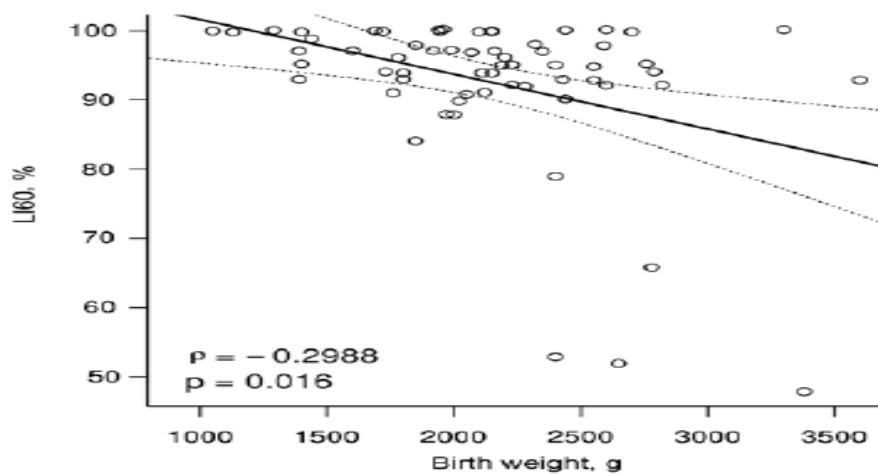
* Mann-Whitney test

Στην ομάδα των πρόωρων νεογνών βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ του LI60 και της ηλικίας κύησης ($\rho = 0.002$, Σχήμα 1) και του βάρους γέννησης επίσης ($\rho = 0.016$, Σχήμα 2).

Σχήμα 1: Συσχέτιση μεταξύ του LI60 και της ηλικίας κύησης στα πρόωρα νεογνά



Σχήμα 2: Συσχέτιση μεταξύ του LI60 και του βάρους γέννησης στα πρόωρα νεογνά



Δε βρέθηκε κάποια άλλη συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων TEM και της ηλικίας κύησης, του βάρους γέννησης, του φύλου ή του είδους του τοκετού (Πίνακας 4), ενώ δε σημειώθηκε επίδραση της συγκέντρωσης της χολερυθρίνης στις τιμές των παραμέτρων της TEM (extem).

Πίνακας 4: Συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων TEM και της ηλικίας κύησης, του βάρους γέννησης, του φύλου και του είδους τοκετού των νεογνών

Νεογνά	TEM	Ηλικία κύησης		Βάρος γέννησης		Είδος τοκετού (ΚΤ)		Φύλο (θήλυ)	
		rho	p-value	rho	p-value	rho	p-value	rho	p-value
Τελειόμηνα	CT	0.0491	0.49	-0.0119	0.87	-0.0298	0.68	0.0089	0.9
	A10	0.0724	0.31	0.0471	0.51	-0.0268	0.71	0.0806	0.26
	A20	0.0757	0.29	0.078	0.27	-0.0694	0.33	0.0607	0.4
	A30	0.0221	0.76	-0.0014	0.98	-0.0559	0.43	0.0589	0.41
	CFT	-0.0533	0.46	0.026	0.72	-0.027	0.71	-0.063	0.38
	MCF	0.0204	0.78	0.0263	0.71	-0.1003	0.16	0.1261	0.08
	alpha	0.0641	0.37	-0.0511	0.47	-0.0095	0.89	0.0399	0.58
	LI45	0.0504	0.48	0.0496	0.49	-0.2011	0.005	-0.0779	0.28
	LI60	0.0216	0.76	0.026	0.72	-0.0652	0.36	-0.0746	0.3
	CT	0.213	0.05	0.0655	0.55	0.0197	0.86	-0.0207	0.85
Πρόωρα	A10	-0.1733	0.11	0	1	-0.0133	0.9	0.0433	0.7
	A20	-0.1865	0.09	-0.0261	0.81	-0.0133	0.9	0.0689	0.53
	A30	-0.1566	0.15	0.0141	0.9	-0.0049	0.96	0.0876	0.43
	CFT	0.0206	0.85	-0.1245	0.26	-0.0253	0.82	0.0266	0.81
	MCF	-0.1723	0.12	0.0229	0.84	0.0274	0.8	0.0723	0.51
	alpha	-0.2082	0.06	-0.0403	0.72	-0.0387	0.73	0.0651	0.56
	LI45	-0.0834	0.48	-0.0866	0.46	0.0887	0.45	0.0081	0.94
	LI60	-0.3763	0.002	-0.2988	0.016	0.1287	0.31	0.1036	0.41

Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης των νεογνών, η μόνη κλινική επιπλοκή η οποία παρουσιάστηκε σε συχνότητα που θα μπορούσε να επιτρέψει την ανίχνευση της δυνητικής της επιρροής στις παραμέτρους TEM (extem) ήταν το ΣΑΔ. Από τη στατιστική όμως ανάλυση που έγινε, διαπιστώθηκε ότι οι τιμές των παραμέτρων TEM (extem) CT, CFT, A10, A20, α° και MCF ήταν συγκρίσιμες μεταξύ των πρόωρων νεογνών που εκδήλωσαν ΣΑΔ και αυτών χωρίς ΣΑΔ (Πίνακας 5).

Πίνακας 5: Σύγκριση των παραμέτρων της TEM (extem) μεταξύ των πρόωρων νεογνών που εκδήλωσαν ΣΑΔ και αυτών χωρίς ΣΑΔ.

	Νεογνά με ΣΑΔ (median)	Νεογνά χωρίς ΣΑΔ (median)	p-value*
CT	43	45	0.17
A10	58	57	0.29
A20	62	62	0.16
A30	63	62	0.12
CFT	64	64	0.99
MCF	67	64	0.19
alpha	80	78	0.29
LI45	98.5	97	0.37
LI60	97	94.5	0.15

Όσον αφορά στους επιβαρυντικούς-περιγεννητικούς παράγοντες μητρικής προέλευσης, το κάπνισμα αναφέρθηκε σε 22 (13,9%) περιπτώσεις στην ομάδα των τελειόμηνων νεογνών και σημειώθηκε βραχύτερη τιμή CT ($p = 0,009$) (Πίνακας 6). Καμία άλλη παράμετρος TEM (extem) δεν επηρεάστηκε από το κάπνισμα της μητέρας και επίσης δεν σημειώθηκε καμία επίδραση του σακχαρώδους διαβήτη κύησης στις τιμές των παραμέτρων TEM (extem) στα νεογνά της μελέτης (Πίνακας 7).

Πίνακας 6: Σύγκριση των παραμέτρων TEM μεταξύ των τελειόμηνων νεογνών μητέρων που κάπνιζαν και αυτών που δεν κάπνιζαν κατά την κύηση.

	Νεογνά καπνιστριών μητέρων (median)	Νεογνά μητέρων που δεν κάπνιζαν (median)	p-value*
CT	38	42.5	0.009
A10	59	58	0.6
A20	64.5	65	0.94
A30	67	65	0.51
CFT	66	71	0.54
MCF	67.5	66	0.57
alpha	76.5	77	0.64
LI45	98	98	0.84
LI60	97	97	0.64

* Mann-Whitney test

Πίνακας 7: Σύγκριση των παραμέτρων TEM μεταξύ των πρόωρων νεογνών μητέρων με ΣΔ κύησης και αυτών που η μητέρες τους δεν παρουσίαζαν παθολογία κατά την κύηση.

	Νεογνά μητέρων με ΣΔ κύησης (median)	Νεογνά χωρίς ΣΔ κύησης (median)	p-value*
CT	46.5	44	0.6
A10	53	57	0.47
A20	61	62	0.71
A30	60	63	0.7
CFT	50	66	0.23
MCF	63.5	64	0.74
alpha	74.5	79	0.56
LI45	99	97	0.39
LI60	97.5	95	0.55

* Mann-Whitney test

4.2 Μεταβολές των παραμέτρων TEM στα νεογνά με υποψία/ή επιβεβαιωμένη σηψαιμία

Στη μελέτη συμπεριλάβαμε 91 πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά. Από αυτά, τα 35 (το 60% ήταν πρόωρα) είχαν επιβεβαιωμένη σήψη και τα 56 (37.5% ήταν πρόωρα) είχαν υποψία σήψης. Έντεκα νεογνά παρουσίασαν δύο ή τρία επεισόδια ύποπτης /ή επιβεβαιωμένης σηψαιμίας. Η ομάδα των μαρτύρων περιλάμβανε τα 274 πρόωρα και τελειόμηνα υγιή νεογνά. Τα δημογραφικά και κλινικά δεδομένα του πληθυσμού της μελέτης, με βάση τις μεμονωμένες καταγραφείσες περιπτώσεις, συνοψίζονται στον Πίνακα 8:

Πίνακας 8: Δημογραφικά και κλινικά δεδομένα του πληθυσμού της μελέτης

	Υγιή νεογνά (n=274)	Νεογνά υποψία σήψης (n=56)	Νεογνά σηψαιμία (n=35)	P-value
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	38 (36-39)	38 (34.5-39)	32 (29-39)	<0.001
Βάρος γέννησης (γραμμάρια)	3000 (2550-3400)	3000 (2155-3300)	1710 (1080-3100)	<0.001
Φύλο (θήλυ, %)	147 (53.6%)	20 (35.7%)	14 (40.0%)	0.025
Πρώωρα (%)	79 (28.8%)	21 (37.5%)	21 (60.0%)	0.001
Καισαρική τομή (%)	144 (52.6%)	36 (64.3%)	26 (74.3%)	0.022
Λήψη φαρμακευτικής αγωγής από τη μητέρα (%)	13 (4.7%)	4 (7.1%)	4 (11.4%)	0.25
Νόσος – πάθηση της μητέρας (%)	59 (21.5%)	11 (19.6%)	12 (34.3%)	0.20
ΣΑΔ (%)	-	29 (51.8%)	22 (62.9%)	0.30
ΙVH (%)	-	7 (12.5%)	4 (11.4%)	0.88
ΝΕΚ (%)	-	4 (7.1%)	3 (8.6%)	0.78

Πίνακας 8: Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως συχνότητες με τις αντίστοιχες ποσοστιαίες αναλογίες ή ως διάμεσος τιμή με το αντίστοιχο εύρος διακύμανσης. Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν το Kruskal-Wallis rank test, το χ^2 -τετράγωνο και το Fisher's exact test.

Τα εργαστηριακά ευρήματα ανά ομάδα ασθενών με βάση τη σηψαιμία (n = 44) και τα ύποπτα περιστατικά σήψης (n = 60) παρουσιάζονται στον Πίνακα 9, ενώ οι μετρήσεις των παραμέτρων TEM(extem) παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 9: Τα εργαστηριακά ευρήματα ανά ομάδα ασθενών με βάση τη σηψαιμία (n = 44) και τα ύποπτα περιστατικά σήψης (n = 60)

	WBC	PLT	CRP	SGOT	SGPT	T BIL	D BIL	UREA	CREAT
Νεογνά με υποψία σήψης	12110 (8660-16985) (n=60)	231500 (172500-384000) (n=60)	18 (5.6-32.5) (n=60)	49 (31.6-59.5) (n=60)	16.5 (12-24) (n=60)	5.9 (3.6-9.5) (n=59)	0.3 (0.2-0.3) (n=54)	23.5 (16-38) (n=60)	0.5 (0.4-0.8) (n=60)
Νεογνά με σηψαιμία	11665 (7145-16590) (n=44)	92500 (47500-181000) (n=44)	47.4 (11.4-99.4) (n=44)	53 (34-81) (n=44)	25 (13-41) (n=43)	6.8 (1.9-14.6) (n=44)	0.4 (0.3-0.9) (n=43)	42 (25.5-68) (n=44)	0.5 (0.4-0.9) (n=44)
<i>P-value</i>	0.360	<0.001	0.002	0.210	0.027	0.380	0.003	<0.001	0.740

Πίνακας 9: Τα δεδομένα των τιμών των εργαστηριακών ευρημάτων παρουσιάζονται ως διάμεσες τιμές με το εύρος διακύμανσης για την κάθε μεταβλητή. Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test.

Συνομογραφίες: WBC, αριθμός λευκοκυττάρων; PLT, αριθμός αιμοπεταλίων; CRP, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη; SGOT, ασπαρτική αμινοτρανσφεράση; SGPT, αλανινική αμινοτρανσφεράση; T BIL, ολική χολερυθρίνη; D BIL, άμεση χολερυθρίνη; CREAT, κρεατινίνη ορού.

Πίνακας 10: Οι μετρήσεις των παραμέτρων TEM(extem) στα πάσχοντα νεογνά.

	CT	CFT	A10	A20	A30	Alpha	MCF	LI45	LI60
Υγιή νεογνά (C)	41.5 (37-51) (n=274)	69 (54-87) (n=274)	58 (53-63) (n=274)	64 (59-68) (n=274)	65 (60-69) (n=274)	78 (74-81) (n=274)	66 (60-71) (n=274)	98 (97-99) (n=265)	97 (94-99) (n=256)
Νεογνά με υποψία σήψης (SS)	45.5 (39-51) (n=60)	57.5 (43-79) (n=60)	60.5 (53.5-68.5) (n=60)	65 (59-72) (n=60)	66.5 (61.5-72) (n=56)	81 (77-82) (n=60)	69.5 (60-75) (n=60)	97 (95-100) (n=42)	95.5 (94-100) (n=34)
Νεογνά με σηψαιμία (S)	51.5 (46-70.5) (n=44)	110.5 (59-306) (n=44)	49 (27-62.5) (n=44)	56 (33-67) (n=42)	55 (39.5-68.5) (n=36)	78 (72-81) (n=43)	58.5 (52-71) (n=44)	98 (96-100) (n=30)	97 (93-100) (n=23)
<i>P-value</i>	All: <0.001 C vs S: <0.001 S vs SS: <0.001 SS vs C: 0.193	All: <0.001 C vs S: <0.001 S vs SS: <0.001 SS vs C: 0.003	All: <0.001 C vs S: <0.001 S vs SS: <0.001 SS vs C: 0.014	All: <0.001 C vs S: <0.001 S vs SS: <0.001 SS vs C: 0.126	All: <0.001 C vs S: 0.001 S vs SS: 0.001 SS vs C: 0.094	All: <0.001 C vs S: 0.887 S vs SS: 0.021 SS vs C: <0.001	All: 0.011 C vs S: 0.021 S vs SS: 0.009 SS vs C: 0.078	All 0.665	All 0.777
Σηπτικά νεογνά με αιμορραγική διάθεση (S+)	67.5 (49.5-110.5) (n=20)	254 (85.5-378.5) (n=20)	27.5 (25-57) (n=20)	39 (29.5-64) (n=20)	55 (35-64) (n=18)	76 (61-81) (n=20)	55 (39.5-64) (n=20)	97 (95-100) (n=14)	94 (93-100) (n=11)
<i>P-value</i>	All: <0.001 C vs S+: <0.001 S+ vs SS: <0.001 S+ vs S-: 0.021	All: <0.001 C vs S+: <0.001 S+ vs SS: <0.001 S+ vs S-: 0.007	All: <0.001 C vs S+: <0.001 S+ vs SS: <0.001 S+ vs S-: 0.020	All: <0.001 C vs S+: <0.001 S+ vs SS: <0.001 S+ vs S-: 0.047	All: <0.001 C vs S+: <0.001 S+ vs SS: <0.001 S+ vs S-: 0.229	All: <0.001 C vs S+: 0.280 S+ vs SS: 0.009 S+ vs S-: 0.002	All: <0.001 C vs S+: <0.001 S+ vs SS: <0.001 S+ vs S-: 0.033	All: 0.669 S+ vs S-: 0.666	All: 0.694 S+ vs S-: 0.567
Σηπτικά νεογνά χωρίς αιμορραγική διάθεση (S-)	47.5 (46-57.5) (n=24)	82 (51-131) (n=24)	51 (43.5-65.5) (n=24)	58.5 (49-69) (n=22)	58 (43-70) (n=18)	79 (74.5-83) (n=24)	66.5 (55.5-75.5) (n=24)	97.5 (97.5-100) (n=16)	98 (93.5-100) (n=12)
<i>P-value</i>	All: 0.016 C vs S-: 0.008 S- vs SS: 0.047	All: 0.005 C vs S-: 0.219 S- vs SS: 0.030	All: 0.008 C vs S-: 0.067 S- vs SS: 0.015	All: 0.049 C vs S-: 0.064 S- vs SS: 0.028	All: 0.084 C vs S-: 0.176 S- vs SS: 0.085	All: <0.001 C vs S-: 0.267 S- vs SS: 0.244	All: 0.215	All: 0.599	All: 0.662

Πίνακας 10: Τα δεδομένα των 3 ομάδων μελέτης παρουσιάζονται ως διάμεσες τιμές με τα αντίστοιχα όρια αναφοράς. Για συγκρίσεις μεταξύ των τιμών των τριών ομάδων στο σύνολό τους, χρησιμοποιήθηκε το Kruskal-Wallis test. Το Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test χρησιμοποιήθηκε για τις ανά ζεύγη συγκρίσεις. Η στατιστική ανάλυση επαναλήφθηκε συγκρίνοντας τις ομάδες των υγιών νεογνών και αυτή των νεογνών με υποψία σήψης, με την κάθε υποομάδα των σηπτικών νεογνών (δηλ. τα σηπτικά νεογνά με/ή χωρίς αιμορραγική διάθεση).

Τα νεογνά με σήψη είχαν σημαντικά παρατεταμένο το CT και CFT, καθώς και μειωμένο MCF, A10, A20 και A30 σε σύγκριση με τα νεογνά με υποψία σήψης (τιμές p 0.001, 0.001, 0.009, 0,001, 0,001

και 0,001 αντίστοιχα) και τα υγιή νεογνά (τιμές p 0.001, 0.001, 0.021, 0.001, 0.001 και 0.001, αντίστοιχα). Η στατιστική ανάλυση των παραμέτρων TEM (CT, CFT, MCF, A10 και A20) και η σύγκριση αυτών μεταξύ των δύο υποομάδων (A1 και A2) των σηπτικών νεογνών, αποκάλυψε ένα πιο έντονο υποπηκτικό - αιμορραγικό προφίλ στα σηπτικά νεογνά με αιμορραγική διάθεση (20 από 44 σηπτικά επεισόδια-45,4%) από ότι σε εκείνα χωρίς αιμορραγική διάθεση (τιμές p 0,021, 0,007, 0,033,0,020 και 0,047, αντίστοιχα). Τα σηπτικά νεογνά χωρίς αιμορραγική διάθεση εξακολουθούσαν να έχουν σημαντική παράταση των CT και CFT, καθώς και μειωμένες τιμές A10 και A20 σε σύγκριση με τα νεογνά με υποψία σήψης (τιμές p 0.047, 0.030, 0.015 και 0,028, αντίστοιχα) και σημαντική παράταση του CT σε σύγκριση με τα υγιή νεογνά (τιμή p 0.008).

Όσον αφορά στα νεογνά με υποψία σήψης, είναι αξιοσημείωτο ότι παρατηρήθηκαν σημάδια υπερπηκτικότητας με βάση τις μετρήσεις των παραμέτρων A10, α -γωνία και CFT, οι οποίες και διέφεραν σημαντικά από τις αντίστοιχες μετρήσεις σε υγιή νεογνά (τιμές p 0,014, <0,001, 0,003, αντίστοιχα). Συσχέτιση των παραμέτρων TEM με κλινικές και εργαστηριακές μεταβλητές της βαρύτητας της ασθένειας (στην ομάδα της σήψης) παρουσιάζεται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11: Συσχέτιση των παραμέτρων TEM με κλινικές και εργαστηριακές μεταβλητές της βαρύτητας της ασθένειας (στην ομάδα της σήψης)

	CRP		WBC		PLT		SNAPPE		Mortality		Ήμερα πλήρους εντερικής σίτισης		Tollner score		Διάρκεια νοσηλείας (ημέρες)	
	<i>rho</i>	<i>p-value</i>	<i>rho</i>	<i>p-value</i>	<i>rho</i>	<i>p-value</i>	<i>Rho</i>	<i>p-value</i>	<i>rho</i>	<i>p-value</i>	<i>rho</i>	<i>p-value</i>	<i>rho</i>	<i>p-value</i>	<i>rho</i>	<i>p-value</i>
CT	+0.23	0.13	-0.26	0.09	-0.30	0.04	+0.26	0.09	+0.27	0.08	+0.24	0.13	+0.25	0.10	+0.05	0.74
CFT	+0.17	0.27	-0.12	0.43	-0.60	<0.01	+0.36	0.02	+0.25	0.10	+0.35	0.03	+0.30	0.05	+0.27	0.11
A10	-0.16	0.29	+0.09	0.58	+0.62	<0.01	-0.23	0.13	-0.13	0.39	-0.31	0.05	-0.19	0.21	-0.25	0.14
A20	-0.17	0.29	+0.03	0.84	+0.54	<0.01	-0.13	0.42	-0.06	0.70	-0.28	0.08	-0.13	0.42	-0.17	0.31
A30	-0.22	0.20	+0.08	0.62	+0.48	<0.01	-0.03	0.87	+0.07	0.69	-0.24	0.18	-0.13	0.45	-0.12	0.53
Alpha	0.00	0.98	+0.36	0.02	+0.18	0.25	-0.39	0.01	-0.27	0.08	0.00	0.99	-0.20	0.20	+0.04	0.81
MCF	-0.11	0.49	+0.15	0.34	+0.30	0.05	-0.06	0.70	+0.01	0.97	-0.23	0.16	-0.11	0.48	-0.05	0.78
LI45	+0.08	0.68	+0.02	0.91	-0.31	0.10	+0.28	0.13	+0.24	0.21	-0.04	0.83	+0.19	0.31	-0.09	0.67
LI60	+0.03	0.89	-0.07	0.76	-0.02	0.92	+0.25	0.26	+0.24	0.26	-0.03	0.89	+0.07	0.76	-0.10	0.67

Το CFT παρουσίασε θετική συσχέτιση με το SNAPPE score, το Tollner score και το χρόνο επίτευξης πλήρους εντερικής σίτισης και αρνητική συσχέτιση με τον αριθμό των αιμοπεταλίων (τιμές p 0,02, 0,05 0,03 και 0,01 αντίστοιχα).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1 Τιμές και εύρος αναφοράς των παραμέτρων TEM σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά

Η θρομβοελαστομετρία (TEM), είναι διαγνωστική μέθοδος εκτίμησης του αιμοστατικού προφίλ των ασθενών με την οποία επιτυγχάνεται η παρακολούθηση του μηχανισμού πήξης και ινωδόλυσης τους γρήγορα και αξιόπιστα, ενώ ταυτόχρονα επιτρέπει την άμεση ιατρική παρέμβαση όταν η τελευταία κρίνεται αναγκαία. Καθίσταται επομένως απόλυτα αντιληπτό ότι η θρομβοελαστογραφία / θρομβοελαστομετρία θα μπορούσε να αποβεί ένα χρήσιμο εργαλείο για την πρόβλεψη και την καθοδήγηση της θεραπείας νεογνών με αιμορραγική διάθεση ή αυξημένη δραστηριότητα του πηκτικού μηχανισμού. Σε αντίθεση με τους ενήλικες όπου η TEM έχει μελετηθεί και χρησιμοποιείται ευρέως, στους παιδιατρικούς ασθενείς και κυρίως στα νεογνά, η χρήση της είναι περιορισμένη λόγω της έλλειψης καθορισμένων τιμών αναφοράς. Από όσα γνωρίζουμε, μόνο λίγες μελέτες οι οποίες αξιολογούν τη νεογνική αιμόσταση με βάση τη χρήση της TEM είναι διαθέσιμες [248, 299-301]. Τα μέχρι σήμερα δεδομένα στα νεογνά περιορίζονται σε μελέτες που έγιναν σε μικρό αριθμό υγιών νεογνών, με τις πιο πολλές από αυτές να αφορούν σε δείγματα αίματος ομφαλίου λώρου, ενώ απύσες είναι οι μελέτες με ευρήματα και πληροφορίες για εξαιρετικά πολύ χαμηλού βάρους γέννησης (ΕΠΧΒΓ) νεογνά [232, 247, 248]. Επιπλέον, η χρήση τροποποιημένων ποσοτικών προσδιορισμών ή/και το μικρό μέγεθος των δειγμάτων καθιστά δύσκολη την άμεση σύγκριση των αποτελεσμάτων τους. Τα προαναφερόμενα λοιπόν δικαιολογούν το ότι δεν υπάρχουν ακόμη ευρέως αποδεκτές τιμές αναφοράς για τις παραμέτρους TEM σε τελειόμηνα ή πρόωρα νεογνά.

Η παρούσα μελέτη παρέχει τιμές αναφοράς για τις παραμέτρους TEM-δοκιμασία extem (ανίχνευση της εξωγενούς οδού πήξης-πρότυπο ενεργοποιημένης εξωγενούς οδού)-σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά, Αξίζει να σημειωθεί ότι στη μελέτη αυτή η συλλογή δειγμάτων αίματος δεν έγινε κατά τη διάρκεια (και δεν αφορά σε δείγματα αίματος ομφαλίου λώρου) ή αμέσως μετά τον τοκετό, γεγονός το οποίο θα μπορούσε ενδεχομένως να επηρεάσει τη λεπτή ισορροπία του αιμοστατικού συστήματος των πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών.

Οι τιμές CT που καταγράφηκαν στη μελέτη μας ήταν συγκρίσιμες με τις αντίστοιχες τιμές CT που κατέγραψε ο Cvirn και οι συνεργάτες του-οι οποίες και αφορούν σε δείγματα αίματος ομφαλίου λώρου από 20 τελειόμηνα νεογνά [300].

Ο Strauss και οι συνεργάτες του από αποτελέσματα τα οποία εξήγαγαν από την τροποποιημένη δοκιμασία-ανάλυση extem TEM (με εφαρμογή αντιδραστηρίου extem με μικρότερη συγκέντρωση

ιστικού παράγοντα) σε δείγματα αίματος ομφαλίου λώρου από 184 τελειόμηνα νεογνά [299], κατέγραψαν τιμές CT μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες τιμές αναφοράς που καταγράφηκαν στη μελέτη μας.

Αντίθετα, οι μετρήσεις CFT που παρατηρήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν παρόμοιες με αυτές που αναφέρονται στην τροποποιημένη μέθοδο extem από τον Strauss [299] και σχετικά βραχύτερες από αυτές που αναφέρονται από τον Cvirn και τους συνεργάτες του [300]. Όσον αφορά στο MCF που αντιπροσωπεύει τη μέγιστη ισχύ και ανθεκτικότητα του θρόμβου, παρόμοιες τιμές παρατηρήθηκαν και στις τρεις μελέτες. Οι τιμές αναφοράς της γωνίας α^0 που καταγράφηκαν στην παρούσα μελέτη, ήταν παρόμοιες με τις αντίστοιχες τιμές που κατέγραψαν ο Cvirn και οι συνεργάτες του.

Πρόσφατα, ο Oswald και οι συνεργάτες του, παρουσίασαν τιμές αναφοράς για τις παραμέτρους της TEM εξαρτώμενες από την ηλικία του ασθενούς, σε σύγκριση με τις τιμές αναφοράς των συμβατικών δοκιμασιών πήκτικότητας [248]. Παρατήρησαν (στηριζόμενοι σε δεδομένα εξαγόμενα από την TEM) έτσι ότι η έναρξη της πήξης και η δημιουργία του θρόμβου παρουσιάζουν σημαντική εξάρτηση από την ηλικία, ενώ η σταθερότητα του θρόμβου και η ινωδόλυση είναι παρόμοιες σε όλες τις ηλικιακές ομάδες. Το ουσιωδέστερο εύρημα της μελέτης αυτής ήταν ότι αν και τα παιδιά ηλικίας 0-3 μηνών συγκριτικά με τους ενήλικες παρουσιάζουν παρατεταμένους χρόνους πήκτικότητας σύμφωνα με τις συμβατικές δοκιμασίες πήξης, με βάση παραμέτρους της TEM ανέδειξαν επιταχυνόμενη επαγωγή της πήξης, ενώ η σταθερότητα του θρόμβου ήταν εντός του εύρους παραμέτρων των ενηλίκων.

Οι περισσότερες τιμές αναφοράς των παραμέτρων extem TEM που καταγράφηκαν στην μελέτη μας, είναι παρόμοιες με εκείνες που καταγράφηκαν από τον Oswald και τους συνεργάτες του σε μια ομάδα 55 βρεφών κατά τους πρώτους 3 μήνες μετά τη γέννηση τους [248].

Στην παρούσα μελέτη, από τη στατιστική ανάλυση και τη σύγκριση των αποτελεσμάτων στις παραμέτρους TEM (extem) που έγινε μεταξύ πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών, δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Οι μόνες παράμετροι (extem) TEM που διέφεραν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, ήταν το A30, LI45 και LI60. Επιπλέον, στα πρόωρα νεογνά η παράμετρος LI60 βρέθηκε να έχει αρνητική συσχέτιση με την ηλικία κύησης και το βάρος γέννησης. Από τη μελέτη μας, στα πρόωρα νεογνά διαπιστώθηκε ενισχυμένη ινωδολυτική δράση, εύρημα που θα μπορούσε να αποδοθεί στα χαμηλότερα επίπεδα των πρωτεϊνικών αναστολέων ινωδόλυσης που παρατηρούνται σε αυτό των πληθυσμό των νεογνών [302-304]. Αυτά τα ευρήματα πιθανώς να συμβαδίζουν με τα δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας που υποδεικνύουν ένα πιο δραστήριο

ινωδολυτικό σύστημα στα νεογνά σε σχέση με τους ενήλικες [301, 305, 306]. Η στατιστικά σημαντική διάφορα της μεταβλητής A30 που σημειώθηκε μεταξύ πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών θα μπορούσε να αποδοθεί στον μικρότερο αριθμό και με μειωμένη λειτουργικότητα αιμοπεταλίων, που έχουν τα πρόωρα νεογνά σε σχέση με τα τελειόμηνα [105].

Σε αντίθεση με τον Strauss και τους συνεργάτες του [299], στην παρούσα μελέτη δεν σημειώθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας κύησης και του MCF και δεν υπήρχαν διαφορές στις τιμές αναφοράς του MCF μεταξύ πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών.

Οι περισσότερες προσδιορισθείσες τιμές αναφοράς των παραμέτρων (extem) TEM που καταγράφηκαν στη μελέτη μας ήταν συγκρίσιμες με αντίστοιχες τιμές που καταγράφηκαν από παρόμοιες μελέτες και αφορούν σε αρτηριακό δείγμα αίματος νεογνών, αλλά μεταξύ άλλων, παρατηρήθηκαν και μερικά αντιφατικά αποτελέσματα.

Όλες αυτές οι προαναφερθείσες αποκλίσεις ευρημάτων μεταξύ των μελετών, θα μπορούσαν να αποδοθούν στα τροποποιημένα αντιδραστήρια, στο μικρό μέγεθος των δειγμάτων, στο διαφορετικό χρονοδιάγραμμα δειγματοληψίας και στο διαφορετικό είδος δειγμάτων αίματος.

Η επιτροπή της Περιγεννητικής και Παιδιατρικής Αιμόστασης (SCC) ως μέλος της Διεθνούς Εταιρείας για τη Θρόμβωση και την Αιμόσταση (ISTH) δημοσίευσε κοινώς αποδεκτές συστάσεις για όλα τα εργαστήρια που αναφέρουν επίσημα αποτελέσματα δοκιμασιών της αιμόστασης στα νεογνά και στα παιδιά, προτείνοντας ότι όλα τα διαγνωστικά εργαστήρια που επεξεργάζονται νεογνικά και παιδιατρικά δείγματα αίματος πρέπει να χρησιμοποιούν τιμές αναφοράς κατάλληλα προσαρμοσμένες ως προς την ηλικία, το είδος των αναλυτών και τα χρησιμοποιούμενα αντιδραστήρια. Έτσι, τα αποτελέσματα των αιμοστατικών δοκιμασιών θα μπορούν να συγκριθούν ικανοποιητικά ανάμεσα σε όλα τα εργαστήρια που παρέχουν πανομοιότυπο ηλικιακά πληθυσμό και χρησιμοποιούν το ίδιο αντιδραστήριο και τον ίδιο αναλυτή [307].

5.2 Μεταβολές των παραμέτρων TEM στα νεογνά με υποψία/ή επιβεβαιωμένη σηψαιμία

Οι λοιμώξεις αποτελούν την πιο συχνή και σοβαρή αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας των νεογνών στις ΜΕΝΝ. Η νεογνική λοίμωξη μπορεί να εκδηλωθεί αρχικά με ήπια ή μη ειδικά συμπτώματα που συχνά αποδίδονται σε μη λοιμώδεις καταστάσεις. Η πρόγνωση και έκβαση της πορείας των σηπτικών νεογνών επιδεινώνονται όταν εγκατασταθεί διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ) ή πολυοργανική ανεπάρκεια. Για το λόγο αυτό η ύπαρξη διαγνωστικών κριτηρίων για την πρώιμη διάγνωση της νεογνικής σηψαιμίας είναι μεγίστης σημασίας. Συμβατικές δοκιμασίες πήξης όπως ο χρόνος προθρομβίνης και ο χρόνος μερικώς ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης, δε δύνανται να παρέχουν καμία πληροφορία-ένδειξη για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων ή για το σύστημα της ινωδόλυσης, ενώ επιπλέον παρουσιάζουν και περιορισμούς στην πρόβλεψη μιας αιμορραγίας και στην καθοδήγηση της θεραπείας με μετάγγιση σε ασθενείς με κρίσιμη νόσο. Επίσης προϋποθέτουν κατάλληλη συλλογή δειγμάτων αίματος, ώστε να παρέχεται ακρίβεια στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Οι ιξωδοελαστικές όμως δοκιμασίες όπως η θρομβοελαστογραφία και η περιστροφική θρομβοελαστομετρία, αφενός επιτρέπουν την ταχεία ανίχνευση διαταραχών της πήξης παρέχοντας γενικές πληροφορίες σχετικά με τη δυναμική της ανάπτυξης και της λύσης του θρόμβου, αφετέρου δε, αποτελούν και τη μοναδική δοκιμασία παρακολούθησης των σταδίων της πήξης, κατευθύνοντας έτσι με ακρίβεια τη θεραπευτική παρέμβαση [238, 240].

Η μελέτη αυτή αξιολόγησε την αξία και το ρόλο των μεταβλητών TEM (extem) στην πρώιμη ανίχνευση της νεογνικής σηψαιμίας. Στα αρχικά στάδια της σηψαιμίας στα νεογνά της μελέτης μας παρατηρήθηκε απόκλιση των τιμών των παραμέτρων TEM από το φυσιολογικό πρότυπο τιμών αναφοράς, γεγονός που δηλώνει ότι το υποπηκτικό-αιμορραγικό προφίλ είναι ένα κοινό πρώιμο εύρημα μεταξύ των σηπτικών νεογνών. Οι κύριες παράμετροι TEM extem, όπως το CT ή το CFT, βρέθηκαν παρατεταμένες με στατιστικά σημαντική διάφορα στα σηπτικά νεογνά συγκριτικά με τα υγιή νεογνά και με αυτά με υποψία σήψης.

Στη μελέτη αυτή, οι τιμές και το εύρος διακύμανσης των παραμέτρων της TEM extem που καταγράφηκαν στην ομάδα των υγιών πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών θεωρήθηκαν ως τοπικές φυσιολογικές τιμές αναφοράς. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η νεογνική αιμόσταση, ακολούθως και οι προκαθορισμένες τιμές των παραμέτρων TEM extem, είναι ανεξάρτητη από το αιμοστατικό προφίλ της μητέρας καθώς οι πρωτεΐνες πήξης του πλάσματος δε διασχίζουν το φραγμό του πλακούντα και συντίθενται ανεξάρτητα από το έμβρυο [308], τα πάσχοντα (σηπτικά/ή με υποψία σήψης) νεογνά ταξινομήθηκαν ως νεογνά με αιμορραγική ή θρομβωτική διάθεση, όταν στα νεογνά αυτά οι μετρήσεις των παραμέτρων TEM extem ήταν εκτός του προκαθορισμένου φυσιολογικού εύρους

αναφοράς. Επαναλαμβάνουμε δε, ότι οι μετρήσεις των παραμέτρων TEM extem στα σηπτικά νεογνά αποκάλυψαν ένα υποπηκτικό προφίλ-αιμορραγική διάθεση των νεογνών αυτών.

Το ποσοστό των πρόωρων νεογνών ήταν αρκετά μεγαλύτερο στην ομάδα των σηπτικών νεογνών (60%) σε σχέση με το ποσοστό αυτών στην ομάδα των υγιών νεογνών και σε αυτών με υποψία σήψης (28.8% και 37.5% αντίστοιχα). Παρά τη στατιστικά σημαντική διαφορά που σημειώθηκε στο ποσοστό των πρόωρων στην κάθε ομάδα που μελετήθηκε, η προωρότητα από μόνη της δεν αποτελεί συγχυτικό παράγοντα διότι στο πρώτο στάδιο της μελέτης μας όπου συγκρίθηκαν οι τιμές των παραμέτρων TEM extem ανάμεσα σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.

Από όσο γνωρίζουμε έως σήμερα, στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει μία μόνο- σχετική με τη δική μας-μελέτη που αξιολογεί τις διαταραχές των παραμέτρων TEG σε 27 χειρουργικά νεογνά στο πρώιμο-αρχικό στάδιο /ή στην εγκατεστημένη σήψη [287], όπου στην πλειοψηφία των νεογνών αναφέρεται επίσης υποπηκτικό προφίλ- αιμορραγική διάθεση. Το εύρημα αυτό συμβαδίζει με την παθοφυσιολογία της «κατανάλωσης των παραγόντων πήξης- υπέρμετρης ενεργοποίησης του πηκτικού μηχανισμού» κατά τη διάρκεια της ΔΕΠ που ως γνωστόν αναφέρεται σε ενήλικες με σηψαιμία.

Με βάση τα αποτελέσματά μας, διαπιστώθηκε ότι ο βαθμός υποπηκτικότητας είναι πιο έντονος στα σηπτικά νεογνά με έκδηλη αιμορραγική διάθεση. Εντούτοις, πρέπει να σημειώσουμε ότι το υποπηκτικό προφίλ των σηπτικών νεογνών παρατηρήθηκε ακόμα και όταν η ανάλυση περιοριζόταν σε σηπτικά νεογνά χωρίς αιμορραγική διάθεση.

Αντίθετα, αρκετές μελέτες σε ενήλικες με σηψαιμία έδειξαν θρομβωτική προδιάθεση αυτών, κυμαινόμενη σε ποσοστό από 30% [309] - 100% [310], διακύμανση η οποία μπορεί να οφείλεται σε διαφορά στο χρονοδιάγραμμα των μετρήσεων, ή σε διαφορά στη σοβαρότητα της νόσου, καθώς και σε αυτό καθαυτό ορισμό της υπερπηκτικότητας-θρομβωτικής προδιάθεσης [285]. Κάτι παρόμοιο με το εύρημα αυτό καταγράφηκε και από τη μελέτη μας στα νεογνά με υποψία σηψαιμίας που είχαν υπερπηκτικό προφίλ-θρομβωτική προδιάθεση σε σύγκριση με τα υγιή νεογνά (οι τιμές των μεταβλητών A10 και γωνιά α^0 βρέθηκαν μεγαλύτερες, ενώ του CFT μικρότερη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε σχέση με τα υγιή νεογνά). Από ότι διαφαίνεται, η ενεργοποίηση των προπηκτικών παραγόντων λόγω τοπικής φλεγμονής μπορεί να οδηγήσει σε ήπια ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης, η οποία οδηγεί σε αντισταθμιζόμενη υπερπήκτικοτητα χωρίς υπερβολική κατανάλωση των παραγόντων πήξης μεταξύ νεογνών που παρουσίασαν φλεγμονή-λοίμωξη αλλά

χωρίς έκδηλη σηψαιμία.

Η TEG / ROTEM σε μελέτες που έχουν γίνει, ανέδειξε σαφώς υπερπηκτικότητα- θρομβωτική προδιάθεση σε μοντέλα ενδοτοξιναιμίας [311].

Στους ενήλικες, η αρχική φάση της σηψαιμίας χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση ινώδους σε μικρά αγγεία και την απόφραξη τριχοειδών αγγείων με μικροθρόμβους, ενώ οι μετρήσεις TEM παρουσιάζουν ένα κυρίαρχο υπερπηκτικό προφίλ. Η μεταγενέστερη όμως φάση της σηψαιμίας, συνήθως εκδηλώνεται ως αιμοστατική ανεπάρκεια που προκύπτει ως αποτέλεσμα της μαζικής ενεργοποίησης και υπερσυσσώρευσης των αιμοπεταλίων και της άμετρης ενεργοποίησης και επομένως και υπερκατανάλωσης των παραγόντων της πήξης. Η ικανότητα ανίχνευσης της αιμοστατικής αυτής ανεπάρκειας από την TEG /TEM στους σηπτικούς ενήλικες φαίνεται να είναι πιο ελπιδοφόρα στη διάγνωση της διάχυτης ενδαγγειακής πήξης [285, 312, 313].

Σε αντίθεση με τους ενήλικες, η αιμοστατική ανεπάρκεια φαίνεται να είναι η κύρια διαταραχή της αιμόστασης που σχετίζεται με τη νεογνική σηψαιμία. Η αιμόσταση του εμβρύου είναι ένα δυναμικό σύστημα που σταδιακά εξελίσσεται προς την κατάσταση του ενήλικα, αλλά και που πάντα διατηρεί ισορροπία μεταξύ των ηπηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων καθ' όλη τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής, μέχρι και τη γέννηση [79]. Αν και τα βασικά συστατικά –πρωτεΐνες του συστήματος πήξης είναι παρόντα κατά τη γέννηση, το αιμοστατικό σύστημα στα νεογνά είναι ανεπαρκώς ανεπτυγμένο [208]. Τα νεογνικά αιμοπετάλια έχουν μειωμένη ανταπόκριση σε αγωνιστές, μειωμένη έκκριση κοκκίων και μειωμένη έκφραση θέσεων σύνδεσης με το ινωδογόνο [112]. Για τους προπηκτικούς παράγοντες, οι διαφορές είναι κυρίως ποσοτικές [93, 95, 228]. Κατά τη γέννηση, οι δραστηριότητες των εξαρτώμενων από τη βιταμίνη K παραγόντων II, VII, IX και X, όπως και οι συγκεντρώσεις των παραγόντων του συστήματος επαφής XI και XII είναι μειωμένες σε ποσοστό 50% περίπου των φυσιολογικών τιμών των ενηλίκων [93]. Παρομοίως, τα επίπεδα των κυριότερων αντιπηκτικών πρωτεϊνών είναι επίσης χαμηλά στη γέννηση, αλλά η λειτουργική δραστηριότητα της πρωτεΐνης S είναι παρόμοια με αυτή των ενηλίκων [208]. Παρά τις φυσιολογικές διαφορές (όπως αναφέρεται στα ανωτέρω) που παρουσιάζουν τα νεογνά και αφορούν σε όλους τους παράγοντες του συστήματος πήξης-ινωδολύσης, φαίνεται από μελέτες που έχουν γίνει, ότι η ανωριμότητα αυτή αντισταθμίζεται λειτουργικά, με αποτέλεσμα στα υγιή τελειόμηνα ή πρόωρα νεογνά να μην παρατηρείται αυξημένη τάση για αιμορραγία ή θρόμβωση. Στα πάσχοντα όμως νεογνά, όπως αυτά με σηψαιμία, διαταράσσεται αυτή η λεπτή "ισορροπία" στην αιμόσταση και αυτό προδιαθέτει σε αιμορραγία. Αυτές οι διαφορές που αντανακλούν κυρίως την ανωριμότητα του συστήματος της νεογνικής αιμόστασης, είναι λειτουργικά ισορροπημένες σε υγιή νεογνά. Ωστόσο

όπως αναφέραμε ανωτέρω, οι συστηματικές ασθένειες μπορεί να διαταράξουν τη λεπτή αιμοστατική ισορροπία, προδιαθέτοντας τα άρρωστα νεογνά σε αυξημένες αιμορραγικές επιπλοκές. Τα σηπτικά νεογνά μπορεί να αναπτύξουν θρομβοπενία και δευτερογενώς διαταραχές πήξης στο πλαίσιο της ηπατικής ανεπάρκειας [208]. Οι διαταραχές αυτές πιθανώς αντιπροσωπεύουν την αιμοστατική ανεπάρκεια στην αρχική φάση της νεογνικής σήψης. Η ικανότητα λοιπόν της TEM να ανιχνεύει την επαγόμενη από τη σήψη αιμοστατική ανεπάρκεια, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρώιμη ανίχνευση- διάγνωση της νεογνικής σηψαιμίας. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να αξιολογήσει θετικά και να αναδείξει την TEM ως ένα πρώιμο διαγνωστικό κριτήριο της νεογνικής σήψης, λαμβάνοντας πάντα υπόψη ότι η νεογνική σήψη μπορεί να εκδηλωθεί αρχικά με ήπια ή μη ειδικά συμπτώματα που συχνά αποδίδονται σε μη λοιμώδεις καταστάσεις.

Αξιοσημείωτο είναι επίσης ότι στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε καμία διαταραχή του συστήματος ινωδόλυσης στα σηπτικά νεογνά-εκφραζόμενης ως αυξημένος δείκτης λύσης του θρόμβου-παρόλο που η μειωμένη ινωδόλυση έχει καταγράψει σε σηπτικούς ασθενείς σε αρκετές μελέτες που αφορούσαν σε ενήλικες [288, 312-315]. Ο αυξημένος δείκτης λύσης του θρόμβου θα μπορούσε να βοηθήσει στη διάκριση μεταξύ σηψαιμίας και μετεγχειρητικής φλεγμονώδους ανταπόκρισης στους ενήλικες [288, 312]. Σε αντίθεση όμως με τη σήψη στους ενήλικες, στη μελέτη μας δεν αποδείχτηκε ότι στα νεογνά η αναστολή της ινωδόλυσης αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της ανταπόκρισης του ξενιστή σε σοβαρή λοίμωξη.

Επιπλέον στη παρούσα, μελέτη βρέθηκε ότι ο βαθμός υποπηκτικότητας- αιμοστατικής ανεπάρκειας που εκφράζεται ως παράταση του CFT, σχετίζεται με τη σοβαρότητα της σηψαιμίας. Σημειώθηκε θετική συσχέτιση του CFT με το SNAP-PE score, το Tollner score και το χρόνο επίτευξης πλήρους εντερικής σίτισης και αρνητική συσχέτιση του CFT με τον αριθμό των αιμοπεταλίων. Είναι γνωστό ότι το TOLLNER score είναι ένα σύστημα βαθμολόγησης βασισμένο σε κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα με απώτερο σκοπό την έγκαιρη διάγνωση της σήψης σε νεογνά [288, 289], ενώ το SNAP-PE score (το οποίο είναι ένα σύστημα εκτίμησης οξέων διαταραχών της φυσιολογίας και περιγεννητικών προβλημάτων υγείας των νεογνών)[291, 292, 316] και ο χρόνος επίτευξης πλήρους εντερικής σίτισης [317] έχουν επικυρωθεί ως μέσο ακριβούς εκτίμησης των βαρέως πασχόντων νεογνών προκειμένου να προβλεφθεί η κλινική τους έκβαση. Δεδομένου αυτών και των ευρημάτων της μελέτης μας η TEM θα μπορούσε να αποτελέσει ένα πολλά υποσχόμενο εργαλείο στη διάγνωση, αξιολόγηση της βαρύτητας της νόσου και τελικά στην πρόγνωση της νεογνικής σηψαιμίας.

Όσον αφορά στα αιμοπετάλια, είναι γνωστό ότι πολλές παράμετροι TEM επηρεάζονται από τον αριθμό και το βαθμό λειτουργικότητάς τους. Το MCF, το οποίο αντιπροσωπεύει τη μέγιστη ισχύ και

ανθεκτικότητα του θρόμβου, αποτελεί άμεση συνάρτηση της μέγιστης δυναμικής ιδιότητας του ινώδους για τη συγκόλλησή του στα αιμοπετάλια μέσω των υποδοχέων GPIIb/IIIa αυτών. Σχετίζεται κατά 80% με τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και κατά 20% με τη λειτουργικότητα του ινωδογόνου. Οι A10, A20 και A30 που αντιπροσωπεύουν τη σταθερότητα του θρόμβου στα 10, 20 και 30 λεπτά αντίστοιχα, μετά από τη δημιουργία του CT, επηρεάζονται επίσης από τον αριθμό των αιμοπεταλίων και είναι καθοριστικοί για την τιμή του MCF. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο οι μετρήσεις A10, A20, A30 και MCF βρέθηκαν να σχετίζονται με τον αριθμό των αιμοπεταλίων στην ομάδα των σηπτικών νεογνών. Αξίζει να σημειωθεί ότι η στενή αλληλεπίδραση μεταξύ των αιμοπεταλίων και του καταρράκτη της πήξης αντανακλάται πολύ καλά από την παρατηρούμενη αρνητική συσχέτιση μεταξύ των τιμών των μεταβλητών CT, CFT και του αριθμού των αιμοπεταλίων στα σηπτικά νεογνά.

Τέλος, από τη μελέτη μας προέκυψε ότι οι τιμές των μεταβλητών CT, CFT, MCF, A10 και A20 αντανακλούν το βαθμό σοβαρότητας της αιμοστατικής ανεπαρκείας των σηπτικών νεογνών με έκδηλη αιμορραγική διάθεση, γεγονός που ευθυγραμμίζεται με τα ευρήματα μελετών που αφορούν σε ενήλικες ασθενείς με σηψαιμία [309, 316]. Είναι γνωστό ότι οι συμβατικές δοκιμασίες πήξης δεν αντανακλούν πλήρως την *in vivo* αιμοστατική ανεπάρκεια που παρατηρείται σε ασθενείς με σηψαιμία [286], ενώ είναι επιτακτική η προσαρμογή των εργαστηριακών δοκιμασιών στους μικρότερους όγκους δειγμάτων που λαμβάνονται. Η ανεύρεση έτσι ενός ιδανικού βιοδείκτη (biomarker) για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της νεογνικής λοίμωξης, αποτελεί βασικότατο στόχο πολλών μελετών στη νεογνολογία. Πολλές δοκιμασίες έχουν αξιολογηθεί σε μια προσπάθεια να ανακαλυφθεί ένας αξιόπιστος πρώιμος δείκτης σήψης στα νεογνά.

Το θρομβοελαστογράφημα αποτελεί τη μοναδική δοκιμασία παρακολούθησης όλων των σταδίων της πήξης και ανιχνεύει διαταραχές της πήξης και της ινωδόλυσης ακόμα και όταν αυτές δε μπορούν να ανιχνευθούν με τις συμβατικές δοκιμασίες πήξης [285]. Για παράδειγμα, είναι γνωστό ότι τα αιμοπετάλια διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στο σχηματισμό του πρωτογενούς αιμοστατικού θρόμβου και μπορούν να επηρεάσουν διάφορες παραμέτρους της TEM, όπως τη γωνία α και τους A10, A20, A30 και MCF. Εντούτοις, ο φυσιολογικός αριθμός των αιμοπεταλίων δεν αντικατοπτρίζει πάντα και την άρτια λειτουργικότητά τους, όπως επίσης ο αριθμός των αιμοπεταλίων από μόνος του δεν μπορεί να δώσει εικόνα για τη δευτερογενή αιμόσταση, δηλαδή τη διαδικασία που οδηγεί στο σχηματισμό πλέγματος ινώδους (πήγμα ινικής) στη θέση του πρωτογενούς αιμοστατικού θρόμβου με απώτερο στόχο την σταθεροποίηση αυτού. Αντίθετα, η TEM εκτιμά τις επιδράσεις όλων των συστατικών του αίματος και τις αλληλεπιδράσεις τους στον σχηματισμό και τη διάλυση του θρόμβου. Φαίνεται δηλαδή ότι οι μεταβλητές της TEM μπορεί να χρησιμεύσουν ως πρώιμοι

βιοδείκτες για τη διάγνωση της νεογνικής σηψαιμίας. Ένα υποπηκτικό λοιπόν προφίλ των μεταβλητών της TEM στα αρχικά στάδια της σηψαιμίας, φαίνεται να είναι ένα πολλά υποσχόμενο εργαλείο στη διάγνωση και στην πρόγνωση της νεογνικής σηψαιμίας.

Η διακύμανση του χρονικού σημείου των μετρήσεων των παραμέτρων TEM ακόμη και εντός της πρώτης ημέρας σήψης και η έλλειψη σειριακών μετρήσεων, θα μπορούσαν επίσης να επηρεάσουν τα αποτελέσματα των δοκιμασιών, καθώς η σηψαιμία είναι δυναμική διαδικασία. Η φλεγμονώδης απάντηση του ξενιστή σε έναν εισβάλλοντα οργανισμό οδηγεί αρχικά συνήθως σε προθρομβωτική φάση στον σηπτικό ασθενή, αλλά η κατανάλωση των παραγόντων πήξης λόγω της συνεχιζόμενης θρόμβωσης, τελικά οδηγεί σε αιμοστατική ανεπάρκεια. Έτσι, η εκτίμηση των διαταραχών της πήξης στην οξεία σήψη είναι μια σύνθετη και χρονικά ευαίσθητη διαδικασία που εκτιμάται καλύτερα με σειριακές μετρήσεις.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων:

Στα υγιή νεογνά για τις τιμές των περισσότερων παραμέτρων TEM που μετρήθηκαν, δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών. Μόνο όσον αφορά στο A30, LI45 και LI60, η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική. Η στατιστικά σημαντική διάφορα των παραμέτρων LI45 και LI60 TEM extem που σημειώθηκε μεταξύ πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών, θα μπορούσε να αποδοθεί στα χαμηλότερα επίπεδα των πρωτεϊνικών αναστολέων ινωδόλυσης που παρατηρούνται στα πρόωρα νεογνά, ενώ η διαφορά της μεταβλητής A30 θα μπορούσε να αποδοθεί στον μικρότερο αριθμό και μειωμένη λειτουργικότητα αιμοπεταλίων που έχουν τα πρόωρα νεογνά.

Οι τιμές των παραμέτρων TEM (extem) που μετρήθηκαν στα νεογνά αυτά, θα μπορούσαν να θεωρηθούν τιμές αναφοράς για υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά, αφού αφορούν σε νεογνά χωρίς παθολογία.

Όσον αφορά στα πάσχοντα νεογνά, οι μετρήσεις των παραμέτρων TEM extem στα σηπτικά νεογνά αποκάλυψαν ένα υποπηκτικό προφίλ-αιμορραγική διάθεση, ενώ στα νεογνά με υποψία σηψαιμίας οι μετρήσεις των παραμέτρων TEM (extem) ανέδειξαν θρομβωτική διάθεση σε σχέση με τα υγιή νεογνά.

Η ανίχνευση και η αξιολόγηση των διαταραχών της αιμόστασης στη νεογνική σηψαιμία είναι πολύπλοκη, επείγουσα και επιτυγχάνεται με επανειλημμένες μετρήσεις.

Δεδομένου του σαφούς αιμορραγικού προφίλ που παρατηρήθηκε στα αρχικά στάδια της σηψαιμίας στα νεογνά, φαίνεται ότι οι μεταβλητές της θρομβοελαστομετρίας θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως πρώιμοι δείκτες στη διάγνωση της νεογνικής σηψαιμίας.

Η θρομβοελαστομετρία ως αξιόπιστο διαγνωστικό, πιθανόν και προγνωστικό εργαλείο στη νεογνική σηψαιμία, πρέπει να μελετηθεί περισσότερο και να ενταχθεί στην καθημερινή κλινική πράξη.

Η μελέτη μας μπορεί να προσφέρει στο να καθιερωθεί η θρομβοελαστομετρία στην κλινική νεογνολογία, να συμβάλει στην καλύτερη εκτίμηση της αιμόστασης στα νεογνά.

Συνοπτικά χρειάζονται παραπάνω μελέτες ώστε να αποδειχθεί η αξιοπιστία της TEM όχι μόνο ως διαγνωστικό εργαλείο, αλλά και ως θεραπευτικός οδηγός στις μονάδες MENN.

6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Οι διαταραχές της αιμόστασης αποτελούν καθημερινό και μεγίστης σημασίας πρόβλημα ανάμεσα σε αυτά που προκύπτουν κατά τη διάρκεια νοσηλείας των νεογνών στις μονάδες εντατικής θεραπείας. Συνίστανται σε σοβαρές και απειλητικές για τη ζωή του νεογνού διαταραχές, η διάγνωση και η αντιμετώπιση των οποίων είναι άμεση προτεραιότητα του νεογνολόγου.

Η αιμόσταση του εμβρύου είναι ένα δυναμικό σύστημα που σταδιακά εξελίσσεται προς στην κατάσταση του ενήλικα, αλλά και που πάντα διατηρεί ισορροπία μεταξύ των πηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων καθ' όλη τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής μέχρι τη γέννηση. Το φυσιολογικό νεογέννητο έρχεται στον κόσμο με ένα σύνθετο αιμοστατικό έλλειμμα που βρίσκεται σε απόλυτη συνάρτηση με την ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης, τα αποθέματα βιταμίνης Κ και το βαθμό ωριμότητας του ήπατος, το οποίο είναι το εργαστήριο των περισσότερων παραγόντων της πήξης.

Αν και τα βασικά συστατικά –πρωτεΐνες του συστήματος πήξης είναι παρόντα κατά τη γέννηση, το αιμοστατικό σύστημα στα νεογνά είναι ανεπαρκώς ανεπτυγμένο. Παρά τις φυσιολογικές διαφορές που παρουσιάζουν τα νεογνά σε σχέση με τα παιδιά και τους ενήλικες, οι οποίες αφορούν σε όλους τους παράγοντες του συστήματος πήξης-ινωδόλυσης, φαίνεται από μελέτες που έχουν γίνει ότι η ανωριμότητα αυτή αντισταθμίζεται λειτουργικά, με αποτέλεσμα στα υγιή τελειόμηνα ή πρόωρα νεογνά να μην παρατηρείται αυξημένη τάση για αιμορραγία ή θρόμβωση.

Όταν όμως επιδρούν παθολογικοί παράγοντες όπως λοίμωξη, ασφυξία, τραυματισμός κ.ά., η υφιστάμενη δυναμική ισορροπία των συστημάτων της αιμόστασης διαταράσσεται κι εκφράζεται, ανάλογα με το ερέθισμα, ως αιμορραγία (συνηθέστερα) ή θρόμβωση (σπανιότερα). Το σύνδρομο της ΔΕΠ αποτελεί την πιο συχνή και σοβαρή διαταραχή της αιμόστασης που συμβαίνει σε πάσχοντα νεογνά, ενώ η νεογνική ηλικιακή ομάδα φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε αυτή. Η ΔΕΠ εμφανίζεται πάντοτε ως δευτερογενές συμβάν και πολλά περιγεννητικά και νεογνικά προβλήματα συνδέονται με αυτή την επιπλοκή με κυριότερη όλων, τη νεογνική σηψαιμία. Η νεογνική σηψαιμία θεωρείται μία από τις προεξάρχουσες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας στις ΜΕΝΝ. Μπορεί να εκδηλωθεί αρχικά με ήπια ή μη ειδικά συμπτώματα που συχνά αποδίδονται σε μη λοιμώδεις καταστάσεις. Η πρόγνωση και έκβαση των σηπτικών νεογνών επιδεινώνονται όταν εγκατασταθούν ΔΕΠ ή πολυοργανική ανεπάρκεια. Γι' αυτό, η ύπαρξη διαγνωστικών κριτηρίων για την πρόωμη διάγνωση της νεογνικής σηψαιμίας είναι μεγίστης σημασίας. Έγκαιρη όμως διάγνωση των διαταραχών της αιμόστασης, προϋποθέτει πλήρη κατανόηση του πολυσύνθετου μηχανισμού της

πήξης.

Συμβατικές δοκιμασίες πήξης όπως ο χρόνος προθρομβίνης και ο χρόνος μερικώς ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης, δε δύνανται να παρέχουν καμία πληροφορία-ένδειξη για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων ή για το σύστημα της ινωδόλυσης, ενώ παρουσιάζουν και περιορισμούς στην πρόβλεψη μιας αιμορραγίας και στην καθοδήγηση της θεραπείας με μετάγγιση σε ασθενείς με κρίσιμη νόσο. Επίσης, προϋποθέτουν κατάλληλη συλλογή δειγμάτων αίματος ώστε να παρέχεται ακρίβεια στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Οι ιξωδοελαστικές όμως δοκιμασίες όπως η θρομβοελαστογραφία και η περιστροφική θρομβοελαστομετρία, αφενός επιτρέπουν την ταχεία ανίχνευση διαταραχών της πήξης παρέχοντας γενικές πληροφορίες σχετικά με τη δυναμική της ανάπτυξης και της λύσης του θρόμβου, αφετέρου δε, αποτελούν και τη μοναδική δοκιμασία παρακολούθησης όλων των σταδίων της πήξης, κατευθύνοντας με ακρίβεια τη θεραπευτική παρέμβαση. Η TEM έχει μελετηθεί και χρησιμοποιείται ευρέως στους ενήλικες, αλλά στους παιδιατρικούς ασθενείς και κυρίως στα νεογνά, η χρήση της είναι περιορισμένη λόγω της έλλειψης τιμών αναφοράς.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν: 1) να καθορίσουμε τις τιμές των παραμέτρων TEM (extem) και το εύρος αυτών, στα υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά, 2) να εκτιμηθούν και να στοιχειοθετηθούν οι μεταβολές των παραμέτρων της TEM που σχετίζονται με το σηπτικό νεογνό και να αξιολογηθούν προοπτικά ως πρώιμοι και προγνωστικοί δείκτες σήψης

Υλικό και μέθοδος: τον πληθυσμό της μελέτης αποτελέσαν 282 υγιή νεογνά και 91 πάσχοντα νεογνά με υποψία σήψης ή επιβεβαιωμένη σήψη.

Στην ομάδα των υγιών νεογνών συμπεριλήφθησαν: Α)198 τελειόμηνα υγιή νεογνά με ηλικία κύησης μεγαλύτερη από 36⁺⁶ εβδομάδες με κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης (AGA), χωρίς προβλήματα από το 1^ο 24ωρο ζωής έως και την έξοδο τους από το μαιευτήριο και Β) 84 πρόωρα νεογνά χωρίς παθολογία με ηλικία κύησης μικρότερη από 37 εβδομάδες και κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης (AGA).

Τα πάσχοντα νεογνά ταξινομήθηκαν σε δύο ομάδες: 1) ομάδα Α με 35 νεογνά με επιβεβαιωμένη σήψη (καταγράφηκαν 44 επεισόδια σηψαιμίας) και 2)ομάδα Β με 56 νεογνά με υποψία σήψης (καταγράφηκαν 60 επεισόδια ύποπτης σηψαιμίας). Τα νεογνά της ομάδας Α κατηγοριοποιήθηκαν περαιτέρω σε δύο υποομάδες ανάλογα με την παρουσία (20 επεισόδια) ή όχι (24 επεισόδια) κλινικά εμφανούς αιμορραγικής διάθεσης.

Στα υγιή νεογνά, τη 2^η - 3^η ημέρα ζωής για τα τελειόμηνα και τη 2^η -7^η ημέρα ζωής (μετά την

σταθεροποίηση τους) για τα πρόωρα, παράλληλα με τον απαιτούμενο εργαστηριακό έλεγχο για οποιονδήποτε ιατρικό λόγο, μικρό δείγμα αίματος από την αιμοληψία αυτή χρησιμοποιήθηκε και για τη διενέργεια της TEM (extem). Τα υγιή νεογνά της μελέτης βρίσκονταν υπό κλινική παρακολούθηση μέχρι την έξοδο τους από το μαιευτήριο ή τη MENN αντίστοιχα.

Στα πάσχοντα νεογνά της μελέτης, με την υπόνοια κλινικής σημειολογίας λοίμωξης/σηψαιμίας, παράλληλα με τον συνήθη έλεγχο λοίμωξης, διενεργήθηκε και η εξέταση TEM (extem). Ταυτόχρονα, προσδιορίστηκαν τα SNAP-PE και Tollner scores και καταγράφηκαν ο αριθμός των αιμοπεταλίων καθώς και η μέρα πλήρους εντερικής σίτισης. Οι παράμετροι TEM (extem) που μετρήθηκαν σε όλα τα νεογνά της μελέτης ήταν οι εξής: CT, CFT, A10, A20, A30, MCF, γωνία α° LI45 και LI60.

Αποτελέσματα: Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων για τις τιμές των περισσότερων παραμέτρων TEM (extem) που μετρήθηκαν στην ομάδα των υγιών νεογνών, δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών. Στατιστικά σημαντική διαφορά βρέθηκε μόνο στο A30, LI45 και LI60, εύρημα που θα μπορούσε να αποδοθεί στο μικρότερο αριθμό και μειωμένη λειτουργικότητα αιμοπεταλίων (για την διαφορά τιμής A30) και στα χαμηλότερα επίπεδα των πρωτεϊνικών αναστολέων ινωδόλυσης που παρατηρούνται στα πρόωρα νεογνά (για τη διαφορά τιμής των LI45 και LI60).

Οι μετρήσεις των παραμέτρων TEM extem στα σηπτικά νεογνά αποκάλυψαν ένα υποπηκτικό προφίλ-αιμορραγική διάθεση των νεογνών αυτών (οι χρόνοι CT, CFT βρέθηκαν παρατεταμένοι και το MCF μικρότερο, σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο, όταν συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες παραμέτρους στα υγιή νεογνά και σε αυτά με υποψία σηψαιμίας). Επίσης βρέθηκε ισχυρή συσχέτιση του CFT με τους εξής παράγοντες: SNAP-PE score, Tollner score, χρόνος επίτευξης πλήρους εντερικής σίτισης και αριθμός αιμοπεταλίων. Με βάση τα αποτελέσματά μας, διαπιστώθηκε ότι ο βαθμός υποπηκτικότητας είναι πιο έντονος στα σηπτικά νεογνά με έκδηλη αιμορραγική διάθεση. Εντούτοις, πρέπει να σημειώσουμε ότι το υποπηκτικό προφίλ των σηπτικών νεογνών παρατηρήθηκε ακόμα και όταν η ανάλυση περιοριζόταν σε σηπτικά νεογνά χωρίς αιμορραγική διάθεση. Αξίζει τέλος να σημειωθεί ότι με τις μετρήσεις TEM παρατηρήθηκε θρομβωτική διάθεση στα νεογνά με υποψία σήψης (τα A10 και α -angle βρέθηκαν μεγαλύτερα ενώ το CFT μικρότερο p -value<0.05) σε σχέση με τα υγιή νεογνά.

Συμπεράσματα: Οι τιμές των παραμέτρων TEM (extem) που μετρήθηκαν στα υγιή νεογνά, θα μπορούσαν να θεωρηθούν τιμές αναφοράς για φυσιολογικά πρόωρα και τελειόμηνια νεογνά, αφού αφορούν σε νεογνά χωρίς παθολογία. Μέσω της TEM, διαπιστώθηκε αιμορραγική διάθεση στα σηπτικά νεογνά κατά τα πρώιμα στάδια της σήψης, ενώ αντίθετα ανευρέθηκε θρομβωτική διάθεση

στα νεογνά με υποψία σηψαιμίας. Θα μπορούσαν λοιπόν τα εξαγόμενα από την TEM αποτελέσματα να θεωρηθούν αξιόπιστοι πρώιμοι διαγνωστικοί και προγνωστικοί δείκτες της νεογνικής σηψαιμίας, παρέχοντας ταυτόχρονα και τη δυνατότητα άμεσης θεραπευτικής παρέμβασης. Η μελέτη μας λοιπόν μπορεί να βοηθήσει στην ευρύτερη χρήση της θρομβοελαστομετρίας στην κλινική νεογνολογία, με όσα θετικά αυτό συνεπάγεται, συμβάλλοντας έτσι και στην καλύτερη εκτίμηση της αιμόστασης στα νεογνά.

7. Abstract

Introduction-background: Coagulation system gradually matures throughout infancy until adulthood. Healthy neonates are born with an intrinsic hemostatic deficit directly associated with gestational age, birth weight and maturation of hepatic function. All factors of the coagulation-fibrinolysis system are immature in neonates when compared with infants, children or adults. However, studies have shown that this immaturity is functionally counterbalanced and therefore the risk for hemorrhage or thrombosis is not increased in healthy full-term or preterm newborns. This delicate hemostatic balance is deranged in sick neonates, predisposing in hemorrhage and/or thrombosis. Disseminated intravascular coagulation (DIC) is the most common and severe disorder of haemostasis in sick neonates, as neonatal period seems to be particularly vulnerable. In neonates DIC is not a primary diagnosis, but instead a secondary coagulation disorder that complicates various primary conditions, such as respiratory distress, severe asphyxia, NEC, liver dysfunction, and especially sepsis.

Sepsis is a common cause of morbidity and mortality in neonates with a prevalence of 1 to 10 per 1000 live births worldwide, while it causes about one fourth of all neonatal deaths. Its clinical signs are nonspecific and resemble those of a non-infectious disorder; thus, early diagnosis is a major challenge in the management of neonatal sepsis, especially at initial stages that may be indistinguishable from those caused by various non-infectious conditions. Course of septic neonates is dramatically aggravated and prognosis is worsened when DIC or MODS (multi-organ dysfunction syndrome) co-exist. Thus, the necessity to define diagnostic criteria that will help us in the early diagnosis of neonatal septicemia is of great importance, as a delay in treatment of severe bacterial infections could negatively affect the clinical outcome. Understanding of the multifactorial mechanism of coagulation is considered as a prerequisite for diagnosis of haemostatic disorders. Conventional coagulation tests such as prothrombin time and partial activated thromboplastin time, seems to be unable to provide any kind of information-indication for the functional status of platelets or fibrinolysis, and on the other hand present limitations in predicting bleeding and guiding transfusion therapy in critically ill patients. Rotational thromboelastometry (ROTEM) is an attractive method for rapid evaluation of the whole hemostatic status in neonates. Currently, no reference values exist for ROTEM assays in term and preterm neonates.

Objective: We aimed at establishing reference ranges for standard extrinsically activated ROTEM assay (EXTEM) in arterial blood samples of healthy term and preterm neonates, and to evaluate the potential role of EXTEM assay in the early detection of neonatal sepsis.

Material and methods: The population of this study is consisted of 282 healthy neonates including

198 term (>36⁺⁶ weeks' gestation) and 84 preterm neonates (<37 weeks' gestation), and 91 sick neonates categorized in two groups: group A included 35 neonates with confirmed sepsis, while group B included 56 neonates with suspected sepsis.

In the present study, EXTEM assay was performed in healthy neonates, on the 2nd - 3rd day of life for term neonates and on 2nd - 7th day of life (after their stabilization) for preterm neonates, using peripheral arterial whole blood samples. In sick neonates whenever sepsis was suspected, EXTEM assay was performed, Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension (SNAPPE) and Tollner score were calculated, and clinical findings and laboratory results were recorded.

Results: Median values and reference ranges (2.5th and 97.5th percentiles) for the following main parameters of EXTEM assay were determined in healthy term neonates: clotting time (seconds), 41 (range, 25.9-78); clot formation time (seconds), 70 (range, 40-165.2); maximum clot firmness (mm), 66 (range, 41-84.1); lysis index at 60 min (LI60, %), 97 (range, 85-100) and in healthy preterm neonates: clotting time (seconds), 44 (range, 32-64.9); clot formation time (seconds), 64 (range, 28.4-138.9); maximum clot firmness (mm), 64 (range, 49.1-83.9); lysis index at 60 min (LI60, %), 95 (range, 52.6-100).

The only parameter with a statistically significant difference between term and preterm neonates was LI60 ($p=0.006$). Furthermore, it was inversely correlated with gestational age ($p=0.002$) and birth weight ($p=0.016$) in preterm neonates.

Septic neonates had significantly prolonged clotting time (CT) and clot formation time (CFT), and reduced maximum clot firmness (MCF), compared to neonates with suspected sepsis (p values 0.001, 0.001, and 0.009, respectively) or healthy neonates (p values 0.001, 0.001, and 0.021, respectively). EXTEM parameters (CT, CFT, MCF) demonstrated a more intense hypocoagulable profile in septic neonates with hemorrhagic diathesis than those without (p values 0.021, 0.007, and 0.033, respectively). In septic neonates, CFT was correlated with platelet count, SNAPPE score, Tollner score, and day of full enteral feeding (p values 0.01, 0.02, 0.05, and 0.03, respectively). Regarding neonates with suspected sepsis, it is noteworthy that signs of hypercoagulability were observed, based on A10, α -angle, and CFT measurements, which significantly differed from those in healthy neonates (p values 0.014, < 0.001, 0.003, respectively)

Conclusions: In conclusion, an enhanced fibrinolytic activity in healthy preterm neonates was noted. For most EXTEM assay parameters, reference ranges obtained from arterial newborn blood samples were comparable with the respective values from other studies using arterial blood sample from

newborns. Modified reagents, small size samples, timing of sampling, and different kind of samples might account for any discrepancies among similar studies. Reference values hereby provided can be used in future studies.

However, taking into account the clear hypocoagulable profile noted at the early phase of neonatal sepsis, its diagnostic and prognostic value should be further studied. In conclusion, ROTEM may be a useful tool in the detection of coagulation abnormalities in neonatal sepsis and hypocoagulability could have diagnostic and prognostic applications.

Performing bedside global coagulation tests requiring small blood samples, like ROTEM, seems an attractive method for rapid, feasible evaluation of haemostasis in neonates and could possibly lead to significantly decreased transfusion requirements of term and preterm infants.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Leung, L.L. An overview of hemostasis 2018.
2. Furie, B. and B.C. Furie, *Mechanisms of thrombus formation*. N Engl J Med, 2008. **359**(9): p. 938-49.
3. Gale, A.J., *Continuing education course #2: current understanding of hemostasis*. Toxicol Pathol, 2011. **39**(1): p. 273-80.
4. Schulze, H. and R.A. Shivdasani, *Mechanisms of thrombopoiesis*. J Thromb Haemost, 2005. **3**(8): p. 1717-24.
5. Ogedegbe, H.O., *An overview of hemostasis*. 2002. **33**.
6. Virchow, R., *Cellular pathology. As based upon physiological and pathological histology. Lecture XVI--Atheromatous affection of arteries*. 1858. Nutr Rev, 1989. **47**(1): p. 23-5.
7. *How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory : approved guideline* 2nd ed. ed. 2000, Libraries Australia: Wayne, Pa. : National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000.
8. Watson, T., E. Shantsila, and G.Y. Lip, *Mechanisms of thrombogenesis in atrial fibrillation: Virchow's triad revisited*. Lancet, 2009. **373**(9658): p. 155-66.
9. Kriz, N., C.S. Rinder, and H.M. Rinder, *Physiology of hemostasis: with relevance to current and future laboratory testing*. Clin Lab Med, 2009. **29**(2): p. 159-74, v.
10. van Ommen, C.H. and M. Peters, *The bleeding child. Part I: primary hemostatic disorders*. Eur J Pediatr, 2012. **171**(1): p. 1-10.
11. Cines, D.B., et al., *Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders*. Blood, 1998. **91**(10): p. 3527-61.
12. Lasne, D., B. Jude, and S. Susen, *From normal to pathological hemostasis*. Can J Anaesth, 2006. **53**(6 Suppl): p. S2-11.
13. Triplett, D.A., *Coagulation and bleeding disorders: review and update*. Clin Chem, 2000. **46**(8 Pt 2): p. 1260-9.
14. Ignarro, L.J., et al., *Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(24): p. 9265-9.
15. Palmer, R.M., A.G. Ferrige, and S. Moncada, *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor*. Nature, 1987. **327**(6122): p. 524-6.
16. Marcus, A.J., M.J. Broekman, and D.J. Pinsky, *COX inhibitors and thromboregulation*. N Engl J Med, 2002. **347**(13): p. 1025-6.
17. Marcus, A.J., et al., *Role of CD39 (NTPDase-1) in thromboregulation, cerebroprotection, and cardioprotection*. Semin Thromb Hemost, 2005. **31**(2): p. 234-46.
18. Zucker-Franklin, D., *Megakaryocyte and platelet structure in thrombocytopoiesis: the effect of cytokines*. Stem Cells, 1996. **14** Suppl 1: p. 1-17.
19. Jackson, S.P., *The growing complexity of platelet aggregation*. Blood, 2007. **109**(12): p. 5087-95.
20. Ruggeri, Z.M., *The role of von Willebrand factor in thrombus formation*. Thromb Res, 2007. **120** Suppl 1: p. S5-9.
21. Varga-Szabo, D., I. Pleines, and B. Nieswandt, *Cell adhesion mechanisms in platelets*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008. **28**(3): p. 403-12.
22. van Zanten, G.H., et al., *Increased platelet deposition on atherosclerotic coronary arteries*. J Clin Invest, 1994. **93**(2): p. 615-32.
23. Goto, S., et al., *Distinct mechanisms of platelet aggregation as a consequence of different shearing flow conditions*. J Clin Invest, 1998. **101**(2): p. 479-86.
24. Kehrel, B., *Platelet receptors for collagens*. Platelets, 1995. **6**(1): p. 11-6.
25. Sakariassen, K.S., et al., *Role of platelet membrane glycoproteins and von Willebrand factor in adhesion of platelets to subendothelium and collagen*. Ann N Y Acad Sci, 1987. **516**: p. 52-65.
26. Rendu, F. and B. Brohard-Bohn, *The platelet release reaction: granules' constituents*,

- secretion and functions*. Platelets, 2001. **12**(5): p. 261-73.
27. Ren, Q., S. Ye, and S.W. Whiteheart, *The platelet release reaction: just when you thought platelet secretion was simple*. Curr Opin Hematol, 2008. **15**(5): p. 537-41.
 28. Mills, D.C., *ADP receptors on platelets*. Thromb Haemost, 1996. **76**(6): p. 835-56.
 29. Offermanns, S., *Activation of Platelet Function Through G Protein-Coupled Receptors*. Circulation Research, 2006. **99**(12): p. 1293.
 30. Dahlback, B., *Blood coagulation*. Lancet, 2000. **355**(9215): p. 1627-32.
 31. Mann, K.G. and L. Lorand, *Introduction: blood coagulation*. Methods Enzymol, 1993. **222**: p. 1-10.
 32. Furie, B. and B.C. Furie, *Molecular and cellular biology of blood coagulation*. N Engl J Med, 1992. **326**(12): p. 800-6.
 33. Davie, E.W., *Biochemical and molecular aspects of the coagulation cascade*. Thromb Haemost, 1995. **74**(1): p. 1-6.
 34. Falati, S., et al., *Real-time in vivo imaging of platelets, tissue factor and fibrin during arterial thrombus formation in the mouse*. Nat Med, 2002. **8**(10): p. 1175-81.
 35. Furie, B., *Pathogenesis of thrombosis*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2009: p. 255-8.
 36. Shimada, K., et al., *Anticoagulant heparin-like glycosaminoglycans on endothelial cell surface*. Jpn Circ J, 1991. **55**(10): p. 1016-21.
 37. Renne, T., et al., *In vivo roles of factor XII*. Blood, 2012. **120**(22): p. 4296-303.
 38. Loof, T.G., C. Deicke, and E. Medina, *The role of coagulation/fibrinolysis during Streptococcus pyogenes infection*. Front Cell Infect Microbiol, 2014. **4**: p. 128.
 39. Schmaier, A.H. and K.R. McCrae, *The plasma kallikrein-kinin system: its evolution from contact activation*. J Thromb Haemost, 2007. **5**(12): p. 2323-9.
 40. Zogg, T. and H. Brandstetter, *Activation mechanisms of coagulation factor IX*. Biol Chem, 2009. **390**(5-6): p. 391-400.
 41. Kirchhofer, D. and Y. Nemerson, *Initiation of blood coagulation: the tissue factor/factor VIIa complex*. Curr Opin Biotechnol, 1996. **7**(4): p. 386-91.
 42. Walker, R.K. and S. Krishnaswamy, *The activation of prothrombin by the prothrombinase complex. The contribution of the substrate-membrane interaction to catalysis*. J Biol Chem, 1994. **269**(44): p. 27441-50.
 43. Palta, S., R. Saroa, and A. Palta, *Overview of the coagulation system*. Indian J Anaesth, 2014. **58**(5): p. 515-23.
 44. Weisel, J.W. and R.I. Litvinov, *Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications*. Blood, 2013. **121**(10): p. 1712-9.
 45. Hoffman, M. and D.M. Monroe, 3rd, *A cell-based model of hemostasis*. Thromb Haemost, 2001. **85**(6): p. 958-65.
 46. Colvin, B.T., *Physiology of haemostasis*. Vox Sang, 2004. **87 Suppl1**: p. 43-6.
 47. Opal, S.M., et al., *Antithrombin, heparin, and heparan sulfate*. Crit Care Med, 2002. **30**(5 Suppl): p. S325-31.
 48. Price, G.C., S.A. Thompson, and P.C. Kam, *Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor*. Anaesthesia, 2004. **59**(5): p. 483-92.
 49. Dahm, A.E., P.M. Sandset, and F.R. Rosendaal, *The association between protein S levels and anticoagulant activity of tissue factor pathway inhibitor type 1*. J Thromb Haemost, 2008. **6**(2): p. 393-5.
 50. Esmon, C.T. and W.G. Owen, *Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1981. **78**(4): p. 2249-52.
 51. Rigby, A.C. and M.A. Grant, *Protein S: a conduit between anticoagulation and inflammation*. Crit Care Med, 2004. **32**(5 Suppl): p. S336-41.
 52. Dahlbäck, B. and B.O. Villoutreix, *The anticoagulant protein C pathway*. FEBS Letters, 2005. **579**(15): p. 3310-3316.

53. Chapin, J.C. and K.A. Hajjar, *Fibrinolysis and the control of blood coagulation*. Blood Rev, 2015. **29**(1): p. 17-24.
54. Gabriela Cesarman-Maus, K.A.H., *Molecular mechanisms of fibrinolysis*. British Journal of Haematology, 2005. **129**.
55. Pinheiro, M.B., K.B. Gomes, and L.M.S. Dusse, *Fibrinolytic system in preeclampsia*. Clinica Chimica Acta, 2013. **416**: p. 67-71.
56. Paniccia, R., et al., *Platelet function tests: a comparative review*. Vasc Health Risk Manag, 2015. **11**: p. 133-48.
57. Linden, M.D., et al., *Application of flow cytometry to platelet disorders*. Semin Thromb Hemost, 2004. **30**(5): p. 501-11.
58. Pati, H.P. and S. Jain, *Flow cytometry in hematological disorders*. Indian J Pediatr, 2013. **80**(9): p. 772-8.
59. Carubbi, C., et al., *Cytofluorimetric platelet analysis*. Semin Thromb Hemost, 2014. **40**(1): p. 88-98.
60. Kottke-Marchant, K. and G. Corcoran, *The laboratory diagnosis of platelet disorders*. Arch Pathol Lab Med, 2002. **126**(2): p. 133-46.
61. Hayward, C.P., et al., *Diagnostic utility of light transmission platelet aggregometry: results from a prospective study of individuals referred for bleeding disorder assessments*. J Thromb Haemost, 2009. **7**(4): p. 676-84.
62. Podda G, F.E., Pugliano M, Cattaneo M, *Congenital defects of platelets function*. Platelets, 2012. **23**(7): p. 552-563
63. Gadisseur, A., et al., *Laboratory diagnosis and molecular classification of von Willebrand disease*. Acta Haematol, 2009. **121**(2-3): p. 71-84.
64. Duke, W.W., *The relation of blood platelets to hemorrhagic disease*. By W.W. Duke. Jama, 1983. **250**(9): p. 1201-9.
65. Quick, A.J., *The bleeding time as a test of hemostatic function*. Am J Clin Pathol, 1975. **64**(1): p. 87-94.
66. Favalaro, E.J., *Clinical application of the PFA-100*. Curr Opin Hematol, 2002. **9**(5): p. 407-15.
67. Michelson, A.D., A.L. Frelinger, 3rd, and M.I. Furman, *Current options in platelet function testing*. Am J Cardiol, 2006. **98**(10a): p. 4n-10n.
68. Harrison, P., *The role of PFA-100 testing in the investigation and management of haemostatic defects in children and adults*. Br J Haematol, 2005. **130**(1): p. 3-10.
69. Hayward, C.P., et al., *Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function*. J Thromb Haemost, 2006. **4**(2): p. 312-9.
70. Thiruvengatarajan, V., A. Pruet, and S.D. Adhikary, *Coagulation testing in the perioperative period*. Indian J Anaesth, 2014. **58**(5): p. 565-72.
71. Adhikary, S. and B. Krishnan, *The cricoid pressure*. Indian Journal of Anaesthesia, 2005. **49**(1): p. 12-12.
72. Kamal, A.H., A. Tefferi, and R.K. Pruthi, *How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults*. Mayo Clin Proc, 2007. **82**(7): p. 864-73.
73. Miesbach, W., et al., *Comparison of the fibrinogen Clauss assay and the fibrinogen PT derived method in patients with dysfibrinogenemia*. Thromb Res, 2010. **126**(6): p. e428-33.
74. Xu, X., K.A. Bauer, and J.H. Griffin, *Two multiplex PCR-based DNA assays for the thrombosis risk factors prothrombin G20210A and coagulation factor V G1691A polymorphisms*. Thromb Res, 1999. **93**(6): p. 265-9.
75. Chandler, W.L., et al., *Standardization of methods for measuring plasminogen activator inhibitor activity in human plasma*. Clin Chem, 1989. **35**(5): p. 787-93.
76. Eriksson, E., et al., *Determination of plasminogen activator inhibitor in plasma using t-PA and a chromogenic single-point poly-D-lysine stimulated assay*. Thromb Res, 1988. **50**(1): p. 91-101.

77. Declerck, P.J., et al., *Measurement of plasminogen activator inhibitor 1 in biologic fluids with a murine monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay*. Blood, 1988. **71**(1): p. 220-5.
78. Carpenter, S.L. and P. Mathew, *Alpha2-antiplasmin and its deficiency: fibrinolysis out of balance*. Haemophilia, 2008. **14**(6): p. 1250-4.
79. Reverdiau-Moalic, P., et al., *Evolution of blood coagulation activators and inhibitors in the healthy human fetus*. Blood, 1996. **88**(3): p. 900-6.
80. Cade, J.F., J. Hirsh, and M. Martin, *Placental barrier to coagulation factors: its relevance to the coagulation defect at birth and to haemorrhage in the newborn*. Br Med J, 1969. **2**(5652): p. 281-3.
81. Dube, B., et al., *Hemostatic parameters in newborn--I. Effect of gestation and rate of intrauterine growth*. Thromb Haemost, 1986. **55**(1): p. 47-50.
82. Andrew, M., B. Paes, and M. Johnston, *Development of the hemostatic system in the neonate and young infant*. Am J Pediatr Hematol Oncol, 1990. **12**(1): p. 95-104.
83. Terwiel, J.P., et al., *Coagulation factors in the premature infant born after about 32 weeks of gestation*. Biol Neonate, 1985. **47**(1): p. 9-18.
84. Holmberg L, H.P., Ekelund H, Astedt B, : *Coagulation in the human fetus. Comparison with term newborn infants*. J Pediatrics 1974. **85**: p. 860.
85. Barnard, D.R., M.A. Simmons, and W.E. Hathaway, *Coagulation studies in extremely premature infants*. Pediatr Res, 1979. **13**(12): p. 1330-5.
86. Tenviel JP, V.J., Bertina RM, Muller HP, *Coagulation factors in the human fetus of about 20 weeks of gestational age*. Br J Haematol, 1980. **45**: p. 641.
87. Daffos, F., M. Capella-Pavlovsky, and F. Forestier, *Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: a study of 606 consecutive cases*. Am J Obstet Gynecol, 1985. **153**(6): p. 655-60.
88. Daffos, F., et al., *Prenatal diagnosis and management of bleeding disorders with fetal blood sampling*. Am J Obstet Gynecol, 1988. **158**(4): p. 939-46.
89. Patrick Hohlfeld, F.F., CBcile Kaplan, Jean-Daniel Tissot, Fernand Daffos *Fetal Thrombocytopenia: A Retrospective Survey of 5,194. Fetal Blood Samplings* Blood 1994. **84**(6): p. 1851-1856
90. Forestier F, D.F., Galactos F, Bardakjian J, Rainaut M, Beuzard Y, *Hematological values of 163 normal fetuses between 18 and 30 weeks of gestation*. Pediatr Res, 1986. **20**: p. 342.
91. Hathaway, S.J.a.R.R.M.a.W.E., *Newborn factor VIII complex: elevated activities in term infants and alterations in electrophoretic mobility related to illness and activated coagulation*. British journal of haematology, 1981. **474**: p. 597-606.
92. Monagle, P. and P. Massicotte, *Developmental haemostasis: Secondary haemostasis*. Seminars in Fetal and Neonatal Medicine. **16**(6): p. 294-300.
93. Andrew, M., et al., *Development of the human coagulation system in the full-term infant*. Blood, 1987. **70**(1): p. 165-72.
94. Andrew, M., et al., *Maturation of the hemostatic system during childhood*. Blood, 1992. **80**(8): p. 1998-2005.
95. Andrew, M., et al., *Development of the human coagulation system in the healthy premature infant*. Blood, 1988. **72**(5): p. 1651-7.
96. Manco-Johnson, M.J., *1A.3 Development of hemostasis in the fetus and neonate*. Thrombosis Research. **119**: p. S4-S5.
97. Manco-Johnson, M.J., *Development of hemostasis in the fetus and neonate*. Thrombosis Research 2007. **119**(1): p. S1-S96.
98. Manco-Johnson, M.J., *Development of hemostasis in the fetus*. Thrombosis research, 2005. **115 Suppl 1**: p. 55-63.
99. Pichler, E. and L. Pichler, *The neonatal coagulation system and the vitamin K deficiency*

- bleeding – a mini review*. Wiener Medizinische Wochenschrift, 2008. **158**(13): p. 385-395.
100. Bleyer, W.A., N. Hakami, and T.H. Shepard, *The development of hemostasis in the human fetus and newborn infant*. J Pediatr, 1971. **79**(5): p. 838-53.
 101. Male, C., et al., *The influence of developmental haemostasis on the laboratory diagnosis and management of haemostatic disorders during infancy and childhood*. Clin Lab Med, 1999. **19**(1): p. 39-69.
 102. Chalmers, E.A., *Haemophilia and the newborn*. Blood Rev, 2004. **18**(2): p. 85-92.
 103. Del Vecchio, A., M. Motta, and C. Romagnoli, *Neonatal Platelet Function*. Clin Perinatol, 2015. **42**(3): p. 625-38.
 104. Kuhne, T. and P. Imbach, *Neonatal platelet physiology and pathophysiology*. Eur J Pediatr, 1998. **157**(2): p. 87-94.
 105. Sola-Visner, M., *Platelets in the neonatal period: developmental differences in platelet production, function, and hemostasis and the potential impact of therapies*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2012. **2012**: p. 506-11.
 106. Wiedmeier, S.E., et al., *Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47,000 patients in a multihospital healthcare system*. J Perinatol, 2009. **29**(2): p. 130-6.
 107. Murray, N.A., T.L. Watts, and I.A. Roberts, *Endogenous thrombopoietin levels and effect of recombinant human thrombopoietin on megakaryocyte precursors in term and preterm babies*. Pediatr Res, 1998. **43**(1): p. 148-51.
 108. Sola, M.C., et al., *Plasma thrombopoietin concentrations in thrombocytopenic and non-thrombocytopenic patients in a neonatal intensive care unit*. Br J Haematol, 1999. **104**(1): p. 90-2.
 109. Murray, N.A. and I.A. Roberts, *Circulating megakaryocytes and their progenitors in early thrombocytopenia in preterm neonates*. Pediatr Res, 1996. **40**(1): p. 112-9.
 110. Israels, S.J., M.L. Rand, and A.D. Michelson, *Neonatal platelet function*. Semin Thromb Hemost, 2003. **29**(4): p. 363-72.
 111. Haley, K.M., M. Recht, and O.J. McCarty, *Neonatal platelets: mediators of primary hemostasis in the developing hemostatic system*. Pediatr Res, 2014. **76**(3): p. 230-7.
 112. Strauss, T., R. Sidlik-Muskatel, and G. Kenet, *Developmental hemostasis: primary hemostasis and evaluation of platelet function in neonates*. Semin Fetal Neonatal Med, 2011. **16**(6): p. 301-4.
 113. Bednarek, F.J., et al., *The platelet hyporeactivity of extremely low birth weight neonates is age-dependent*. Thromb Res, 2009. **124**(1): p. 42-5.
 114. Rajasekhar, D., et al., *Platelet hyporeactivity in very low birth weight neonates*. Thromb Haemost, 1997. **77**(5): p. 1002-7.
 115. Saxonhouse, M.A. and M.C. Sola, *Platelet function in term and preterm neonates*. Clin Perinatol, 2004. **31**(1): p. 15-28.
 116. Hezard N, A.C., Leroux B, et al., *Platelet hyporeactivity in healthy children remains beyond the neonatal period* Blood Rev, 2002. **100**: p. 69
 117. Strauss, T., et al., *Impaired platelet function in neonates born to mothers with diabetes or hypertension during pregnancy*. Klin Padiatr, 2010. **222**(3): p. 154-7.
 118. Knobler, H., et al., *Shear-induced platelet adhesion and aggregation on subendothelium are increased in diabetic patients*. Thromb Res, 1998. **90**(4): p. 181-90.
 119. Kudolo, G.B., et al., *Chronic hyperinsulinemia inhibits platelet-activating factor (PAF) biosynthesis in the rat kidney*. J Lipid Mediat Cell Signal, 1997. **16**(1): p. 23-37.
 120. Ts'ao, C.H., D. Green, and K. Schultz, *Function and ultrastructure of platelets of neonates: enhanced ristocetin aggregation of neonatal platelets*. Br J Haematol, 1976. **32**(2): p. 225-33.
 121. Loudon, K.A., et al., *Neonatal platelet reactivity and serum thromboxane B2 production in whole blood: the effect of maternal low dose aspirin*. British journal of obstetrics and gynaecology, 1994. **101**(3): p. 203-208.

122. Del Vecchio, A., et al., *Template bleeding times of 240 neonates born at 24 to 41 weeks gestation*. J Perinatol, 2008. **28**(6): p. 427-31.
123. Toomey, J.R., et al., *Targeted disruption of the murine tissue factor gene results in embryonic lethality*. Blood, 1996. **88**(5): p. 1583-7.
124. Streif, W., et al., *Influence of exogenous factor VIIa on thrombin generation in cord plasma of full-term and pre-term newborns*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2000. **11**(4): p. 349-57.
125. Cvirn, G., et al., *Low tissue factor pathway inhibitor (TFPI) together with low antithrombin allows sufficient thrombin generation in neonates*. J Thromb Haemost, 2003. **1**(2): p. 263-8.
126. Manco-Johnson, M.J., et al., *Development of coagulation regulatory proteins in the fetal and neonatal lamb*. Pediatr Res, 2002. **52**(4): p. 580-8.
127. Manco-Johnson, M. and R. Nuss, *Hemostasis in the Neonate*. NeoReviews, 2000. **1**(10): p. e191-e195.
128. Gruel, Y., et al., *Determination of platelet antigens and glycoproteins in the human fetus*. Blood, 1986. **68**(2): p. 488-92.
129. Reverdiau-Moalic, P., et al., *Comparative study of the fibrinolytic system in human fetuses and in pregnant women*. Thromb Res, 1991. **61**(5-6): p. 489-99.
130. Monagle, P. and P. Massicotte, *Developmental haemostasis: secondary haemostasis*. Semin Fetal Neonatal Med, 2011. **16**(6): p. 294-300.
131. Ahlsten, G., U. Ewald, and T. Tuvemo, *Arachidonic acid-induced aggregation of platelets from human cord blood compared with platelets from adults*. Biol Neonate, 1985. **47**(4): p. 199-204.
132. Landolfi, R., et al., *Placental-derived PGI2 inhibits cord blood platelet function*. Haematologica, 1988. **73**(3): p. 207-10.
133. Kosztolanyi, G., et al., *ADP induced surface charge changes of adult and newborn platelets*. Br J Haematol, 1980. **46**(2): p. 257-62.
134. Stuart, M.J., *The neonatal platelet: evaluation of platelet malonyl dialdehyde formation as an indicator of prostaglandin synthesis*. Br J Haematol, 1978. **39**(1): p. 83-90.
135. Stuart, M.J. and J. Dusse, *In vitro comparison of the efficacy of cyclooxygenase inhibitors on the adult versus neonatal platelet*. Biol Neonate, 1985. **47**(5): p. 265-9.
136. Ambrus, C.M., et al., *Studies on the prevention of respiratory distress syndrome of infants due to hyaline membrane disease with plasminogen*. Semin Thromb Hemost, 1975. **2**(1): p. 42-51.
137. Aarts, P.A., et al., *Red blood cell size is important for adherence of blood platelets to artery subendothelium*. Blood, 1983. **62**(1): p. 214-7.
138. Jones, C.R., et al., *Maternal and fetal platelet responses and adrenoceptor binding characteristics*. Thromb Haemost, 1985. **53**(1): p. 95-8.
139. Burgess C, C.P., Kahir K., *An evaluation of the usefulness of the PFA-100 device in 60 consecutive paediatric patients referred for investigation of potential haemostatic disorders*. Thromb Haemost, 2001: p. 378.
140. Carcao, M.D., et al., *The Platelet Function Analyzer (PFA-100): a novel in-vitro system for evaluation of primary haemostasis in children*. Br J Haematol, 1998. **101**(1): p. 70-3.
141. Stuart, M., et al., *Effect of amniotic fluid on platelet thromboxane production*. J Pediatr, 1987. **110**(2): p. 289-92.
142. Tate, D.Y., et al., *Immune thrombocytopenia in severe neonatal infections*. J Pediatr, 1981. **98**(3): p. 449-53.
143. Podolsak, B., *Thrombopoiesis in newborn infants after exchange blood transfusion*. Z Kinderheilkd, 1973. **114**(1): p. 13-26.
144. Patrick, C.H. and J. Lazarchick, *The effect of bacteremia on automated platelet measurements in neonates*. Am J Clin Pathol, 1990. **93**(3): p. 391-4.
145. Witt, I. and H. Müller, *Phosphorus and hexose content of human foetal fibrinogen*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure, 1970. **221**(2): p. 402-404.
146. Hamulyak, K., et al., *Reevaluation of some properties of fibrinogen, purified from cord blood*

- of normal newborns*. Thromb Res, 1983. **32**(3): p. 301-10.
147. Witt, I., H. Muller, and W. Kunzer, *Evidence for the existence of foetal fibrinogen*. Thromb Diath Haemorrh, 1969. **22**(1): p. 101-9.
148. Miller, B.E., et al., *Fibrinogen in children undergoing cardiac surgery: is it effective?* Anesth Analg, 2004. **99**(5): p. 1341-6; table of contents.
149. Dang, C.V., et al., *Fibrinogen sialic acid residues are low affinity calcium-binding sites that influence fibrin assembly*. J Biol Chem, 1989. **264**(25): p. 15104-8.
150. Ignjatovic, V., A. Ilhan, and P. Monagle, *Evidence for age-related differences in human fibrinogen*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2011. **22**(2): p. 110-7.
151. Manco-Johnson, M.J., et al., *Identification of a unique form of protein C in the ovine fetus: developmentally linked transition to the adult form*. Pediatr Res, 1995. **37**(3): p. 365-72.
152. Monagle, P., V. Ignjatovic, and H. Savoia, *Hemostasis in neonates and children: pitfalls and dilemmas*. Blood Rev, 2010. **24**(2): p. 63-8.
153. Taylor, F.B., Jr. and G.T. Kinasewitz, *The diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation*. Curr Hematol Rep, 2002. **1**(1): p. 34-40.
154. Olson, S.T., I. Bjork, and J.D. Shore, *Kinetic characterization of heparin-catalyzed and uncatalyzed inhibition of blood coagulation proteinases by antithrombin*. Methods Enzymol, 1993. **222**: p. 525-59.
155. Carrell, R.W., et al., *Biological implications of a 3 A structure of dimeric antithrombin*. Structure, 1994. **2**(4): p. 257-70.
156. Schreuder, H.A., et al., *The intact and cleaved human antithrombin III complex as a model for serpin-proteinase interactions*. Nat Struct Biol, 1994. **1**(1): p. 48-54.
157. Levi, M., *All heparins are equal, but some are more equal than others*. J Thromb Haemost, 2003. **1**(5): p. 884-5.
158. Chan, A.K., et al., *Isoform composition of antithrombin in a covalent antithrombin-heparin complex*. Biochem Biophys Res Commun, 2003. **309**(4): p. 986-91.
159. Picard, V., E. Ersdal-Badju, and S.C. Bock, *Partial glycosylation of antithrombin III asparagine-135 is caused by the serine in the third position of its N-glycosylation consensus sequence and is responsible for production of the beta-antithrombin III isoform with enhanced heparin affinity*. Biochemistry, 1995. **34**(26): p. 8433-40.
160. Carlson, T.H., A.C. Atencio, and T.L. Simon, *Comparison of the behaviour in vivo of two molecular forms of antithrombin III*. Biochem J, 1985. **225**(3): p. 557-64.
161. Witmer, M.R. and M.W. Hatton, *Antithrombin III-beta associates more readily than antithrombin III-alpha with uninjured and de-endothelialized aortic wall in vitro and in vivo*. Arterioscler Thromb, 1991. **11**(3): p. 530-9.
162. Turk, B., et al., *The oligosaccharide side chain on Asn-135 of alpha-antithrombin, absent in beta-antithrombin, decreases the heparin affinity of the inhibitor by affecting the heparin-induced conformational change*. Biochemistry, 1997. **36**(22): p. 6682-91.
163. Schedin-Weiss, S., et al., *Antiangiogenic forms of antithrombin specifically bind to the anticoagulant heparin sequence*. Biochemistry, 2008. **47**(51): p. 13610-9.
164. Adcock, D.M., et al., *The hemostatic system and malignancy*. Clin Lymphoma Myeloma, 2008. **8**(4): p. 230-6.
165. Akl, E.A., et al., *Parenteral anticoagulation for prolonging survival in patients with cancer who have no other indication for anticoagulation*. Cochrane Database Syst Rev, 2007(3): p. Cd006652.
166. Wojtukiewicz, M.Z., E. Sierko, and J. Rak, *Contribution of the hemostatic system to angiogenesis in cancer*. Semin Thromb Hemost, 2004. **30**(1): p. 5-20.
167. Niessen, R.W., et al., *Fetal and neonatal development of antithrombin III plasma activity and liver messenger RNA levels in sheep*. Pediatr Res, 1996. **39**(4 Pt 1): p. 685-91.
168. SCHMIDT, B., et al., *A Placebo-controlled Randomized Trial of Antithrombin Therapy in Neonatal Respiratory Distress Syndrome*. American Journal of Respiratory and Critical Care

- Medicine, 1998. **158**(2): p. 470-476.
169. Conway, J.H. and M.W. Hilgartner, *Initial presentations of pediatric hemophiliacs*. Arch Pediatr Adolesc Med, 1994. **148**(6): p. 589-94.
170. Chambost, H., et al., *What factors influence the age at diagnosis of hemophilia? Results of the French hemophilia cohort*. J Pediatr, 2002. **141**(4): p. 548-52.
171. Kulkarni, R. and J. Lusher, *Perinatal management of newborns with haemophilia*. Br J Haematol, 2001. **112**(2): p. 264-74.
172. Yoffe, G. and G.R. Buchanan, *Intracranial hemorrhage in newborn and young infants with hemophilia*. J Pediatr, 1988. **113**(2): p. 333-6.
173. Myles, L.M., P. Massicotte, and J. Drake, *Intracranial hemorrhage in neonates with unrecognized hemophilia A: a persisting problem*. Pediatr Neurosurg, 2001. **34**(2): p. 94-7.
174. *Guidelines on the selection and use of therapeutic products to treat haemophilia and other hereditary bleeding disorders*. Haemophilia, 2003. **9**(1): p. 1-23.
175. Sadler, J.E., *A revised classification of von Willebrand disease. For the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis*. Thromb Haemost, 1994. **71**(4): p. 520-5.
176. Peyvandi, F. and P.M. Mannucci, *Rare coagulation disorders*. Thromb Haemost, 1999. **82**(4): p. 1207-14.
177. Chalmers, E.A., *Neonatal coagulation problems*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2004. **89**(6): p. F475-8.
178. Sutor, A.H., et al., *Vitamin K deficiency bleeding (VKDB) in infancy. ISTH Pediatric/Perinatal Subcommittee. International Society on Thrombosis and Haemostasis*. Thromb Haemost, 1999. **81**(3): p. 456-61.
179. Williams, M.D., E.A. Chalmers, and B.E. Gibson, *The investigation and management of neonatal haemostasis and thrombosis*. Br J Haematol, 2002. **119**(2): p. 295-309.
180. Hansen, K.N. and F. Ebbesen, *Neonatal vitamin K prophylaxis in Denmark: three years' experience with oral administration during the first three months of life compared with one oral administration at birth*. Acta Paediatr, 1996. **85**(10): p. 1137-9.
181. Cornelissen, M., et al., *Prevention of vitamin K deficiency bleeding: efficacy of different multiple oral dose schedules of vitamin K*. Eur J Pediatr, 1997. **156**(2): p. 126-30.
182. von Kries, R., A. Hachmeister, and U. Gobel, *Oral mixed micellar vitamin K for prevention of late vitamin K deficiency bleeding*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2003. **88**(2): p. F109-12.
183. Shirahata, A., Y. Shirakawa, and C. Murakami, *Diagnosis of DIC in very low birth weight infants*. Semin Thromb Hemost, 1998. **24**(5): p. 467-71.
184. Schmidt, B., et al., *Do coagulation screening tests detect increased generation of thrombin and plasmin in sick newborn infants? Thrombosis and haemostasis*, 1993. **69**(5): p. 418-421.
185. Aronis, S., et al., *Indications of coagulation and/or fibrinolytic system activation in healthy and sick very-low-birth-weight neonates*. Biol Neonate, 1998. **74**(5): p. 337-44.
186. Veldman, A., et al., *Disseminated intravascular coagulation in term and preterm neonates*. Semin Thromb Hemost, 2010. **36**(4): p. 419-28.
187. Hudson, I.R., et al., *Increased concentrations of D-dimers in newborn infants*. Arch Dis Child, 1990. **65**(4 Spec No): p. 383-4.
188. Toh, C.H. and M. Dennis, *Current Clinical Practice DIC 2002: A Review of Disseminated Intravascular Coagulation*. Hematology, 2003. **8**(2): p. 65-71.
189. Shorr, A.F., et al., *Protein C: a potential biomarker in severe sepsis and a possible tool for monitoring treatment with drotrecogin alfa (activated)*. Crit Care, 2008. **12**(2): p. R45.
190. Kreuz, W., et al., *Neonatal sepsis: a challenge in hemostaseology*. Seminars in thrombosis and hemostasis, 1999. **25**(6): p. 531-535.
191. Lauterbach, R., et al., *Plasma antithrombin III and protein C levels in early recognition of late-onset sepsis in newborns*. European journal of pediatrics, 2006. **165**(9): p. 585-589.
192. El Beshlawy, A., et al., *Study of protein C, protein S, and antithrombin III in newborns with*

- sepsis*. *Pediatr Crit Care Med*, 2010. **11**(1): p. 52-9.
193. Ettingshausen, C.E., et al., *Replacement therapy with protein C concentrate in infants and adolescents with meningococcal sepsis and purpura fulminans*. *Semin Thromb Hemost*, 1999. **25**(6): p. 537-41.
194. Venkataseshan, S., et al., *Low plasma protein C values predict mortality in low birth weight neonates with septicemia*. *Pediatr Infect Dis J*, 2007. **26**(8): p. 684-8.
195. Roberts, I. and N.A. Murray, *Neonatal thrombocytopenia: causes and management*. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2003. **88**(5): p. F359-64.
196. Bernard, G.R., et al., *Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis*. *N Engl J Med*, 2001. **344**(10): p. 699-709.
197. Kylat, R.I. and A. Ohlsson, *Recombinant human activated protein C for severe sepsis in neonates*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2012(4): p. Cd005385.
198. *Guidelines for the use of platelet transfusions*. *Br J Haematol*, 2003. **122**(1): p. 10-23.
199. Viviana Bacciedoni, M.D.a., b, Myriam Attie, M.D.c and a.H.D. , M.D.d, *Thrombosis in newborn infants*. *Arch Argent Pediatr* 2016. **114**(2): p. 159-166.
200. Greenway, A., M.P. Massicotte, and P. Monagle, *Neonatal thrombosis and its treatment*. *Blood Rev*, 2004. **18**(2): p. 75-84.
201. Schmidt, B. and M. Andrew, *Neonatal thrombosis: report of a prospective Canadian and international registry*. *Pediatrics*, 1995. **96**(5 Pt 1): p. 939-43.
202. O'Neill, J.A., Jr., W.W. Neblett, 3rd, and M.L. Born, *Management of major thromboembolic complications of umbilical artery catheters*. *J Pediatr Surg*, 1981. **16**(6): p. 972-8.
203. Oppenheimer, D.A., B.A. Carroll, and K.E. Garth, *Ultrasonic detection of complications following umbilical arterial catheterization in the neonate*. *Radiology*, 1982. **145**(3): p. 667-72.
204. Olinsky, A., F.G. Aitken, and J.M. Isdale, *Thrombus formation after umbilical arterial catheterisation. An angiographic study*. *S Afr Med J*, 1975. **49**(36): p. 1467-70.
205. Horgan, M.J., et al., *Effect of heparin infusates in umbilical arterial catheters on frequency of thrombotic complications*. *J Pediatr*, 1987. **111**(5): p. 774-8.
206. Seibert, J.J., et al., *Sonographic detection of neonatal umbilical-artery thrombosis: clinical correlation*. *AJR Am J Roentgenol*, 1987. **148**(5): p. 965-8.
207. Wright, N.B., et al., *Antenatal and neonatal renal vein thrombosis: new ultrasonic features with high frequency transducers*. *Pediatr Radiol*, 1996. **26**(9): p. 686-9.
208. Revel-Vilk, S., *The conundrum of neonatal coagulopathy*. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2012. **2012**: p. 450-4.
209. Saracco, P., et al., *Clinical Data of Neonatal Systemic Thrombosis*. *J Pediatr*, 2016. **171**: p. 60-6.e1.
210. Thornburg, C.D., et al., *Association between thrombosis and bloodstream infection in neonates with peripherally inserted catheters*. *Thromb Res*, 2008. **122**(6): p. 782-5.
211. Monagle, P., et al., *Antithrombotic therapy in neonates and children: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines*. *Chest*, 2012. **141**(2 Suppl): p. e737S-e801S.
212. Ergaz, Z., et al., *Clinical outcome of umbilical artery catheter-related thrombosis - a cohort study*. *J Perinatol*, 2012. **32**(12): p. 933-40.
213. Lynch, J.K., et al., *Report of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke workshop on perinatal and childhood stroke*. *Pediatrics*, 2002. **109**(1): p. 116-23.
214. Kirton, A., et al., *Risk factors and presentations of periventricular venous infarction vs arterial presumed perinatal ischemic stroke*. *Arch Neurol*, 2010. **67**(7): p. 842-8.
215. Raju, T.N., et al., *Ischemic perinatal stroke: summary of a workshop sponsored by the National Institute of Child Health and Human Development and the National Institute of Neurological Disorders and Stroke*. *Pediatrics*, 2007. **120**(3): p. 609-16.
216. Heller, C., et al., *Cerebral venous thrombosis in children: a multifactorial origin*. *Circulation*,

2003. **108**(11): p. 1362-7.
217. Moharir, M.D., et al., *A prospective outcome study of neonatal cerebral sinovenous thrombosis*. J Child Neurol, 2011. **26**(9): p. 1137-44.
218. Winyard, P.J., et al., *Perinatal renal venous thrombosis: presenting renal length predicts outcome*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2006. **91**(4): p. F273-8.
219. Zigman, A., et al., *Renal vein thrombosis: a 10-year review*. J Pediatr Surg, 2000. **35**(11): p. 1540-2.
220. Morag, I., et al., *Portal vein thrombosis in the neonate: risk factors, course, and outcome*. J Pediatr, 2006. **148**(6): p. 735-9.
221. Williams, S. and A.K. Chan, *Neonatal portal vein thrombosis: diagnosis and management*. Semin Fetal Neonatal Med, 2011. **16**(6): p. 329-39.
222. Morag, I., et al., *Childhood outcomes of neonates diagnosed with portal vein thrombosis*. J Paediatr Child Health, 2011. **47**(6): p. 356-60.
223. Kim, J.H., et al., *Does umbilical vein catheterization lead to portal venous thrombosis? Prospective US evaluation in 100 neonates*. Radiology, 2001. **219**(3): p. 645-50.
224. Hanmod, S.S., et al., *Neonatal Hemostatic Disorders: Issues and Challenges*. Semin Thromb Hemost, 2016. **42**(7): p. 741-751.
225. Auletta, M.J. and J.T. Headington, *Purpura fulminans: A cutaneous manifestation of severe protein c deficiency*. Archives of Dermatology, 1988. **124**(9): p. 1387-1391.
226. Revel-Vilk, S., *The conundrum of neonatal coagulopathy*. ASH Education Program Book, 2012. **2012**(1): p. 450-454.
227. Will, A., *Neonatal haemostasis and the management of neonatal thrombosis*. Br J Haematol, 2015. **169**(3): p. 324-32.
228. Monagle, P., et al., *Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories*. Thromb Haemost, 2006. **95**(2): p. 362-72.
229. Faraoni, D. and J.D. O'Leary, *Understanding developmental hemostasis through the use of viscoelastic tests of whole blood coagulation*. Minerva Anesthesiol, 2017. **83**(4): p. 347-349.
230. Baker-Groberg, S.M., et al., *Assessment of neonatal platelet adhesion, activation, and aggregation*. J Thromb Haemost, 2016. **14**(4): p. 815-27.
231. Diaz-Miron, J., J. Miller, and A.M. Vogel, *Neonatal hematology*. Seminars in Pediatric Surgery, 2013. **22**(4): p. 199-204.
232. Radicioni, M., et al., *Thromboelastography: might work in neonatology too?* J Matern Fetal Neonatal Med, 2012. **25 Suppl 4**: p. 18-21.
233. Wikkelso, A., et al., *Thromboelastography (TEG) or thromboelastometry (ROTEM) to monitor haemostatic treatment versus usual care in adults or children with bleeding*. Cochrane Database Syst Rev, 2016(8): p. Cd007871.
234. Jackson, G.N., K.J. Ashpole, and S.M. Yentis, *The TEG vs the ROTEM thromboelastography/thromboelastometry systems*. Anaesthesia, 2009. **64**(2): p. 212-5.
235. Luddington, R.J., *Thrombelastography/thromboelastometry*. Clin Lab Haematol, 2005. **27**(2): p. 81-90.
236. Whiting, P., et al., *Viscoelastic point-of-care testing to assist with the diagnosis, management and monitoring of haemostasis: a systematic review and cost-effectiveness analysis*. Health Technol Assess, 2015. **19**(58): p. 1-228, v-vi.
237. Gorlinger, K., et al., *Fast interpretation of thromboelastometry in non-cardiac surgery: reliability in patients with hypo-, normo-, and hypercoagulability*. Br J Anaesth, 2013. **110**(2): p. 222-30.
238. Lier, H., et al., *Thromboelastometry guided therapy of severe bleeding. Essener Runde algorithm*. Hamostaseologie, 2013. **33**(1): p. 51-61.
239. Whiting, D. and J.A. DiNardo, *TEG and ROTEM: Technology and clinical applications*. American Journal of Hematology, 2014. **89**(2): p. 228-232.
240. Crochemore, T., et al., *A new era of thromboelastometry*. Einstein (Sao Paulo), 2017. **15**(3): p.

- 380-385.
241. Anderson, L., et al., *Interoperator and Intraoperator Variability of Whole Blood Coagulation Assays: A Comparison of Thromboelastography and Rotational Thromboelastometry*. Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia, 2014. **28**(6): p. 1550-1557.
242. Abdelfattah, K. and M.W. Cripps, *Thromboelastography and Rotational Thromboelastometry use in trauma*. International Journal of Surgery, 2016. **33**: p. 196-201.
243. David, J.-S., et al., *Case Scenario: Management of Trauma-induced Coagulopathy in a Severe Blunt Trauma Patient*. Anesthesiology, 2013. **119**(1): p. 191-200.
244. Haas, T., et al., *Fibrinogen in craniostylosis surgery*. Anesth Analg, 2008. **106**(3): p. 725-31, table of contents.
245. Romlin, B.S., et al., *Earlier detection of coagulopathy with thromboelastometry during pediatric cardiac surgery: a prospective observational study*. Paediatr Anaesth, 2013. **23**(3): p. 222-7.
246. Osthaus, W.A., et al., *Equal effects of gelatin and hydroxyethyl starch (6% HES 130/0.42) on modified thromboelastography in children*. Acta Anaesthesiol Scand, 2009. **53**(3): p. 305-10.
247. Edwards, R.M., et al., *Parameters of thromboelastography in healthy newborns*. Am J Clin Pathol, 2008. **130**(1): p. 99-102.
248. Oswald, E., et al., *Thromboelastometry (ROTEM) in children: age-related reference ranges and correlations with standard coagulation tests*. Br J Anaesth, 2010. **105**(6): p. 827-35.
249. Walsh, M., et al., *Targeted Thromboelastographic (TEG) Blood Component and Pharmacologic Hemostatic Therapy in Traumatic and Acquired Coagulopathy*. Curr Drug Targets, 2016. **17**(8): p. 954-70.
250. Romlin, B.S., et al., *Intraoperative thromboelastometry is associated with reduced transfusion prevalence in pediatric cardiac surgery*. Anesth Analg, 2011. **112**(1): p. 30-6.
251. Motta, M., A.D. Vecchio, and G. Chirico, *Fresh Frozen Plasma Administration in the Neonatal Intensive Care Unit*. Clinics in Perinatology, 2015. **42**(3): p. 639-650.
252. Girelli, G., et al., *Recommendations for transfusion therapy in neonatology*. Blood Transfus, 2015. **13**(3): p. 484-97.
253. Jain, R., et al., *Blood and blood component therapy in neonates*. Indian J Pediatr, 2008. **75**(5): p. 489-95.
254. Murray, N.A. and I.A.G. Roberts, *Neonatal transfusion practice*. Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition, 2004. **89**(2): p. F101-F107.
255. Clevenger, B. and A. Kelleher, *Hazards of blood transfusion in adults and children*. Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain, 2014. **14**(3): p. 112-118.
256. Bone, R.C., et al., *Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine*. Chest, 1992. **101**(6): p. 1644-55.
257. Goldstein, B., B. Giroir, and A. Randolph, *International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics*. Pediatr Crit Care Med, 2005. **6**(1): p. 2-8.
258. Brierley, J., et al., *Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal septic shock: 2007 update from the American College of Critical Care Medicine*. Crit Care Med, 2009. **37**(2): p. 666-88.
259. Rhodes, A., et al., *Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016*. Intensive Care Med, 2017. **43**(3): p. 304-377.
260. Wynn, J.L., *Defining neonatal sepsis*. Curr Opin Pediatr, 2016. **28**(2): p. 135-40.
261. Wynn, J.L. and H.R. Wong, *Pathophysiology and treatment of septic shock in neonates*. Clin Perinatol, 2010. **37**(2): p. 439-79.
262. Derbala S. G., H.N.M., Eldin Hasan B. B., El-Sayed H. F., *Performance of the Hematological Scoring System for Early Diagnosis of Neonatal Sepsis in a Neonatal Intensive Care Unit of a Developing Country*. Infectious Diseases & Tropical Medicine 2017, 2017. **3**(4): p. 429.

263. Lawn, J.E., S. Cousens, and J. Zupan, *4 million neonatal deaths: when? Where? Why?* Lancet, 2005. **365**(9462): p. 891-900.
264. El-Sonbaty, M.M., et al., *Diagnostic utility of biomarkers in diagnosis of early stages of neonatal sepsis in neonatal intensive care unit in Egypt.* Egyptian Pediatric Association Gazette, 2016. **64**(2): p. 91-96.
265. Ayazi, P., et al., *Comparison of serum IL-1beta and C reactive protein levels in early diagnosis and management of neonatal sepsis.* Infez Med, 2014. **22**(4): p. 296-301.
266. Tsao, C.-M., S.-T. Ho, and C.-C. Wu, *Coagulation abnormalities in sepsis.* Acta Anaesthesiologica Taiwanica, 2015. **53**(1): p. 16-22.
267. Delabranche, X., J. Helms, and F. Meziani, *Immunohaemostasis: a new view on haemostasis during sepsis.* Ann Intensive Care, 2017. **7**(1): p. 117.
268. Leithäuser, B., et al., *Hemostatic abnormalities and the severity of illness in patients at the onset of clinically defined sepsis.* Intensive Care Medicine, 1996. **22**(7): p. 631-636.
269. Suffredini, A.F., P.C. Harpel, and J.E. Parrillo, *Promotion and subsequent inhibition of plasminogen activation after administration of intravenous endotoxin to normal subjects.* N Engl J Med, 1989. **320**(18): p. 1165-72.
270. Peters, K., et al., *Molecular basis of endothelial dysfunction in sepsis.* Cardiovasc Res, 2003. **60**(1): p. 49-57.
271. van der Poll, T. and M. Levi, *Crosstalk between inflammation and coagulation: the lessons of sepsis.* Curr Vasc Pharmacol, 2012. **10**(5): p. 632-8.
272. Cohen, J., *The immunopathogenesis of sepsis.* Nature, 2002. **420**(6917): p. 885-91.
273. Levi, M. and T. van der Poll, *Inflammation and coagulation.* Crit Care Med, 2010. **38**(2 Suppl): p. S26-34.
274. Petaja, J., *Inflammation and coagulation. An overview.* Thromb Res, 2011. **127** Suppl 2: p. S34-7.
275. Zeerleder, S., C.E. Hack, and W.A. Wuillemin, *Disseminated intravascular coagulation in sepsis.* Chest, 2005. **128**(4): p. 2864-75.
276. Hesselvik, J.F., et al., *Coagulation, fibrinolysis, and kallikrein systems in sepsis: relation to outcome.* Crit Care Med, 1989. **17**(8): p. 724-33.
277. Degen, J.L., T.H. Bugge, and J.D. Goguen, *Fibrin and fibrinolysis in infection and host defense.* J Thromb Haemost, 2007. **5** Suppl 1: p. 24-31.
278. Panigada, M., et al., *Assessment of Fibrinolysis in Sepsis Patients with Urokinase Modified Thromboelastography.* PLoS One, 2015. **10**(8): p. e0136463.
279. Gando, S., *Role of fibrinolysis in sepsis.* Semin Thromb Hemost, 2013. **39**(4): p. 392-9.
280. Toh, C.H. and M. Dennis, *Current clinical practice. DIC 2002: a review of disseminated intravascular coagulation.* Hematology, 2003. **8**(2): p. 65-71.
281. Kreuz, W., et al., *Neonatal sepsis: a challenge in hemostaseology.* Semin Thromb Hemost, 1999. **25**(6): p. 531-5.
282. Lauterbach, R., et al., *Plasma antithrombin III and protein C levels in early recognition of late-onset sepsis in newborns.* Eur J Pediatr, 2006. **165**(9): p. 585-9.
283. Ng, P.C. and H.S. Lam, *Biomarkers for late-onset neonatal sepsis: cytokines and beyond.* Clin Perinatol, 2010. **37**(3): p. 599-610.
284. Sharma, D., et al., *Biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis: a literature review.* The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2018. **31**(12): p. 1646-1659.
285. Muller, M.C., et al., *Utility of thromboelastography and/or thromboelastometry in adults with sepsis: a systematic review.* Crit Care, 2014. **18**(1): p. R30.
286. Levi, M. and J.C. Meijers, *DIC: which laboratory tests are most useful.* Blood Rev, 2011. **25**(1): p. 33-7.
287. Grant, H.W. and G.P. Hadley, *Prediction of neonatal sepsis by thromboelastography.* Pediatr Surg Int, 1997. **12**(4): p. 289-92.
288. Adamzik, M., et al., *Comparison of thromboelastometry with procalcitonin, interleukin 6, and*

- C-reactive protein as diagnostic tests for severe sepsis in critically ill adults.* Crit Care, 2010. **14**(5): p. R178.
289. Tollner, U., *Early diagnosis of septicemia in the newborn. Clinical studies and sepsis score.* Eur J Pediatr, 1982. **138**(4): p. 331-7.
290. Walsh, T.S., et al., *Prevalence, management, and outcomes of critically ill patients with prothrombin time prolongation in United Kingdom intensive care units.* Crit Care Med, 2010. **38**(10): p. 1939-46.
291. Mesquita Ramirez, M.N., L.E. Godoy, and E. Alvarez Barrientos, *SNAP II and SNAPPE II as Predictors of Neonatal Mortality in a Pediatric Intensive Care Unit: Does Postnatal Age Play a Role?* International Journal of Pediatrics, 2014. **2014**: p. 5.
292. Sundaram, V., et al., *Score for neonatal acute physiology II predicts mortality and persistent organ dysfunction in neonates with severe septicemia.* Indian Pediatr, 2009. **46**(9): p. 775-80.
293. Morse, S., et al., *A Systematic Review: The Utility of the Revised Version of the Score for Neonatal Acute Physiology Among Critically Ill Neonates.* J Perinat Neonatal Nurs, 2015. **29**(4): p. 315-44; quiz E2.
294. Ballard, J.L., et al., *New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants.* J Pediatr, 1991. **119**(3): p. 417-23.
295. Fenton, T.R. and J.H. Kim, *A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants.* BMC Pediatr, 2013. **13**: p. 59.
296. Ersdal, H.L., et al., *Birth Asphyxia: A Major Cause of Early Neonatal Mortality in a Tanzanian Rural Hospital.* Pediatrics, 2012. **129**(5): p. e1238-e1243.
297. Hankins, G.D. and M. Speer, *Defining the pathogenesis and pathophysiology of neonatal encephalopathy and cerebral palsy.* Obstet Gynecol, 2003. **102**(3): p. 628-36.
298. Jones, G. and A. Barker, *Reference Intervals.* The Clinical Biochemist Reviews, 2008. **29**(Suppl 1): p. S93-S97.
299. Strauss, T., et al., *Clot formation of neonates tested by thromboelastography correlates with gestational age.* Thromb Haemost, 2010. **103**(2): p. 344-50.
300. Cvirn, G., et al., *Clot strength: a comparison between cord and adult blood by means of thrombelastometry.* J Pediatr Hematol Oncol, 2008. **30**(3): p. 210-3.
301. Sidlik, R., et al., *Assessment of Functional Fibrinolysis in Cord Blood Using Modified Thromboelastography.* Pediatr Blood Cancer, 2016. **63**(5): p. 839-43.
302. Saxonhouse, M.A. and M.J. Manco-Johnson, *The evaluation and management of neonatal coagulation disorders.* Semin Perinatol, 2009. **33**(1): p. 52-65.
303. Parmar, N., et al., *The fibrinolytic system in newborns and children.* Clin Lab, 2006. **52**(3-4): p. 115-24.
304. Goldenberg, N.A., et al., *A new global assay of coagulation and fibrinolysis.* Thromb Res, 2005. **116**(4): p. 345-56.
305. Pinacho, A., et al., *Evaluation of the fibrinolytic system in full-term neonates.* Int J Clin Lab Res, 1995. **25**(3): p. 149-52.
306. Ries, M., et al., *In vitro fibrinolysis after adding low doses of plasminogen activators and plasmin generation with and without oxidative inactivation of plasmin inhibitors in newborns and adults.* Journal of pediatric hematology/oncology, 1996. **18**(4): p. 346-351.
307. Ignjatovic, V., G. Kenet, and P. Monagle, *Developmental hemostasis: recommendations for laboratories reporting pediatric samples.* J Thromb Haemost, 2012. **10**(2): p. 298-300.
308. Pichler, E. and L. Pichler, *The neonatal coagulation system and the vitamin K deficiency bleeding - a mini review.* Wien Med Wochenschr, 2008. **158**(13-14): p. 385-95.
309. Ostrowski, S.R., et al., *Consecutive thrombelastography clot strength profiles in patients with severe sepsis and their association with 28-day mortality: a prospective study.* J Crit Care, 2013. **28**(3): p. 317.e1-11.
310. Gonano, C., et al., *Four-day antithrombin therapy does not seem to attenuate hypercoagulability in patients suffering from sepsis.* Critical Care, 2006. **10**(6): p. R160-R160.

311. Schochl, H., et al., *Thromboelastometry (TEM) findings in disseminated intravascular coagulation in a pig model of endotoxemia*. Mol Med, 2011. **17**(3-4): p. 266-72.
312. Brenner, T., et al., *Viscoelastic and aggregometric point-of-care testing in patients with septic shock - cross-links between inflammation and haemostasis*. Acta Anaesthesiol Scand, 2012. **56**(10): p. 1277-90.
313. Sivula, M., et al., *Thromboelastometry in patients with severe sepsis and disseminated intravascular coagulation*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2009. **20**(6): p. 419-26.
314. Massion, P.B., et al., *Persistent hypocoagulability in patients with septic shock predicts greater hospital mortality: impact of impaired thrombin generation*. Intensive Care Med, 2012. **38**(8): p. 1326-35.
315. Durila, M., et al., *Early diagnostic markers of sepsis after oesophagectomy (including thromboelastography)*. BMC Anesthesiology, 2012. **12**(1): p. 12.
316. Adamzik, M., et al., *Comparison of thrombelastometry with simplified acute physiology score II and sequential organ failure assessment scores for the prediction of 30-day survival: a cohort study*. Shock, 2011. **35**(4): p. 339-42.
317. Lee, S.M., et al., *Prediction of Postnatal Growth Failure among Very Low Birth Weight Infants*. Scientific Reports, 2018. **8**(1): p. 3729.

Rozeta Sokou, Leontini Foudoulaki-Paparizos, Theodore Lytras, Aikaterini Konstantinidi, Martha Theodoraki, Ioannis Lambadariadis, Antonis Gounaris, Serena Valsami, Marianna Politou, Argyri Gialeraki, Georgios K. Nikolopoulos, Nicoletta Iacovidou, Stefanos Bonovas and Argirios E. Tsantes*

Reference ranges of thromboelastometry in healthy full-term and pre-term neonates

DOI 10.1515/cdm-2016-0931

Received October 14, 2016, accepted December 27, 2016

Abstract

Background: Rotational thromboelastometry (ROTEM) is an attractive method for rapid evaluation of hemostasis in neonates. Currently, no reference values exist for ROTEM assays in full-term and pre-term neonates. Our aim was to establish reference ranges for standard extrinsically activated ROTEM assay (EXTEM) in arterial blood samples of healthy full-term and pre-term neonates.

Methods: In the present study, EXTEM assay was performed in 198 full-term (≥ 37 weeks' gestation) and 84 pre-term infants (< 37 weeks' gestation) using peripheral arterial whole blood samples.

Results: Median values and reference ranges (2.5th and 97.5th percentiles) for the following main parameters

of EXTEM assay were determined in full-term infants: clotting time (seconds), 41 (range, 25.9–78); clot formation time (seconds), 70 (range, 40–165.2); maximum clot firmness (mm), 66 (range, 41–84.1); lysis index at 60 min (LI60, %), 97 (range, 85–100). The only parameter with a statistically significant difference between full-term and pre-term neonates was LI60 ($p=0.006$). Furthermore, it was inversely correlated with gestational age ($p=0.002$) and birth weight ($p=0.016$) in pre-term neonates.

Conclusions: In conclusion, an enhanced fibrinolytic activity in pre-term neonates was noted. For most EXTEM assay parameters, reference ranges obtained from arterial newborn blood samples were comparable with the respective values from studies using cord blood. Modified reagents, small size samples, timing of sampling, and different kind of samples might account for any discrepancies among similar studies. Reference values hereby provided can be used in future studies.

Keywords: neonates; reference ranges; thromboelastometry.

*Corresponding author: Argirios E. Tsantes, MD, PhD, Laboratory of Haematology and Blood Bank Unit, "Attiko" Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, 1 Rimini Street, 12462 Athens, Greece, Phone: +30 210 5831765, fax: +30 210 5831770, E-mail: atsantes@yahoo.com

Rozeta Sokou, Aikaterini Konstantinidi, Martha Theodoraki and Ioannis Lambadariadis: Neonatal Intensive Care Unit, "Agios Pantelimon" General Hospital of Nikea, Piraeus, Greece
Leontini Foudoulaki-Paparizos: Department of Blood Transfusion, "Agios Pantelimon" General Hospital of Nikea, Piraeus, Greece
Theodore Lytras: Hellenic Center for Disease Control and Prevention, Athens, Greece

Antonis Gounaris: Neonatal Intensive Care Unit, University Hospital of Larissa, Larissa, Greece

Serena Valsami and Marianna Politou: Department of Blood Transfusion, Aretaieion Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Argyri Gialeraki: Laboratory of Haematology and Blood Bank Unit, "Attiko" Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Georgios K. Nikolopoulos: Medical School, University of Cyprus, Nicosia, Cyprus

Nicoletta Iacovidou: Neonatal Department, National and Kapodistrian University of Athens, Aretaieion Hospital, Athens, Greece

Stefanos Bonovas: Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano, Milan, Italy

Introduction

Viscoelastic whole-blood analyses, such as thromboelastography (TEG) and thromboelastometry (TEM), reflect initiation and propagation of coagulation, fibrinogen/fibrin-platelet interaction, and clot lysis [1]. Viscoelastic coagulation tests have gained a role in the diagnosis of hemostatic disturbances and the management of pediatric patients and newborns [2–4]. Moreover, the relatively small sample volume needed and the prompt availability of results render viscoelastic methods like rotational thromboelastometry (ROTEM) a reliable alternative for monitoring coagulation in neonates. However, data on normative ranges for ROTEM parameters in newborns are scarce [5–7]. Furthermore, differences in study design, reagents and methods used lead to heterogeneity of results and complicate the establishment of reference ranges. Thus, evaluation of clot formation parameters in term and premature infants is considerably troublesome. Most previous studies

investigated reference ranges of clot formation parameters in cord blood samples [5–7]. The main objective of our study was to establish reference ranges for standard extrinsically activated ROTEM assay (EXTEM) in peripheral whole blood samples in healthy full-term and pre-term neonates. The reference ranges derived from arterial newborn blood samples could be used either as baseline in order to diagnose perioperative hemostatic disturbances or in the assessment of coagulation profile of newborns in order to diagnose and manage coagulopathy in neonates.

Materials and methods

This prospective cohort study included full-term neonates born at the obstetric unit of the General Hospital of Nikaia, Piraeus, and pre-term neonates hospitalized in the neonatal intensive care unit of the above-mentioned hospital, from July 2014 up to February 2016. Infant data included gestational age, birth weight, gender, and delivery mode. Clinical data regarding maternal diseases, medications and complications during pregnancy were recorded. Healthy term neonates were selected on the basis of gestational age ≥ 37 weeks with uneventful prenatal period, appropriate birth weight (2.5–3.9 kg), and delivery through normal vaginal delivery or elective lower segment cesarean section (LSCS). Newborns delivered via emergency LSCS were excluded. Our intervention was to evaluate the ROTEM-EXTEM parameters in healthy term neonates; therefore, all neonates hospitalized in the neonatal intensive care unit were excluded from this portion of the study. Healthy pre-term neonates were selected on the basis of gestational age of $\leq 36+6$ weeks. Blood samples from pre-term neonates with respiratory distress syndrome (RDS) were collected after weaning from mechanical ventilation and stabilization (room air for neonates of 32–37 gestational weeks; nasal continuous positive airway pressure (CPAP) with FO_2 0.21 and pressure positive end-expiratory pressure (PEEP) 5 cm H₂O for the pre-term < 32 gestational weeks). In addition, pre-term neonates with TEM performed during a documented significant bleeding event or with a history of blood, platelets, fresh frozen plasma or cryoprecipitate transfusion, were also excluded from the study. Significant bleeding was defined as any clinically overt bleeding of mucosal membranes, respiratory, gastrointestinal or urinary tract, which (i) was associated with a drop in hemoglobin level of ≥ 20 g/L in a 24-h period and (ii) required surgery or blood, platelets, fresh frozen plasma, or cryoprecipitate transfusion for hemostasis. Newborns (term and pre-term) with a personal or family history of bleeding disorders, known or suspected major chromosomal anomaly, septicemia, perinatal blood loss, birth asphyxia or perinatal stress were excluded. All neonates received 1 mg of vitamin K intramuscularly immediately after delivery and were followed up until hospital discharge.

On the 2nd to 3rd day of life (DOL) in term and the 2nd to 7th DOL in preterm neonates, with every blood collection due to other medical reasons (i.e. hyperbilirubinemia, testing for ABO incompatibility, or testing of infants with unattended pregnancy), 300 μ L of residual arterial blood was analyzed on the ROTEM analyzer (Tem Innovations GmbH, Munich, Germany) using the EXTEM assay. Whole blood had been anticoagulated with 0.109 mol/L trisodium citrate (9:1, v/v blood anticoagulant). Citrated whole blood (300 μ L) was incubated

for 2–5 min at 37°C and was tested in < 30 min after blood collection. The ROTEM tests were performed in single determination using the respective automated pipette programs according to the instructions of the manufacturer. Clot formation was induced by activation of the extrinsic coagulation pathway using 20 μ L of 0.2 M calcium chloride solution (starTEM reagent) and 20 μ L of extrinsic activator (exTEM reagent). After the reagents were adequately mixed, 300 μ L of citrated whole blood was added to the cup and the assay was running for at least 60 min after the completion of clot lysis at 30 min. EXTEM test was performed within 3 h after specimen collection. As part of the routine process, blood specimens were carefully checked for fibrin clots and other contaminated materials. In case of their existence the specimen was discarded.

The following EXTEM variables were measured: clotting time (CT, seconds), the time elapsed from the start of measurement until the formation of a clot 2 mm in amplitude; clot formation time (CFT, seconds), the time elapsed from the end of the CT (amplitude of 2 mm) until a dot firmness of 20 mm was achieved; amplitude was recorded at 10, 20, and 30 min (A10, A20, A30); a angle (α), the angle between the central line (x-axis) and the tangent of the TEM tracing at the amplitude point of 2 mm describing the kinetics of clot formation; maximum clot firmness (MCF, mm), the final strength of the clot; lysis index at 60 min (LI60, %), the percentage of remaining clot stability in relation to the MCF following the 60-min observation period after CT and indicates the speed of fibrinolysis.

Ethical approval

The study has complied with all the relevant national regulations, and institutional policies and has been approved by the Institutional Review Board of the General Hospital of Nikaia, Piraeus (1.507.2014, 32/3).

Statistical methods

For each set of ROTEM parameters in full-term and pre-term neonates, we used the 2.5th and 97.5th percentiles to establish a reference range in accordance with the NCCLS guidelines [8]. The distribution of each set was assessed using Q-Q plots and the Shapiro-Wilk test; as almost all showed significant deviations from normality, non-parametric methods were used for analysis, i.e. the Mann-Whitney test and the Spearman correlation coefficient (ρ). Potential correlations between ROTEM parameters and neonate characteristics were further explored using linear regression.

For statistical analysis, we used the R software [9], version 3.3.2. All p-values are two-tailed. For all tests, a p-value < 0.05 indicates statistical significance.

Results

The study population consists of 198 full-term (≥ 37 weeks' gestation) and 84 pre-term neonates (< 37 weeks' gestation). Demographic and clinical data are summarized in Table 1.

Table 1: Characteristics of the study population.

	Full-term infants (n = 198)	Pre-term infants (n = 84)
Gestational age, weeks	38.65 ± 0.97	33.69 ± 2.29
Body weight, g	3209 ± 440	2123 ± 503
Gender (female)	109/198 (55.1%)	40/84 (47.6%)
Partum spontaneous	120/198 (60.6%)	12/84 (14.3%)
Cesarean section	78/198 (39.4%)	72/84 (85.7%)
Maternal medication	6/198 (3.0%)	6/84 (7.1%)
Maternal diseases	40/198 (20.2%)	19/84 (22.6%)
Respiratory distress syndrome	–	25/84 (29.8%)
Intra-ventricular hemorrhage	–	3/84 (3.6%)
Intrauterine growth restriction	–	4/84 (4.8%)

Data are presented as means ± standard deviations or percentages when appropriate.

Median values and reference ranges (2.5th and 97.5th percentiles) for parameters of standard EXTEM assay for both groups are presented in Table 2.

CT, CFT, A10, A20, A30, and MCF were comparable between full-term and pre-term neonates, while A30 in pre-term was lower than in full-term neonates to a significant extent ($p = 0.032$). On the contrary, LI60 was significantly different between the two groups ($p = 0.006$). Comparisons of all EXTEM parameters between full-term and pre-term neonates are shown in Table 2.

Moreover, a significant inverse correlation was noted in pre-term neonates between LI60 and gestational age ($p = 0.002$; Figure 1), and birth weight ($p = 0.016$; Figure 2). No other association was found between ROTEM parameters and gestational age, birth weight, gender, or mode of delivery (Table 3), while no effect of bilirubinemia on EXTEM parameters was observed.

During follow-up of neonates, the only clinical complication present in frequency allowing the detection of its potential influence on EXTEM parameters was RDS. No association between EXTEM measurements and RDS was found.

Regarding maternal disorders, smoking was reported in 22 (13.9%) cases in the group of full-term neonates

and was associated with shorter CT ($p = 0.009$). No other EXTEM parameter was influenced by smoking, and no effect of gestational diabetes mellitus on EXTEM measurements was noted.

Discussion

The use of ROTEM, as point-of-care device, may provide additional valuable information to assess the coagulation profile of newborns. However, the usefulness of ROTEM in pediatric populations, especially in neonates, is limited, mainly owing to the lack of reference ranges and standardization. To our knowledge, only few studies assessing hemostasis by ROTEM in neonates are available [5, 7, 10, 11]. Moreover, the use of modified assays or small size samples makes direct comparison of results difficult. Thus, no reference values for ROTEM testing in full-term or pre-term infants currently exist.

In this study, we provide reference values for standard extrinsically activated ROTEM assay in healthy full-term and pre-term neonates. Our aim was to establish reference ranges in arterial newborn blood samples for EXTEM assay in healthy neonates, and correlate these with reference values derived from cord blood samples. It is also noteworthy that blood collection had not taken place during delivery, which could have possibly influenced the delicate balanced hemostatic system of full-term and pre-term neonates.

CT values recorded in our study were comparable to those derived from cord blood of 20 full-term infants [7], but significantly shorter related to values obtained by a modified EXTEM analysis [5]. On the contrary, CFT measurements observed in the present study were similar to those reported with the modified EXTEM method [5], and relatively shorter to those obtained by Cvim and colleagues [7]. Regarding MCF manifesting clot firmness, similar values were noted among all three studies and similarly, the range reference ranges in the present study were in accordance with those observed by Cvim and colleagues

Table 2: EXTEM parameters in full-term (n = 198) and pre-term (n = 84) infants.

	CT	CFT	A10	A20	A30	Alpha	MCF	LI60
Full-Term	41 (25.9–78)	70 (40–165.2)	58 (39.9–69)	65 (47–78.1)	65 (47.7–79.1)	77 (64.8–83)	66 (41–84.1)	97 (85–100)
Pre-term	44 (32–64.9)	64 (28.4–138.9)	57.5 (37–70.9)	62 (45.1–76.8)	63 (49–78.9)	79 (52.3–85.9)	64 (49.1–83.9)	95 (52.6–100)
p-Value	0.19	0.06	0.90	0.15	0.032	0.45	0.17	0.006

Data are presented as medians and reference ranges (2.5th and 97.5th percentile). The two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test was used for statistical comparisons. CT, clotting time (seconds); CFT, clot formation time (seconds); A10, dot strength at 10 min (mm); A20, dot strength at 20 min (mm); A30, dot strength at 30 min (mm); MCF, maximal clot firmness (mm); LI60, lysis index at 60 min (%).

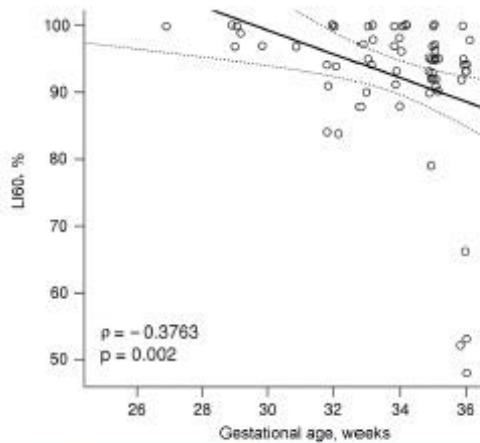


Figure 1: Correlation between LI60 and gestational age in pre-term infants.

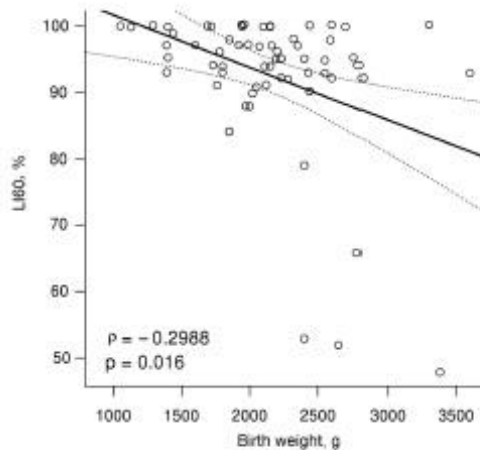


Figure 2: Correlation between LI60 and birth weight in pre-term infants.

[7]. Most EXTEM parameters in the present study are similar with those recorded in a group of 55 infants during the first 3 months after birth [11].

In the present study, the only EXTEM parameter differing to a significant extent between full-term and pre-term infants was LI60. Moreover, this index was found to be correlated with gestational age and birth weight in pre-term infants. An enhanced fibrinolytic activity in

pre-term neonates may be due to the low physiological levels of fibrinolysis inhibitor proteins [12–14]. These findings are probably in keeping with the data indicating a more active fibrinolytic system in the neonates compared to adults [10, 15, 16].

Unlike Strauss and colleagues [5], no correlation between gestational age and MCF, and no differences in MCF values between full-term and pre-term infants, were noted in the present study. For most EXTEM assay parameters, reference ranges obtained from arterial newborn blood samples were comparable with those of similar studies, but some contrasting results were also found. Modified reagents, small size samples, timing of sampling and different kind of samples might account for these discrepancies among studies. The Perinatal and Pediatric Hemostasis Subcommittee (SCC) of the International Society on Thrombosis and Hemostasis (ISTH) published consensus recommendations for laboratories reporting pediatric hemostasis test results proposing that all diagnostic laboratories processing pediatric samples should use age-, analyzer-, and reagent-appropriate reference ranges [17]. Thus, hemostasis test results can be compared across laboratories providing the population, reagents, and analyzer are identical.

Although ROTEM presents an attractive mode for rapid, feasible evaluation of clot formation in neonates using very small amounts of blood, the limited availability of this technology results mainly from the lack of agreement with standard laboratory variables. Reference values provided here can be used in clinical cases, where a practical monitor of the coagulation profile of newborns is required.

Nevertheless, our study has some limitations. Due to the practice of minimal handling of the neonates and the limited volume of residual blood, only one ROTEM assay was performed in the blood samples, and there was no correlation to other established laboratory markers. Therefore, further large-scale comparative studies are necessary to verify these values. On the other hand, to the best of our knowledge, the number of neonates enrolled in this study is the highest so far, while it is the first time that arterial newborn blood samples have been used to establish EXTEM assay reference values.

In conclusion, we believe that the established reference ranges could possibly facilitate hemostasis management in infants. Performing bedside global coagulation tests requiring small blood samples, like ROTEM, seems an attractive method for rapid, feasible evaluation of haemostasis in neonates and could possibly lead to significantly

Table 3: Correlation between EXTEM parameters and gestational age, birth weight, delivery mode, and gender in full-term and pre-term infants.

	Gestational age		Birth weight		Delivery mode		Gender	
	ρ	p-Value	ρ	p-Value	ρ	p-Value	ρ	p-Value
Full-term								
CT	+0.05	0.49	-0.01	0.87	-0.03	0.68	+0.01	0.90
A10	+0.07	0.31	+0.05	0.51	-0.03	0.71	+0.08	0.26
A20	+0.08	0.29	+0.08	0.27	-0.07	0.33	+0.06	0.40
A30	+0.02	0.76	+0.00	0.98	-0.06	0.43	+0.06	0.41
CFT	-0.05	0.46	+0.03	0.72	-0.03	0.71	-0.06	0.38
MCF	+0.02	0.78	+0.03	0.71	-0.10	0.16	+0.13	0.08
Alpha	+0.06	0.37	-0.05	0.47	-0.01	0.89	+0.04	0.58
LI45	+0.05	0.48	+0.05	0.49	-0.20	0.005	-0.08	0.28
LI60	+0.02	0.76	+0.03	0.72	-0.07	0.36	-0.07	0.30
Pre-term								
CT	+0.21	0.05	+0.07	0.55	+0.02	0.86	-0.02	0.85
A10	-0.17	0.11	+0.00	0.99	-0.01	0.90	+0.04	0.70
A20	-0.19	0.09	-0.03	0.81	-0.01	0.90	+0.07	0.53
A30	-0.16	0.15	+0.01	0.90	-0.01	0.96	+0.09	0.43
CFT	+0.02	0.85	-0.12	0.26	-0.03	0.82	+0.03	0.81
MCF	-0.17	0.12	+0.02	0.84	+0.03	0.80	+0.07	0.51
Alpha	-0.21	0.06	-0.04	0.72	-0.04	0.73	+0.07	0.56
LI45	-0.08	0.48	-0.09	0.46	+0.09	0.45	+0.01	0.94
LI60	-0.38	0.002	-0.30	0.016	+0.13	0.31	+0.10	0.41

Statistically significant results are shown in bold. CT, clotting time (sec); CFT, dot formation time (sec); A10, clot strength at 10 min (mm); A20, clot strength at 20 min (mm); A30, clot strength at 30 min (mm); MCF, maximal clot firmness (mm); LI60, lysis index at 60 min (%).

decreased transfusion requirements of full-term and pre-term infants.

Acknowledgments: The authors would like to acknowledge their colleague, the late Leontini Foudoulaki-Papazios, for her invaluable support and contribution to the design and conduct of this study.

Author contributions: All the authors have accepted responsibility for the entire content of this submitted manuscript and approved submission.

Research funding: None declared.

Employment or leadership: None declared.

Honorarium: None declared.

Competing interests: The funding organization(s) played no role in the study design; in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the report; or in the decision to submit the report for publication.

References

- Luddington R. Thromboelastography/thromboelastometry. *Clin Lab Haematol* 2005;27:81-90.
- Haizinger B, Gombotz H, Rehak P, Geisebieder G, Mair R. Activated thrombelastogram in neonates and infants with complex congenital heart disease in comparison with healthy children. *Br J Anaesth* 2006;97:545-52.
- Osthaus W, Boethig D, Johannig K, Rahe-Meyer N, Theilmeier G, Breyman T, et al. Whole blood coagulation measured by modified thrombelastography (ROTEM) is impaired in infants with congenital heart diseases. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008;19:220-5.
- Radicioni M, Mezzeiti D, Del Vecchio A, Notta M. Thromboelastography: might work in neonatology too? *J Matern fetal Neonatal Med* 2012;25:18-21.
- Strauss T, Levy-Shraga Y, Ravid B, Schushan-Eisen I, Maayan-Metzger A, Kuint J, et al. Clot formation of neonates tested by thromboelastography correlates with gestational age. *Thromb Haemost* 2010;103:344-50.
- Edwards RM, Naik-Mathuria BJ, Gay AN, Olutoye OO, Terry J. Parameters of thromboelastography in healthy newborns. *Am J Clin Pathol* 2008;130:99-102.
- Cyran G, Gallist S, Kutschera J, Wagner T, Festsch U, Jurgens G, et al. Clot strength: a comparison between cord and adult blood by means of thromboelastometry. *Pediatr Hematol Oncol* 2008;30:210-3.
- NCCLS. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline, 2nd ed. Wayne, PA: NCCLS, 2000. NCCLS document C28-A2.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2016. Available at: <http://www.R-project.org>.
- Sidlik R, Strauss T, Morag I, Shenkman B, Tamarin I, Lubelsky A, et al. Assessment of functional fibrinolysis in cord blood

- using modified thromboelastography. *Pediatr Blood Cancer* 2016;63:839–43.
11. Oswald E, Stalzer B, Heitz E, Weiss M, Schmutz M, Strasak A, et al. Thromboelastometry (ROTEM) in children: age-related reference ranges and correlations with standard coagulation tests. *Br J Anaesth* 2010;105:827–35.
 12. Saxorhouse MA, Manco-Johnson MJ. The evaluation and management of neonatal coagulation disorders. *Semin Perinatol* 2009;33:52–65.
 13. Parmar N, Albisetti M, Berry LR, Chan AK. The fibrinolytic system in newborns and children. *Clin Lab* 2006;52:115–24.
 14. Goldenberg NA, Hathaway WE, Jacobson L, Manco-Johnson MJ. A new global assay of coagulation and fibrinolysis. *Thromb Res* 2005;116:345–56.
 15. Pinacho A, Paramo JA. Evaluation of fibrinolytic system in full-term neonates. *Int J Clin Lab Res* 1995;25:149–52.
 16. Reis M, Klinge J, Rauch R. In vitro fibrinolysis after adding low doses of plasminogen activators and plasmin generation with and without oxidative inactivation of plasmin inhibitors in newborns and adults. *J Pediatr Hematol Oncol* 1996;18:346–51.
 17. Ignjatovic V, Kenet G, Monagle P. Developmental hemostasis: recommendations for laboratories reporting pediatric samples. *J Thromb Haemost* 2012;10:298–300.

European Journal of Pediatrics (2018) 177:355–362
<https://doi.org/10.1007/s00431-017-3072-z>

ORIGINAL ARTICLE



Thromboelastometry for diagnosis of neonatal sepsis-associated coagulopathy: an observational study

Rozeta Sokou¹ · George Giallourou² · Aikaterini Konstantinidi¹ · Katerina Pantavou² · Georgios Nikolopoulos² · Stefanos Bonovas^{3,4} · Theodore Lytras⁵ · Elias Kyriakou⁶ · Ioannis Lambadaridis¹ · Antonis Gounaris⁷ · Panagiota Douramani⁶ · Serena Valsami⁸ · Violetta Kapsimali⁹ · Nicoletta Iacovidou¹⁰ · Argirios E. Tsantes⁶

Received: 26 September 2017 / Revised: 1 December 2017 / Accepted: 8 December 2017 / Published online: 18 December 2017
 © Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2017

Abstract

Our aim was to evaluate the potential role of standard extrinsically activated thromboelastometry (EXTEM) assay in the early detection of neonatal sepsis. We studied 91 hospitalized neonates categorized in two groups: group A included 35 neonates with confirmed sepsis, while group B included 56 neonates with suspected sepsis; 274 healthy neonates served as controls. Whenever sepsis was suspected, EXTEM assay was performed, Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension (SNAPPE) and Tollner score were calculated, and clinical findings and laboratory results were recorded. Septic neonates had significantly prolonged clotting time (CT) and clot formation time (CFT), and reduced maximum clot firmness (MCF), compared to neonates with suspected sepsis (p values 0.001, 0.001, and 0.009, respectively) or healthy neonates (p values 0.001, 0.001, and 0.021, respectively). EXTEM parameters (CT, CFT, MCF) demonstrated a more intense hypocoagulable profile in septic neonates with hemorrhagic diathesis than those without (p values 0.021, 0.007, and 0.033, respectively). In septic neonates, CFT was correlated with platelet count, SNAPPE, Tollner score, and day of full enteral feeding (p values 0.01, 0.02, 0.05, and 0.03, respectively).

Conclusions: A ROTEM hypocoagulable profile at admission seems promising for the early detection of sepsis in neonates while the degree of hypocoagulation may be associated with sepsis severity.

What is Known:

- The early phase of septicemia might be difficult to be recognized in neonates. In adult septic patients, the diagnostic and prognostic role of thromboelastometry (ROTEM) have been extensively investigated.
- Limited data are available on the role of ROTEM as an indicator of early neonatal sepsis.

What is New:

- ROTEM measurements indicate an early appearance of hypocoagulability in neonatal sepsis, while the degree of hypocoagulation might be associated with severity of sepsis.
- ROTEM could be a useful tool in the early detection of sepsis in neonates.

Keywords Thromboelastometry · Coagulopathy · Diagnosis · Neonatal sepsis

Abbreviations

A10	Clot strength at 10 min
A20	Clot strength at 20 min
A30	Clot strength at 30 min
ANC	Absolute neutrophil count
α	α-Angle
CFT	Clot formation time
CRP	C-reactive protein
CT	Clotting time
EXTEM	Extrinsically activated thromboelastometry

LI60	Lysis index at 60 min
MCF	Maximal clot firmness
ROTEM	Rotational thromboelastometry
SD	Standard deviation
SNAPPE	Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension
TEG	Thromboelastography
TEM	Thromboelastometry
WBC	White blood cells

Communicated by Piet Leroy

✉ Argirios E. Tsantes
 atsantes@yahoo.com Extended author information available on the last page of the article

Introduction

Sepsis is a common cause of morbidity and mortality in neonates with a prevalence of 1 to 10 per 1000 live births worldwide [1], while it causes about one fourth of all neonatal

Springer

deaths [2]. Its clinical signs are non-specific and resemble those of a non-infectious disorder; thus, early diagnosis is a major challenge in the management of neonatal sepsis, especially at initial stages that may be indistinguishable from those caused by various non-infectious conditions, delaying adequate treatment with potential negative outcome. Among the various disturbances encountered in septic neonates, hemostatic abnormalities represent a serious threat that neonatologists are confronted with, both in terms of diagnosis and therapy. Viscoelastic whole blood tests of hemostasis, like rotational thromboelastography (TEG) and thromboelastometry (ROTEM), estimate the dynamics of blood coagulation, from the activation of clotting factors to fibrin formation, platelet aggregation, and finally, clot lysis [3].

In septic adults, the diagnostic and prognostic roles of TEG and ROTEM have been extensively investigated, suggesting that these tests may facilitate diagnosis of clotting abnormalities [4–6] and prognosis of sepsis [7, 8]. During sepsis, the coagulation system is commonly activated because of the interaction with the inflammatory system leading to coagulopathy, an imbalance between activation of coagulation and impaired inhibition of coagulation and fibrinolysis [9, 10]. Limited data are available on the role of TEG/ROTEM as an indicator of early neonatal sepsis [11].

Our research group has recently established local reference ranges for the standard extrinsically activated ROTEM (EXTEM) assay in peripheral whole blood samples of normal full-term and pre-term neonates, without significant differences between them, except for the lysis index [12]. These could be employed to assess the coagulation profile of newborns and diagnose coagulopathy in neonates. The present study aimed to evaluate the possible role of EXTEM in the assessment of hemostatic function in septic neonates and its potential application in the early detection of neonatal sepsis.

Methods

This single-center observational study included full-term and pre-term neonates with sepsis or suspected sepsis, hospitalized in the neonatal intensive care unit of General Hospital of Nikaia, Piraeus, over a period of 20 months (from July 2014 to February 2016). Some neonates experienced more than one sepsis or suspected sepsis event. Our protocol was approved by the Institutional Review Board of Nikaia General Hospital (15/07/2014, 32/3). For this type of study, formal consent was not required. Healthy neonates, previously recruited in order to establish reference ranges [12], served as controls. The neonates were categorized in two groups. Group A included neonates with confirmed sepsis (criteria: presence of > 3 positive sepsis-related clinical symptoms and/or > 2 positive sepsis-related blood test results and/or positive blood culture test results). The neonates of group A were further categorized in two subgroups depending on

the presence of clinically bleeding events (obvious bleeding of mucosal membranes, respiratory, gastrointestinal or urinary tract, and after blood aspiration) or not. Group B included neonates with suspected sepsis. Inclusion criteria for this group were the presence of clinical symptoms and/or signs suggestive of sepsis necessitating initiation of antibiotic therapy, but without confirmation by laboratory tests (i.e., < 2 positive sepsis-related blood test results and negative culture).

Sepsis-related clinical symptoms included (i) temperature instability (core temperature of > 38.0 °C or < 36 °C or rectal-skin temperature difference of more than 3.5 °C) and poor feeding; (ii) abdominal distension, hepatomegaly; (iii) apnea, dyspnoea, retractions, need for oxygen or ventilation support; (iv) bradytachycardia (bradycardia defined as a mean heart rate < 10th percentile for age in the absence of β -blocker drugs or congenital heart disease; or otherwise unexplained persistent bradycardia or tachycardia, defined as a mean heart rate > 2 standard deviations (SD) above normal for age in the absence of external stimulus, chronic drugs, or painful stimuli; or otherwise unexplained persistent elevation over a 0.5- to 4-h time period); poor peripheral perfusion, hypotension (decrease in blood pressure < 5th percentile for age or systolic blood pressure > 2 SD below normal for age or need for vasoactive drug to maintain blood pressure in normal range); (v) irritability, lethargy, and/or hypotonia; and (vi) jaundice, pallor, and petechiae. Risk factors for infection from perinatal history included premature rupture of the membranes (> 18 h), maternal fever during labor, intraamniotic infection, and chorioamnionitis. Sepsis-related blood tests included leucopenia, defined as white blood cells (WBC) < 5000/mm³, absolute neutrophil count (ANC) < 1500/mm³ or ANC > 5400/mm³, immature to total neutrophil (I/T) ratio > 0.2; thrombocytopenia, defined as platelets (PLT) < 100,000/mm³, and C-reactive protein (CRP) levels > 3 mg/L [13–15].

Neonates with congenital malformations, severe perinatal asphyxia, or those previously transfused with fresh frozen plasma or platelets, were excluded.

In all suspected cases of sepsis, SNAPPE (Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension) [16] and Tollner score [17] were calculated.

Data on demographics, maternal and pregnancy history, maternal medication during pregnancy, neonatal physiological parameters, day of full enteral feeding, length of hospital stay, clinical findings, and laboratory results were also recorded. Prior to initiating antibiotic therapy, blood specimens for culture, routine biochemical tests (arterial blood gas, electrolytes, transaminases, urea, creatinine, bilirubin, glucose, calcium), complete blood count, peripheral blood smear, and CRP were obtained. Chest radiograph, cerebrospinal fluid culture, and urine culture were performed whenever clinically indicated. In these neonates, blood samples for sepsis markers were repeatedly obtained, whenever clinically indicated, until the completion of antibiotic therapy.

Complete blood counts were performed on Sysmex XE-2100 analyzer (Roche, IL, USA). Peripheral blood smears prepared with Giemsa stain were examined, and band forms, myelocytes, and metamyelocytes in leukocyte formula evaluated as immature neutrophils, and I/T ratio were calculated. Blood specimens were obtained from each infant by a sterile technique and were inoculated into an aerobic blood bottle (BacT Alert PF, Biora, Lyon, France). The organisms were identified based on gram staining and growth on agar media.

All the biochemical parameters were measured by the EXL DIMENSION Analyzer (SIEMENS, Healthcare Diagnostics, Newark, DE, USA). The CRP method is based on a particle-enhanced turbidimetric immunoassay technique (PETIA).

On the first day of sepsis or suspected sepsis, 300 μ L of arterial blood, anticoagulated with 0.109 mol/L trisodium citrate (9:1, w/v blood anticoagulant), was analyzed on the ROTEM analyzer (Tem Innovations GmbH, Munich, Germany) using the EXTEM assay, as previously described [12]. Neonates had a separate blood drawing whenever they experienced a new sepsis or suspected sepsis event. Briefly, the following EXTEM variables were measured: clotting time (CT, seconds) determined as the time elapsed from the start of measurement until the formation of a clot 2 mm in amplitude; clot formation time (CFT, seconds) as the time elapsed from the end of the CT (amplitude of 2 mm) until a clot firmness of 20 mm is achieved; the amplitude recorded at 10, 20, and 30 min (A10, A20, and A30); α -angle (α) that is the angle between the central line (x -axis) and the tangent of the TEM tracing at the amplitude point of 2 mm describing the kinetics of clot formation; maximum clot firmness (MCF, millimeter) that reflects the final strength of the clot; and lysis index at 45 and 60 min (LI45 and LI60, %, respectively) defined as the percentage of remaining clot stability in relation to the MCF following the 45- and 60-min observation period, respectively, after CT and indicating the speed of fibrinolysis.

Statistical methods

Summary statistics are presented with medians and interquartile ranges (IQR), or percentages when appropriate. Non-parametric methods (two-sample Wilcoxon rank-sum [Mann–Whitney] test, Kruskal–Wallis rank test, Fisher's exact test, and the Spearman's rank correlation coefficient) were used for the statistical evaluations that included all sepsis or suspected sepsis events. For hypothesis testing, a probability level lower than 0.05 was considered statistically significant. All statistical tests were two-sided. Stata 14 software was used for all analyses (Stata Corp., College Station, TX, USA).

Results

We included 91 full-term and pre-term neonates. Of these, 35 had confirmed sepsis and 56 had suspected sepsis. Eleven

neonates experienced two or three sepsis or suspected sepsis events. Demographic and clinical data of the study population, based on individual cases, are summarized in Table 1; laboratory findings by patient group, based on sepsis ($n = 44$) and suspected sepsis events ($n = 60$), are shown in Table 2, while ROTEM measurements are presented in Table 3.

Neonates with sepsis had significantly prolonged CT and CFT, as well as reduced MCF, A10, A20, and A30, compared to those with suspected sepsis (p values 0.001, 0.001, 0.009, 0.001, 0.001, and 0.001, respectively) and healthy neonates (p values 0.001, 0.001, 0.021, 0.001, 0.001, and 0.001, respectively). ROTEM parameters (CT, CFT, MCF, A10, and A20) revealed a more intense hypocoagulable profile in septic neonates with hemorrhagic diathesis (20 of 44 septic events, 45.4%) than in those without (p values 0.021, 0.007, 0.033, 0.020, and 0.047, respectively). Septic newborns without hemorrhagic complications still had significantly prolonged CT and CFT, as well as reduced A10 and A20, compared to those with suspected sepsis (p values 0.047, 0.030, 0.015, and 0.028, respectively). Regarding neonates with suspected sepsis, it is noteworthy that signs of hypercoagulability were observed, based on A10, α -angle, and CFT measurements, which significantly differed from those in healthy neonates (p values 0.014, < 0.001, 0.003, respectively).

Correlation of ROTEM parameters with clinical and laboratory variables of disease severity (in the sepsis group) are presented in Table 4. CFT was significantly correlated with platelet count, SNAPPE, Tollner score, and day of full enteral feeding (p values 0.01, 0.02, 0.05, and 0.03, respectively).

Discussion

This study assessed the value of thromboelastometry in the detection of coagulopathy in neonatal sepsis. An abnormal ROTEM pattern, in particular a hypocoagulable profile, was found to be a common early finding among septic neonates. Major EXTEM parameters, like CT or CFT, were significantly affected in these neonates compared to healthy ones, and those who suffered infection without sepsis.

Local reference ranges of EXTEM parameters in healthy neonates have recently been established [12]. Taking into account that these ranges are independent of the maternal coagulatory state since plasma coagulation proteins do not cross the placental barrier and are synthesized independently by the fetus [18], septic neonates could be classified as hypo- or hypercoagulable, when their EXTEM results are outside preset reference ranges. ROTEM measurements in neonatal sepsis revealed hypocoagulability. A statistically significant difference in the percentages of preterm neonates between sepsis and suspected sepsis groups was observed. This finding could be considered as a confounding factor. However, this is not the case, since no significant differences regarding the

Table 1 Characteristics of the study population

	Healthy controls (n = 274)	Suspected sepsis (n = 56)	Sepsis (n = 35)	p value
Gestational age (weeks)	38 (36–39)	38 (34.5–39)	32 (29–39)	< 0.001
Body weight (grams)	3000 (2550–3400)	3000 (2155–3300)	1710 (1080–3100)	< 0.001
Gender (female, %)	147 (53.6%)	20 (35.7%)	14 (40.0%)	0.025
Premature (%)	79 (28.8%)	21 (37.5%)	21 (60.0%)	0.001
Cesarean section (%)	144 (52.6%)	36 (64.3%)	26 (74.3%)	0.022
Maternal medication (%)	13 (4.7%)	4 (7.1%)	4 (11.4%)	0.25
Maternal diseases (%)	59 (21.5%)	11 (19.6%)	12 (34.3%)	0.20
Respiratory distress syndrome (%)	–	29 (51.8%)	22 (62.9%)	0.30
Intra-ventricular hemorrhage (%)	–	7 (12.5%)	4 (11.4%)	0.88
Necrotizing enterocolitis (%)	–	4 (7.1%)	3 (8.6%)	0.78

Data are presented as frequencies with the corresponding percentages, or medians with interquartile ranges when appropriate. Kruskal–Wallis rank test, chi-squared, and Fisher's exact test were used for the statistical evaluations

EXTEM parameters were noted between healthy premature and full-term neonates in a previous study by our group [12]. To the best of our knowledge, there is only one relevant study assessing changes in TEG in 27 surgical babies with an established or early sepsis [11], in which hypocoagulability was also reported in the majority of patients. This is consistent with the pathophysiology of “consumption coagulopathy” during disseminated intravascular coagulation (DIC) reported in adults with sepsis.

Based on our results, the degree of hypocoagulation was found to be more intense in septic neonates with hemorrhagic diathesis. However, we should note that a hypocoagulable profile was observed even when analysis was confined to septic neonates without hemorrhagic diathesis. In contrast, several studies in adults with sepsis showed hypercoagulability, ranging from 30 [8] to 100% [19], which may be due to a variation in timing of measurements or a difference in disease severity, as well as in the definition of hypercoagulability [20]. Something similar might occur in neonates with suspected sepsis who had a hypercoagulable profile compared to

healthy neonates. The activation of procoagulant factors due to a local infection could result in a mild activation of the coagulation cascade leading to a compensated hypercoagulation without excessive consumption of clotting factors among neonates suffered infection but without sepsis. TEG/ROTEM clearly showed hypercoagulability in models of endotoxemia [21]. In adults, the initial phase of sepsis is characterized by formation of microvascular thrombi and ROTEM measurements show a predominant hypercoagulable pattern, while the later phase of sepsis usually manifests as a hypocoagulant phase secondary to consumptive coagulopathy. Hypocoagulability detected by TEG/ROTEM in adult sepsis seems to be more promising in diagnosing disseminated intravascular coagulation [4, 20, 22].

On the contrary, hypocoagulability seems to be the main coagulopathy associated with neonatal sepsis. Although the key components of the coagulation system are present at birth, the hemostasis system is incompletely developed in neonates [23]. Neonatal platelets have a decreased response to agonists, decreased granule secretion, and decreased expression of

Table 2 Laboratory findings in the groups of suspected sepsis and sepsis

	WBC	PLT	CRP	SGOT	SGPT	T BIL	D BIL	UREA	CREAT
Suspected sepsis	12,110 (8660–16,985) (n = 60)	231,500 (172500–384,000) (n = 60)	18 (5.6–32.5) (n = 60)	49 (31.6–59.5) (n = 60)	16.5 (12–24) (n = 60)	5.9 (3.6–9.5) (n = 59)	0.3 (0.2–0.3) (n = 54)	23.5 (16–38) (n = 60)	0.5 (0.4–0.8) (n = 60)
Sepsis	11,665 (7145–16,590) (n = 44)	92,500 (47500–181,000) (n = 44)	47.4 (11.4–99.4) (n = 44)	53 (34–81) (n = 44)	2.5 (13–41) (n = 43)	6.8 (1.9–14.6) (n = 44)	0.4 (0.3–0.9) (n = 43)	42 (25.5–68) (n = 44)	0.5 (0.4–0.9) (n = 44)
p value	0.360	< 0.001	0.002	0.210	0.027	0.380	0.003	< 0.001	0.740

Data are presented as medians with interquartile ranges. The two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann–Whitney) test was used for the statistical evaluations

WBC white blood cells, PLT platelets, CRP C-reactive protein, SGOT aspartate transaminase, SGPT alanine transaminase, T BIL total bilirubin, D BIL direct bilirubin, CREAT creatinine

Table 3 EXTEM parameters by study group and hemorrhagic diathesis

	CT	CFT	A10	A20	A30	Alpha	MCF	LI45	LI60	
Healthy controls (C)	41.5 (37–51) (n = 274)	69 (54–87) (n = 274)	58 (53–63) (n = 274)	64 (59–68) (n = 274)	65 (60–69) (n = 274)	78 (74–81) (n = 274)	66 (60–71) (n = 274)	98 (97–99) (n = 265)	97 (94–99) (n = 256)	
Suspected sepsis (SS)	45.5 (39–51) (n = 60)	57.5 (43–79) (n = 60)	60.5 (53.5–68.5) (n = 60)	65 (59–72) (n = 60)	66.5 (61.5–72) (n = 56)	81 (77–82) (n = 60)	69.5 (60–75) (n = 60)	97 (95–100) (n = 42)	95.5 (94–100) (n = 34)	
Sepsis (S)	51.5 (46–70.5) (n = 44)	110.5 (59–306) (n = 44)	49 (27–62.5) (n = 44)	56 (33–67) (n = 42)	55 (39.5–68.5) (n = 36)	78 (72–81) (n = 43)	58.5 (52–71) (n = 44)	98 (96–100) (n = 30)	97 (93–100) (n = 23)	
<i>p</i> value	All <0.001 C vs S <0.001 S vs SS <0.001 SS vs C 0.193	All <0.001 C vs S <0.001 S vs SS <0.001 SS vs C 0.003	All <0.001 C vs S <0.001 S vs SS <0.001 SS vs C 0.014	All <0.001 C vs S <0.001 S vs SS <0.001 SS vs C 0.126	All <0.001 C vs S <0.001 S vs SS <0.001 SS vs C 0.094	All <0.001 C vs S <0.001 S vs SS <0.001 SS vs C 0.126	All <0.001 C vs S <0.001 S vs SS <0.001 SS vs C 0.078	All 0.011 C vs S 0.021 S vs SS 0.009 SS vs C 0.078	All 0.665 C vs S 0.021 S vs SS 0.009 SS vs C 0.078	All 0.777 C vs S 0.021 S vs SS 0.009 SS vs C 0.078
Sepsis with HD (S+)	67.5 (49.5–110.5) (n = 20)	254 (85.5–378.5) (n = 20)	27.5 (25–57) (n = 20)	39 (29.5–64) (n = 20)	55 (35–64) (n = 18)	76 (61–81) (n = 20)	55 (39.5–64) (n = 20)	97 (95–100) (n = 14)	94 (93–100) (n = 11)	
<i>p</i> value	All <0.001 C vs S+ <0.001 S+ vs SS <0.001 S+ vs S- 0.021	All <0.001 C vs S+ <0.001 S+ vs SS <0.001 S+ vs S- 0.007	All <0.001 C vs S+ <0.001 S+ vs SS <0.001 S+ vs S- 0.020	All <0.001 C vs S+ <0.001 S+ vs SS <0.001 S+ vs S- 0.047	All <0.001 C vs S+ <0.001 S+ vs SS <0.001 S+ vs S- 0.229	All <0.001 C vs S+ <0.001 S+ vs SS <0.001 S+ vs S- 0.002	All <0.001 C vs S+ <0.001 S+ vs SS <0.001 S+ vs S- 0.033	All 0.669 C vs S+ 0.666 S+ vs SS <0.001 S+ vs S- 0.033	All 0.694 C vs S+ 0.567 S+ vs SS <0.001 S+ vs S- 0.033	
Sepsis without HD (S-)	47.5 (46–57.5) (n = 24)	82 (51–131) (n = 24)	51 (43.5–65.5) (n = 24)	58.5 (49–69) (n = 22)	58 (43–70) (n = 18)	79 (74.5–83) (n = 24)	66.5 (55.5–75.5) (n = 24)	97.5 (97.5–100) (n = 16)	98 (93.5–100) (n = 12)	
<i>p</i> value	All 0.016 C vs S- 0.008 S- vs SS 0.047	All 0.005 C vs S- 0.219 S- vs SS 0.030	All 0.008 C vs S- 0.067 S- vs SS 0.015	All 0.049 C vs S- 0.064 S- vs SS 0.028	All 0.084 C vs S- 0.176 S- vs SS 0.085	All <0.001 C vs S- 0.267 S- vs SS 0.244	All 0.215 C vs S- 0.267 S- vs SS 0.244	All 0.599 C vs S- 0.267 S- vs SS 0.244	All 0.662 C vs S- 0.267 S- vs SS 0.244	

Data across the three study groups are presented as medians with interquartile ranges. The Kruskal–Wallis test was employed for comparisons among the three groups (All), and the Wilcoxon rank-sum (Mann–Whitney) test for pairwise comparisons. Analyses were repeated comparing the healthy and suspected sepsis groups with the sepsis group stratified by the hemorrhagic diathesis of the septic neonates

CT clotting time (seconds), CFT clot formation time (seconds), A10 clot strength at 10 min (millimeters), A20 clot strength at 20 min (millimeter), A30 clot strength at 30 min (millimeters), Alpha α -angle (degrees), HD hemorrhagic diathesis, MCF maximal clot firmness (millimeters), LI45 lysis index at 45 min (percent), LI60 lysis index at 60 min (percent)

fibrinogen-binding sites [24]. For the procoagulant factors, the differences are mainly quantitative [25–27]. At birth, activities of the vitamin K-dependent factors II, VII, IX, and X, and the concentrations of the contact factors XI and XII, are reduced to about 50% of normal adult values [18]. Levels of the major anticoagulant proteins are also low at birth, but the functional activity of protein S is similar to that in adults [23]. These differences, which mostly reflect the immaturity of the neonatal hemostasis system, are functionally balanced in healthy neonates. However, systemic diseases may disrupt the subtle hemostatic balance, predisposing ill neonates to increased hemorrhagic complications. Septic neonates may develop

thrombocytopenia and coagulopathy secondary to liver failure [23]. This probably accounts for the detection of hypocoagulability in the initial phase of neonatal sepsis. The ability of ROTEM to detect sepsis-induced coagulopathy could be used to detect neonatal sepsis. This might be of value, taking into account that neonatal sepsis generally presents an insidious onset and the early phase of septicemia might be difficult to be recognized in neonates. It is also noteworthy that in the present study, no impairment in fibrinolysis, expressed as increased lysis indices, was observed, although hypofibrinolysis was demonstrated in several studies in adult sepsis patients [4, 22, 28–30]. The increased lysis index could

Table 4 Correlation of ROTEM parameters with clinical and laboratory variables of disease severity in the sepsis group

	CRP		WBC		PLT		SNAPPE		Mortality		Full nutrition day		Tollner score		Length of hospital stay	
	<i>r</i>	<i>p</i> value	<i>r</i>	<i>p</i> value	<i>r</i>	<i>p</i> value	<i>r</i>	<i>p</i> value	<i>r</i>	<i>p</i> value	<i>r</i>	<i>p</i> value	<i>r</i>	<i>p</i> value	<i>r</i>	<i>p</i> value
CT	+0.23	0.13	-0.26	0.09	-0.30	0.04	+0.26	0.09	+0.27	0.08	+0.24	0.13	+0.25	0.10	+0.05	0.74
CFT	+0.17	0.27	-0.12	0.43	-0.60	< 0.01	+0.36	0.02	+0.25	0.10	+0.35	0.03	+0.30	0.05	+0.27	0.11
A10	-0.16	0.29	+0.09	0.58	+0.62	< 0.01	-0.23	0.13	-0.13	0.39	-0.31	0.05	-0.19	0.21	-0.25	0.14
A20	-0.17	0.29	+0.03	0.84	+0.54	< 0.01	-0.13	0.42	-0.06	0.70	-0.28	0.08	-0.13	0.42	-0.17	0.31
A30	-0.22	0.20	+0.08	0.62	+0.48	< 0.01	-0.03	0.87	+0.07	0.69	-0.24	0.18	-0.13	0.45	-0.12	0.53
Alpha	0.00	0.98	+0.36	0.02	+0.18	0.25	-0.39	0.01	-0.27	0.08	0.00	0.99	-0.20	0.20	+0.04	0.81
MCF	-0.11	0.49	+0.15	0.34	+0.30	0.05	-0.06	0.70	+0.01	0.97	-0.23	0.16	-0.11	0.48	-0.05	0.78
LI45	+0.08	0.68	+0.02	0.91	-0.31	0.10	+0.28	0.13	+0.24	0.21	-0.04	0.83	+0.19	0.31	-0.09	0.67
LI60	+0.03	0.89	-0.07	0.76	-0.02	0.92	+0.25	0.26	+0.24	0.26	-0.03	0.89	+0.07	0.76	-0.10	0.67

CT clotting time (seconds), CFT clot formation time (seconds), A10 clot strength at 10 min (percent), A20 clot strength at 20 min (percent), A30 clot strength at 30 min (percent), Alpha α -angle (degrees), MCF maximal clot firmness (millimeter), LI45 lysis index at 45 min (percent), LI60 lysis index at 60 min (percent), CRP C-reactive protein, WBC white blood cells, PLT platelets, SNAPPE Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension

be helpful in discriminating between sepsis and postoperative inflammatory response in adults [22, 28].

Moreover, in our study, the degree of hypocoagulation, expressed as prolonged CFT, was found to be associated with the severity of sepsis. Increased CFT was significantly correlated with platelet count, SNAPPE, Tollner score, and the day of full enteral feeding. Regarding platelets, it is known that several ROTEM parameters are influenced by them. MCF, which describes the final strength of the clot, is affected by the fibrinogen concentration and the platelet count. A10, A20, A30, which represent the clot firmness at 10, 20, 30 min respectively, after CT, are also influenced by the platelet count and are highly predictable to the MCF. That is why A10, A20, A30 and MCF measurements were found to be related with platelet counts in sepsis group. Of note, the close interaction between platelets and coagulation cascade is reflected by the observed relationship between CT, CFT values, and platelets in septic neonates. Finally, CT, CFT, MCF, A10, and A20 values revealed worsening of hypocoagulable profile to be associated with hemorrhagic diathesis among septic neonates, which is in line with findings in adult sepsis patients [7, 8].

It is known that conventional coagulation tests do not fully reflect the *in vivo* hypocoagulability seen in patients with sepsis [31], while it is imperative to adapt laboratory tests to the smaller sample volumes obtained. Many tests have been evaluated in an effort to discover a reliable early indicator of sepsis in the neonates. The thromboelastogram detects coagulopathy, even when this is not detected by conventional coagulation tests [20]. For instance, it is known that platelets play a crucial role in the formation of the primary platelet plug and can influence several ROTEM parameters, like α -angle, A10, A20, A30, and MCF. However, a single platelet count cannot provide insight into secondary hemostasis, the process leading to the

formation of insoluble, cross-linked fibrin, which stabilizes the primary platelet plug. On the contrary, ROTEM estimates the effects of all blood components and their interactions on clot formation and dissolution. It seems that thromboelastometry variables might serve as early biomarkers for the diagnosis of neonatal sepsis. A ROTEM hypocoagulable profile on admission seems to be a promising tool in diagnosis and prognosis of sepsis in neonates.

Nevertheless, our study has several limitations. The sample size is relatively small, which might affect the precision of the diagnostic and prognostic capacity of ROTEM variables. The variance in timing of measurements, even within the first day of sepsis, and the lack of serial measurements could have also affected the test results, since sepsis is a dynamic process. The host inflammatory response to an invading organism initially usually results in a procoagulant phase in the septic patient, but consumption of clotting factors due to ongoing thrombosis finally leads to a hypocoagulable phase. Thus, assessment of the coagulation disturbances in acute sepsis is a complex and time-sensitive process that is best evaluated through serial measurements. However, taking into account the clear hypocoagulable profile noted at the early phase of neonatal sepsis, its diagnostic and prognostic value should be further studied. In conclusion, ROTEM may be a useful tool in the detection of coagulation abnormalities in neonatal sepsis and hypocoagulability could have diagnostic and prognostic applications.

Authors' Contributions AT, NI, and RS contributed to the conception and design of the study. RS, AK, SV, PD, EK, and IL conducted the work and collected the data. GG, KP, SB, TL, and GN carried out the statistical analysis. All authors contributed to the interpretation of data for the work. AT, RS, AG, VK, TL, and SB drafted the manuscript. All authors critically revised the paper for important intellectual content and approved the final version to be published.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Informed consent For this type of study, formal consent is not required.

Ethical approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

References

- Goldstein B, Giroir B, Randolph A (2005) International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 6(1):2–8. <https://doi.org/10.1097/01.PCC.00000149131.72248.E6>
- Seale AC, Mwaniki M, Newton CR, Bedley JA (2009) Maternal and early onset neonatal bacterial sepsis: burden and strategies for prevention in sub-Saharan Africa. *Lancet Infect Dis* 9(7):428–438. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70172-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70172-0)
- Mallett SV, Cox DJ (1992) Thrombelastography. *Br J Anaesth* 69(3):307–313. <https://doi.org/10.1093/bja/69.3.307>
- Sivula M, Pettilä V, Niemi TT, Vuopala M, Kuitanen AH (2009) Thrombelastometry in patients with severe sepsis and disseminated intravascular coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis* 20(6):419–426. <https://doi.org/10.1097/MBC.0b013e32832832a76e1>
- Collins PW, Macchiavello LJ, Lewis SJ, Macartney NJ, Sanyal AG, Luddington R, Baglin T, Findlay GP (2006) Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *Br J Haematol* 135(2):220–227. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2006.06281.x>
- Dauel F, Kensler U, Folly H, Lienert JS, Takala J, Jakob SM (2009) Thrombelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. *Crit Care* 13(2):R42. <https://doi.org/10.1186/cc7765>
- Adamzik M, Langemeier T, Frey UH, Görlinger K, Saner F, Eggebrecht H, Peters J, Hartmann M (2011) Comparison of thrombelastometry with simplified acute physiology score II and sequential organ failure assessment scores for the prediction of 30-day survival: a cohort study. *Shock* 35(4):339–342. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e3182046ff6>
- Ostrowski SR, Windeløv NA, Ibsen M, Haase N, Perner A, Johanson PI (2013) Consecutive thrombelastography clot strength profiles in patients with severe sepsis and their association with 28-day mortality: a prospective study. *J Crit Care* 28:317.e1–317.11. <https://doi.org/10.1016/j.jcc.2012.09.003>
- Zeerleder S, Hack CE, Wuillemin WA (2005) Disseminated intravascular coagulation in sepsis. *Chest* 128(4):2864–2875. <https://doi.org/10.1378/chest.128.4.2864>
- Walsh TS, Stanworth SJ, Prescott RJ, Lee RJ, Watson DM, Wyncoll D (2010) Prevalence, management, and outcomes of critically ill patients with prothrombin time prolongation in United Kingdom intensive care units. *Crit Care Med* 38(10):1939–1946. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181e69d2b>
- Grant HW, Hadley GP (1997) Prediction of neonatal sepsis by thrombelastography. *Pediatr Surg Int* 12(4):289–292. <https://doi.org/10.1007/BF01372152>
- Sokou R, Foudoulaki-Papazios L, Lytras T, Konstantinidi A, Theodoraki M, Lambadaridis I, Gounaris A, Valsami S, Politou M, Gialenki A, Nikolopoulos GK, Iacovidou N, Bonovas S, Tsantes AE (2017) Reference ranges of thrombelastometry in healthy full-term and pre-term neonates. *Clin Chem Lab Med* 55(10):1592–1597. <https://doi.org/10.1515/oclm-2016-0931>
- Wynn JL (2016) Defining neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr* 28(2):135–140. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000315>
- Shah BA, Padbury JF (2014) Neonatal sepsis: an old problem with new insights. *Virulence* 5(1):170–178. <https://doi.org/10.4161/viru.26906>
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G (2003) 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 31(4):1250–1256. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B>
- Richardson DK, Corcoran JD, Escobar GJ, Lee SK (2001) SNAP-II and SNAPPE-II: simplified newborn illness severity and mortality risk scores. *J Pediatr* 138:92–100. <https://doi.org/10.1067/mpd.2001.109608>
- Töllner U (1982) Early diagnosis of septicemia in the newborn: clinical studies and sepsis score. *Eur J Pediatr* 138(4):331–337. <https://doi.org/10.1007/BF00442511>
- Pichler E, Pichler L (2008) The neonatal coagulation system and the vitamin K deficiency bleeding—a mini review. *Wien Med Wochenschr* 158(13–14):385–395. <https://doi.org/10.1007/s10354-008-0538-7>
- Gonano C, Sitzwohl C, Meiner E, Weinstabl C, Kettner SC (2006) Four-day antithrombin therapy does not seem to attenuate hypocoagulability in patients suffering from sepsis. *Crit Care* 10(Suppl 1):R160. <https://doi.org/10.1186/cc598>
- Müller MC, Meijers JC, Vroom MB, Juffemans NP (2014) Utility of thromboelastography and/or thrombelastometry in adults with sepsis: a systematic review. *Crit Care* 18(1):R30. <https://doi.org/10.1186/cc13721>
- Schöchl H, Solomon C, Schulz A, Voelckel W, Hanke A, Van Griensven M, Redl H, Bahrani S (2011) Thrombelastometry (TEM) findings in disseminated intravascular coagulation in a pig model of endotoxemia. *Mol Med* 17(3–4):266–272. <https://doi.org/10.2119/molmed.2010.00159>
- Brenner T, Schmidt K, Delang M, Mehrabi A, Bruckner T, Lichtenstern C, Martin E, Weigand MA, Hofer S (2012) Viscoelastic and aggregometric point-of-care testing in patients with septic shock - cross-links between inflammation and haemostasis. *Acta Anaesthesiol Scand* 56(10):1277–1290. <https://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2012.02750.x>
- Revel-Vilk S (2012) The conundrum of neonatal coagulopathy. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program* 2012:450–454. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2012.1.450>
- Stauss T, Sidlik-Muskatel R, Kenet G (2011) Developmental hemostasis: primary hemostasis and evaluation of platelet function in neonates. *Semin Fetal Neonatal Med* 16(6):301–304. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2011.07.001>
- Andrew M, Poes B, Milner R, Johnston M, Mitchell L, Tollefson DM, Powers P (1987) Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood* 70(1):165–172
- Andrew M, Poes B, Milner R, Johnston M, Mitchell L, Tollefson DM, Castle V, Powers P (1988) Development of the human coagulation system in the healthy premature infant. *Blood* 72(5):1651–1657
- Monagle P, Barnes C, Ignjatovic V, Fumledge J, Newall F, Chan A, De Rosa L, Hamilton S, Ragg E, Robinson S, Auldias A, Crook C, Roy N, Rowlands S (2006) Developmental haemostasis: impact for clinical haemostasis laboratories. *Thromb Haemostasis* 95(2):362–372. <https://doi.org/10.1160/TH05-01-0047>
- Adamzik M, Eggmann M, Frey UH, Görlinger K, Bröcker-Preuss M, Marggraf G, Saner F, Eggebrecht H, Peters J, Hartmann M (2010) Comparison of thrombelastometry with procalcitonin, interleukin 6, and C-reactive protein as diagnostic tests for severe

- sepsis in critically ill adults. *Crit Care* 14(5):R178. <https://doi.org/10.1186/cc9284>
29. Massion PB, Petens P, Ledoux D, Zimmermann V, Canivet JL, Massion PP, Damas P, Gothot A (2012) Persistent hypocoagulability in patients with septic shock predicts greater hospital mortality: impact of impaired thrombin generation. *Intensive Care Med* 38(8):1326–1335. <https://doi.org/10.1007/s00134-012-2620-2>
30. Durila M, Bronsky J, Harustiak T, Pazdro A, Pechova M, Cvachovec K (2012) Early diagnostic markers of sepsis after oesophagectomy (including thromboelastography). *BMC Anesthesiol* 12(1):12. <https://doi.org/10.1186/1471-2253-12-12>
31. Levi M, Meijer JC (2011) DIC: which laboratory tests are most useful. *Blood Rev* 25(1):33–37. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2010.09.002>

Affiliations

Rozeta Sokou¹ · George Giallourou² · Aikaterini Konstantinidi¹ · Katerina Pantavou² · Georgios Nikolopoulos² · Stefanos Bonovas^{3,4} · Theodore Lytras⁵ · Elias Kyriakou⁶ · Ioannis Lambadaridis¹ · Antonis Gounaris⁷ · Panagiota Douramani⁸ · Serena Valsami⁸ · Violetta Kapsimali⁹ · Nicoletta Iacovidou¹⁰ · Argirios E. Tsantes⁶

¹ Neonatal Intensive Care Unit, “Agios Panteleimon” General Hospital of Nikaia, Piraeus, Greece

² Medical School, University of Cyprus, Nicosia, Cyprus

³ Department of Biomedical Sciences, Humanitas University, Milan, Italy

⁴ Humanitas Clinical and Research Center, Milan, Italy

⁵ Hellenic Center for Disease Control and Prevention, Athens, Greece

⁶ Laboratory of Haematology and Blood Bank Unit, School of Medicine, “Attiko” University Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, 1 Rimini Str, 12462 Athens, Greece

⁷ Neonatal Intensive Care Unit, University Hospital of Larissa, Larissa, Greece

⁸ Department of Blood Transfusion, Aretaio Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

⁹ Department of Microbiology, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

¹⁰ Neonatal Department, Aretaio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece