

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΝΕΟΓΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΠΑ, ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ,
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Ν. ΙΑΚΩΒΙΔΟΥ**

**ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ - ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ,
ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Κ. ΠΟΛΙΤΟΥ**

«ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ»

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΡΦΑ
(PLATELET FUNCTION ASSAY) ΣΕ ΝΕΟΓΝΑ ΜΕ
ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΗ ΑΥΞΗΣΗ**

**ΚΟΛΛΙΑ ΜΑΡΙΑ
ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2023

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΝΕΟΓΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΠΑ, ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ,
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Ν. ΙΑΚΩΒΙΔΟΥ**

**ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ - ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ,
ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Κ. ΠΟΛΙΤΟΥ**

«ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ»

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΡΦΑ
(PLATELET FUNCTION ASSAY) ΣΕ ΝΕΟΓΝΑ ΜΕ
ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΗ ΑΥΞΗΣΗ**

**ΚΟΛΛΙΑ ΜΑΡΙΑ
ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2023

Ημερομηνία αιτήσεως διατριβής: 12.12.2016

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 22.12.2016

Μέλη τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1. Βαλσάμη Σερένα, Αιματολόγος, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Ν.Υ. Αιμοδοσίας-Αιματολογικό Εργαστήριο, «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
2. Ιακωβίδου Νικολέτα, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
3. Μπούτσικου Θεοδώρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Νεογνολογική Κλινική «Αρεταίειο» Νοσοκομείο

Ημερομηνία ορισμού θέματος διδακτορικής διατριβής: 20.03.2017

Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής: 07.11.2022

Ημερομηνία δημόσιας υποστήριξης: 20.01.2023

Προέδρος Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Γεράσιμος Σιάσος

Μέλη επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

1. Πανουλής Κωνσταντίνος, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
2. Ιακωβίδου Νικολέττα, Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
3. Πολίτου Μαριάννα, Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
4. Ξάνθος Θεόδωρος, Καθηγητής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής
5. Βαλσάμη Σερένα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
6. Μπούτσικου Θεοδώρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
7. Ηλιοδρομίτη Ζωή, Επίκουρη Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Βαθμός: Άριστα

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Όνοματεπώνυμο: Κόλλια Μαρία

Ημερομηνία γέννησης: 10/12/1990

Υπηκοότητα: Ελληνική

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 2008-2014** Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Επιστημών Υγείας, Σχολή Ιατρικής
- ημερομηνία κτήσης πτυχίου : 18/07/2014
 - βαθμός πτυχίου : 8,85 , χαρακτηρισμός : άριστα

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 2016-2017** Κέντρο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Δια Βίου Μάθησης ΕΚΠΑ
«Ψυχοπαθολογία του Βρέφους, του Παιδιού και του Εφήβου»
Βαθμοί ECVET : 9,58
- 2017-2018** Κέντρο επιμόρφωσης και δια βίου μάθησης ΟΠΑ
«Ανάλυση δεδομένων κλινικών δοκιμών»
- 2017-σήμερα** Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Νεογνολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο
εκπόνηση διδακτορικής διατριβής με τίτλο *“Μελέτη της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων με τη μέθοδο Platelet Function Assay (PFA) σε νεογνά με ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση”*

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- Νοέμβριος 2014-** Υπηρεσία υπαίθρου, Κ.Υ. Αρεόπολης Λακωνίας
- Μάρτιος 2016**
- Μάιος 2016-** Ειδικευόμενη παιδιατρικής, Νεογνολογική Κλινική ΕΚΠΑ, Αρεταίειο
- Σεπτέμβριος 2017** Νοσοκομείο
- Ιούνιος 2018-** Ειδικευόμενη παιδιατρικής, Παιδιατρική Κλινική, ΓΝ Κορίνθου

Μάρτιος 2019

- Ιούλιος 2019-** Ειδικευόμενη παιδιατρικής, ΒΠΠΚ, Νοσοκομείο Παίδων “Π&Α.
Σεπτέμβριος 2022 Κυριακού”
Σεπτέμβριος 2022 Κτήση τίτλου ιατρικής ειδικότητας Παιδιατρικής

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

- Αγγλικά** Certificate of Proficiency in English, University of Michigan (C2)
Γαλλικά Diplôme d'études en langue française DELF (B2)
Γερμανικά Goethe- Zertifikat (C1)

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- Από 21/10/2017** Neonatal Life Support (NLS) Instructor
έως σήμερα
26/01/18 “Κλινικό φροντιστήριο ΚΑΡΠΑ” στα πλαίσια του μαθήματος
“Διαχείριση επείγοντος στα Μαιευτικά και Νεογνικά περιστατικά-
πρωτόκολλα” Π.Μ.Σ. του Τ.Ε.Ι. Αθήνας “Προηγμένη και
Τεκμηριωμένη Μαιευτική Φροντίδα”
02/12/16 Ετήσιος κύκλος μαθημάτων τμημάτων ΜΕΝΝ-Παιδιατρικής Κλινικής
ΓΝ Νίκαιας “Άγιος Παντελεήμων”
“Πρόληψη και αντιμετώπιση GBS λοίμωξης σε νεογνό”

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Kollia M, Iacovidou N, Iliodromiti Z, Pouliakis A, Sokou R, Mougou V, Boutsikou M, Politou M, Boutsikou T, Valsami S. Primary hemostasis in fetal growth restricted neonates studied via PFA-100 in cord blood samples. Front Pediatr. 2022 Sep 8;10:946932. doi: 10.3389/fped.2022.946932.
2. Mougou V, Boutsikou T, Sokou R, Kollia M, Valsami S, Pouliakis A, Boutsikou M, Politou M, Iacovidou N, Iliodromiti Z. Gestational Diabetes Melitus and Cord Blood Platelet Function Studied via the PFA-100 System. Diagnostics (Basel). 2022 Jul 6;12(7):1645. doi: 10.3390/diagnostics12071645.

3. Valsami S, Kollia M, Mougou V, Sokou R, Isaakidou E, Boutsikou M, Pouliakis A, Iliodromiti Z, Carr R, Boutsikou T, Iacovidou N, Politou M. (2020). Evaluation of PFA-100 closure times in cord blood samples of healthy term and preterm neonates. Clin Chem Lab Med,58(4),e113-e116
4. Politou M, Mougou V, Kollia M, Sokou R, Kafalidis G, Iliodromiti Z, Valsami S, Boutsikou T, Iacovidou N. (2020). High-Risk Pregnancies and Their Impact on Neonatal Primary Hemostasis.SeminThromb Hemost.,46(4),435-445
5. Boutsikou T, Mougou V, Sokou R, Kollia M, Kafalidis G, Iliodromiti Z, Salakos C, Iacovidou N (2019). Four Cases of Perineal Groove—Experience of a Greek Maternity Hospital. Medicina,55,488
6. Kollia M, Sokou R, Patsouras G, Panagiotounakou P, Iacovidou N, KonstantinidiA.(2018).Congenital diaphragmatic hernia and double-outlet right ventricle: elements of trisomy 18?.Case Reports in Perinatal Medicine,7(1),20170028
7. Iacovidou N, Kollia M, Nana E, Boutsikou T, Savvidis C, Kattamis A, Kyriakopoulou D, Ladis V. (2017). Spontaneous fertility in a male thalassemic patient after allogeneic hematopoietic cell transplantation.Thalassemia Reports, 7(1), 32

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- 1-2/06/18** 4th PNAE Congress on Paediatric Nursing, Athens, Greece: 1
 1. PRELIMINARY RESULTS OF THEORETICAL KNOWLEDGE RETENTION AFTER NEWBORN LIFE SUPPORT SEMINAR
- 2-5/09/18** 4th European Workshop on Neonatology, Cappadocia, Turkey: 1
 1. STUDY OF NEONATAL PLATELET FUNCTION WITH PFA-100 IN NEONATES OF PREGNANCIES COMPLICATED WITH INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION, GESTATIONAL DIABETES AND PERINATAL HYPOXIA
- 3-5/10/18** 8th International Congress of UENPS, Bucharest, Romania: 1
 1. RISK FACTORS FOR THE DEVELOPMENT OF INGUINAL HERNIA IN PREMATURE NEONATES WITH BW < 1500GR AND GA < 32 WEEKS

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- 18-20/05/18** 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νεογνολογίας: 6
1. ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΕΚΒΑΣΗΣ ΝΕΟΓΝΩΝ ΜΗΤΕΡΩΝ ΜΕ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ
 2. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΝΕΟΓΝΩΝ ΜΕ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΗ ΑΥΞΗΣΗ ΜΕ PLATELETFUNCTIONASSAY (PFA-100)
 3. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΕ ΝΕΟΓΝΑ ΜΗΤΕΡΩΝ ΜΕ ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΥΗΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΑΛΥΤΗ PFA-100
 4. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ PLATELET FUNCTION ASSAY (PFA-100) ΣΕ ΝΕΟΓΝΑ ΜΕ ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΥΠΟΞΙΑ / ΑΣΦΥΞΙΑ
 5. ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗΣ ΕΚΒΑΣΗΣ ΔΙΔΥΜΩΝ ΚΥΗΣΕΩΝ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΑΙΕΥΤΗΡΙΟ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΟ ΦΥΛΟ
 6. ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΣΕ ΕΚΠΑΙΔΕΥΟΜΕΝΟΥΣ ΣΕ ΣΕΝΙΜΑΡΙΟ ΝΕΟΓΝΙΚΗΣ ΑΝΑΝΗΨΗΣ: ΠΡΟΔΡΟΜΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
- 6-8/05/22** Πανελλήνιο Συνέδριο “Εξελίξεις Αιχμής στην Παιδονευρολογία”: 1
- ΝΗΠΙΟ ΜΕ ΥΠΟΤΟΝΙΑ ΚΑΙ ΒΛΕΦΑΡΟΠΤΩΣΗ

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- 6-9/09/17** 3rd Summer Conference on Neonatology in Provence, Avignon, France: 8
1. PERINEAL GROOVE: PRESENTATION OF TWO CASES
 2. 2 CASE REPORTS OF SUBGROUP INCOMPATIBILITY
 3. OVARIAN CYST IN A TWIN FEMALE NEONATE - A CASE REPORT
 4. FACTORS RELATED TO NEONATAL WEIGHT LOSS IN THE FIRST DAYS OF LIFE: EXPERIENCE FROM A GREEK BABY-FRIENDLY HOSPITAL
 5. CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIA AND DOUBLE-OUTLET RIGHT VENTRICLE (DORV) IN A NEONATE WITH TRISOMY 18
 6. A CASE REPORT OF EPIDIDYMO-ORCHITIS IN A MALE NEONATE
 7. CERVICAL CHONDROCUTANEOUS REMNANT: A CASE REPORT
 8. RUSTY PIPE SYNDROME: A CASE REPORT
- 8-10/10/17** 8th Recent Advances in Neonatal Medicine, Würzburg, Germany: 2

1. THE IMPACT OF MIGRANT STATUS ON PERINATAL AND NEONATAL OUTCOME

2. THE IMPACT OF MATERNAL HYPOTHYROIDISM ON NEONATAL OUTCOME

9-10/03/18 2nd International Workshop “Intensive Care of the Newborn”, Verona, Italy: 2

1.EXCESSIVE WEIGHT LOSS IN THE EXCLUSIVELY BREASTFED NEONATE DURING THE FIRST DAYS OF LIFE: A PILOT STUDY IN A GREEK MATERNITY HOSPITAL

2.PERCEPTIONS OF HEALTH CARE PROFESSIONALS ON BREASTFEEDING PRACTICES

3-5/10/18 8th International Congress of UENPS, Bucharest: 9

1.PERINATAL OUTCOME OF NEONATES BORN TO MOTHERS COLONIZED WITH GROUP B STREPTOCOCCI IN A GREEK MATERNITY HOSPITAL

2.COLONIZATION OF NEONATES BORN TO MOTHERS COLONIZED WITH GBS, BY EAR AND NASOPHARYNGEAL SWABS IN A GREEK MATERNITY HOSPITAL: PRELIMINARY DATA

3.PLATELET FUNCTION ASSESSMENT VIA PFA-100 IN NEONATES WITH INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION (IUGR)

4.EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF ECHOGENIC INTRACARDIAC FOCI

5.NEONATAL JAUNDICE DUE TO HEREDITARY SPHEROCYTOSIS: A CASE REPORT

6.EVALUATION OF PLATELET FUNCTION WITH PFA-100 IN NEONATES OF PREGNANCIES COMPLICATED WITH GESTATIONAL DIABETES

7.PLATELET FUNCTION ASSESEMENT VIA PFA-100 IN NEONATES WITH PERINATAL HYPOXIA / ASPHYXIA

8.PERINATAL OUTCOME IN OFFSPRINGS OF MOTHERS WITH THYROID DISEASE: A RETROSPECTIVE STUDY

19-22/06/19 26th Anniversary International Congress on Thrombosis:1

1. PFA REFERENCE RANGES IN HEALTHY FULL-TERM AND PRE-TERM NEONATES

26-29/10/20 ESPID 2020 Virtual meeting: 1

1.SPLENIC INFARCT: A RARE MANIFESTATION OF RICKETTTSIAL INFECTION

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- 13-15/10/17** 19ο Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα, Ελλάδα: 9
1. RUSTY PIPE SYNDROME: ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ
 2. ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΟΨΙΜΩΝ ΠΡΟΩΡΩΝ ΝΕΟΓΝΩΝ ΣΕ ΜΑΙΕΥΤΗΡΙΟ ΤΩΝ ΑΘΗΝΩΝ
 3. ΕΛΑΣΣΟΝΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΤΩΝ ΩΤΩΝ ΚΑΙ ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΝΟΚ- ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
 4. ΝΕΟΓΝΙΚΟΣ ΙΚΤΕΡΟΣ ΛΟΓΩ ΑΛΛΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΑΠΟ ΤΑ ΑΝΤΙ-RHESUS: ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ 2 ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ
 5. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΤΕΚΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΠΟ ΠΑΤΕΡΑ ΜΕ ΜΕΙΖΟΝΑ ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΓΟΝΑΔΟΤΟΞΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΛΟΓΩ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗΣ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ
 6. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΩΟΘΗΚΙΚΟΥ ΚΥΣΤΙΚΟΥ ΜΟΡΦΩΜΑΤΟΣ ΣΕ ΝΕΟΓΝΟ ΔΙΔΥΜΟΥ ΚΥΗΣΗΣ
 7. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ: ΝΕΟΓΝΟ ΜΕΤΡΑΧΗΛΙΚΟ ΧΟΝΔΡΟΔΕΡΜΑΤΙΚΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑ ΒΡΑΓΧΙΑΚΟΥ ΤΟΞΟΥ
 8. ΠΕΡΙΝΕΪΚΗ ΑΥΛΑΚΑ: ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗ 2 ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ
 9. ΣΥΓΓΕΝΗΣ ΔΙΑΦΡΑΓΜΑΤΟΚΗΛΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΟΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΙΑ ΚΟΙΛΙΑ (DORV) ΣΥΝΟΔΕΣ ΤΡΙΣΩΜΙΑΣ 18
- 18-20/05/18** 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νεογνολογίας: 5
1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΓΩΓΗΣ ΤΗΣ ΜΗΤΕΡΑΣ ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ ΤΟΚΕΤΟΥ
 2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΓΩΓΗΣ ΤΗΣ ΜΗΤΕΡΑΣ ΣΤΙΣ ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΜΗΤΕΡΑΣ-ΝΕΟΓΝΟΥ
 3. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗΣ ΣΦΑΙΡΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗΣ ΣΕ ΝΕΟΓΝΟ ΜΕ ΙΚΤΕΡΟ
 4. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΥΠΕΡΗΧΟΓΕΝΩΝ ΕΣΤΙΩΝ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΩΝ ΕΜΒΡΥΩΝ ΠΟΥ ΑΝΕΥΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΑ
 5. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ: ΝΕΟΓΝΟ ΜΕ ΤΡΙΣΩΜΙΑ Χ
- 4-8/11/18** 29ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο: 1
1. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ PFA-100 ΣΕ ΤΕΛΕΙΟΜΗΝΑ ΚΑΙ ΠΡΟΩΡΑ ΝΕΟΓΝΑ
- 11-13/12/20** 2^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικών Λοιμώξεων: 1
- ΕΝΔΗΜΙΚΟΣ ΤΥΦΟΣ: ΕΝΑ ΟΧΙ ΚΑΙ ΤΟΣΟ ΣΠΑΝΙΟ ΝΟΣΗΜΑ

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ-ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ

ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ: 25

ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ: 7

ΤΙΜΗΤΙΚΕΣ ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

Σεπτέμβριος 2011 Υποτροφία του κληροδοτήματος Δημ. Μαυροκορδάτου
– Ιούνιος 2014

Στη μνήμη του πατέρα μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	ΣΕΛ.
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	14
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ.....	16
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	20
I. ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ.....	21
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	21
2. ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ.....	22
3. ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΤΟΙΧΩΜΑ.....	23
4. ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....	27
5. ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ.....	30
6. ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....	32
7. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....	34
8. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΗ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ-ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΗΞΗΣ.....	35
9. ΜΗ ΚΛΑΣΣΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....	36
II. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΡΩΤΟΓΕΝΟΥΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ.....	37
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	37
2. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ.....	37
3. ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....	39
4. ΧΡΟΝΟΣ ΡΟΗΣ ΤΟΥ IVY - BLEEDING TIME (BT).....	40
5. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΤΕΣΤ ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....	40

6. ΤΕΣΤ ΒΑΣΙΣΜΕΝΑ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΕ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΥΨΗΛΟΥ ΣΤΡΕΣ ΔΙΑΤΜΗΣΗΣ.....	46
7. ΤΕΣΤ ΒΑΣΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΙΣ ΙΞΩΔΟΕΛΑΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.....	47
8. ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ - FLOW CYTOMETRY.....	49
9. ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ ΘΡΟΜΒΟΞΑΝΗΣ.....	51
10. ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΚΟΚΚΙΩΝ.....	52
11. ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΔΙΕΛΕΥΣΗΣ (TEM).....	53
12. ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	53
III. PLATELET FUNCTION ANALYZER -100 (PFA-100).....	58
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	58
2. ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	58
3. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΗΧΑΝΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΗΣ.....	59
4. ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΙΜΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ.....	65
5. ΠΡΟΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ.....	66
6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ.....	68
IV. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ.....	72
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	72
2. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΝΕΟΓΝΟΥ ΜΕ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ.....	72
3. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΝΕΟΓΝΟΥ ΜΕ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ.....	73
4. ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ.....	74
5. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ.....	91
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	93
V. ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΗ ΑΥΞΗΣΗ (ΕΥΑ).....	95
1. ΟΡΙΣΜΟΣ.....	95
2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	97

3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ.....	97
4. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ.....	98
5. ΠΡΟΛΗΨΗ.....	103
6. ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	104
7. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΕΜΒΡΥΟΥ ΜΕ ΕΥΑ-ΤΡΟΠΟΣ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΣ ΜΑΙΕΥΣΗΣ.....	106
8.ΜΕΤΑΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΕΥΑ - ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	107
9. ΒΡΑΧΥΠΡΟΘΕΣΜΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ.....	110
10. ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΕΣ ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ.....	113
11. ΦΡΟΝΤΙΔΑ ΣΤΟΝ ΤΟΚΕΤΟ.....	117
VI. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ ΜΕ ΕΥΑ.....	119
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	119
2. ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....	119
3. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....	121
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	125
I. ΥΠΟΘΕΣΗ.....	126
II. ΣΚΟΠΟΣ.....	126
III. ΥΛΙΚΟ.....	127
IV. ΜΕΘΟΔΟΙ.....	137
V. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	139
VI. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	140
VII. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	155
VIII. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	165
IX. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΕΛΛΗΝΙΚΗ.....	166
X. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΑΓΓΛΙΚΗ.....	170
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	174
ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ.....	198

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πριν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, θα ήθελα ειλικρινά να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν για την πραγματοποίηση αυτού του έργου.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ κα Σερένα Βαλσάμη, που ήταν και η επιβλέπουσα της διδακτορικής αυτής διατριβής, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την ανεξάντλητη υπομονή της και τη διάθεσή της να με διδάξει τόσο σε θέματα αιματολογίας όσο και ορθής επιστημονικής έρευνας. Με τη συμπαράσταση και τις παραγωγικές υποδείξεις της συνέβαλε τα μέγιστα για την εκπόνηση της διδακτορικής μου διατριβής, αφήνοντας μου τις συμβουλές της ως παρακαταθήκη για το μέλλον.

Θα ήθελα ιδιαίτερος να ευχαριστήσω και να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ κα Νικολέττα Ιακωβίδου που μου έδωσε την ευκαιρία να εκπονήσω αυτή τη διδακτορική διατριβή στην κλινική της και με ενθάρρυνε κάθε στιγμή με την αμέριστη συμπαράστασή της. Πέρα από τις γνώσεις και την αγάπη που μου μετέδωσε για τη Νεογνολογία, με βοήθησε να κάνω τα πρώτα μου ακαδημαϊκά βήματα, προσφέροντας μου απλόχερα ευκαιρίες για κλινικό και εκπαιδευτικό έργο και συμμετοχή σε συνέδρια και δημοσιεύσεις, ανοίγοντάς μου νέους ορίζοντες στην Παιδιατρική.

Σε αυτό το σημείο αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ κα Θεοδώρα Μπούτσικου, η οποία από τα πρώτα μου βήματα ως ειδικευόμενη Παιδιατρικής στη Νεογνολογική Κλινική μου έδωσε τις αρχικές κατευθύνσεις τόσο σε θέματα γύρω από την κλινική Νεογνολογία όσο και σε ακαδημαϊκό επίπεδο και στάθηκε σημαντικός αρωγός στην προσπάθειά μου. Ήταν ο άνθρωπος που μου ενέπνευσε το ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τα νεογνά με ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση και με παρότρυνε να ασχοληθώ με το αντικείμενο αυτό.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τις συναδέλφους μου κα Βασιλική Μούγιου και κα Ελίνα Ισαακίδου για την πολύτιμη συμβολή τους και την άριστη συνεργασία που αναπτύξαμε στη συλλογή των δειγμάτων, την επεξεργασία τους και την καταγραφή των αποτελεσμάτων πάντα με συνέπεια και μεθοδικότητα.

Ευχαριστώ ιδιαίτερος τον κύριο Αβραάμ Πουλιάκη, Φυσικό Ηλεκτρονικό-Ραδιοηλεκτρολόγο στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής ΕΚΠΑ, Νοσοκομείο ΑΤΤΙΚΟΝ και την κα Μαρία Μπούτσικου, Καρδιολόγο- Βιοστατιστικό, Διευθύντρια

Μονάδας MRI/CT Καρδιάς, Νοσοκομείο Mediterraneo, για την πολύτιμη συμβολή τους στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης.

Επίσης, επιθυμώ να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ και Διευθύντρια του Αιματολογικού Εργαστηρίου – Υπηρεσίας Αιμοδοσίας κα Μαριάννα Πολίτου για τις συμβουλές της στην αξιολόγηση του μηχανισμού της αιμόστασης και την ευκαιρία να εκπονηθεί η διατριβή σε συνεργασία με το εργαστήριο, καθώς και τους ιατρούς της Νεογνολογικής Κλινικής κύριο Γεώργιο Καφαλίδη και την Επίκουρη Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ κα Ζωή Ηλιοδρομίτη για την αμέριστη βοήθεια τους. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στην ιατρό της Νεογνολογικής Κλινικής κα Ροζέτα Σώκου, για όλες τις χρήσιμες πληροφορίες που μου μετέδωσε στο τομέα της νεογνικής αιμόστασης και την υποστήριξη της σε αυτή την προσπάθεια.

Παράλληλα, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω όσους με βοήθησαν στη συλλογή των δειγμάτων και των πληροφοριών και κυρίως τους ειδικευόμενους ιατρούς της Νεογνολογικής Κλινικής, τους ειδικευόμενους ιατρούς Μαιευτικής και Γυναικολογίας και τις μαίες της αίθουσας τοκετών. Και φυσικά, θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου όπου έγινε η επεξεργασία των δειγμάτων και συγκεκριμένα τον κύριο Δ. Κορακάκη, την κα Αν. Μπλάνου, την κα Σ. Ντουένας και την κα Θ. Κασσή.

Και τέλος ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ ανήκει στην οικογένεια μου ,στο σύζυγο μου και τη μητέρα μου, που κατανόησαν την ανάγκη μου να αφιερώσω πολύτιμο χρόνο στην εκπόνηση της διατριβής και μου προσέφεραν την απαραίτητη ηθική συμπαράσταση για την ολοκλήρωσή της.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ (με αλφαβητική σειρά)

AA= arachidonic acid - αραχιδονικό οξύ

AC= abdominal circumference - περίμετρος κοιλίας

ADP= adenosine diphosphate - διφωσφορική αδενοσίνη

AGA= appropriate for gestational age - κατάλληλο για την ηλικία κύησης (10η – 90η ΕΘ)

AMP= adenosine monophosphate - μονοφωσφορική αδενοσίνη

aPTT= activated partial thromboplastin time - χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης

ART= assisted reproductive technology - τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής

ASA= acetylsalicylic acid - ακετυλοσαλικυλικό οξύ

ATP= adenosine 5'-triphosphate - τριφωσφορική αδενοσίνη

BPD= biparietal diameter- αμφιβρεγματική διάμετρος

CAN= clinical assessment of nutrition= κλινική αξιολόγηση της διατροφής

CFT= clot formation time – χρόνος σχηματισμού θρόμβου

CI= cephalization index

COL/ADP= collagen and ADP - κολλαγόνο και ADP

COL/EPI= collagen and epinephrine - κολλαγόνο και επινεφρίνη

COX= Cyclooxygenase - κυκλοοξυγενάση

CPA= Cone and Plate (Let) Analyzer

CT= closure time - χρόνος κλεισίματος

DAG= diacylglycerol - διακυλογλυκερόλη

DDAVP= desmopressin - δεσμοπρεσσίνη

DTS= Dense Tubular System = Πυκνό σωληνώδες σύστημα

ECMO= extracorporeal membrane oxygenation - εξωσωματική κυκλοφορία

- EDTA= ethylenediaminetetraacetic acid – αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ
- EGF= epidermal growth factor - επιδερμικός αυξητικός παράγοντας
- ELBW= extremely low birthweight - εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης (<1000g)
- FFP= fresh frozen plasma - φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα
- FGR= Fetal Growth Restriction – εμβρυϊκή υπολειπόμενη αύξηση
- FL= femur length- μήκος μηριαίου οστού
- GP= glycoprotein - γλυκοπρωτεΐνη
- HC= head circumference - περίμετρος κεφαλής
- HMWK= high-molecular-weight kininogen - υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο
- IGF= insulin-like growth factor - ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας
- IGFBP= insulin-like growth factor binding protein - πρωτεΐνη δέσμησης του IGF
- IP₃ = inositol trisphosphate - τριφωσφορική ινοσιτόλη
- IPF= immature platelet fraction - ανώριμο κλάσμα αιμοπεταλίων
- IUGR= intrauterine growth restriction – ενδομήτρια καθυστέρηση αύξησης
- IVH= intraventricular hemorrhage - ενδοκοιλιακή αιμορραγία
- LBW= low birthweight - χαμηλού βάρους γέννησης (<2500g)
- LGA= large for gestational age - μεγάλο για την ηλικία κύησης (>90η ΕΘ)
- LTA= light transmission aggregometry - οπτική θολοσιμετρική συσσώρευση
- MA= maximal amplitude – μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (κατά TEG ® 500)
- MCF= maximum clot firmness - μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (κατά ROTEM)
- MFI= median fluorescence intensity - μέση ένταση φθορισμού
- MK= megakaryocyte - μεγακαρυοκύτταρο
- MPV= mean platelet volume - μέσος όγκος αιμοπεταλίων
- NO= nitric oxide - μονοξείδιο του αζώτου
- PAF= platelet-activating factor - ενεργοποιητικός παράγοντας αιμοπεταλίων

- PDW= platelet distribution width - πλάτος κατανομής αιμοπεταλίων
- PFA-100= Platelet Function Analyzer - Αναλυτής λειτουργικότητας αιμοπεταλίων
- PFT= platelet function test= δοκιμασία αιμοπεταλιακής λειτουργικότητας
- PG= prostaglandin - προσταγλανδίνη
- PGI₂= prostacyclin - προστακυκλίνη
- PI= Pulsatility Index – δείκτης παλμικότητας
- PIGF= placental growth factor - αυξητικός παράγοντας πλακούντα
- PIH= pregnancy induced hypertension - υπέρταση κύησης
- PK= prekallikrein - προκαλλικρεΐνη
- PL= phospholipase - φωσφολιπάση
- POCT= point-of-care test
- PPP= platelet poor plasma - πλάσμα πτωχό σε αιμοπετάλια
- PRP= platelet rich plasma - πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια
- PT= prothrombin time - χρόνος προθρομβίνης
- ROTEM= Rotational Thromboelastometry – Περιστροφική Θρομβοελαστομετρία
- SGA= small for gestational age - μικρό για την ηλικία κύησης (<10η ΕΘ)
- TEG= Thromboelastography - Θρομβοελαστογραφία
- TF= tissue factor - ιστικός παράγοντας
- TLRs= Toll-like receptors – υποδοχείς Toll-like
- tPA= tissue plasminogen activator – ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου
- TPO= thrombopoietin - θρομβοποιητίνη
- TRAP= thrombin receptor activating peptide - ενεργοποιητικό του υποδοχέα της θρομβίνης πεπτίδιο
- Tx= thromboxane - θρομβοξάνη

VEGF= vascular endothelial growth factor - αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας

VLBW= very low birthweight - πολύ χαμηλού βάρους γέννησης (<1500g)

VWF= Von Willebrand factor - παράγοντας von Willebrand

ΔΕΠ= διάχυτη ενδαγγειακή πήξη

ΕΥΑ= ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση

ΗΧΜΒ= ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους

ΜΣΑΦ= μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

ΝΕΚ= νεκρωτική εντεροκολίτιδα

ΠΟΥ= Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

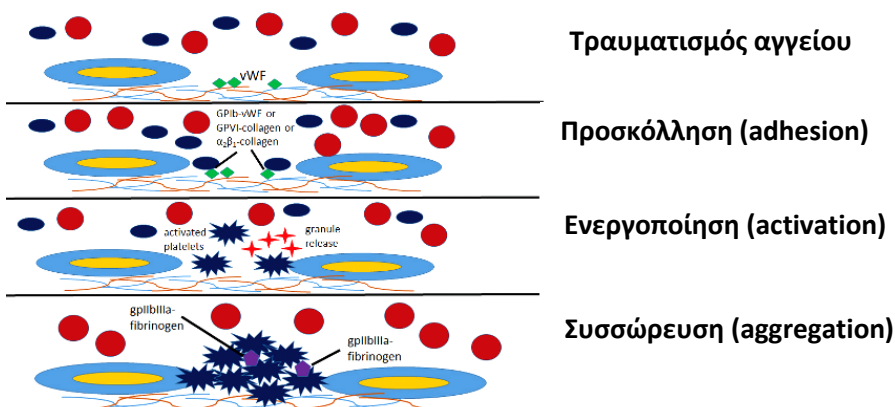
ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αιμόσταση αποτελεί έναν ομοιοστατικό μηχανισμό που σκοπό έχει από τη μια πλευρά την προστασία από την αιμορραγία και από την άλλη την αποφυγή θρόμβωσης ώστε να διατηρείται το αίμα σε ρευστή κατάσταση μέσα στα αγγεία. Αδρά αποτελείται από τα εξής στάδια:

- την πρωτογενή αιμόσταση: τη δημιουργία δηλαδή ενός πρωτογενούς αιμοπεταλιακού θρόμβου. Βασικοί πρωταγωνιστές είναι τα αγγεία (αγγειοσύσπαση) και τα αιμοπετάλια.
- τη δευτερογενή αιμόσταση: τη δημιουργία ενός σταθερού πλέγματος ινικής που σταθεροποιεί το θρόμβο. Βασικό ρόλο έχουν οι παράγοντες πήξης και οι φυσικοί αναστολείς.
- την ινωδόλυση: τη διαδικασία που εμποδίζει την υπερβολική αύξηση του θρόμβου και μεσολαβεί στη διάλυση του.

Στο παρόν κεφάλαιο θα αναλυθούν οι μηχανισμοί της πρωτογενούς αιμόστασης. Τα αιμοπετάλια συμμετέχουν με μια καθορισμένη σειρά γεγονότων που περιλαμβάνουν την προσκόλληση στο τραυματισμένο ενδοθήλιο, την ενεργοποίηση που οδηγεί σε αλλαγή σχήματος και αποκοκκίωση, και τέλος τη συσσώρευση αιμοπεταλίων. (Εικόνα 1)



Εικόνα 1. Σχηματική απεικόνιση σταδίων πρωτογενούς αιμόστασης.

2. ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ

Τα αιμοπετάλια είναι μικρά (3.6 x 0.7 mm), απύρρηνα, δισκοειδή κύτταρα τα οποία παίζουν κεντρικό ρόλο στην αιμόσταση και τη θρόμβωση και προέρχονται από τα μεγακαρυοκύτταρα. Η παραγωγή των αιμοπεταλίων από τα μεγακαρυοκύτταρα είναι μια διαδικασία συστηματική και ρυθμιζόμενη, η οποία λαμβάνει χώρα κυρίως στο μυελό των οστών. (1) Η διάρκεια ζωής των αιμοπεταλίων είναι 5 με 7 ημέρες τόσο λόγω της έλλειψης πυρήνα όσο και λόγω της έκθεσης σε υψηλό στρες διάτμησης στα αγγεία. Κατά τη διάρκεια της ζωής τους τα αιμοπετάλια μειώνονται σε μέγεθος ώστε τα πιο άωρα να έχουν τον μεγαλύτερο όγκο. Στο τέλος της ζωής τους στα αγγεία ή έπειτα από πλήρη ενεργοποίηση και ενσωμάτωση σε ένα θρόμβο, απομακρύνονται από τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα και μεταφέρονται στο σπλήνα για απομάκρυνση από την κυκλοφορία.

Τα αιμοπετάλια εμπλέκονται σε πολλές διεργασίες από την άμυνα του οργανισμού και τη φλεγμονή έως την αγγειογένεση σε όγκους και τις μεταστάσεις. (2) Παρόλα αυτά, η κύρια λειτουργία τους παραμένει η αναχαίτιση της αιμορραγίας που ακολουθεί τον αγγειακό τραυματισμό. Για το λόγο αυτό μέσα στα αγγεία τα αιμοπετάλια κυκλοφορούν κοντά στο τοίχωμα, σύμφωνα με τη βιοφυσική του αίματος και το στρες διάτμησης. Σε φυσιολογικές συνθήκες τα αιμοπετάλια δεν αλληλοεπιδρούν με το άθικτο αγγειακό τοίχωμα. Όμως, μετά από τραυματισμό του ενδοθηλίου τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στην εξωκυττάρια ουσία με μια διαδικασία που περιλαμβάνει τη δράση διαφορετικών αιμοπεταλιακών υποδοχέων, οδηγώντας αρχικά σε κύλισμα των αιμοπεταλίων πάνω από το τραυματισμένο ενδοθήλιο και τελικά σε ισχυρή προσκόλληση. Η προσκόλληση αυτή δίνει το σήμα για ένα καταρράκτη γεγονότων που μεσολαβείται από τυροσινικές κινάσες και υποδοχείς που συνδέονται με G πρωτεΐνες, που οδηγεί σε ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και απελευθέρωση των περιεχομένων των κοκκίων τους που με τη σειρά του οδηγεί σε επιστράτευση και ενεργοποίηση επιπρόσθετων αιμοπεταλίων. Το αποτέλεσμα είναι η συγκόλληση των αιμοπεταλίων και η παρουσία μιας προθρομβωτικής επιφάνειας που ευνοεί τη δημιουργία ενός αιμοστατικού θρόμβου πλούσιου σε ινική. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων επίσης επάγει τη σύνθεση και την έκκριση μορίων από το ενδοθήλιο που ελέγχουν και σταματούν την παραγωγή θρόμβου. (3, 4)

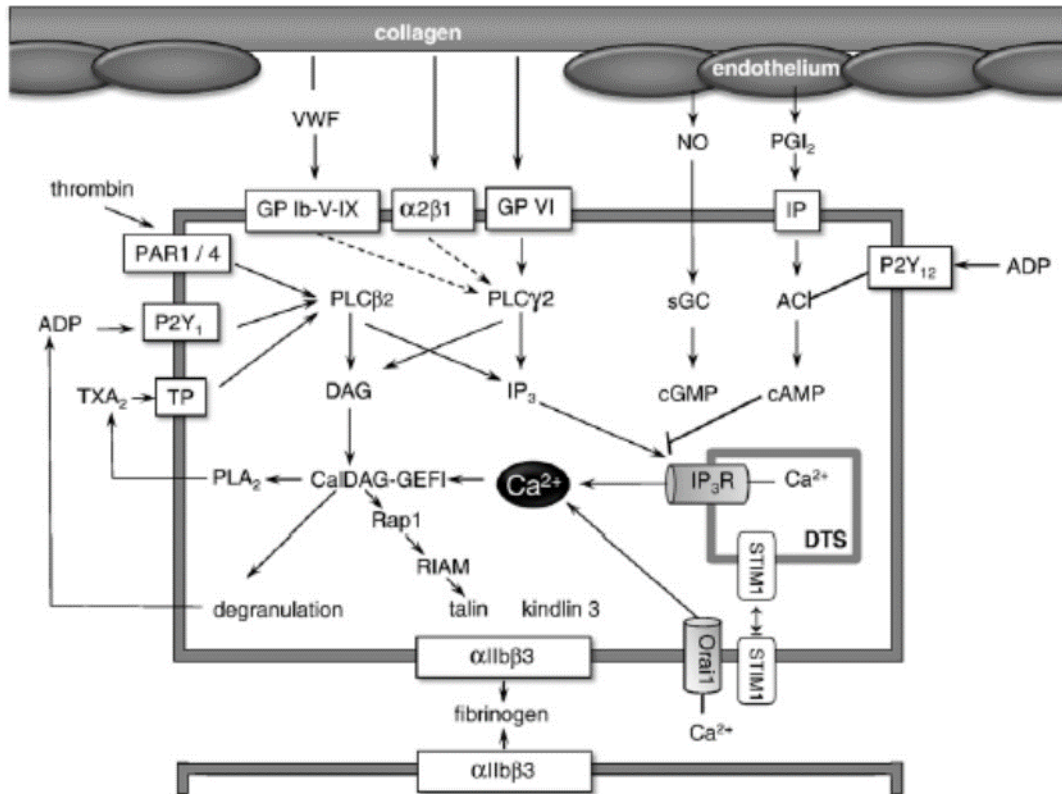
3. ΠΡΟΣΚΟΛΗΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΤΟΙΧΩΜΑ

Στη φυσιολογική κυκλοφορία του αίματος με άθικτο αγγειακό τοίχωμα, τα περισσότερα αιμοπετάλια δε θα έχουν αλληλεπίδραση με την ενδοθηλιακή επιφάνεια σε όλο το χρόνο ζωής τους. Παρόλα αυτά σε σημεία αγγειακού τραυματισμού, η υπενδοθηλιακή εξωκυττάρια ουσία εκτίθεται στα κύτταρα του αίματος, εκ των οποίων τα αιμοπετάλια είναι αυτά που αρχικά προσκολλώνται για να σταματήσουν την αιμορραγία και να προωθήσουν την ιστική ανάπλαση. Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων στην υπενδοθηλιακή ουσία είναι το αρχικό βήμα στην πρωτογενή αιμόσταση. Τα αιμοπετάλια αλληλοεπιδρούν με τις εξωκυττάρια πρωτεΐνες μέσω ειδικών προσδετικών γλυκοπρωτεϊνών (GP). (Εικόνα 2 και Πίνακας 1) Η εξωκυττάρια ουσία περιλαμβάνει διάφορα προσκολλητικά μακρομόρια όπως κολλαγόνο, παράγοντα von Willebrand (VWF), λαμινίνη, ινωδονεκτίνη και θρομβοσπονδίνη. Όλα δρουν ως συνδέτες για διαφορετικούς υποδοχείς στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Μεταξύ αυτών των υπενδοθηλιακών υποστρωμάτων, το κολλαγόνο είναι μακράν ο πιο ισχυρός μεσολαβητής της προσκόλλησης των αιμοπεταλίων, λόγω του ισχυρού δυναμικού ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και της συγγένειας με τον VWF.(5) Η σταθερή προσκόλληση αιμοπεταλίων στην εξωκυττάρια ουσία αφορά σε μια συντονισμένη διαδικασία που περιλαμβάνει πρόσδεση, κύλιση, ενεργοποίηση και τελικά μια σταθερή πρόσφυση. Οι αρχικές αντιδράσεις προσκόλλησης μεταξύ αιμοπεταλίων και εξωκυττάριας ουσίας εξαρτώνται από τη ρεολογική κατάσταση στο σημείο. Σε χαμηλούς ρυθμούς διάτμησης ($<1000 \text{ s}^{-1}$, όπως σε φλέβες και μεγαλύτερες αρτηρίες) η πρόσφυση των αιμοπεταλίων περιλαμβάνει κυρίως δέσμευση στο κολλαγόνο, την ινωδονεκτίνη και τη λαμινίνη. Ωστόσο, σε υψηλότερους ρυθμούς διάτμησης ($>1000 \text{ s}^{-1}$, όπως σε μικρές αρτηρίες, τριχοειδή αλλά και σε αθηροσκληρωτικά /στενωτικά αγγεία), η αλληλεπίδραση μεταξύ του γλυκοπρωτεϊνικού επιφανειακού υποδοχέα Iba (GPIba) των αιμοπεταλίων και του VWF (είτε στην εξωκυττάρια ουσία ή ακινητοποιημένου σε εκτεθειμένο κολλαγόνο) καθίσταται σημαντική για την επιβράδυνση των αιμοπεταλίων. Αυτή η αρχική επιβράδυνση της ροής οδηγεί σε συμπληρωματικούς δεσμούς για μια σταθερή πρόσφυση και σχηματισμό θρόμβου.

3.1. Σύνδεση GP Iba–VWF

Από τις αντιδράσεις ανάμεσα στα αιμοπετάλια και την εξωκυττάρια ουσία, η σύνδεση του GPIba στο VWF είναι σημαντική στο να δεσμεύει τα αιμοπετάλια που

κινούνται γρήγορα μέσα στα αγγεία. Ο VWF είναι μια μεγάλη, πολυμερής προσκολλητική γλυκοπρωτεΐνη που συντίθεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μεγακαρυοκύτταρα. (6) Ο αιμοπεταλιακός VWF αποθηκεύεται στα α κοκκία ενώ ο ενδοθηλιακός είτε αποθηκεύεται στα σωμάτια Weibel–Palade, είτε εκκρίνεται συνεχώς στο αίμα και υπενδοθηλιακά. Στα σημεία ενδοθηλιακής βλάβης ο κυκλοφορούν VWF άμεσα συνδέεται με το εκτιθέμενο κολλαγόνο. Άλλος μηχανισμός ακινητοποίησης του VWF είναι μέσω αυτό-σύνδεσης, όπου τα κυκλοφορούντα πολυμερή VWF συνδέονται με τα μόρια VWF που βρίσκονται στην εξωκυττάρια ουσία και στα αιμοπετάλια.(7) Μετά την ακινητοποίηση, ο VWF είναι ικανός να καθηλώσει αιμοπετάλια από την κυκλοφορία μέσω σύνδεσης με την GPIba, το μοναδικό υποδοχέα σε ένα μη ενεργοποιημένο αιμοπετάλιο με μεγάλη συγγένεια με τον ενεργοποιημένο VWF. Η GPIba είναι μέρος του συμπλέγματος GPIb/IX/V που αποτελείται από GPIba, GPIbβ, GPIX και GPV σε στοιχειομετρία 2:4:2:1.(8) Κάτω από κανονικές συνθήκες δεν υπάρχει σύνδεση του VWF και της GPIba καθώς το σημείο σύνδεσης είναι κρυφό. Παρόλα αυτά οι αυξημένες ροές ελευθερώνουν το σημείο σύνδεσης επιτρέποντας στα αιμοπετάλια να προσδεθούν. (9) Η σύνδεση GPIba–VWF χαρακτηρίζεται από γρήγορες on/off αλληλεπιδράσεις που αφήνουν τα αιμοπετάλια να κυλήσουν προς την κατεύθυνση της αιματικής ροής. Επομένως η σύνδεση GPIba–VWF δεν είναι επαρκής για μια σταθερή προσκόλληση και περισσότερο επιβραδύνει τα αιμοπετάλια οδηγώντας σε δέσμευση άλλων αιμοπεταλιακών υποδοχέων. Μόνο σε συνθήκες πολύ αυξημένης ροής (>10,000s⁻¹), τα μη ενεργοποιημένα αιμοπετάλια μπορούν να προσδεθούν σε πολύ μεγάλα πολυμερή VWF, γεγονός που ευνοεί το σχηματισμό θρόμβων όπου είναι δύσκολο να σχηματιστούν ισχυρές συνδέσεις και να συγκεντρωθούν αρκετοί αγωνιστές.(10) Το αντιβιοτικό ριστεσετίνη χρησιμοποιείται για να αυξήσει την αλληλεπίδραση VWF με GPIb/V/IX. Ο σημαντικός ρόλος της σύνδεσης GPIba–VWF γίνεται έκδηλος σε ασθενείς με έλλειψη είτε VWF ή GPIba, που οδηγεί σε σοβαρές αιμορραγικές εκδηλώσεις όπως νόσο von Willebrand (6) και σύνδρομο Bernard–Soulier (12) αντίστοιχα.



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση των κύριων αιμοπεταλιακών υποδοχέων, των συνδετών τους και των σηματοδοτικών μονοπατιών.(3)

3.2. Άμεσοι κολλαγονικοί υποδοχείς

Το κολλαγόνο θεωρείται το πιο σημαντικό στοιχείο του φλεβικού τοιχώματος στην προσκόλληση και συσσώρευση αιμοπεταλίων. Τα αιμοπετάλια έχουν δύο υποδοχείς σημαντικούς για τη σύνδεση με το κολλαγόνο: τη γλυκοπρωτεΐνη VI (GPVI) και την ιντεγκρίνη $\alpha 2\beta 1$ (GPIa/IIa). (7)

3.2.1. Γλυκοπρωτεΐνη GPVI

Η αιμοπεταλιακή GPVI είναι μέλος της οικογένειας των ανοσοσφαιρινών. Εάν και έχει χαμηλή συγγένεια για το κολλαγόνο χωρίς ικανότητα για σταθερή πρόσδεση αιμοπεταλίων, είναι εξαιρετικά σημαντική για τη σταθερή πρόσδεση των αιμοπεταλίων μετά από ενεργοποίησή τους, καθώς οδηγεί κυρίως σε ισχυρό σηματοδοτικό μονοπάτι ενεργοποίησης. (8)

3.2.2. Ιντεγκρίνη α2β1 (GPIa/IIa)

Ο κολλαγονικός υποδοχέας α2β1 (GPIa/IIa, ή CD49b/CD29) είναι μια ιντεγκρίνη με συγγένεια για πολλές κολλαγονικές αλληλουχίες. Η GPIa/IIa, με τη σύνδεση στο κολλαγόνο, οδηγεί σε κυτταρική ενεργοποίηση από ανατροφοδότηση της σύνδεσης GPVI–κολλαγόνου και σε ενεργοποίηση της αIIbβ3.(9) Επομένως οι δυο κολλαγονικοί υποδοχείς δρουν συνεργικά.

3.3. β1 και β3 ιντεγκρίνες

Το τελευταίο βήμα στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων είναι η σταθερή σύνδεση με την εξωκυττάρια ουσία, μια διαδικασία που απαιτεί ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και συμμετοχή των β1 και β3 ιντεγκρινών. Η πιο άφθονη ιντεγκρίνη στα αιμοπετάλια είναι η αIIbβ3 (GPIIb/IIIa). Παρά το ότι αυτός ο υποδοχέας θεωρείται ο κυριότερος στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων, παίζει επίσης σημαντικό ρόλο και στην προσκόλληση συνδεδεμένος με τον VWF και το ινωδογόνο. (10) Η ακριβής σημασία των υπόλοιπων ιντεγκρινών όπως της αVβ3 (σύνδεση με βιτρονεκτίνη), α5β1 (σύνδεση με ινωδονεκτίνη) και α6β1 (σύνδεση με λαμινίνη) δεν είναι ακόμη απόλυτα κατανοητή. Αυτοί οι υποδοχείς έχουν μικρή συγκέντρωση στην επιφάνεια και μάλλον συμμετέχουν στην τροποποιημένη αιμοπεταλιακή απάντηση ανάλογα με την εξωκυττάρια ουσία που εξαρτάται από τη θέση, τον τύπο και τη σοβαρότητα του τραυματισμού.(11)

Πίνακας 1. Οι κύριοι υποδοχείς της μεμβράνης των αιμοπεταλίων και τα αντίστοιχα μόρια-συνδέτες.

ΣΥΝΔΕΤΗΣ	ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ
Κολλαγόνο	GPIa/IIa, a ₂ b ₁
	GPIIb/IIIa, a ₁ IIbβ ₃
	GPIV
	GPVI
Ινωδογόνο	GPIIb/IIIa, a ₁ IIbβ ₃
	Υποδοχέας βιτρονεκτίνης, α _v β ₃
Ινωδονεκτίνη	GPIc/IIa, α ₅ β ₁
	GPIIb/IIIa, a ₁ IIbβ ₃
Θρομβοσπονδίνη	Υποδοχέας βιτρονεκτίνης, α _v β ₃
	GPIV
Βιτρονεκτίνη	Υποδοχέας βιτρονεκτίνης, α _v β ₃
	GPIIb/IIIa, a ₁ IIbβ ₃
VWF	GPIb/IX/V
	GPIIb/IIIa, a ₁ IIbβ ₃
Λαμνίνη	GPIc/IIa, α ₆ β ₁

4. ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

4.1. Σηματοδοτικό μονοπάτι μέσω ενεργοποίησης τυροσινικής κινάσης

Τέτοια σηματοδοτικά μονοπάτια ενεργοποιούνται από τη σύνδεση GPIb με VWF και GPVI με κολλαγόνο. (12) Ο καταρράκτης της SYK κινάσης καταλήγει σε ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C_{γ2} (PL C_{γ2}). (13) Η PL C_{γ2} υδρολύει την 4,5 διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη ώστε να παράγει τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3) και 1,2-διακυλογλυκερόλη (DAG) προσδεδεμένη στη μεμβράνη. Η IP3 συνδέεται στον υποδοχέα της στο πυκνό σωληνώδες σύστημα των αιμοπεταλίων. Ο IP3R είναι ένας εκλεκτικός δίαυλος ασβεστίου που οδηγεί σε αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca²⁺. (Εικόνα 2) Συμπληρωματικά, η μεμβρανική DAG μαζί με το Ca²⁺ προσδένονται στη φωσφατιδυλοσερίνη, ως ένας εσωτερικός υποδοχέας για τη πρωτεϊνική κινάση C (PKC). Τα αυξημένα επίπεδα ασβεστίου και DAG στο κυτοσόλιο οδηγούν σε μια σειρά γεγονότων όπως ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A₂ (PL A₂), αλλαγή στο σχήμα των αιμοπεταλίων και απελευθέρωση του περιεχομένου των κοκκίων. Το αυξημένο

κυτταροπλασματικό Ca^{2+} διεγείρει την εμφάνιση φωσφατιδυλοσερίνης στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων φορτίζοντας την αρνητικά, προσφέροντας έτσι μια καταλυτική προπηκτική επιφάνεια ειδικά για τους εξαρτώμενους από βιταμίνη Κ παράγοντες πήξης και συμπαράγοντες που θα ενεργοποιήσουν τον καταρράκτη της πήξης. (14)

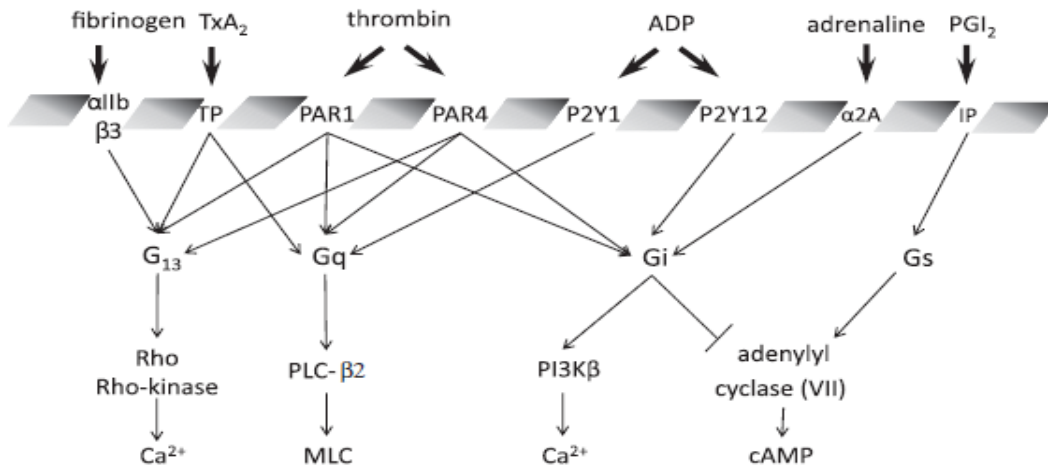
3.2. Σηματοδοτικό μονοπάτι μέσω υποδοχέων συνδεδεμένων με G-πρωτεΐνες (εικόνα 3)

Ένας από τους αγωνιστές που δρα μέσω υποδοχέων συνδεδεμένους με G πρωτεΐνες είναι η θρομβοξάνη A₂ (TxA₂), η οποία παράγεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια. Η PL_{A2} αφαιρεί τα λιπαρά οξέα από τα φωσφολιπίδια και οδηγεί σε απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος. Το αραχιδονικό οξύ αποτελεί υπόστρωμα για πολλά ένζυμα συμπεριλαμβανομένης της κυκλοοξυγενάσης (αιμοπεταλιακή COX-1), που το μετατρέπει σε προσταγλανδίνη (PG) G₂ και H₂. Η COX-1 αποτελεί πρωτοπαθή στόχο των ΜΣΑΦ. Η PG H₂ είναι υπόστρωμα της συνθάσης της θρομβοξάνης για παραγωγή TxA₂ που αποτελεί ενεργοποιητή των αιμοπεταλίων. Η TxA₂ απελευθερώνεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, προκαλεί σύσπαση των λείων μυϊκών ινών και ενεργοποιεί το φαύλο κύκλο ενεργοποίησης αιμοπεταλίων με αυτοκρινή και παρακρινή τρόπο στον υποδοχέα της, που είναι μέλος των ενεργοποιητών G-πρωτεϊνών. Αυτή η G-πρωτεΐνη έχει στόχο τη PL C_{β2}. Η PL C_{β2} όπως και η PL C_{γ2}, οδηγεί στην παραγωγή IP₃ και DAG και επομένως αυξάνει το κυτταροπλασματικό Ca^{2+} . (15) Επίσης ίδιο στόχο (PL C_{β2}) έχουν και οι υποδοχείς θρομβίνης PAR-1 και PAR-4 και ο υποδοχέας P₂Y₁ της διφωσφορικής αδενοσίνης (ADP).

Οι PAR υποδοχείς της θρομβίνης συνδέονται σε G-πρωτεΐνη που ενεργοποιεί τη Rho κινάση, ξεκινώντας ένα μονοπάτι που καταλήγει στη φωσφορυλίωση των ελαφρών αλυσίδων μυοσίνης και αυξάνει τη σύσπαση της ακτινομυοσίνης και τη δυναμική αλλαγή των μικροσωληναρίων οδηγώντας σε αλλαγή σχήματος των αιμοπεταλίων. (16)

Το ADP που απελευθερώνεται από τα πυκνά δ κοκκία, θα συνδεθεί στους υποδοχείς P₂Y₁ και P₂Y₁₂. Ο τελευταίος συνδέεται με G-πρωτεΐνη η οποία αδρανοποιεί την αδενυλική κυκλάση. Η αδενυλική κυκλάση παράγει cAMP από ATP και αντιστρέφει τα αυξημένα επίπεδα κυτταροπλασματικού ασβεστίου. Ο P₂Y₁ είναι απαραίτητος για την ADP επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων καθώς γενετικό

έλλειμμα ή φαρμακολογική αναστολή μειώνει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και προστατεύει από τη θρόμβωση.(17)



Εικόνα 3. Σχηματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων μετά την πρόσδεση συνδετών σε υποδοχείς μετάδοσης σήματος μέσω G πρωτεΐνης. Πρόσδεση του ινωδογόνου στην αIIbβ₃, της TxA₂ στον TP, της θρομβίνης στον PAR-1 και PAR-4 οδηγεί σε αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca²⁺ μέσω της G₁₃. Πρόσδεση της TxA₂ στον TP, της θρομβίνης στον PAR-1 και PAR-4 και του ADP στον P2Y1 οδηγεί σε αλλαγές κυτταροσκελετού (φωσφορυλίωση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης MLC) μέσω G_q. Η πρόσδεση της θρομβίνης στον PAR-1 και PAR-4, του ADP στον P2Y12 και της αδρεναλίνης στον α2A οδηγεί σε αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca²⁺ και μείωση του cAMP μέσω Gi. Η πρόσδεση της PGI₂ στον IP προκαλεί αύξηση cAMP μέσω G_s.(3)

4.3. Ενεργοποίηση από μέσα προς τα έξω της ιντεγκρίνης αIIbβ₃ (GPIIb/IIIa)

Το σημαντικότερο βήμα στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι η συσσώρευση των αιμοπεταλίων, που γίνεται από τη διασταυρούμενη σύνδεση της ιντεγκρίνης αIIbβ₃ (GPIIb/IIIa) σε διάφορα αιμοπετάλια με το ινωδογόνο. Στα μη ενεργοποιημένα αιμοπετάλια η αIIbβ₃ έχει χαμηλή συγγένεια για τους συνδέτες της, ινωδογόνο και VWF, γεγονός το οποίο αλλάζει δραματικά με την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Το αυξημένο Ca²⁺ οδηγεί μέσω ενός ξεχωριστού μονοπατιού σε ενεργοποίηση της αIIbβ₃ (GPIIb/IIIa). Ο κυρίαρχος ρόλος της αIIbβ₃ (GPIIb/IIIa) είναι εμφανής με τη σοβαρή αιμορραγική διαταραχή στη θρομβασθένεια Glanzmann λόγω απουσίας ή δυσλειτουργίας της. (18)

5. ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ

Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο αγγειακό τοίχωμα και η σηματοδότηση εντός του κυτταροπλάσματος, ακολουθείται από μια ελεγχόμενη διαδικασία απέκκρισης. Τα κοκκία των αιμοπεταλίων συνδέονται με τη μεμβράνη και απελευθερώνουν στο μικροπεριβάλλον βιοενεργά μόρια για γρήγορη ανατροφοδότηση με ενεργοποίηση των γειτονικών αιμοπεταλίων. Στα αιμοπετάλια έχουμε 3 τύπους κοκκίων: τα α κοκκία, τα πυκνά (δ) κοκκία και τα λυσοσώματα (λ-κοκκία). (19, 20) (Πίνακας 2) Τα αιμοπετάλια δεν εκκρίνουν με μιας όλα τα αποθηκευμένα μόρια με ένα ερέθισμα. Επομένως η ξεχωριστή κάθε φορά αιμοπεταλιακή αποκοκκίωση επηρεάζει το μικροπεριβάλλον του ενδοθηλιακού τραυματισμού με ένα τρόπο που δεν είναι απόλυτα κατανοητός.

5.1. α κοκκία

Τα α κοκκία είναι τα πιο πλούσια (60-80 ανά αιμοπετάλιο) και ετερογενή κοκκία. Αυτό εξηγεί την ποικιλομορφία των μεταβολικών οδών από την αποκοκκίωση τους. (19) Κάποιες από τις πρωτεΐνες των α-κοκκίων συντίθενται στα μεγακαρυοκύτταρα (θρομβοσπονδίνη, β-θρομβοσφαιρίνη, αιμοπεταλιακός παράγοντας 4) και άλλες ενδοκυτταρώνονται από το πλάσμα (ανοσοσφαιρίνες, ινωδογόνο, βιτρονεκτίνη). Ασθενείς με το σύνδρομο «φαιού αιμοπεταλίου», έχουν διαταραχή στα α κοκκία που εκδηλώνεται με μέτρια προς σοβαρή αιμορραγική διάθεση. (21) Τα α κοκκία περιέχουν μεγάλο μοριακού βάρους πολυμερή VWF και ινωδογόνο. Η απελευθέρωση τους θα επιτρέψει τη διασύνδεση αιμοπεταλίων μέσω GPIIb/IIIa (ινωδογόνο και VWF) και GPIb/IX/V (VWF). Η από έξω προς τα μέσα σηματοδότηση που ακολουθεί τη σύνδεση του ινωδογόνου στη GP IIb/IIIa, σε συνδυασμό με τη σηματοδότηση μέσω ADP, απελευθερώνει αραχιδονικό οξύ προσφέροντας υπόστρωμα για την παραγωγή TxA₂. (22) Στα α κοκκία περιέχονται και παράγοντες πήξης συμβάλλοντας έτσι και στη δευτερογενή αιμόσταση. (23) Ένας από τους πιο γνωστούς δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων που εκκρίνεται από τα α κοκκία είναι η P-σελεκτίνη. Η P-σελεκτίνη (CD62P) βρίσκεται αποκλειστικά στη μεμβράνη των α κοκκίων των μη ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Κατά τη διάρκεια της αποκοκκίωσης, η μεμβράνη των α κοκκίων συγχωνεύεται με την πλασματική μεμβράνη και εκθέτει το CD62P στην αιμοπεταλιακή μεμβράνη. Τα λευκοκύτταρα επίσης είναι ικανά να κυλήσουν πάνω στα αιμοπετάλια που είναι ακινητοποιημένα στο υπενδοθήλιο, με μηχανισμό που εξαρτάται από τη P-σελεκτίνη. (24)

5.2. δ κοκκία

Ο ρόλος των δ κοκκίων είναι πολύ σημαντικός όπως γίνεται εμφανές σε ασθενείς με διαταραχές τους όπως στα σύνδρομα Hermansky–Pudlak και Chediak–Higashi. (25) Υπάρχουν 4 με 6 δ κοκκία ανά αιμοπετάλιο, τα οποία περιέχουν ADP, ATP, σεροτονίνη, ασβέστιο, πυροφωσφορικά και επινεφρίνη. Το ADP μέσω της σύνδεσης στον υποδοχέα P2Y1 προκαλεί αλλαγή σχήματος του αιμοπεταλίου μέσω ενεργοποίησης της PL C_{β2} (26) και στον P2Y12 οδηγεί στη μέγιστη κινητοποίηση Ca²⁺ και τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε TxA2. (22) Η ενζυματική μετατροπή του ADP σε ανενεργό AMP από την ενδοθηλιακή ADPάση (CD39) περιορίζει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από το ADP. (27) Η έλλειψη ενός δεύτερου κύματος συσώρευσης μετά την ενεργοποίηση του κολλαγόνου χαρακτηρίζει διαταραχές στην ADP-μεσολαβούμενη ενεργοποίηση αιμοπεταλίων. Τα πυροφωσφορικά προσδένονται και ενεργοποιούν τον παράγοντα πήξης XII, είναι προφλεγμονώδεις και προθρομβωτικοί παράγοντες in vivo.(28) Επιπρόσθετα, η σεροτονίνη προσδένεται στον υποδοχέα 5HT2 και προκαλεί ένα ασθενές ενεργοποιητικό σήμα στα αιμοπετάλια και παίζει σημαντικό προθρομβωτικό ρόλο στην αύξηση της κατακράτησης προθρομβωτικών ουσιών όπως το ινωδογόνο και η θρομβοσπονδίνη στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. (29) Φαίνεται πως η σηματοδότηση από επινεφρίνη μέσω του α2α υποδοχέα της, μοιράζεται το ίδιο μονοπάτι με τη σηματοδότηση από τον P2Y12 υποδοχέα. Αυτό το “bypass effect” της επινεφρίνης μπορεί να εξηγεί το γεγονός ότι οι θεινοπυριδίνες (κλοπιδογρέλη) που στοχεύουν στον P2Y12-υποδοχέα, δεν είναι τόσο αποτελεσματικά αντιθρομβωτικά.(30)

Πίνακας 2. Τύποι και περιεχόμενο αιμοπεταλιακών κοκκίων.

α-κοκκία	δ-κοκκία	λ-κοκκία
Λευκωματίνη	σεροτονίνη	καθεψίνη D
Ινωδογόνο	ATP	καθεψίνη E
Ινωδονεκτίνη	ADP	καρβοξυπεπτιδάση A
Βιτρονεκτίνη	ασβέστιο	καρβοξυπεπτιδάση B
VWF	πυροφωσφορικό οξύ	β-D-γλυκουρονιδάση
P- σελεκτίνη (CD62P)	επινεφρίνη	β-D-γαλακτοσιδάση
αιμοπεταλιακό παράγοντα 4		α-D-μαννοσιδάση
Θρομβοσπονδίνη		α-D-γαλακτοσιδάση
IgG, IgM, IgA		όξινη φωσφατάση
αναστολέα C1		
Πλασμινογόνο		
αναστολέας πλασμινογόνου 1		
πρωτεΐνη S		
α2-αντιθρυψίνη		
α2-μακροσφαιρίνη		
α2-αντιπλασμίνη		
PAF		
VEGF		
παράγοντες πήξης V, VIII, XI XIII		

PAF: αυξητικός παράγοντας αιμοπεταλίων, VEGF: αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας

6. ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Η προσκόλληση και η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων ακολουθούνται από τη συσσώρευση, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό ενός θρόμβου πλούσιου σε ινωδογόνο στο σημείο τραυματισμού. Η διαδικασία αυτή είναι πολύπλοκη και δυναμική και απαιτεί πολλούς συνδέτες (ινωδογόνο, ινωδονεκτίνη, VWF), υποδοχείς (όπως GPIIb και GPIIb/IIIa) και αιμοπετάλια σε διαφορετικές φάσεις ενεργοποίησης.

6.1. Σε στρες διάτμησης $<1000 \text{ s}^{-1}$

Η συσσώρευση μεσολαβείται από ενεργοποίηση της GP IIb/IIIa) που αλλάζει τη μορφή της από βασική σε ενεργοποιημένη και αλληλοεπιδρά με το ινωδογόνο. (31)

Λόγω της συμμετρικής φύσης του ινωδογόνου, τα αιμοπετάλια γεφυρώνονται και δημιουργούνται αιμοπεταλιακά συσσωματώματα. Σε συνθήκες προσομοίωσης χαμηλού στρες διάτμησης, όπου τα αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν με θρομβογόνες επιφάνειες, όπως σε τριχοειδή και μεγάλες φλέβες, η αλληλεπίδραση αIIbβ3-ινωδογόνου κυριαρχεί και είναι ανεξάρτητη του VWF και της ινωδονεκτίνης. (32)

6.2. Σε στρες διάτμησης μεταξύ 1000 s⁻¹ και 10.000 s⁻¹

Στο αρχικό βήμα τα αιμοπετάλια μεταναστεύουν στην επιφάνεια του θρόμβου ως δισκοειδή, ανενεργά αιμοπετάλια και σχηματίζουν παροδικές προσκολλητικές συνδέσεις με τα γειτονικά δισκοειδή αιμοπετάλια. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δισκοειδών αιμοπεταλίων γίνονται ικανές με το σχηματισμό λεπτών μεμβρανικών συνδέσεων που είναι αποτέλεσμα της παρουσίας του στρες διάτμησης. (33) Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων σε αυτό το στάδιο είναι ελάχιστη και δεν απαιτεί ADP, TxA2 και θρομβίνη. Η δημιουργία μικροσυνδέσεων συμβαίνει μέσω του GPIb/IX/V και της GP IIb/IIIa και των συνδέσεων με VWF και ινωδογόνο. Ο σχηματισμός ενός αναστρέψιμου αιμοπεταλιακού συσσωματώματος διευκολύνει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και τη δημιουργία σταθερού συσσωματώματος καθώς αυτός ο στενός χώρος αποτελεί ένα ασφαλές περιβάλλον για συσσώρευση διαλυτών αγωνιστών (ADP, θρομβίνης και TxA2). Αυτοί οι αγωνιστές επάγουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, την αλλαγή σχήματος, την αποκοκκίωση και είναι συνδέτες για τις G-πρωτεΐνες, οδηγώντας σε γρήγορη αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca²⁺.

6.3. Σε στρες διάτμησης >10.000 s⁻¹

Στις αρτηρίες όπου το στρες διάτμησης μπορεί να είναι μεγαλύτερο από 10.000 s⁻¹ η συσσώρευση των αιμοπεταλίων μπορεί να γίνει ανεξάρτητα από την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων αρκεί να υπάρχει διαλυτός VWF. Αυτή η διαδικασία χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό ασταθούς αιμοπεταλιακού θρόμβου που κυλάει πάνω στην επιφάνεια του VWF μέσω αλληλεπιδράσεων VWF-GPIIb. Τιμές στρες διάτμησης πάνω από 20.000 s⁻¹ επάγουν σημαντικές μορφολογικές αλλαγές στα αιμοπετάλια που προσδένονται στην επιφάνεια και το σταθεροποιημένο VWF, αλλάζοντας τα από δισκοειδή σε πεπλατυσμένα.(34)

7. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Η αυτόματη ή υπέρμετρη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων πρέπει να περιορίζεται ώστε να προλαμβάνεται η θρόμβωση και η πρόκληση ισχαιμίας. Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) και η προστακυκλίνη (PGI₂) είναι ισχυροί ανασταλτικοί παράγοντες που επιδρούν στην προσκόλληση, ενεργοποίηση, συσσώρευση, αποκοκκίωση και σχηματική αλλαγή των αιμοπεταλίων. Όπως η TxA₂, η PGI₂ παράγεται από τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος από την COX. Ενώ όμως στα αιμοπετάλια η TxA₂ παράγεται από την αιμοπεταλιακή COX-1 και τη συνθετάση της θρομβοξανθής, η PGI₂ παράγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα κυρίως με την επίδραση της COX-2 και της συνθετάσης της προστακυκλίνης. Η παραγωγή PGI₂ από COX-2 ενισχύεται ως απάντηση στο στρες διάτμησης και στην παραγόμενη από αιμοπετάλια TxA₂ που οδηγεί σε έκφραση της ενδοθηλιακής COX-2 και της συνθετάσης PGI₂ με παρακκρινή τρόπο. (35) Η πρόσδεση της PGI₂ στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων διεγείρει την παραγωγή αδενυλικής κυκλάσης, οδηγώντας σε αύξηση του cAMP και παρεμπόδιση στη μεσολαβούμενη από ακτίνη αναδιάταξη του κυτταροσκελετού και στην ενεργοποίηση της GP IIb/IIIa και άρα τη σύνδεση και συσσώρευση ινωδογόνου. (36) Η ισορροπία μεταξύ TxA₂ και PGI₂ είναι κριτικής σημασίας για τον έλεγχο της αιμόστασης και τη διατήρηση της βατότητας των αγγείων.

Το NO παράγεται από L-αργινίνη μέσω της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (NOS). Το ενδοθηλιακό NO διαχέεται από τη μεμβράνη των αιμοπεταλίων στο εσωτερικό του, όπου προσδένεται στον κύριο ενδοκυττάριο υποδοχέα του, τη διαλυτή γουανυλική κυκλάση, που οδηγεί σε αύξηση του cGMP οδηγώντας σε φωσφορυλίωση πρωτεϊνών. Αυτές οι πρωτεΐνες αναστέλλουν την αύξηση του ενδοκυττάρου Ca²⁺, την αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού, την ενεργοποίηση της ιντεγκρίνης και την αποκοκκίωση των πυκνών κοκκίων.(37)

8. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΗ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ-ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΗΞΗΣ

Η δημιουργία ενός σταθερού θρόμβου κατά τη δευτερογενή αιμόσταση χαρακτηρίζεται από τη μεσολαβούμενη από θρομβίνη μετατροπή του ινωδογόνου σε ινική. Η θρομβίνη παράγεται στην επιφάνεια των κυττάρων του αίματος και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Παρόλα αυτά η αιμοπεταλιακή μεμβράνη περιέχει συγκεκριμένη ομοιότητα λιπιδίων και υποδοχείς με μεγάλη συγγένεια για παράγοντες πήξης και δρα ως ένα υπόστρωμα για τη δευτερογενή αιμόσταση. (38) Η πλασματική μεμβράνη των αιμοπεταλίων αποτελείται κυρίως από φωσφολιπίδια, χοληστερόλη και γλυκολιπίδια. Τα κυριότερα φωσφολιπίδια είναι η φωσφατιδυλοχολίνη, η σφιγγομυελίνη, η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, η φωσφατιδυλοσερίνη και η φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη. Είναι τοποθετημένα ασύμμετρα στην πλασματική μεμβράνη, με συγκέντρωση της σφιγγομυελίνης και φωσφατιδυλοχολίνης στην εξωκυττάρια πλευρά και φωσφατιδυλαιθανολαμίνης και αραχιδονικού οξέος στην ενδοκυττάρια. (39) Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων σχετίζεται με μια «flip-flop» κίνηση των ανιονικών φωσφολιπιδίων πχ της φωσφατιδυλοσερίνης, από μέσα προς τα έξω, οδηγώντας σε μια αύξηση της συγκέντρωσης του. Η έκθεση της φωσφατιδυλοσερίνης στα συσσωρευμένα αιμοπετάλια προσφέρει μια καταλυτική επιφάνεια για προθρομβωτικές διεργασίες, ευνοώντας την παραγωγή θρομβίνης. Μικρές ποσότητες θρομβίνης παράγονται στην επιφάνεια ενός κυττάρου που εκθέτει ιστικό παράγοντα (TF) (ινοβλάστη ή ενεργοποιημένο μονοκύτταρο ή ενεργοποιημένο ενδοθηλιακό κύτταρο). Αυτές οι ποσότητες δεν είναι ικανές να παράγουν ένα σταθερό θρόμβο ινικής, αλλά είναι αρκετές για να ενεργοποιήσουν τα αιμοπετάλια. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια είναι ικανά στη συνέχεια να προσδέσουν παράγοντες πήξης και συμπαράγοντες μέσω Ca^{2+} και συγκεκριμένων υποδοχέων. (40) Όταν οι συμπαράγοντες FV και FVIII είναι συνδεδεμένοι με αιμοπετάλια προστατεύονται από την απομάκρυνση με την πρωτεΐνη C. Στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, ο FXIa συνδέεται με τον υποδοχέα του GPIIb και ενεργοποιεί τον FIX. (41) Οι συντονισμένες δράσεις των παραγόντων πήξης στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων οδηγούν σε μια εκρηκτική παραγωγή θρομβίνης ώστε να σχηματιστεί ένας σταθερός θρόμβος ινικής.

9. ΜΗ ΚΛΑΣΣΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Τα αιμοπετάλια συμμετέχουν και στην άμυνα του οργανισμού εκκφράζοντας Toll-like receptors (TLRs). (42) Επίσης τα αιμοπετάλια ελευθερώνουν μικροσωματίδια (micro-particles) που περιέχουν γενετικό υλικό (miRNA, mRNA), ένζυμα, πρωτεΐνες, μικρά μόρια και μπορούν να αλλάζουν ή να ρυθμίζουν τη λειτουργία άλλων κυττάρων στα αγγεία. Συμπληρωματικά στις προσδετικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αιμοπεταλιακών υποδοχέων GPIba και P-σελεκτίνης με ουδετεροφιλικούς υποδοχείς, άλλος ένα σημαντικός μηχανισμός στην διασταυρούμενη σύνδεση αυτών των κυττάρων είναι τα Neutrophil Extracellular Traps (NETs) που απελευθερώνονται από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα (π.χ. από βακτηριακούς λιποπολυσακχαρίτες). Τα NETs είναι επίσης σημαντικά σε αιμορραγικές/θρομβωτικές καταστάσεις που σχετίζονται με καρκίνο ή αυτοφλεγμονώδη νοσήματα. (43)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΡΩΤΟΓΕΝΟΥΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αυξημένος κίνδυνος για αιμορραγία μπορεί να προκύψει όταν ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι μειωμένος ή η λειτουργικότητα τους είναι επηρεασμένη. Αντίστροφα, ανεξέλεγκτος σχηματισμός θρόμβου μπορεί να είναι το αποτέλεσμα αυξημένου αριθμού αιμοπεταλίων ή αντιδραστικότητας.

Η λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων μπορεί να ελεγχθεί με ένα ευρύ φάσμα τεχνικών. Οι κληρονομούμενες ή επίκτητες διαταραχές των αιμοπεταλίων πρέπει να διαγνωστούν γρήγορα για να αντιμετωπιστούν οι ασθενείς σε κίνδυνο για αιμορραγία. Ο έλεγχος της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων χρησιμοποιείται για: 1) τον εντοπισμό ασθενών με διαταραχές της αιμόστασης, 2) την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στην αντ αιμοπεταλιακή αγωγή, 3) την αξιολόγηση της διεγχειρητικής αιμόστασης 4) την ιατρική των μεταγίσεων και 5) την ανίχνευση υπεραντιδραστικότητας ως δυναμικό δείκτη μιας προθρομβωτικής κατάστασης.(44)

Ο αυξανόμενος αριθμός ασθενών σε αντ αιμοπεταλιακή αγωγή και ο αυξημένος κίνδυνος αιμορραγίας ειδικά σε τραυματισμούς ή χειρουργεία, οδήγησε στην ανάπτυξη νέων απλών μηχανημάτων για έλεγχο των αιμοπεταλίων ως point-of-care tests (POCT) στην κλινική πράξη.(45)

2. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

2.1 Σχετιζόμενοι με τον ασθενή

Παράγοντες που σχετίζονται με τον ασθενή, οι οποίοι πρέπει να ληφθούν υπόψη, πριν τη διερεύνηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων, περιλαμβάνουν την άσκηση (46), την κατανάλωση καφέ (47) και το κάπνισμα. (48) Όλοι αυτοί οι παράγοντες αυξάνουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, φαίνεται η συσσώρευση αιμοπεταλίων να ακολουθεί κερκάρδια διακύμανση, που είναι υψηλότερη το πρωί. (49) Διάφορα τρόφιμα επίσης επηρεάζουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. (50) Στην κλινική πράξη, συνιστάται η αποχή του ασθενή από έντονη σωματική άσκηση για τουλάχιστον 24 ώρες πριν από την αιμοληψία. Επιπλέον, οι ασθενείς θα πρέπει να απέχουν από λιπαρές τροφές και το κάπνισμα το πρωί της φλεβοκέντησης. (51) Ένας μεγάλος αριθμός φαρμάκων μπορεί δυναμικά να επηρεάσει τη λειτουργία των αιμοπεταλίων εκτός από τους παραδοσιακούς αντ αιμοπεταλιακούς

παράγοντες. (52) Αν ιατρικά είναι δυνατόν, ο ασθενής θα πρέπει να αποφεύγει τη φαρμακευτική αγωγή που επηρεάζει τα αιμοπετάλια για 14 ημέρες πριν από την αιμοληψία, εκτός εάν η δοκιμασία λειτουργικότητας πραγματοποιείται για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της αντισταθμιστικής αγωγής.

2.2 Τρόπος αιμοληψίας

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν συστήματα εκκενωμένων σωληναρίων ή πλαστικές σύριγγες, αλλά με υλικό όπως πλαστικό πολυπροπυλενίου ή επικαλυμμένο με σιλικόνη, καθώς αυτό δεν προκαλεί ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Το κιτρικό νάτριο εξακολουθεί να είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο αντιπηκτικό (109 mM (3,2%) ή 129 mM (3,8%)) για τα δείγματα ελέγχου λειτουργικότητας αιμοπεταλίων. (53) Η χρήση του αιθυλενοδιαμινοτετραοξικού οξέος (EDTA) θα πρέπει να αποφεύγεται καθώς το EDTA διασπά τη GP IIb/IIIa (υποδοχέα ινωδογόνου) μη αναστρέψιμα, αποτρέποντας έτσι τη δέσμευση του. Η υποπλήρωση ή υπερπλήρωση των σωληναρίων συλλογής είναι ένα σημαντικό πρόβλημα και πρέπει να καταβληθεί προσπάθεια για την πλήρωση του σωλήνα σε χωρητικότητα 90% ή στο σημείο που καθορίζεται από τον κατασκευαστή ώστε να αποφεύγεται η λανθασμένη αραίωση του δείγματος. (54) Κατά την ερμηνεία του εύρους τιμής μιας εξέτασης πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν το αντιπηκτικό που χρησιμοποιήθηκε. (55) Το δείγμα αίματος λαμβάνεται με παρακέντηση φλέβας με τον ασθενή σε ύπτια θέση χρησιμοποιώντας τουλάχιστον βελόνα 21 G και ελάχιστη στάση για να αποφευχθεί η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Μετά από αιμοληψία, τα σωληνάκια περιστρέφονται απαλά αρκετές φορές για να αναμειχθεί το αίμα με το αντιπηκτικό επαρκώς.

2.3. Μεταφορά και επεξεργασία δείγματος

Ο τρόπος με τον οποίο μεταφέρονται τα δείγματα ολικού αίματος από τους ασθενείς στο εργαστήριο ενδέχεται επίσης να επηρεάσει το δείγμα. Συνιστάται να διατηρηθεί το δείγμα σε θερμοκρασία δωματίου (20–25°C) κατά τη διάρκεια μεταφοράς, η οποία θα πρέπει να γίνεται με το χέρι με τα σωληνάκια όρθια. Η επακόλουθη επεξεργασία του δείγματος εξαρτάται από το εάν η δοκιμή εκτελείται χρησιμοποιώντας πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια ή ολικό αίμα. (56)

3. ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Η αρχική εξέταση θα πρέπει να περιλαμβάνει πλήρη αιματολογική εξέταση και αξιολόγηση ενός επιχρίσματος περιφερικού αίματος. Η αξιολόγηση του επιχρίσματος αίματος πραγματοποιείται συνήθως με χρώση May Grunwald-Giemsa. Αυτές οι αναλύσεις βοηθούν στην ανίχνευση ανωμαλιών τόσο του αριθμού όσο και της δομής των αιμοπεταλίων και μπορούν να κατευθύνουν την περαιτέρω εργαστηριακή έρευνα. Το φυσιολογικό αποτέλεσμα θα αποκλείσει τη θρομβοπενία ως αιτία αιμορραγίας, ο μειωμένος όμως αριθμός αιμοπεταλίων, ειδικά ηπίως, δεν αποκλείει περαιτέρω έλεγχο της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων, επειδή αρκετές λειτουργικές διαταραχές σχετίζονται με θρομβοπενία. (57) Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων (MPV) και το πλάτος κατανομής αιμοπεταλίων (PDW) είναι επίσης σημαντικές διαγνωστικές παράμετροι, επειδή οι κληρονομικές διαταραχές των αιμοπεταλίων χαρακτηρίζονται συχνά από αυξημένο μέγεθος αιμοπεταλίων.(58) Έχουν αναπτυχθεί αρκετές τεχνικές για την μέτρηση των αιμοπεταλίων. Οι τέσσερις κύριες διαδικασίες είναι: μικροσκοπία φάσης αντίθεσης, η αυτόματη μέτρηση αντίστασης και σκέδασης φωτός/φθορισμού και η κυτταρομετρία ροής. Το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) είναι το αντιπηκτικό εκλογής για τη μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων, ωστόσο, ένα μειονέκτημα διαγνωστικής σημασίας είναι η όχι σπάνια εμφάνιση ψευδώς χαμηλών αριθμών αιμοπεταλίων παρουσία EDTA, η λεγόμενη «ψευδοθρομβοπενία».(59) Ο αριθμός των αιμοπεταλίων μπορεί να εκτιμηθεί σωστά με μικροσκοπική μέτρηση ενός πρόσφατα ληφθέντος δείγματος τριχοειδικού αίματος, που συλλέγεται χωρίς αντιπηκτικά που περιέχουν EDTA. Η εξέταση των επιχρισμάτων αίματος με οπτικό μικροσκόπιο επιτρέπει επίσης την ανίχνευση συγκολλητικών αιμοπεταλίων σε δείγματα αίματος. Πρόσφατα, οι αναλυτές που συνδυάζουν οπτική σκέδαση φωτός και ειδική χρώση φθορισμού της επιφάνειας των αιμοπεταλίων ή των ενδοκυττάρων δεικτών έχουν εισαχθεί για τη βελτίωση της ακρίβειας της μέτρησης των αιμοπεταλίων. Αυτά τα όργανα επιτρέπουν επίσης την ανίχνευση του νεαρότερου κυκλοφορούντος πληθυσμού αιμοπεταλίων που εξακολουθεί να περιέχει αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο και mRNA, τα οποία εκφράζονται ως ανώριμο κλάσμα αιμοπεταλίων (IPF) και αποτελούν δείκτη θρομβοποίησης. (60) Μια εναλλακτική μέθοδος που δεν επηρεάζεται από το μέγεθος των αιμοπεταλίων είναι η ανοσολογική μέτρηση με κυτταρομετρία ροής, χρησιμοποιώντας ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα έναντι αντιγόνων επιφάνειας των αιμοπεταλίων (π.χ. anti-CD41 και anti-CD61), τα οποία είναι συζευγμένα με κατάλληλο φορέα φθορισμού, που προτείνεται από τη Διεθνή Εταιρεία Εργαστηριακής

Αιματολογίας (ISLH) ως μέθοδος αναφοράς για την ακριβή μέτρηση αιμοπεταλίων.
(61)

4. ΧΡΟΝΟΣ ΡΟΗΣ ΤΟΥ IVY - BLEEDING TIME (BT)

Ο BT είναι η πρώτη εξέταση για τον έλεγχο της πρωτογενούς αιμόστασης in vivo. Ελέγχει την ικανότητα των αιμοπεταλίων να σχηματίσουν έναν αιμοστατικό θρόμβο μετρώντας το χρόνο που απαιτείται για να σταματήσει η αιμορραγία in vivo σε ένα δερματικό τραύμα. Το τεστ, που ήταν αρχικά γνωστό ως χρόνος ροής Duke, συσχετίστηκε για πρώτη φορά με αιμοπεταλιακή δυσλειτουργία από τον Duke το 1910 (62) και βελτιώθηκε περαιτέρω από τον Ivy το 1941.

Μέθοδος Εφαρμόζεται μια περιχειρίδα αρτηριακής πίεσης στον άνω βραχίονα, φουσκωμένη στα 40 mm Hg, και γίνεται μια επιμήκης τομή με μήκος 5 mm επί 1 mm βάθος στην έσω επιφάνεια του αντιβραχίου, όπου το πάχος του δέρματος είναι σχετικά ομοιόμορφο. (63) Η τεχνική συνίσταται στην καταγραφή του χρόνου που απαιτείται για να σχηματιστεί ένας θρόμβος αίματος στην τομή και να σταματήσει η ροή του αίματος.
Κλινική εφαρμογή Χρησιμοποιείται ως αρχική εξέταση ελέγχου πρωτογενούς αιμόστασης, κυρίως σε εργαστήρια που δεν έχουν πρόσβαση σε άλλες μεθόδους.

Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα Παρόλο που η τεχνική είναι εύκολη, γρήγορη και δεν απαιτεί ακριβό εξοπλισμό ή εξειδικευμένο εργαστήριο, επηρεάζεται από πολλές παραμέτρους όπως διαφορές στο δέρμα και τη θερμοκρασία των ασθενών ή την τεχνική. Παρά τη χρήση των τυποποιημένων συσκευών, ο χρόνος ροής είναι ελάχιστα αναπαραγώγιμος και μη ευαίσθητος σε ήπιες διαταραχές των αιμοπεταλίων.

5. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΤΕΣΤ ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

5.1 Απορρόφηση φωτός από συσσώρευση αιμοπεταλίων σε πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (Οπτική Θολοσιμετρική Συσσώρευση)- Light transmission aggregometry (LTA)

Η LTA σχεδιάστηκε από τον Born τη δεκαετία του 1960, και θεωρείται η gold standard τεχνική στη διάγνωση των διαταραχών των αιμοπεταλίων. (64-66)

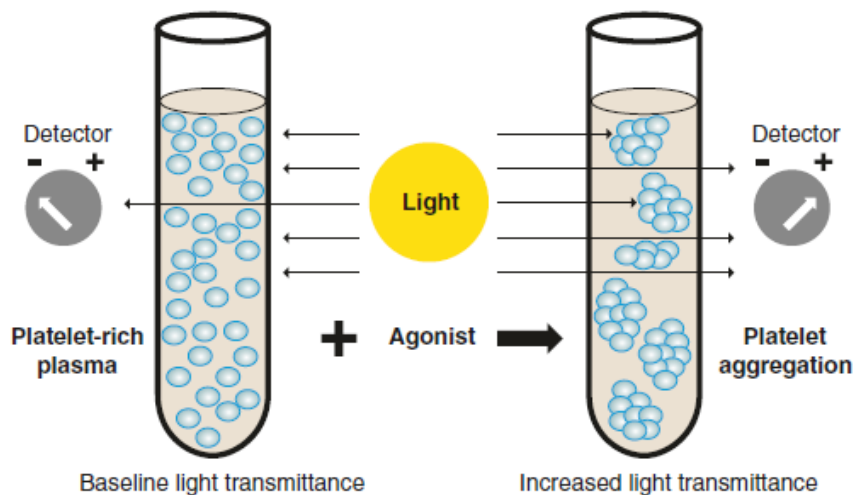
Μέθοδος Αυτή η τεχνική εξετάζει την in vitro συγκόλληση αιμοπεταλίων σε ένα GP IIb/IIIa-εξαρτώμενο τρόπο. Η τεχνική βασίζεται στη μείωση της μετρούμενης

απορρόφησης του φωτός καθώς αυξάνεται η διαύγαση σε πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) με τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων μετά την προσθήκη διάφορων αγωνιστών. Η συσκευή καταγράφει το ρυθμό και το ποσοστό αυτής της αύξησης από το 0% (μέγιστη οπτική πυκνότητα στο PRP) στο 100% (καμία οπτική πυκνότητα στο PRP), μέσω ενός φωτόμετρου. Πλάσμα πτωχό σε αιμοπετάλια (PPP) χρησιμοποιείται για να ορίσει την 100% μετάδοση φωτός. Αυτό το σήμα μετατρέπεται άμεσα σε μια καμπύλη γραφήματος. Τα διαθέσιμα μηχανήματα είναι εύκολα στη χρήση με αυτόματο καταγραφέα, λογισμικό για αποθήκευση των αποτελεσμάτων και κυβέτες μιας χρήσης με μπάρα ανάδευσης. Η κλίση της καμπύλης, το μέγιστο εύρος συσσωμάτωσης (%), ο χρόνος καθυστέρησης, η παρουσία δευτερεύοντος κύματος και η αναστρεψιμότητα της καμπύλης είναι παράμετροι που μετρούνται αυτόματα. (66) Στο PRP προστίθενται διαφορετικοί αγωνιστές σε διαφορετικές συγκεντρώσεις ενεργοποιώντας διαφορετικά μονοπάτια ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και χαρίζοντας έτσι πληροφορίες για τη λειτουργικότητα τους. Οι αγωνιστές που χρησιμοποιούνται είναι: το ADP, το αραχιδονικό οξύ (AA), το κολλαγόνο, η επινεφρίνη, το ενεργοποιητικό του υποδοχέα της θρομβίνης πεπτιδίο (TRAP), η TXA2. Το αντιβιοτικό ριστοσετίνη είναι ένας άλλος αγωνιστής που χρησιμοποιείται. Διευκολύνει την πρόσδεση του VWF στο σύμπλεγμα GP Ib/IX/V. Χρησιμοποιώντας διαφορετικές συγκεντρώσεις ριστοσετίνης έχουμε μια δοσοεξαρτώμενη απάντηση που μας επιτρέπει να διερευνήσουμε τόσο την αυξημένη όσο και τη μειωμένη ευαισθησία στη ριστοσετίνη. Για ένα φυσιολογικό αποτέλεσμα απαιτείται τόσο λειτουργικός VWF όσο και φυσιολογικό γλυκοπρωτεϊνικό σύμπλεγμα Ib/IX/V. Επομένως η δοκιμασία συσσώρευσης με ριστοσετίνη μπορεί να ανιχνεύσει τόσο διαταραχή σχετιζόμενη με VWD, όσο και δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων όπως στο σύνδρομο Bernard–Soulier. (67) Το πρότυπο συσσώρευσης αιμοπεταλίων σε απόκριση σε ένα σύνολο αγωνιστών μπορεί να είναι χαρακτηριστικό και μπορεί να προσανατολίσει αμέσως τη διάγνωση σε συγκεκριμένη διαταραχή της λειτουργικότητας.

Κλινική εφαρμογή Η εξέταση θεωρείται βασική στη διερεύνηση ασθενούς με κληρονομούμενη ή επίκτητη διαταραχή των αιμοπεταλίων και την παρακολούθηση ασθενών που λαμβάνουν αντ αιμοπεταλιακή αγωγή. (68)

Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα Μεταξύ των πλεονεκτημάτων αυτής της δοκιμασίας είναι η ευελιξία της, καθώς η συσσώρευση μπορεί να προκληθεί από πολλούς αγωνιστές σε ποικίλες συγκεντρώσεις. (69) Παρόλο που η LTA θεωρείται η πιο σημαντική και ολοκληρωμένη εξέταση για τη διερεύνηση των αιμοπεταλιακών διαταραχών, παρουσιάζει κάποια προβλήματα. Η τεχνική επηρεάζεται από

παράγοντες όπως ο τύπος αντιπηκτικού, τα λιπίδια πλάσματος, η αιμόλυση, η θρομβοπενία και καταστάσεις κατά την τεχνική (προετοιμασία του PRP, χρήση διαφορετικών συγκεντρώσεων αγωνιστών) καθώς επίσης απαιτείται εκπαίδευση και εμπειρία του προσωπικού του εργαστηρίου τόσο στην τεχνική όσο και στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Για αυτό γίνονται συνεχώς προσπάθειες για στάθμιση της μεθόδου. (66) Επίσης, η LTA δεν προσομοιάζει με τις συνθήκες in vivo, καθώς τα αιμοπετάλια απομονώνονται από άλλα συστατικά του αίματος, το δείγμα αναδεύεται υπό συνθήκες χαμηλής διάτμησης και σχηματίζει μόνο αδρανή συσσωματώματα μετά την προσθήκη αγωνιστών. Η συμβατική LTA που χρησιμοποιεί ένα πλήρες πάνελ αγωνιστών απαιτεί μεγάλους όγκους αίματος και είναι χρονοβόρα.



Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση βασικής αρχής LTA. (56)

5.2. Μελέτη συσσώρευσης αιμοπεταλίων σε ολικό αίμα - Impedance whole blood aggregometry (WBA)

Η συσσωματομετρία ολικού αίματος που εκτελείται με ηλεκτρική αντίσταση περιγράφηκε για πρώτη φορά τη δεκαετία του 1980. (70) Πλέον χρησιμοποιείται η συσσωματομετρία με πολλαπλά ηλεκτρόδια και διατίθεται στο εμπόριο ως Multiplate®Analyzer (Εικόνα 5).

Μέθοδος Η WBA επιτρέπει τον έλεγχο της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων χρησιμοποιώντας ολικό αίμα χωρίς αντιπηκτικό ή άλλη προετοιμασία. Βασίζεται στην αρχή ότι τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια θα συσσωρευθούν μέσω των μεμβρανικών τους υποδοχέων σε τεχνητές επιφάνειες 2 ηλεκτροδίων που εμβυθίζονται μέσα στο

ολικό αίμα σε συγκεκριμένη απόσταση. Η συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων αξιολογείται από τη μέτρηση της αύξησης της ηλεκτρικής αντίστασης που δημιουργείται από τη συσσώρευση και άλλων αιμοπεταλίων πάνω στα ηλεκτρόδια μετά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από διάφορους αγωνιστές (π.χ. ADP ή κολλαγόνο). (71) Ο βαθμός αύξησης της αντίστασης μετρείται σε Ohm. Η συσσώρευση καταγράφεται για 6 λεπτά και η λειτουργία των αιμοπεταλίων ποσοτικοποιείται ως μονάδες συσσωμάτωσης. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως η περιοχή κάτω από την καμπύλη συνάθροισης (μονάδες συσσωμάτωσης ανά λεπτό), η οποία ενσωματώνει τη μέγιστη συσσώρευση αιμοπεταλίων (η τεταγμένη-κάθετος άξονας) και την ταχύτητα συσσώρευσης (κλίση καμπύλης). Με την τεχνική αυτή η λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων ελέγχεται κάτω από συνθήκες που προσομοιάζουν περισσότερο στην πραγματικότητα, δεδομένης της συνεισφοράς και άλλων συστατικών του αίματος στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων. Επίσης σημαντικό είναι ότι χρησιμοποιούνται επιφάνειες και έτσι ελέγχεται η προσκόλληση των αιμοπεταλίων σε σταθερή επιφάνεια. Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται ως POCT το Multiplate Analyzer. Είναι ένας αναλυτής πέντε καναλιών που χρησιμοποιεί δύο σετ ζευγών ηλεκτροδίων, επιτρέποντας την ταυτόχρονη μέτρηση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων εις διπλούν με πέντε αγωνιστές, ενισχύοντας έτσι την επαναληψιμότητα των μετρήσεων.(72)

Κλινική εφαρμογή Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση διαταραχών της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων. Χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της υπολειπόμενης δράσης της αντ αιμοπεταλιακής θεραπείας πριν από χειρουργική επέμβαση, ειδικότερα την αναγνώριση ασθενών που λαμβάνουν ανταγωνιστές P2Y12 σε υψηλό κίνδυνο για διεγχειρητική αιμορραγία (73), και για το σκοπό αυτό η χρησιμότητα του Multiplate Analyzer υπερβαίνει αυτή της LTA. Επιπλέον, συνιστάται η χρήση WBA σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Αναισθησιολογικής Εταιρείας για τη διαχείριση της μαζικής αιμορραγίας και σε μείζονες αιμορραγίες που σχετίζονται με τραύματα. Για ερευνητικούς σκοπούς, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της επίδρασης των αντ αιμοπεταλιακών φαρμάκων. (74) Η WBA είναι ελάχιστα ευαίσθητη στην ανίχνευση ασθενών με ήπιες διαταραχές στη λειτουργία των αιμοπεταλίων (75) και δεν είναι αξιόπιστη με δείγματα με χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων. (76)

Πλεονεκτήματα- Μειονεκτήματα Δύο κύρια πλεονεκτήματα είναι η μικρή ποσότητα αίματος που απαιτείται και η απουσία προετοιμασίας του δείγματος και πιθανής τεχνητής ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Επίσης το γρήγορο αποτέλεσμα το καθιστά μια ενδιαφέρουσα κλινική λύση, ειδικά στην παρακολούθηση της

αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας περιεγχειρητικά. (77) Ειδικότερα, το Multiplate Analyzer προτείνεται ως γρήγορο και χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο στην αντιμετώπιση δι- και μετεγχειρητικής αιμορραγίας, καθώς απαιτεί ελάχιστη τεχνική γνώση, τα βήματα γίνονται αυτόματα και χρειάζεται μόνο αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι αρκετοί παράγοντες επηρεάζουν τα δείγματα ολικού αίματος, οι οποίοι περιλαμβάνουν τον αιματοκρίτη και τον αριθμό των αιμοπεταλίων, το αντιπηκτικό που χρησιμοποιείται και την καθυστέρηση μεταξύ της συλλογής δειγμάτων αίματος και ελέγχου των αιμοπεταλίων.(78)



Εικόνα 5. Multiplate Analyzer, αναλυτής πέντε καναλιών. (56)

5.3. Φωτο – συσσωματομετρία (Lumiaggregometry)

Η φωτο-συσσωματομετρία επιτρέπει την ταυτόχρονη μέτρηση της απελευθέρωσης νουκλεοτιδίων αδενίνης από τα αιμοπεταλιακά κοκκία και τη συσώρευση των αιμοπεταλίων. (79)

Μέθοδος Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση του ATP που απελευθερώνεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια από διάφορους αγωνιστές, χρησιμοποιώντας τη φωτοσκίαση (luminescence) σε PRP ή WB. (80) Η δοκιμασία εκτελείται με την προσθήκη ενός αντιδραστήριου λουσιφερίνης-λουσιφεράσης (εκχυλίσματα πυγολαμπίδας) και ενός αγωνιστή, που προκαλεί την απελευθέρωση του

περιεχομένου των δ κοκκίων των αιμοπεταλίων στο δείγμα, το οποίο υποβάλλεται σε ανάδευση με σκοπό την ενεργοποίηση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Κλινική εφαρμογή Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για ανίχνευση διαταραχών στον αριθμό και το περιεχόμενο των πυκνών κοκκίων (storage pool defects).(80)

5.4. VerifyNow system

Το VerifyNow system είναι μια POCT μέθοδος ελέγχου των αιμοπεταλίων που παρουσιάστηκε στα τέλη της δεκαετίας του 1990. (81)

Μέθοδος Κατά την εκτέλεση της δοκιμασίας, ολικό αίμα αναμιγνύεται με ειδικά σφαιρίδια, επικαλυμμένα με ινωδογόνο και η συσσώρευση των αιμοπεταλίων, μέσω της GP IIb-IIIa στα σφαιρίδια οδηγεί σε αύξηση της διαπερατότητας του φωτός, η οποία καταγράφεται από τη συσκευή. (81) Το σύστημα αυτό δεν απαιτεί ειδική προετοιμασία του δείγματος ή του μηχανήματος. Η συσκευή περιέχει μια πηγή φωτός και οπτικούς ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται για θολοσιμετρική οπτική μέτρηση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων σε ολικό αίμα. Τα αποτελέσματα αναγράφονται ως Platelet Aggregation Units (PAU) υπολογιζόμενα ως ρυθμός και βαθμός συσσωμάτωσης.

Κλινική εφαρμογή Το VerifyNow χρησιμοποιείται αποκλειστικά για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων. Διατίθενται στο εμπόριο δοκιμές για αξιολόγηση αποτελεσματικότητας: 1) ανταγωνιστών GP IIb/IIIa, δηλαδή abciximab or eptifibatide με πεπτιδίο ενεργοποίησης υποδοχέα θρομβίνης (φυσίγγιο GP IIb/IIIa), 2) ασπιρίνης με αραχιδονικό οξύ (φυσίγγιο ασπιρίνης) και 3) των θειενοπυριδινών με ADP και PG E1 (P2Y12 φυσίγγιο). (82)

Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα Το σύστημα είναι κλειστό και επιτρέπει την μέτρηση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων, ουσιαστικά χωρίς τη παρέμβαση του χειριστή. Διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν την απόδοση της ανάλυσης, όπως τα επίπεδα ινωδογόνου, ο αιματοκρίτης, ο αριθμός αιμοπεταλίων, τα τριγλυκερίδια αίματος και χρόνος από την αιμοληψία έως την εξέταση. (83)



Εικόνα 6. VerifyNow System. (56)

6. ΤΕΣΤ ΒΑΣΙΣΜΕΝΑ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΚΟΛΗΣΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΕ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΥΨΗΛΟΥ ΣΤΡΕΣ ΔΙΑΤΜΗΣΗΣ

6.1. Αναλυτής λειτουργικότητας αιμοπεταλίων (PFA-100)

Ο αναλυτής λειτουργικότητας αιμοπεταλίων (PFA-100) εισήχθη στην κλινική πράξη στα μέσα της δεκαετίας του 1990 (84) και έχει πρόσφατα μετονομαστεί από τον κατασκευαστή σε PFA-200. (85)

Μέθοδος Το PFA-100 αξιολογεί τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων σε ολικό αίμα με βάση την προσκόλληση και συσώρευση αιμοπεταλίων υπό συνθήκες ροής και υψηλής διάτμησης. Το PFA προσομοιώνει έτσι τους κύριους αιμοστατικούς μηχανισμούς in vivo, και ως εκ τούτου, μερικές φορές αναφέρεται ως in vitro χρόνος ροής. Η διαδικασία θα αναλυθεί λεπτομερώς στο επόμενο κεφάλαιο του γενικού μέρους.

Κλινική εφαρμογή Το PFA-100 έχει διατεθεί κυρίως στην αγορά ως εργαλείο διαλογής για αξιολόγηση διαταραχών στην πρωτοπαθή αιμόσταση και χρησιμοποιείται ευρέως σε αξιολόγηση της συνολικής αιμοστατικής λειτουργίας των αιμοπεταλίων. Το φυσιολογικό αποτέλεσμα της δοκιμής υποδεικνύει την απουσία σοβαρής διαταραχής της πρωτοπαθούς αιμόστασης. Το PFA-100 είναι αρκετά καλό στην αξιολόγηση της επίδρασης της ασπιρίνης, αλλά δεν είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στην κλοπιδογρέλη. (74)

Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα Το PFA-100 είναι ένα POCT και προσφέρει μια γρήγορη, απλή τεχνική σε ολικό αίμα για έλεγχο της πρωτογενούς αιμόστασης. Διενεργείται σε δείγματα ολικού αίματος που δεν απαιτούν προετοιμασία και δεν είναι

εξαρτώμενη από το χρήστη. Επηρεάζεται από πολλές παραμέτρους όπως επίπεδα VWF, αιματοκρίτη, αιμοπετάλια.(54)

6.2. IMPACT: Cone and Plate (Let) Analyzer (CPA)

Είναι ένα POCT που ελέγχει πλήρως τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων προσομοιώνοντας την πρωτογενή αιμόσταση. (86) Ο αναλυτής εκτιμά την προσκόλληση και τη συσώρευση των αιμοπεταλίων του ολικού αίματος σε ειδική πλάκα πολυστυρενίου, σε συνθήκες υψηλής ροής που προσομοιάζουν με αυτές της αρτηριακής ροής. Ακολουθεί χρώση των προσκολλημένων στην πλάκα αιμοπεταλίων και το ποσοστό και το μέγεθος της επιφάνειας που καλύπτεται από τα χρωματισμένα στοιχεία αναλύεται από αναλυτή εικόνας. Απαιτούνται περισσότερες μελέτες για την ευρεία χρήση του.

7. ΤΕΣΤ ΒΑΣΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΙΣ ΙΞΩΔΟΕΛΑΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Η θρομβοελαστογραφία εισήχθη τη δεκαετία του 1940 στην κλινική πράξη για σφαιρική αξιολόγηση της αιμόστασης. Τις τελευταίες δεκαετίες έχει επανεξεταστεί λόγω της ανάγκης ταχείας αξιολόγησης της συνολικής αιμοστατικής λειτουργίας. (87) Οι δοκιμασίες διερευνούν τον αριθμό και τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, την παραγωγή ινικής και την ινωδόλυση. (88) Δύο συστήματα είναι ευρέως διαθέσιμα: η Θρομβοελαστογραφία (TEG) και η Θρομβοελαστομετρία (ROTEM, TEM).

Μέθοδος Η αρχή στην οποία βασίζεται η μέθοδος συνίσταται σε ένα περιστρεφόμενο σύστημα που περιλαμβάνει έναν πείρο που αιωρείται από ένα σύρμα περιστροφής σε ένα κύπελλο. Σε δείγμα ολικού αίματος λόγω της προσθήκης αντιδραστηρίων και του στρες διάτμησης από την περιστροφή, ο σχηματιζόμενος θρόμβος παγιδεύει τον πείρο προωθώντας μια κίνηση που αυξάνεται όσο ο θρόμβος δυναμώνει και μειώνεται με τη λύση του θρόμβου. Η in vitro προσθήκη συγκεκριμένων ενεργοποιητών στο ολικό αίμα προκαλεί ενεργοποίηση της αιμόστασης και αλλαγές στις ιξωδοελαστικές δυνάμεις: όλη η διαδικασία καταγράφεται συνεχώς και οπτικοποιείται σε καμπύλη. Διαφορετικά τεστ είναι διαθέσιμα ανάλογα με το αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται: ιστικός παράγοντας για την εξωγενή οδό και γυαλί, σιλικόνη, καολίνη για την ενδογενή οδό. Επίσης χρησιμοποιούνται ηπαρίνωση για έλεγχο του αντιπηκτικού βαθμού της ηπαρίνης, απροτινίνη για έλεγχο ενεργοποίησης της ινωδόλυσης και αντιαιμοπεταλιακοί παράγοντες (καθεψίνη G ή GP IIb/IIIa ανταγωνιστές) για έλεγχο της συμβολής των αιμοπεταλίων στη δημιουργία του θρόμβου. Παράμετροι σχετικοί

με την πρωτογενή αιμόσταση που καταγράφονται είναι: K index (TEG) και Clot Formation Time (CFT, ROTEM) που εξετάζουν τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, γωνία α (TEG και ROEM) η οποία δείχνει το ρυθμό σχηματισμού ινικής, Maximal Amplitude (MA, TEG) και Maximum Clot Firmness (MCF, ROTEM) τα οποία δείχνουν τη συμβολή των αιμοπεταλίων στη δημιουργία του θρόμβου.

Κλινική εφαρμογή Οι αναλυτές αυτοί χρησιμοποιούνται πλέον ως POCT σε καρδιαγγειακά χειρουργεία, μεταμοσχεύσεις ήπατος και κέντρα τραύματος. (89, 90) Η ανάλυση είναι θεωρητικά κατάλληλη για μελέτη και παρακολούθηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων, των αντ αιμοπεταλιακών φαρμάκων, αλλά το τεστ στερείται ευαισθησίας για ανίχνευση μέτριας δυσλειτουργίας των αιμοπεταλίων. (87)

Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα Ένα σημαντικό πλεονέκτημα είναι ότι οι αναλύσεις έχουν σύντομο χρόνο ανανέωσης, εκτελούνται σχετικά γρήγορα και ο σχηματισμός θρόμβου εμφανίζεται οπτικά σε πραγματικό χρόνο. Το κύριο πλεονέκτημά τους είναι ότι παρέχουν πλήρες προφίλ σχηματισμού θρόμβου, συμπεριλαμβανομένης της κινητικής της πήξης, τη δυναμική του θρόμβου και την ινωδόλυση.

Υπάρχουν νέες εφαρμογές-επεκτάσεις για τη μελέτη της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων, όχι όμως ευρέως διαθέσιμες. Το σύστημα TEG platelet Mapping είναι μια εξέλιξη της κλασσικής TEG για την παρακολούθηση της αντ αιμοπεταλιακής θεραπείας. (91) Η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ασπιρίνη (προσθήκη AA) ή θειενοπυριδίνες (προσθήκη ADP) αξιολογείται συγκρίνοντας την καμπύλη TEG με καολίνη και αυτή με AA ή ADP. (92) Ωστόσο το τεστ φαίνεται να στερείται ευαισθησίας για μικρές μεταβολές στη λειτουργία των αιμοπεταλίων.

Από την άλλη μεριά, το σύστημα ROTEM platelet είναι μια επέκταση της κλασσικής ROTEM με προσθήκη συσσωματώματος σε ολικό αίμα. Παράλληλα τρέχει στην οθόνη τόσο η θρομβοελαστομετρία όσο και η δοκιμασία αιμοπεταλιακής συσσώρευσης.(93)



Εικόνα 7. A. TEG® 5000 Hemostasis Analyzer, **B.** Αναλυτής ROTEM®Platelet. (56)

8. ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ - FLOW CYTOMETRY

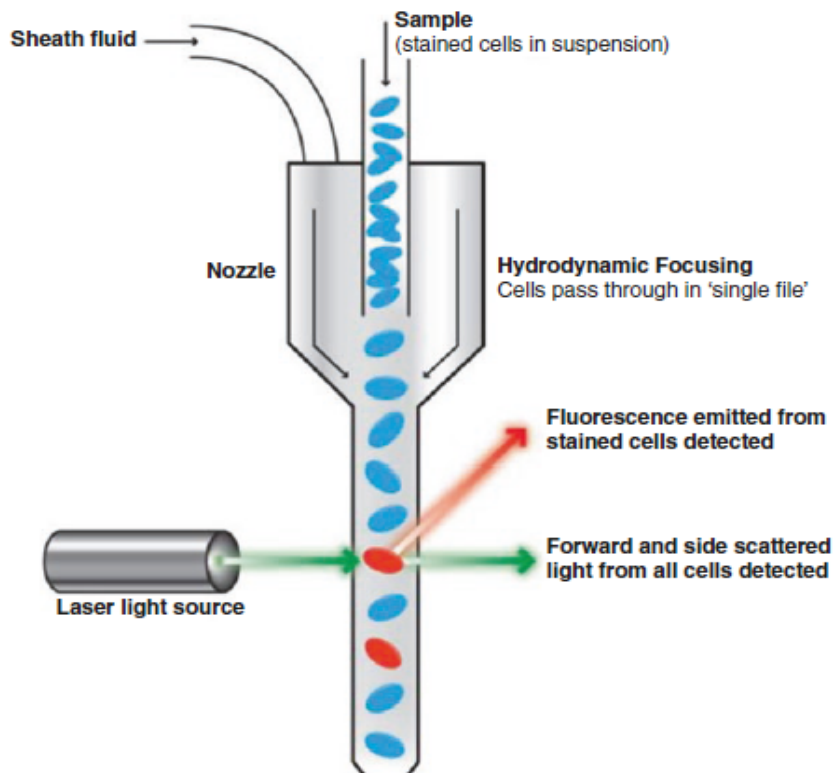
Η κυτταρομετρία ροής είναι μια τεχνική γρήγορης μέτρησης συγκεκριμένων χαρακτηριστικών σε πολλά διαφορετικά κύτταρα όπως τα αιμοπετάλια. (94) Αυτή η ανάλυση βασίζεται στην αξιολόγηση φθορισμού των φυσικών –όπως το μέγεθος και η εσωτερική πολυπλοκότητα– και των αντιγονικών ιδιοτήτων των αιμοπεταλίων, π.χ. προσδιορισμός των επιφανειακών υποδοχέων συμπεριλαμβανομένων των αλλαγών διαμόρφωσης που σχετίζονται με την ενεργοποίηση του υποδοχέα, την αποκοκκίωση, την παρουσία συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων ή συσσωματωμάτων λευκοκυττάρων-αιμοπεταλίων. (95)

Μέθοδος Στηρίζεται στη μέτρηση αντισωμάτων συζευγμένων με φθορίζουσες ουσίες που μπορεί να δεσμεύουν συγκεκριμένες πρωτεΐνες στις κυτταρικές μεμβράνες ή στο εσωτερικό των κυττάρων, αποκαλύπτοντας την παρουσία τους. Μια πηγή φωτός, που διασχίζει τα σημασμένα αιμοπετάλια, διεγείρει σε υψηλότερη ενεργειακή κατάσταση τα φθορίζοντα μόρια. Όταν τα φθοριοχρώματα επιστρέφουν σε κατάσταση ηρεμίας, εκπέμπουν φωτεινή ενέργεια σε διαφορετικά μήκη κύματος. Η χρήση πολλαπλών φθοριοχρωμάτων με παρόμοια μήκη κύματος διέγερσης, αλλά διαφορετικά μήκη κύματος εκπομπής (ή «χρώματα»), επιτρέπει τη μέτρηση πολλών ιδιοτήτων των κυττάρων ταυτόχρονα. (96) Τα αποτελέσματα της κυτταρομετρίας ροής αναπαρίστανται με τη μορφή ιστογραμμάτων με μέση ένταση φθορισμού (MFI) σε

διάγραμμα σε σχέση με τον αριθμό των κυττάρων. Μέσω της κυτταρομετρίας ροής αξιολογείται η έκφραση των GP της επιφάνειας των αιμοπεταλίων, και ειδικότερα για τη μέτρηση των GP Ib/V/IX και GP IIb/IIIa χρησιμοποιώντας αντισώματα έναντι των GPIIb (CD41), GPIIIa (CD61), GPIIb (CD42b) και GPIX (CD42a). Η κυτταρομετρία ροής επιτρέπει την ανίχνευση ελαττωμάτων στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων ποσοτικοποιώντας την επιφανειακή έκφραση των δεικτών ενεργοποίησης, όπως CD62P, CD63 ή PAC-1, μετά από διέγερση με ασθενείς και ισχυρούς αγωνιστές. (97) Η κυτταρομετρία ροής επιτρέπει επίσης να αναγνωρίσουμε την προπηκτική ικανότητα και την κατάσταση ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, επισημαίνοντας την έκφραση της φωσφατιδυλοσερίνης σε ενεργοποιημένες μεμβράνες αιμοπεταλίων χρησιμοποιώντας επισημασμένη αννεξίνη V. (98)

Κλινική εφαρμογή Η κυτταρομετρία ροής είναι χρήσιμη στη διάγνωση κληρονομούμενων (πχ. σύνδρομο Bernard–Soulier, θρομβασθένεια Glanzmann) ή επίκτητων διαταραχών των αιμοπεταλίων και πρέπει να περιλαμβάνεται μεταξύ των διαγνωστικών εξετάσεων πρώτης γραμμής για ύποπτα περιστατικά διαταραχών της αιμόστασης. Θεωρείται εξέταση εκλογής για ανίχνευση θρομβασθένειας σε ασθενείς με χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων.(99) Επίσης χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της κατάστασης των αποθηκευμένων αιμοπεταλίων στις τράπεζες αίματος. Για παράδειγμα, είναι δυνατό να εκτιμηθεί η κατάσταση ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και να προσδιοριστεί η μόλυνση από λευκοκύτταρα για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της μετάγγισης αιμοπεταλίων. (100)

Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα Δεδομένου ότι η κυτταρομετρία ροής επιτρέπει την ανάλυση αιμοπεταλίων σε ηρεμία και ενεργοποίηση σε επίπεδο κυττάρου και απαιτεί μόνο ελάχιστες ποσότητες αίματος, αντιπροσωπεύει μια πολύ χρήσιμη ανάλυση για συγκεκριμένους ασθενείς, όπως νεογνά, παιδιά και ασθενείς με θρομβοπενία. (101) Μειονεκτήματα αποτελούν το υψηλό κόστος, η ανάγκη για εξειδικευμένο προσωπικό και η δύσκολη τεχνική. (102)



Εικόνα 8. Σχηματική απεικόνιση βασικής αρχής κυτταρομετρίας ροής. (56)

9. ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ ΘΡΟΜΒΟΞΑΝΗΣ

Σε φυσιολογικές συνθήκες, όταν τα αιμοπετάλια διεγείρονται από αγωνιστές, η TXA₂ συντίθεται ταχέως και απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια στο σημείο της αγγειακής βλάβης. Η TXA₂ ενισχύει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, στρατολογεί πρόσθετα αιμοπετάλια στη θέση σχηματισμού θρόμβου και προκαλεί αγγειοσυστολή, επιταχύνοντας τη διαδικασία αιμόστασης. Η TXA₂ είναι το κύριο προϊόν του μεταβολισμού του AA στα αιμοπετάλια. Η TXA₂ μετασχηματίζεται γρήγορα με υδρόλυση σε TXB₂, ένα βιολογικά ανενεργό και σταθερό προϊόν. (103) Η TXB₂ απεκκρίνεται αμετάβλητη στα ούρα σε ένα μικρό ποσοστό και μετατρέπεται κυρίως σε δύο κύριους μεταβολίτες: τη 2,3-dinor-TXB₂ και τη 11-δεϋδρο-TXB₂ με β-οξειδωση και αφυδάτωση, αντίστοιχα. Αυτοί οι μεταβολίτες κυκλοφορούν στο πλάσμα σε χαμηλές συγκεντρώσεις και απεκκρίνονται στα ούρα, και έχει διαπιστωθεί ότι η 11-δεϋδρο-

ΤΧΒ2 είναι πιο άφθονη στα ούρα από την 2,3-dinor-ΤΧΒ2. Το ακετυλοσαλικυλικό οξύ (ASA) που παρεμβαίνει στη δραστηριότητα της COX-1 προκαλεί μείωση στη συγκέντρωση της ΤΧΒ2 ορού και της 11-δεϋδρο-ΤΧΒ2 στα ούρα. (104) Η μέτρηση των μεταβολιτών ΤΧΑ2 μέσω ELISA επιτρέπει την αξιολόγηση της κατάστασης ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Οι συγκεντρώσεις των μεταβολιτών ΤΧΒ2 στον ορό και στα ούρα σχετίζονται με τη βιοσύνθεση της ΤΧΑ2 και η συγκέντρωσή τους είναι χρήσιμη για την αξιολόγηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και την παρακολούθηση της θεραπείας με ασπιρίνη. (102)

10. ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΩΝ ΚΟΚΚΙΩΝ

10.1. α κοκκία

Αρκετές πρωτεΐνες των α-κοκκίων (όπως Ρ-σελεκτίνη, β-θρομβοσφαιρίνη, αιμοπεταλιακός παράγοντας 4, VWF, ινωδογόνο) μπορούν να μετρηθούν στο υπερκείμενο ενός δείγματος PRP στο τέλος της καταγραφής LTA ή σε προϊόντα λύσης αιμοπεταλίων, ως δείκτες απελευθέρωσης περιεχομένου κοκκίων, με ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμασία (ELISA). Ο παράγοντας πήξης V έχει επίσης μετρηθεί ως δείκτης απελευθέρωσης α-κοκκίων από τις δοκιμές δημιουργίας προθρομβινάσης ή θρομβίνης που πραγματοποιήθηκαν σε PRP. (105) Εναλλακτικά, το περιεχόμενο των κοκκίων μπορεί να αξιολογηθεί με ανοσοφθορισμό σε επίχρισμα αίματος.

10.2. δ κοκκία

Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τη μέτρηση της απελευθέρωσης των δ κοκκίων είναι η φωτοσυσσωματομετρία, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος έχει δείξει σημαντική μεταβλητότητα μεταξύ ασθενών και αυτό μπορεί να περιορίσει την αξία της για τη διάγνωση, επομένως τα αποτελέσματά της θα πρέπει πάντα να ερμηνεύονται μαζί με άλλες δοκιμασίες λειτουργικότητας αιμοπεταλίων. (106) Η έκκριση ATP, ωστόσο, μπορεί επίσης να μετρηθεί ανεξάρτητα από το LTA με φωταύγεια ή υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία. Η τελευταία θεωρείται ως μια ιδιαίτερα ειδική μέθοδος, αν και δύσκολη στην εφαρμογή. (105) Σε περίπτωση ελαττωματικής απέκκρισης ATP, η διάκριση μεταξύ ανεπάρκειας δ κοκκίων και διαταραχής της απελευθέρωσης των κοκκίων (το λεγόμενο ελάττωμα πρωτογενούς έκκρισης), απαιτεί τη μέτρηση της συνολικής περιεκτικότητας των αιμοπεταλίων σε νουκλεοτίδια αδενίνης. Άτομα με ανεπάρκεια δ κοκκίων θα εμφανίσουν αυξημένη

αναλογία ATP/ADP, ενώ μια κανονική αναλογία ATP/ADP υποδηλώνει ελάττωμα απελευθέρωσης. (57) Η απελευθέρωση 5-HT, πρότυπο για τη μέτρηση απελευθέρωσης δ κοκκίων, μπορεί να μετρηθεί με ELISA, κυτταρομετρία ροής και φασματομετρία μάζας. (105) Ένα άλλο διαθέσιμο τεστ χρησιμοποιεί μεπακρίνη, μια φθορίζουσα χρωστική που απορροφάται γρήγορα από τα δ κοκκία των αιμοπεταλίων, αξιολογώντας την πρόσληψη και την απελευθέρωσή της χρησιμοποιώντας κυτταρομετρία ροής. (107) Τέλος, ένας μειωμένος αριθμός πυκνών κόκκων μπορεί να αναγνωρισθεί από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο με καλή διεργαστηριακή συμφωνία στην ερμηνεία φυσιολογικών και μη φυσιολογικών δειγμάτων. (108)

10.3. Λυσοσώματα

Η απελευθέρωση λυσοσωμικών ενζύμων και η έκφραση πρωτεϊνών που σχετίζονται με το λυσοσώμα όπως CD63 στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων μπορούν να αξιολογηθούν με κυτταρομετρία ροής. Ωστόσο, αυτές οι πρωτεΐνες δεν είναι εντελώς ειδικές για τα λυσοσώματα, καθώς βρίσκονται επίσης σε μεμβράνες δ κοκκίων. Πιο ειδικοί δείκτες είναι τα διαλυτά λυσοσωμικά ένζυμα είναι η καθεψίνη D και η β-γαλακτοσιδάση που μπορούν να μετρηθούν με ενζυμικές δοκιμασίες. (57, 109)

11. ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΔΙΕΛΕΥΣΗΣ (TEM)

Το μικρό μέγεθος των αιμοπεταλίων καθιστά το μικροσκόπιο φωτός μη ευαίσθητο ως προς την αξιολόγηση τους, επομένως μια λεπτομερής εκτίμηση της υπερδομής των αιμοπεταλίων απαιτεί ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (TEM). Το TEM έχει αποδειχθεί πολύ χρήσιμο για την μέτρηση των δ κοκκίων των αιμοπεταλίων, ενώ η λεπτή τομή επιτρέπει την αναγνώριση των α κοκκίων και των υπερδομικών ανωμαλιών. (110)

12. ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η αναζήτηση της αιτιολογικής παραλλαγής μιας κληρονομούμενης διαταραχής λειτουργικότητας αιμοπεταλίων με μοριακή γενετική ανάλυση χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο στην αρχική διαγνωστική προσέγγιση γιατί μπορεί να οδηγήσει σε ταχεία διάγνωση. Επίσης, επιτρέποντας γενετική συμβουλευτική και κατάλληλη φροντίδα, βοηθά στην αποκάλυψη μηχανισμών της νόσου και παρέχει τη βάση για νέες θεραπείες. Η αλληλουχία επόμενης γενιάς (NGS) επιτρέπει την ταυτόχρονη ανάλυση

μεγάλων περιοχών DNA, είναι γρήγορη, αυτοματοποιημένη και ολοένα και πιο φθηνή εξέταση, και επομένως είναι ένα δυνητικά χρήσιμο εργαλείο για την μοριακή διάγνωση κληρονομικών διαταραχών των αιμοπεταλίων. Η ανάπτυξη πάνελ NGS για τη στοχευμένη αλληλούχηση των γονιδίων που εμπλέκονται σε αιμορραγικές διαταραχές στον άνθρωπο είναι δυνητικά λιγότερο δαπανηρή και ικανή να παρέχει υψηλότερη διαγνωστική απόδοση. (111, 112)

Πίνακας 3. Συνοπτική αποτύπωση βασικών χαρακτηριστικών και εφαρμογών των κυριότερων μεθόδων ελέγχου της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και της πρωτογενούς αιμόστασης.

Μέθοδος	Δείγμα	Εφαρμογή	Βασική αρχή
Χρόνος ροής	WB (ολικό αίμα)	δοκιμασία ανίχνευσης	in vivo μέτρηση της αιμόστασης
LTA	PRP με κιτρικά	δοκιμασία ανίχνευσης διάγνωση δ/χων αιμοπεταλίων παρακολούθηση αντ αιμοπεταλιακής αγωγής	η συσσώρευση αιμοπεταλίων που προκαλείται από αγωνιστές αυξάνει τη μετάδοση φωτός που μετριέται φωτοοπτικά
WBA	WB με κιτρικά	δοκιμασία ανίχνευσης διάγνωση δ/χων αιμοπεταλίων παρακολούθηση αντ αιμοπεταλιακής αγωγής	μέτρηση της αύξησης της ηλεκτρικής αντίστασης σε σχέση με την επαγόμενη από αγωνιστή συσσώρευση αιμοπεταλίων
Lumiaggregometry	WB με κιτρικά	διάγνωση διαταραχών κοκκίων	
PFA-100	WB με κιτρικά	αξιολόγηση αιμορραγικού κινδύνου και επιδράσεων φαρμάκων ανίχνευση δ/χων αιμοπεταλίων διάγνωση VWD	χρονική αξιολόγηση της διακοπής ροής WB σε στρες υψηλής διάτμησης από θρόμβο αιμοπεταλίων σε μια οπή σε ενεργοποιημένη επιφάνεια
CPA	WB με κιτρικά	εκτίμηση πρωτογενούς αιμόστασης	επαγόμενη από διάτμηση πρόσφυση-συσσωμάτωση αιμοπεταλίων σε συγκεκριμένη επιφάνεια
TEG/ platelet mapping system	WB με κιτρικά	αξιολόγηση αιμόστασης συνολικά και παρακολούθηση αντ αιμοπεταλιακής αγωγής	αξιολόγηση του ρυθμού σχηματισμού θρόμβων σε στρες χαμηλής διάτμησης με προσθήκη αγωνιστή
ROTEM platelet	WB με κιτρικά	αξιολόγηση αιμόστασης συνολικά και παρακολούθηση αντ αιμοπεταλιακής αγωγής	αξιολόγηση του ρυθμού σχηματισμού θρόμβων σε στρες χαμηλής διάτμησης με προσθήκη αγωνιστή
Κυτταρομετρία ροής	WB με κιτρικά, PRP	μέτρηση αριθμού αιμοπεταλίων αξιολόγηση ενεργοποίησης αιμοπεταλίων	ανίχνευση αιωρούμενων αιμοπεταλίων με σήμανση φθορισμού σε ένα ρέον διάλυμα

Πίνακας 4. Συνοπτική αποτύπωση των πλεονεκτημάτων και των μειονεκτημάτων των κυριότερων μεθόδων ελέγχου της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και της πρωτογενούς αιμόστασης.

Μέθοδος	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Χρόνος ροής	<ul style="list-style-type: none"> - in vivo τεστ (το μόνο) - δεν απαιτεί εργαστήριο - γρήγορο - χωρίς επεξεργασία δείγματος 	<ul style="list-style-type: none"> - επεμβατικό - μη καλά σταθμισμένο - εξάρτηση από πολλές μεταβλητές (πάχος δέρματος, δεξιότητες χειριστή, θερμοκρασία)
LTA	<ul style="list-style-type: none"> - ιστορικά gold standard - διαγνωστική μέθοδος - ευέλικτη (διάφοροι αγωνιστές σε διαφορετικές συγκεντρώσεις) - διερευνά διαφορετικές οδούς ενεργοποίησης αιμοπεταλίων - ευαισθησία στην αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία 	<ul style="list-style-type: none"> - χειροκίνητη επεξεργασία δειγμάτων - μεγάλος όγκος δείγματος - χρονοβόρα - εξειδικευμένο προσωπικό
WBA/Multiplate Analyzer	<ul style="list-style-type: none"> - καμία επεξεργασία δείγματος - διαγνωστική μέθοδος - ευέλικτη - διερευνά διαφορετικές οδούς ενεργοποίησης αιμοπεταλίων - ευαισθησία στην αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία - POCT (πολλαπλό σύστημα) 	<ul style="list-style-type: none"> - περιορισμένο εύρος αιματοκρίτη και αριθμού αιμοπεταλίων - ακριβή
Lumiaggregometry	<ul style="list-style-type: none"> - γρήγορο - ταυτόχρονα LTA και μέτρηση έκκρισης ATP 	<ul style="list-style-type: none"> - σημαντική μεταβλητότητα
Verify Now	<ul style="list-style-type: none"> - POCT - χωρίς επεξεργασία δείγματος - γρήγορο 	<ul style="list-style-type: none"> - μη ευέλικτο - ακριβό - περιορισμένο εύρος αιματοκρίτη και αριθμού αιμοπεταλίων
PFA-100	<ul style="list-style-type: none"> - πρότυπο BT in vitro - εύκολο, γρήγορο POCT - ευαίσθητο σε σοβαρά ελαττώματα αιμοπεταλίων - προσομοιάζει σύστημα υψηλού στρες διάτμησης - μικρός όγκος δείγματος χωρίς επεξεργασία 	<ul style="list-style-type: none"> - εξαρτώμενο από VWF, αριθμό αιμοπεταλίων και αιματοκρίτη - χαμηλή ευαισθησία σε διαταραχές αποκοκκίωσης των αιμοπεταλίων

CPA	<ul style="list-style-type: none"> - ικανοποιητική αναπαραγωγιμότητα - μικρός όγκος δείγματος χωρίς επεξεργασία 	<ul style="list-style-type: none"> - ακριβό - εξειδικευμένο προσωπικό - όχι ευρέως διαθέσιμο
TEG/ mapping system platelet	<ul style="list-style-type: none"> - POCT - σφαιρική εξέταση αιμόστασης - μειώνει τις μεταγίσεις αίματος 	<ul style="list-style-type: none"> - απαιτούνται περισσότερες μελέτες
ROTEM platelet	<ul style="list-style-type: none"> - POCT - σφαιρική εξέταση αιμόστασης - πρόβλεψη αιμορραγίας - μειώνει τις μεταγίσεις αίματος 	<ul style="list-style-type: none"> - περιορισμένο εύρος αιματοκρίτη και αριθμού αιμοπεταλίων - έλλειψη κλινικών μελετών
Κυτταρομετρία ροής	<ul style="list-style-type: none"> - μικρός όγκος δείγματος χωρίς επεξεργασία - ευέλικτο (διάφοροι αγωνιστές σε διαφορετικές συγκεντρώσεις) 	<ul style="list-style-type: none"> - ακριβό - χρονοβόρα - εξειδικευμένο προσωπικό
TEM	<ul style="list-style-type: none"> - χρήσιμο για την απεικόνιση των πυκνών κοκκίων 	<ul style="list-style-type: none"> - ακριβό - εξειδικευμένο προσωπικό

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

PLATELET FUNCTION ANALYZER -100 (PFA-100)

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

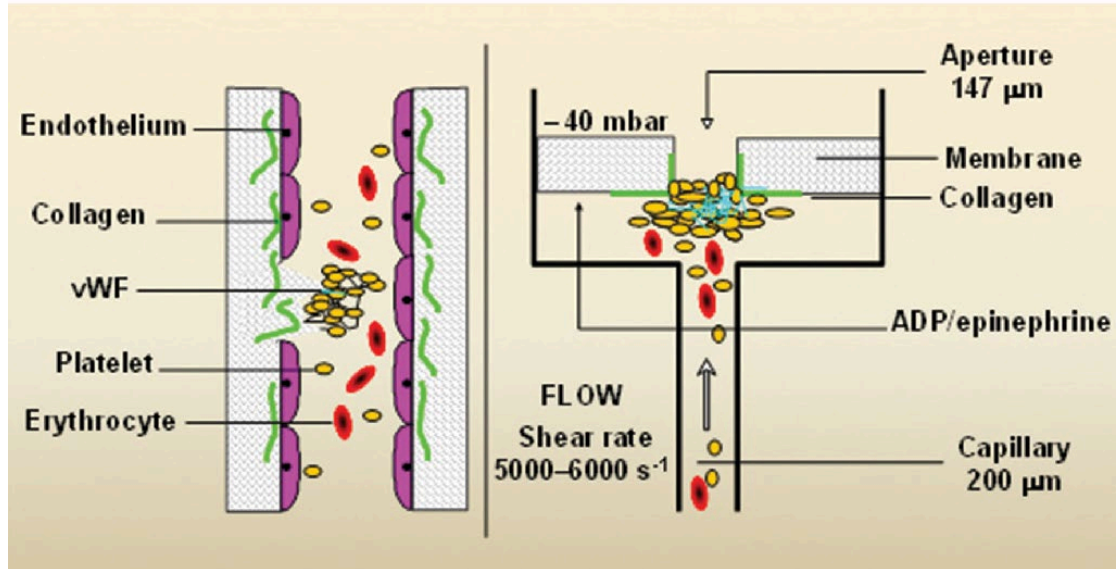
Το PFA-100 είναι ένα εργαλείο ελέγχου της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων σε ολικό αίμα που αναπτύχθηκε από το Thrombostat 4000 (113) και παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1995. (84) Το PFA-100 πρόσφατα "αναβαθμίστηκε" σε "PFA-200", το οποίο έχει μεταμορφώσει την αλληλεπίδραση του χρήστη και την ηλεκτρονική διαχείριση, αλλά διατήρησε τη θεμελιώδη μηχανική και ουσιαστικά παρέχει τα ίδια αποτελέσματα. (114) Αν και μια αρκετά απλή συσκευή, το PFA-100/200 έχει γίνει ένα σημαντικό εργαλείο στην κλινική διάγνωση της πρωτογενούς αιμόστασης και χρησιμοποιείται πλέον ευρέως από επιστήμονες και κλινικούς ερευνητές.

Οι κλασικοί έλεγχοι δραστηριότητας των αιμοπεταλίων (αιμοπεταλιακές λειτουργικές μελέτες-platelet function tests –PFT) είναι απαιτητικές εργαστηριακά και απαιτούν εμπειρία χρήστη. (74) Τυπικά, χρησιμοποιείται η συσσωματομετρία αιμοπεταλίων σε ολικό αίμα ή πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP), που αξιολογείται μετά από «πρόκληση» χρησιμοποιώντας διάφορους αγωνιστές. Ομοίως, η ολοκληρωμένη διερεύνηση της VWD απαιτεί εκτεταμένες δοκιμές με πληθώρα εργαστηριακών εξετάσεων.(115) Ωστόσο, οι ολοκληρωμένες μελέτες PFT και VWD δεν είναι πάντα άμεσα διαθέσιμες, οπότε το PFA-100/200 παρέχει μια εναλλακτική λύση και συμπληρώνει αυτές σε επιλεγμένες περιπτώσεις.

2. ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το PFA-100 παρέχει έναν απλό και γρήγορο τρόπο αξιολόγησης της υψηλής διατμητικής λειτουργίας των αιμοπεταλίων με μια διαδικασία που χρησιμοποιεί μικρές ποσότητες αίματος σε κιτρικό νάτριο (0,8 mL/φυσίγγιο). (84, 116) Δείγματα αίματος αναροφώνται με υψηλούς ρυθμούς διάτμησης ($5000-6000\text{ s}^{-1}$) μέσω ενός τριχοειδούς στο φυσίγγιο του οργάνου και συναντούν μια μεμβράνη επικαλυμμένη με κολλαγόνο και επινεφρίνη (COL/EPI) ή κολλαγόνο και ADP (COL/ADP). Η μεμβράνη πυροδοτεί τα αιμοπετάλια να προσκολληθούν, ενεργοποιηθούν και να σχηματίσουν συσσωματώματα που οδηγούν σε απόφραξη του κεντρικού ανοίγματος 147 μm και

παύση της ροής αίματος. (Εικόνα 9) Τα αποτελέσματα αναφέρονται ως «χρόνος κλεισίματος» -closure time (CT) σε δευτερόλεπτα για τα φυσίγγια COL/EPI και COL/ADP, με τιμές >300 s να αναφέρονται ως «μη κλείσιμο –non closure». (84)



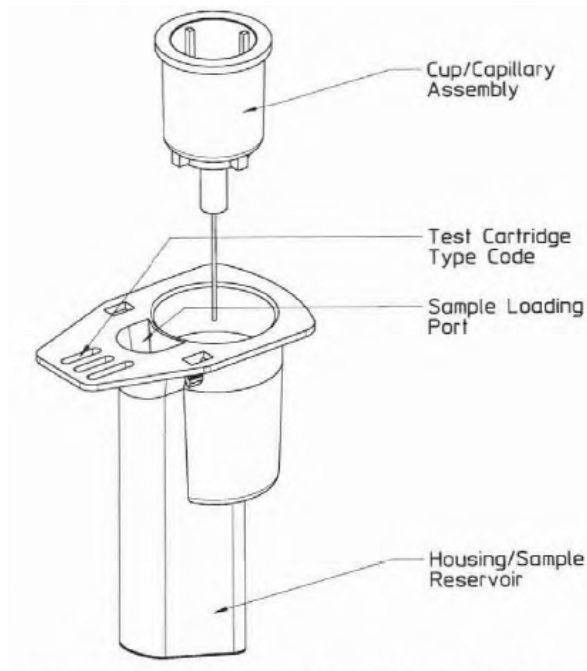
Εικόνα 9. Σχηματική απεικόνιση της βασικής αρχής της δοκιμασίας με τον αναλυτή PFA-100. (Corpus ID: 135805135)

3. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΗΧΑΝΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΗΣ (84)

Το σύστημα έχει σχεδιαστεί με σκοπό να είναι εύκολο στη χρήση, να μην απαιτείται προετοιμασία των δειγμάτων και αλληλεπίδραση χειριστή, να δίνει γρήγορα ποσοτικά αποτελέσματα με ακρίβεια. Επιπλέον, το σύστημα έχει σχεδιαστεί για να διατηρεί τα χαρακτηριστικά ποιοτικού ελέγχου π.χ. πλήρης αυτοέλεγχος των κύριων μηχανικών και ηλεκτρικών εξαρτημάτων και μια δοκιμή της ακεραιότητας του συστήματος κενού. Το σύστημα περιέχει επίσης μια σειρά από λειτουργίες ημιαυτόματης συντήρησης που μπορούν εύκολα να εκτελεστούν από τον χρήστη.

3.1. Δοκιμαστικά φυσίγγια

Τα δοκιμαστικά δοχεία PFA-100 είναι φυσίγγια μιας χρήσης που αποτελούνται από συναρμολόγηση ενός κυπέλλου/τριχοειδούς και ενός περιβλήματος/δεξαμενής δειγμάτων. Το σύμπλεγμα κυπέλλου/τριχοειδούς περιέχει ένα κύπελλο από πολυπροπυλένιο στο οποίο τοποθετείται ένας βιολογικά ενεργός δίσκος μεμβράνης. Στο κέντρο του δίσκου μεμβράνης δημιουργείται με ακρίβεια μια οπή με διάμετρο 147 μm. Ένας άξονας πολυπροπυλενίου που περιέχει ένα τριχοειδές από ανοξείδωτο χάλυβα (εσωτερική διάμετρος 200 μm) συγκολλάται με υπερήχους στον πάτο του κυπέλλου. Μια λεπτή πλαστική μεμβράνη διαχωρισμού που βρίσκεται στην κορυφή της δεξαμενής εμποδίζει την επαφή του αίματος με το τριχοειδές κατά την περίοδο επώασης. Στην αρχή της δοκιμής, το τριχοειδές πιέζεται προς τα κάτω από ένα σφιγκτήρα κενού μέσω της μεμβράνης διαχωρισμού στη δεξαμενή δείγματος. Μετά το πέρασμα από το άνοιγμα, το δείγμα προς απόρριψη συσσωρεύεται στο κύπελλο και ολόκληρο το φυσίγγιο δοκιμής απορρίπτεται από το χρήστη στο τέλος της δοκιμής. Το περίβλημα/δεξαμενή πολυαιθυλενίου διαθέτει ένα άνοιγμα στο επάνω μέρος για εύκολη φόρτωση δείγματος και ο κάτω θάλαμος σφραγίζεται με πλαστικοποιημένο φύλλο αλουμινίου, όπου το δείγμα επωάζεται πριν από την ανάλυση. Κατά την κατασκευή των φυσιγγίων δοκιμής, στο σύμπλεγμα κυπέλλου/τριχοειδούς τοποθετείται στην κορυφή του περιβλήματος ένα αφαιρούμενο πλαστικοποιημένο κάλυμμα αλουμινίου. Τα δοχεία συσκευάζονται σε αποξηραμένες συνθήκες και αποθηκεύονται σε ερμητικά σφραγισμένες σακούλες από φύλλο αλουμινίου που ξανακλείνουν μετά το άνοιγμα.



Εικόνα 10. Απεικόνιση στοιχείων ενός φυσιγγίου αναλυτή PFA-100. (84)

3.2. Συστατικά μεμβράνης

Η μεμβράνη στο φυσιγγίο δοκιμής PFA-100 εξυπηρετεί ως ουσία υποστήριξης για τα βιολογικά συστατικά και επιτρέπει την τοποθέτηση του διαφράγματος. Η μεμβράνη είναι μια τυπική μεμβράνη διήθησης νιτροκυτταρίνης με μέση τιμή μεγέθους πόρων 0,45 μm . Στην πλευρά εισόδου αίματος η μεμβράνη είναι επικαλυμμένη με 2 μg κολλαγόνο τύπου I και 10 μg επινεφρίνη ή ADP. Αυτοί οι αγωνιστές παρέχουν ελεγχόμενη διέγερση στα αιμοπετάλια καθώς το δείγμα αίματος διέρχεται από το άνοιγμα. Η κολλαγονική επιφάνεια χρησιμεύει επίσης ως μια καλά καθορισμένη ουσία για εναπόθεση και προσκόλληση των αιμοπεταλίων.

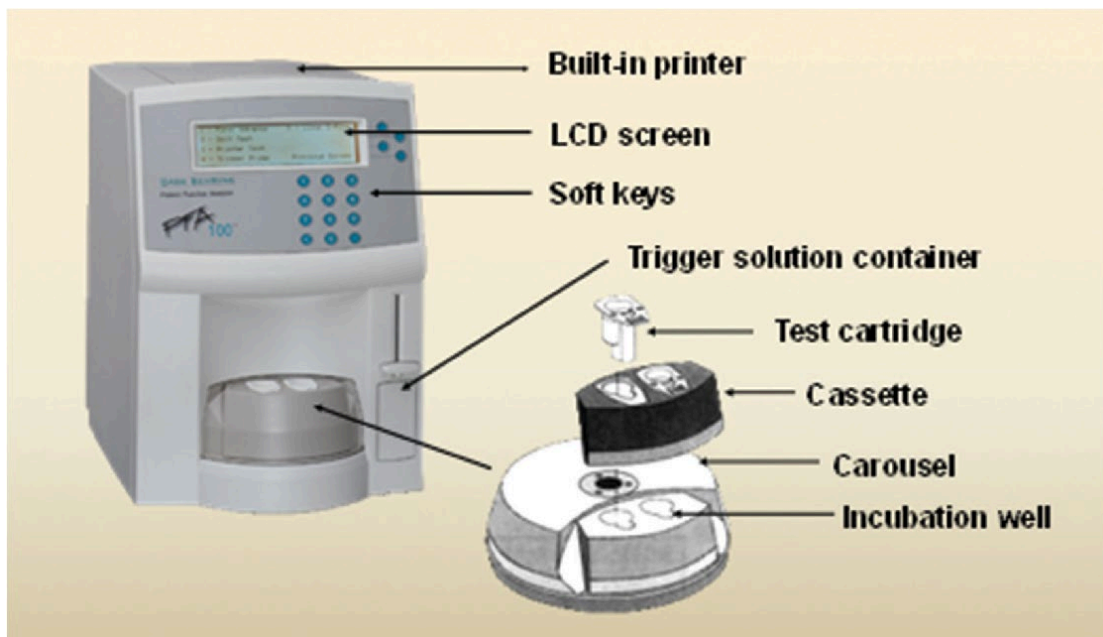
3.3. Περιγραφή δοκιμασίας

Η εξέταση χρησιμοποιεί δείγματα ολικού αίματος που συλλέγονται σε κίτρικό νάτριο 3,8% ή 3,2% ως αντιπηκτικό και δεν απαιτούν ειδική διαδικασία αιμοληψίας. Το δείγμα αίματος αναρροφάται μέσω του τριχοειδούς στο κύπελλο όπου έρχεται σε επαφή με την επικαλυμμένη μεμβράνη και μετά περνάει μέσα από το διάφραγμα. Σε αυτό το πολύπλοκο σύστημα ροής, τα αιμοπετάλια υποβάλλονται σε ρυθμό διάτμησης 5-6000 sec^{-1} . Ως απόκριση στη διέγερση από το κολλαγόνο και την επινεφρίνη ή το ADP που υπάρχει στην επικάλυψη και το στρες διάτμησης στο άνοιγμα, τα αιμοπετάλια

προσκολλώνται και συσσωματώνονται στην επιφάνεια του κολλαγόνου ξεκινώντας από την περιοχή γύρω από το άνοιγμα. Κατά τη διάρκεια της μέτρησης, σχηματίζεται ένα σταθερό βύσμα αιμοπεταλίων που τελικά φράζει το άνοιγμα. Ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη πλήρους απόφραξης του ανοίγματος ορίζεται ως «χρόνος κλεισίματος» και είναι ενδεικτικός της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων στο δείγμα. (117)

3.4. Ο αναλυτής PFA-100 (Εικόνα 11)

Ο αναλυτής PFA-100 περιλαμβάνει τα ακόλουθα κύρια συστατικά: 1. σύστημα μεταφοράς και επώασης δειγμάτων, 2. σύστημα ελέγχου κενού, 3. σύστημα διαχείρισης δεδομένων, 4. σύστημα ελέγχου οργάνου και 5. σύστημα διανομής διαλύματος. Το όργανο μπορεί να λειτουργήσει είτε αυτόνομα με λειτουργία χωρίς σύνδεση με εξωτερικό υπολογιστή ή με λειτουργία ελέγχου υπολογιστή όπου λειτουργεί μέσω του λογισμικού Data Manager.



Εικόνα 11. Αναλυτής PFA-100 Dade Behring/Siemens. (Corpus ID: 135805135)

3.4.1. Σύστημα μεταφοράς και επώασης δειγμάτων

Τα φυσιγγία δοκιμής PFA-100 τοποθετούνται σε μια κασέτα. Το δείγμα αίματος προστίθεται στα φυσιγγία δοκιμής στην κασέτα, η οποία στη συνέχεια τοποθετείται στο καρουζέλ. Το καρουζέλ περιέχει το σύστημα επώασης, το οποίο θερμαίνει τα δείγματα σε 37°C πριν από την ανάλυση. Τα δείγματα μπορούν να επεξεργαστούν μεμονωμένα

ή εις διπλούν, δηλαδή διαδοχικά. Στην αρχή της ακολουθίας, το καρουζέλ γυρίζει και τοποθετεί τα φυσίγγια κάτω από το σύστημα κενού μέσα στον αναλυτή. Ένας προκαθορισμένος όγκος διαλύματος ενεργοποίησης απελευθερώνεται πάνω στη μεμβράνη προκειμένου να διαλυτοποιηθεί η επινεφρίνη ή το ADP. Μετά την ολοκλήρωση της δοκιμαστικής ακολουθίας, το καρουζέλ επιστρέφει στην αρχική θέση εκκίνησης, όπου τα χρησιμοποιημένα φυσίγγια μπορούν να αφαιρεθούν και να απορριφθούν από τον χειριστή.

3.4.2. Σύστημα ελέγχου κενού

Το σύστημα ελέγχου κενού αποτελείται από ένα σύστημα κενού που διασυνδέεται με το φυσίγγιο δοκιμής, ένα έμβολο, ένα μετατροπέα πίεσης και έναν ελεγκτή βρόχου ανάδρασης. Το φυσίγγιο κενού συνδέεται με το κύπελλο στο φυσίγγιο. Το κενό δημιουργείται από τη μετατόπιση του εμβόλου της σύριγγας. Η κίνηση του εμβόλου ελέγχεται έτσι ώστε το εσωτερικό επίπεδο κενού να παραμένει στα 4 kPa. Καθώς το βύσμα των αιμοπεταλίων αρχίζει να σχηματίζεται στο άνοιγμα, ο ρυθμός μετατόπισης του εμβόλου μειώνεται και τελικά σταματά όταν το διάφραγμα είναι πλήρως αποφραγμένο.

3.4.3. Σύστημα διαχείρισης δεδομένων

Το σύστημα διαχείρισης δεδομένων του PFA-100 αποτελείται από ένα πληκτρολόγιο μπροστινού πίνακα, μια οθόνη υγρού κρυστάλλου (LCD), έναν εκτυπωτή και ένα σύστημα αποθήκευσης δεδομένων με δυνατότητα ανάκτησης. Το πληκτρολόγιο επιτρέπει στο χρήστη να εισάγει αριθμητικούς αριθμούς αναγνώρισης ασθενών και να επιλέξει διάφορες λειτουργίες του οργάνου μέσω των προγραμματιζόμενων πλήκτρων. Η οθόνη LCD εμφανίζει τα αποτελέσματα της δοκιμασίας μετά την ολοκλήρωση μιας δοκιμής. Ο εκτυπωτής χρησιμοποιείται για την εκτύπωση των αποτελεσμάτων καθώς και ορισμένων παραμέτρων δοκιμής. Στην αυτόνομη λειτουργία, το PFA-100 επιτρέπει στο χρήστη να αποθηκεύσει έως και 20 αποτελέσματα προηγούμενων δοκιμών στη μνήμη. Τα αποτελέσματα μπορούν επίσης να ανακτηθούν και να εκτυπωθούν όταν ζητηθούν από τον χρήστη.

3.4.4. Έλεγχος οργάνου

Το σύστημα PFA-100 χρησιμοποιεί ένα ενσωματωμένο τσιπ μικροελεγκτή ως κεντρικό «διαχειριστή» όλων των λειτουργιών. Οι λειτουργίες καθενός από τα κύρια «υποσυστήματα» εντός του οργάνου παρακολουθούνται από αισθητήρες, που

επιστρέφουν τις πληροφορίες κατάστασης στο μικροελεγκτή. Εάν εντοπιστεί πρόβλημα, ο μικροελεγκτής θα κοινοποιήσει αυτές τις πληροφορίες στο χρήστη μέσω της μπροστινής οθόνης του πίνακα και θα προβεί στις κατάλληλες ενέργειες για την αποτροπή λανθασμένων αποτελεσμάτων από την αναφορά.

3.4.5. Σύστημα διανομής διαλύματος ενεργοποίησης – trigger solution

Πρότυπο ισοτονικό διάλυμα χλωριούχου νατρίου 0,9% χρησιμοποιείται ως διάλυμα ενεργοποίησης. Η λειτουργία διανομής εκτελείται χρησιμοποιώντας το σύστημα σύριγγας που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του κενού. Η σύριγγα αφαιρεί τις απαιτούμενες ποσότητες διαλύματος ενεργοποίησης από το φιαλίδιο μέσω της βελόνας. Το διάλυμα διανέμεται μέσω ενός άκρου που βρίσκεται εντός του συστήματος κενού πριν από την έναρξη της περιόδου επώασης. Το διάλυμα διεισδύει μέσω της μεμβράνης κατά την περίοδο επώασης και διαλυτοποιεί την επινεφρίνη ή το ADP που υπάρχει σε ξηρή κατάσταση εντός της μεμβράνης.

3.4.6. Συλλογή δειγμάτων

Το αίμα συλλέγεται σε αντιπηκτικό κιτρικό νάτριο (3,2% ή 3,8%) και θα πρέπει να μεταφέρεται γρήγορα στο όργανο, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (δηλαδή 15-25°C), αποφεύγοντας τη χρήση συστημάτων ψύξης ή φιαλιδίων κενού, και η δοκιμασία να ολοκληρώνεται εντός 4 ωρών από τη συλλογή. Τα δείγματα δεν πρέπει να φυγοκεντρούνται επειδή θα συμβεί ενεργοποίηση αιμοπεταλίων. (118, 119)

3.4.7. Απόφραξη ροής-Flow obstruction

Το όργανο PFA-100 μπορεί να ανιχνεύσει μια ξαφνική διακοπή της ροής του αίματος κατά τη διάρκεια της εξέτασης (flow obstruction). Σε μια μελέτη, η συχνότητα ήταν 8,3% στο COL/EPI και 4,6% στο COL/ADP φυσίγγιο, καθιστώντας τη συνολική συχνότητα απόφραξης ροής 6,5%. Η απόφραξη ροής δεν επηρεάστηκε από τον τύπο των φυσιγγίων PFA-100, τη συγκέντρωση κιτρικών και το χρόνο συλλογής αίματος. Σε περιπτώσεις απόφραξη ροής, η δοκιμασία επαναλαμβάνεται από την αρχή. (120)

3.5 Αξιολόγηση αποτελεσμάτων

Το PFA-100 δίνει μία μόνο ένδειξη CT, με θεωρητικό μέγιστο 300 δευτερόλεπτα. Ωστόσο, οι τιμές που αναφέρονται ως >250 sec θεωρούνται «μέγιστα» παρατεταμένες. Το PFA-100 είναι ευαίσθητο σε πολλά αιμοστατικά ελλείμματα και επιδράσεις φαρμάκων, αλλά και σε ανεπάρκειες αιμοπεταλίων και διαταραχές του

αιματοκρίτη. Το COL/EPI τείνει να είναι πιο ευαίσθητο, αποδίδοντας συνήθως παρατεταμένους CT σε σχέση με το COL/ADP. Ο βαθμός παράτασης του CT και ο συνδυασμός των αποτελεσμάτων, βοηθά στον εντοπισμό της σοβαρότητας της πιθανής αιμοστατικής διαταραχής και της πιθανότητας επιδράσεων που σχετίζονται με φάρμακο. (Πίνακας 5)

Πίνακας 5. Απλή απεικόνιση των πιθανών κλινικών σεναρίων ανάλογα με τα αποτελέσματα PFA-100 CT. (121)

παρατεταμένο COL/EPI	ASA χαμηλός HCT ήπια θρομβοπενία ήπια VWD ήπια διαταραχή αιμοπεταλίων	φάρμακα σοβαρή αναιμία σοβαρή θρομβοπενία σοβαρή VWD σοβαρή δ/χή αιμοπεταλίων
φυσιολογικό COL/EPI	<u>αποκλείουμε με σχετική ασφάλεια:</u> σοβαρή θρομβοπενία σοβαρή VWD σοβαρή δ/χή αιμοπεταλίων	Σπάνιο
	φυσιολογικό COL/ADP	παρατεταμένο COL/ADP

4. ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΙΜΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Η πρώτη προσπάθεια καθορισμού τιμών αναφοράς με το PFA-100 έγινε από τους Mammen et al. (122) Στη μελέτη συμπεριελήφθησαν 206 υγιείς ενήλικες χωρίς ιστορικό ή εργαστηριακή ένδειξη αιμοπεταλιακής διαταραχής ή λήψης ασπιρίνης και 176 ενήλικες με γνωστή διαταραχή αιμοπεταλίων, VWD ή λήψη ασπιρίνης. Μέσος CT ήταν 132 s για το COL/EPI και 93 s για το COL/ADP. Τα 90% διαστήματα αξιοπιστίας (5th-95th percentile) υπολογίστηκαν σε 94-191s για το COL/EPI και 72-120 s για το COL/ADP. Δοκιμή αυτών των 206 δειγμάτων με δύο παρτίδες φυσιγγίων COL/EPI και COL/ADP δεν αποκάλυψε σημαντικές διαφορές στο μέσο CT μεταξύ των παρτίδων φυσιγγίων.

Με όριο COL/EPI 170s, η κλινική ευαισθησία και ειδικότητα ήταν 94,9% και 88,8%, αντίστοιχα για το PFA-100™ και 94,3% και 88,3%, αντίστοιχα, για τη συσσωματομετρία. Τα δεδομένα δείχνουν ότι η κλινική ευαισθησία και ειδικότητα για

το σύστημα PFA-100™, που χρησιμοποιεί φυσίγγια δοκιμής COL/EPI, δε διέφεραν από τη συσσωματομετρία. Το συνολικό ποσοστό συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων υπολογίστηκε ως 87,5%.

5. ΠΡΟΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ

5.1. Προαναλυτικοί παράγοντες που επηρεάζουν το αποτέλεσμα

5.1.1. Συγκέντρωση κιτρικών

Σε μια σειρά μελετών το δείγμα αίματος που συλλέγεται σε 3,8% κιτρικό νάτριο είχε σημαντικά μεγαλύτερους CTs από το αίμα που συλλέγεται σε 3,2% κιτρικό νάτριο (τόσο στο COL/EPI όσο και στο COL/ADP). (119, 120, 123-125)

5.1.2. Κιρκάδια διακύμανση

Οι CTs φαίνεται να επηρεάζονται από την ώρα της ημέρας που συλλέγεται το δείγμα για ανάλυση. (49, 126) Οι COL/EPI και COL/ADP CTs σε αίμα που συλλέγεται κατά τη διάρκεια του απογεύματος ήταν μεγαλύτεροι από εκείνα του αίματος που συλλέγεται το πρωί. (120) Οι συντομότεροι CTs σε φυσιολογικές περιόδους αφύπνισης (8 π.μ.), οφείλονται πιθανώς σε επίδραση του αυξημένου VWF το πρωί. (49)

5.1.3. Τροφές

Κατανάλωση τροφών πλούσιων σε φλαβονοειδή (π.χ. κόκκινο κρασί, κακάο και σοκολάτα) μπορεί να παρατείνει το COL/EPI CT. (127) Η παράταση των CTs πιθανώς σχετίζεται με τον αναφερόμενο προστατευτικό ρόλο των τροφών αυτών έναντι των καρδιαγγειακών παθήσεων. (128)

5.1.4. Ηλικία

Παιδιά και ενήλικες έχουν παρόμοιους CT, ενώ τα νεογνά έχουν μικρότερους CTs λόγω υψηλότερων επιπέδων αιματοκρίτη και VWF. (129-131)

5.1.5 Κάπνισμα

Μικρή παράταση με το φυσίγγιο COL/EPI έχει αναφερθεί στους καπνιστές, κυρίως στις γυναίκες. (132)

5.1.6. Ομάδα αίματος

Άτομα με ομάδα αίματος O είχαν παρατεταμένους CTs σε σχέση με αυτούς με άλλες ομάδες αίματος, πιθανόν επειδή τα επίπεδα VWF είναι χαμηλότερα στην ομάδα

αίματος O σε σχέση με άλλες ομάδες αίματος. (133) Οι CTs εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τα επίπεδα VWF στο πλάσμα, αφού ο VWF χρησιμεύει ως συγκολλητικό μόριο που προσδένει τα αιμοπετάλια σε εκτεθειμένο κολλαγόνο σε σημεία αγγειακής βλάβης. Έτσι, τα χαμηλότερα επίπεδα VWF επηρεάζουν το σχηματισμό αιμοστατικού θρόμβου και τυπικά παρατείνουν τους CTs. (134, 135)

5.1.7 Παράγοντες ολικού αίματος (αιματοκρίτης, αιμοπετάλια, λευκοκύτταρα)

Ο χαμηλός αριθμός των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων και ο χαμηλός αιματοκρίτης μπορεί να οδηγήσουν σε παρατεταμένο CT. (123, 124) Ο CT PFA-100 παρατείνεται σε σημαντική μείωση στον αριθμό των αιμοπεταλίων ή του αιματοκρίτη. (118, 136) Για δείγματα αίματος που περιέχουν αιμοπετάλια $<100 \times 10^9 / L$, υπάρχει αντίστροφη σχέση μεταξύ του CT και του αριθμού των αιμοπεταλίων. Ο CT είναι συνήθως παθολογικός όταν ο αιματοκρίτης του αίματος είναι κάτω από 25% και υπάρχει non-closure με αιματοκρίτη κάτω από 10%. (118, 128) Παρολ' αυτά δεν υποστηρίζουν όλες οι μελέτες πως υπάρχει σημαντική επίδραση του αιματοκρίτη, των αιμοπεταλίων στους CTs και κυρίως η επίδραση των λευκοκυττάρων αμφισβητείται. (120) Ο κατασκευαστής προτείνει ως όρια τιμών τον αιματοκρίτη 35% και τα αιμοπετάλια $<150 \times 10^9 / L$.

Επομένως ένας «μη φυσιολογικός» CT δεν αντανακλά πάντα ένα πρωτογενές αιμοστατικό έλλειμμα.

5.2. Προαναλυτικοί παράγοντες που δεν επηρεάζουν το αποτέλεσμα

5.2.1. Φύλο

Το εύρος τιμών αναφοράς CT για άνδρες και γυναίκες είναι παρόμοιο. (120, 132, 137) Μία μόνο έρευνα αναφέρει μεγαλύτερους CTs στους άνδρες, κυρίως με το COL/ADP. (138) Επίσης οι CTs δεν επηρεάζονται από τη χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών. (128)

5.2.2. Παράγοντες πήξης

Οι CTs δεν επηρεάζονται από ελαττώματα/ανεπάρκειες στο ινωδογόνο ή άλλους παράγοντες πήξης (συμπεριλαμβανομένων των VIII, IX και XI), και επομένως δεν είναι χρήσιμοι για την αξιολόγηση της δευτερογενούς αιμόστασης (π.χ. υποϊνωδογοναιμία, αιμορροφιλία). Οι CTs δεν επηρεάζονται από την ηπαρίνη, από

τους ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ ή από νεότερα από του στόματος αντιπηκτικά. (54, 139)

5.3. Αναπαραγωγιμότητα

Μια άλλη σημαντική παράμετρος είναι η αναπαραγωγιμότητα της δοκιμής. Ο διπλός συντελεστής διακύμανσης (CV), υπολογίζεται στο 12,8% για το COL/EPI CT και 10,2% για το COL/ADP CT. (122) Μια μελέτη έδειξε ότι η διαφορά των διπλών μετρήσεων υπερβαίνει το 15% και ως εκ τούτου πρότεινε στα εργαστήρια να πραγματοποιούν τη δοκιμασία σε ζεύγη. (138) Σύμφωνα με πρόσφατη ανασκόπηση, οι τακτικές διπλότυπες δοκιμές δεν είναι απαραίτητες, ωστόσο συνιστάται επανάληψη της δοκιμασίας για επιβεβαίωση κάθε φορά που μια απροσδόκητα μη φυσιολογική τιμή προσδιορίζεται σε νέο ασθενή ή εάν υπάρχει αναντιστοιχία μεταξύ των CTs που ελήφθη με COL/EPI και COL/ADP. (128)

6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ

6.1. Υψηλή ευαισθησία για μεταβολές του VWF και διάγνωση VWD

Ο αναλυτής PFA-100 είναι πολύ ευαίσθητος στα επίπεδα και τη λειτουργικότητα του VWF πλάσματος, με πολύ ισχυρές αντίστροφες σχέσεις μεταξύ CT και VWF. Έτσι, θα προκύψουν παρατεταμένοι CTs όταν ο VWF είναι χαμηλός ή απουσιάζει (δηλαδή, VWD), αλλά αντίθετα θα είναι σύντομοι όταν τα επίπεδα είναι υψηλά. (128) Η συνολική ευαισθησία για τη VWD είναι περίπου 85-90%, με την ευαισθησία στην τύπου 1 VWD να σχετίζεται με τα επίπεδα του VWF στο πλάσμα. Έτσι, επίπεδα <25%, που είναι πιο πιθανό να αντανakλούν αληθινή συγγενή VWD, συνδέονται σχεδόν πάντα με παρατεταμένους CTs, ενώ επίπεδα άνω του 30%, μπορεί να δίνουν είτε φυσιολογικούς ή παρατεταμένους CTs. Ωστόσο, όλες οι VWD τύπου 3, και τύπου 2A δίνουν παρατεταμένους CTs. (115)

6.2. Παρακολούθηση θεραπείας για VWD

Ανάλογα με τον τύπο της VWD, συνιστώμενες θεραπευτικές επιλογές είναι η δεσμοπρεσσίνη (DDAVP) και/ή ο συνθετικός παράγοντας VWF. Συνήθως, πραγματοποιείται «δοκιμή» με τη DDAVP, παρακολουθώντας την απόκριση. Η DDAVP είναι πιο αποτελεσματική στον τύπο 1 VWD και περιστασιακά σε ασθενείς με τύπου 2 VWD. Η DDAVP δεν είναι αποτελεσματική στον τύπο 3 VWD, ούτε για

ορισμένους ασθενείς τύπου 1 και 2, όπου η διαχείριση περιλαμβάνει αντικατάσταση VWF. (140) Η DDAVP γενικά μπορεί να ομαλοποιήσει τους περισσότερους CTs σε VWD τύπου 1, αλλά μόνο σε ορισμένες VWD τύπου 2. Η απάντηση στη θεραπεία με παράγοντα VWF είναι λιγότερο εντυπωσιακή: οι τιμές CT μπορεί να μην ομαλοποιηθούν, παρά τη διόρθωση του «λειτουργικού» VWF με βάση τις δοκιμές VWF, ανάλογα με τον τύπο και την ποσότητα του παράγοντα VWF που χρησιμοποιείται. Επομένως, ο αναλυτής PFA-100 έχει πιθανό ρόλο στην παρακολούθηση της θεραπείας με DDAVP, ωστόσο έλλειψη ομαλοποίησης των CTs δεν αντικατοπτρίζει απαραίτητα και αποτυχία της θεραπείας.

6.3. Αναγνώριση διαταραχών λειτουργικότητας αιμοπεταλίων

Σε συγγενείς διαταραχές των αιμοπεταλίων, οι PFA-100 CTs ποικίλλει ανάλογα με τη σοβαρότητα και τη φύση της διαταραχής. Τα σχετικά σοβαρά λειτουργικά ελλείμματα που σχετίζονται με ελλείψεις ή δυσλειτουργία των υποδοχέων GP της μεμβράνης των αιμοπεταλίων GP IIb/IIIa (θρομβασθένεια Glanzmann) ή GP Ib/IX/V (σύνδρομο Bernard– Soulier) έχουν ως αποτέλεσμα αξιοσημείωτα παρατεταμένους CTs και τυπικά “non closure” με φυσίγγια τόσο COL/EPI όσο και COL/ADP. (118, 122, 141, 142) Μεταξύ των πιο κοινών συγγενών διαταραχών της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων (συμπεριλαμβανομένης της ανεπάρκειας πυκνών κοκκίων και των περιπτώσεων με ελαττωματική έκκριση), τα ευρήματα με το PFA-100 είναι μεταβλητά και ανιχνεύονται πιο συχνά με το φυσίγγιο COL/EPI (με περίπου τις μισές περιπτώσεις να δίνουν μη φυσιολογικούς COL/EPI CTs και περίπου ένα τέταρτο να δίνουν μη φυσιολογικούς COL/ADP CTs). (116, 128, 141-147) (Πίνακας 6) Ο μειωμένος αριθμός αιμοπεταλίων όμως, που απαντάται σε ορισμένες συγγενείς διαταραχές της λειτουργικότητας, καθιστά δύσκολη την ερμηνεία μη φυσιολογικών CTs. (148) Όταν η κλινική υποψία για διαταραχή της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων είναι υψηλή, τότε πρέπει να εκτελείται ένα πλήρες φάσμα δοκιμασιών λειτουργικότητας αιμοπεταλίων, όπως αυτές αναφέρονται στο δεύτερο κεφάλαιο, ανεξάρτητα εάν ο PFA-100 CT είναι φυσιολογικός ή όχι. (116, 146, 147)

Πίνακας 6. PFA -100 CT σε συγγενείς διαταραχές των αιμοπεταλίων. (φ= φυσιολογικό, π= παρατεταμένο). (149)

ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ	COL/EPI CT	COL/ADP CT
θρομβασθένεια Glanzmann	π	π
διαταραχή πυκνών κοκκίων	φ ή π	φ ή π
σύνδρομο Hermansky-Pudlak	φ ή π	φ ή π
διαταραχές απέκκρισης	φ ή π	φ
σύνδρομο Bernard-Soulier	π	π
αιμοπεταλιακός τύπος VWD	π	π
σύνδρομο φαιού αιμοπεταλίου	π	π
σύνδρομο Wiskott-Aldrich	φ ή π	φ ή π
κληρονομική μακροθρομβοπενία	φ ή π	φ
αυτοσωμική επικρατητική θρομβοπενία	φ	φ

6.4. Ευαισθησία σε φαρμακευτική αγωγή

Πολλά είναι τα φάρμακα που επηρεάζουν τους CTs. Θεραπευτικοί παράγοντες που στοχεύουν στον υποδοχέα αιμοπεταλίων $\alpha\text{IIb}\beta_3$ (GP IIb/IIIa), όπως η αμπσιξιμάμπη, η εππιφιμπατίδη και η τιροφιμπάνη, παρατείνουν το PFA-100 CT και με τα δύο φυσίγγια (150-153), σε συμφωνία με τον πολύ παρατεταμένο CT στη θρομβασθένεια Glanzmann. Μετά τη διακοπή θεραπείας, ο CT μπορεί να παραμείνει παρατεταμένος για έως και 12 ώρες για την αμπσιξιμάμπη (152, 153) και για έως 4–6 ώρες μετά την εππιφιμπατίδη. (153)

Το ASA και άλλα ΜΣΑΦ, τα οποία επηρεάζουν τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων αναστέλλοντας την COX-1 και συνεπώς τη δημιουργία θρομβοξάνης, παρατείνουν το COL/EPI CT στο 95% των υγιών ατόμων, αλλά έχουν μικρή έως καμία επίδραση στο COL/ADP CT. (122, 154, 155) Μελέτες ασθενών σε θεραπεία με ASA για στεφανιαία ή περιφερική αγγειακή αρτηριακή νόσο δείχνουν ότι μόνο το 20-50% έχουν παρατεταμένο COL/EPI CT (αντίσταση στην αγωγή). (156, 157) Είναι σημαντικό να αναγνωριστεί ότι το πρότυπο παρατεταμένο COL/EPI και φυσιολογικό COL/ADP CT δεν είναι ειδικό για την επαγόμενη από φάρμακα δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων, καθώς μπορεί να οφείλονται και σε συγγενείς διαταραχές των αιμοπεταλίων (118, 142, 145, 146) και σε κατανάλωση τροφών πλούσιων σε φλαβονοειδή. (127) Η πιθανή χρησιμότητα του αναλυτή PFA-100 στην παρακολούθηση της θεραπείας με ASA τείνει

να εγκαταλειφθεί. Μετά τη διακοπή, οι τιμές PFA-100 CT επανέρχονται σε 6 ημέρες για την ασπιρίνη (158) και σε 24 ώρες για την ιβουπροφαίνη. (159)

Το PFA-100 CT είναι σχετικά μη ευαίσθητο στη θεραπεία με τικλοπιδίνη και κλοπιδογρέλη. (150, 160, 161) Φαίνεται πως η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από το κολλαγόνο και η επιπρόσθετη από το ADP μέσω του P2Y1 υποδοχέα είναι ικανή να υπερνικήσει το μπλοκάρισμα του P2Y1 υποδοχέα από τα φάρμακα. (162) Για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται ένα νέο φυσίγγιο το INNOVANCE PFA P2Y όπου η μεμβράνη είναι επικαλυμμένη με 20μg ADP, 5 ng προσταγλανδίνη E1, και 459μg χλωριούχου ασβεστίου. Στην αρχική μελέτη με INNOVANCE PFA P2Y, 73% ασθενών με μονοθεραπεία με κλοπιδογρέλη και 89% ασθενών με διπλή θεραπεία (ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη) είχαν παράταση του CT.

6.5. Αξιολόγηση του περιεγχειρητικού κινδύνου αιμορραγίας

Μελέτες με μεγάλο αριθμό ασθενών κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η χρήση τυποποιημένων ερωτηματολογίων και, εάν ενδείκνυται, COL/EPI CT εξασφάλισε μειωμένα ποσοστά αιμορραγίας εκ των προτέρων σε χειρουργικές επεμβάσεις. (163) Επίσης, οι ασθενείς που εντοπίστηκαν προεγχειρητικά ότι είχαν διαταραγμένη πρωτοπαθή αιμόσταση (συμπεριλαμβανομένης της δυσλειτουργίας των αιμοπεταλίων και της VWD) και στη συνέχεια έλαβαν προθεραπεία, μπόρεσαν να μειώσουν την ανάγκη τους για μεταγγίσεις αίματος. Ωστόσο, άλλες μελέτες που αξιολογούν τον κίνδυνο αιμορραγίας σε διάφορα περιβάλλοντα έχουν δώσει αντιφατικά αποτελέσματα. (128)

6.6. Ανίχνευση ασθενών υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα

Ίσως το πιο τρέχουσα ενδιαφέρουσα ιδέα είναι ότι οι σύντομοι CTs μπορεί να αντικατοπτρίζουν αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης, τόσο υπό όσο και εκτός αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας. (128) Μια μελέτη ασθενών, με οξύ προκάρδιο άλγος ύποπτο για οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, αναφέρει συντομότερους COL/ADP CTs και αυξημένα επίπεδα VWF στο πλάσμα στην υποομάδα με το έμφραγμα μυοκαρδίου. Συντομότερο COL/ADP και COL/EPI CT και υψηλότερα επίπεδα VWF συσχετίστηκαν επίσης με βιοχημικές ενδείξεις μεγαλύτερης νέκρωσης του μυοκαρδίου. (164)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αιμόσταση είναι ένας πολύπλοκος μηχανισμός που περιλαμβάνει τόσο προπηκτικούς όσο και αντιπηκτικούς παράγοντες. Τελικά επιτρέπει στο αίμα να παραμείνει ρευστό όταν κυκλοφορεί σε άθικτα αγγεία και εξασφαλίζει την αποφυγή τόσο της υπερβολικής αιμορραγίας με την προώθηση του σχηματισμού θρόμβων μετά από τραυματισμό του ενδοθηλίου όσο και της υπερβολικής πήξης περιορίζοντας τον σχηματισμό θρόμβων στο σημείο του τραυματισμού. Η αιμοστατική ισορροπία εξαρτάται από πολλές παραμέτρους συμπεριλαμβανομένων των αιμοπεταλίων, των παραγόντων πήξης και των αναστολέων τους. Η αιμοστατική ισορροπία στο νεογνικό πληθυσμό είναι διαφορετική από αυτήν σε ενήλικες και είναι μια εξελισσόμενη διαδικασία. Το αιμοστατικό σύστημα εξελίσσεται από την εμβρυϊκή έως την ενήλικη ζωή, ιδιαίτερα τους πρώτους μήνες ζωής. Οι μεταβολές αυτές προσαρμοστικότητας είναι γνωστές με τον όρο «Αναπτυξιακή Αιμόσταση»- «Developmental Hemostasis». Η κατανόηση της αναπτυξιακής αιμόστασης διασφαλίζει την πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία των θρομβωτικών και αιμορραγικών παθήσεων στα νεογνά.

2. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΝΕΟΓΝΟΥ ΜΕ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ

Εκτός από τη λεπτομερή φυσική εξέταση, η αξιολόγηση ενός παιδιού που παρουσιάζει αιμορραγικό επεισόδιο θα πρέπει να περιλαμβάνει ολοκληρωμένο ιστορικό αιμορραγίας και πλήρες οικογενειακό ιστορικό. Επιπλέον, θα πρέπει να ζητούνται επιλεγμένες εργαστηριακές εξετάσεις καθώς η αιμορραγική διαταραχή θα μπορούσε να σχετίζεται με ανεπάρκεια παραγόντων πήξης, χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων, αιμοπεταλιακή δυσλειτουργία ή VWD. Η ακριβής διάγνωση είναι κρίσιμης σημασίας για τη διασφάλιση της θεραπείας του αιμορραγικού επεισοδίου. Αυτό θα μπορούσε να περιλαμβάνει μετάγγιση αιμοπεταλίων σε περίπτωση θρομβοπενίας ή διαταραχές λειτουργικότητας αιμοπεταλίων, χορήγηση παράγοντα στην περίπτωση αιμορροφιλίας ή ανεπάρκειας ενός άλλου παράγοντα, DDAVP σε VWD, vit K και FFP. (165, 166)

Σοβαρή μεμονωμένη θρομβοπενία σε ένα κατά τα λοιπά υγιές νεογνό πρέπει να θέσει την υπόνοια Νεογνικής Αλλοάνοσης Θρομβοπενίας που προκαλείται από τη διαπλακουντιακή μεταφορά μητρικών αλλοαντισωμάτων που στρέφονται κατά αντιγόνων των νεογνικών αιμοπεταλίων και σχετίζεται με αιμορραγικές διαταραχές στο 10–20%. (167) Επίσης μεμονωμένη θρομβοπενία μπορεί να συναντήσουμε σε νεογνά με ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση (EYA) και νεογνά με ιογενή ή βακτηριακή λοίμωξη. Σε πάσχοντα νεογνά οι αιμορραγικές εκδηλώσεις μπορεί να είναι στα πλαίσια σήψης, νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (NEK), περιγεννητικής ασφυξίας ή ως επακόλουθο διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (ΔΕΠ). Σοβαρές συγγενείς αιμορραγικές διαταραχές, αρκετά σπάνιες, μπορεί να οδηγήσουν σε αιμορραγία στα νεογνά ιδιαίτερα στην περίπτωση της αιμορροφιλίας Α. Οι πιο συχνές επίκτητες αιτίες νεογνικής αιμορραγίας περιλαμβάνουν την ανεπάρκεια βιταμίνης Κ, τη ΔΕΠ και ηπατικές ασθένειες. (168)

3. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΝΕΟΓΝΟΥ ΜΕ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ

Συνήθως, η κλινική εικόνα αιμορραγικής διαταραχής στα βρέφη χαρακτηρίζεται από ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα συμπτώματα: κεφαλαιματώματα και ενδοκρανιακή αιμορραγία, αιμορραγία που σχετίζεται με τραυματισμό (π.χ. φλεβοκέντηση, λήψη τριχοειδικού αίματος) και αιμορραγία του δέρματος όπως πετέχειες, πορφύρα και εκχυμώσεις. Άλλες εκδηλώσεις μπορεί να είναι επίμονη αιμορραγία από το ομφαλικό κολόβωμα και κατά την περιτομή. (168)

Πιο σπάνιες αλλά πιο σοβαρές είναι η ενδοκοιλιακή αιμορραγία -Intraventricular hemorrhage (IVH), η πνευμονική αιμορραγία και η αιμορραγία από το γαστρεντερικό. Η IVH αποτελεί μια από τις σοβαρότερες επιπλοκές της προωρότητας με μακροπρόθεσμα νευροαναπτυξιακά ελλείμματα. Η επίπτωση είναι μεγαλύτερη στα πρόωρα νεογνά, κυρίως μικρότερα των 28 εβδομάδων κύησης. (169) Η πνευμονική αιμορραγία απαντάται στο 3–5% των πρόωρων νεογνών με μηχανικό αερισμό. Η κυρίαρχη υπόθεση είναι πως η γρήγορη μείωση της ενδοπνευμονικής πίεσης από τη χορήγηση επιφανειοδραστικού παράγοντα οδηγεί σε αύξηση της πνευμονικής αιματικής ροής μέσω του βοτάλειου πόρου. (170) Η συμβολή της θρομβοπενίας και των διαταραχών πήξης στην παθοφυσιολογία της παραμένει αδιευκρίνιστη. Η NEK αποτελεί μια από τις πιο καταστροφικές επιπλοκές της προωρότητας με επίπτωση 7% για νεογνά με βάρος γέννησης 500-1,500 g. (171) Τα νεογνά στο πλαίσιο της

αναπτυσσόμενης ΔΕΠ μπορεί να εκδηλώσουν θρομβοπενία και διαταραχή πηκτικότητας επιτείνοντας την αιμορραγία από το γαστρεντερικό.

4. ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

4.1 Παραγωγή και δομικά στοιχεία αιμοπεταλίων στα νεογνά

4.1.1. Αριθμός αιμοπεταλίων στα νεογνά

Τα αιμοπετάλια εμφανίζονται για πρώτη φορά στο ανθρώπινο έμβρυο στις 5 εβδομάδες μετά τη σύλληψη και αυξάνονται σε αριθμό κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής, φτάνοντας το μέσο όρο των $150 \times 10^9/L$ μέχρι το τέλος του πρώτου τριμήνου της κύησης και τιμές εντός του φυσιολογικού εύρους των ενηλίκων έως την 22η εβδομάδα κύησης. Αυτό σημαίνει ότι ακόμη και τα πιο πρόωρα νεογνά σε μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών (MENN) συνήθως έχουν αριθμό αιμοπεταλίων μεταξύ 150 και $450 \times 10^9/L$. Για αυτό, η θρομβοπενία στα νεογνά, όπως και στους ενήλικες, έχει οριστεί παραδοσιακά ως αριθμός αιμοπεταλίων κάτω από $150 \times 10^9/L$. Σε μια μελέτη πληθυσμού 47.000 περίπου νεογνών, το χαμηλότερο όριο (δηλαδή το 5ο εκατοστημόριο) του αριθμού των αιμοπεταλίων για τα βρέφη με ηλικία κύησης μικρότερης των 32 εβδομάδων βρέθηκε να είναι $104 \times 10^9/L$, σε σύγκριση με $123 \times 10^9/L$ για τα νεογνά με ηλικία κύησης μεγαλύτερης των 32 εβδομάδων. Είναι σημαντικό να τονίσουμε ότι η μελέτη περιελάμβανε τόσο υγιή όσο και άρρωστα νεογνά, και ως εκ τούτου αυτές οι τιμές θα πρέπει να θεωρηθούν ως «επιδημιολογικά εύρη αναφοράς» για νεογνά που εισάγονται σε MENN, όμως υπογραμμίζει ότι η ηλικία κύησης πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν όταν αναφερόμαστε σε όρια θρομβοπενίας. (172)

Χρησιμοποιώντας τον παραδοσιακό ορισμό (δηλαδή, αριθμός αιμοπεταλίων $< 150 \times 10^9/L$), αρκετές μελέτες ανέφεραν πολύ υψηλότερη συχνότητα θρομβοπενίας μεταξύ των νεογνών που εισήχθησαν στη MENN από το γενικό νεογνικό πληθυσμό (18%-35% έναντι 1%, αντίστοιχα). Η υψηλότερη επίπτωση βρέθηκε μεταξύ των μικρότερων και των πιο πρόωρων νεογνών, με περίπου το 70% των νεογνών με βάρος γέννησης μικρότερο από 1000g, να αναπτύσσουν θρομβοπενία σε κάποιο σημείο κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους. (173)

4.1.2. Παραγωγή αιμοπεταλίων στα νεογνά

Με πολύ σχηματικό τρόπο, η πολύπλοκη διαδικασία παραγωγής των αιμοπεταλίων μπορεί να αναπαρασταθεί ως αποτελούμενη από 4 κύρια στάδια:

- (1) την παραγωγή θρομβοποιητικών παραγόντων, κυρίως θρομβοποιητίνη (TPO),
- (2) τον πολλαπλασιασμό των προγονικών μεγακαρυοκυττάρων (MK),
- (3) τη διαφοροποίηση και ωρίμανση των MK μέσα από τη διαδικασία της ενδομίτωσης και κυτταροπλασματικών αλλαγών και
- (4) την παραγωγή και απελευθέρωση αιμοπεταλίων στην κυκλοφορία.

Ενώ αυτά τα 4 βήματα είναι ουσιαστικά τα ίδια στα νεογνά και στους ενήλικες, υπάρχουν ουσιαστικές βιολογικές διαφορές μεταξύ θρομβοποίησης εμβρύων/νεογνών και ενηλίκων.

Όσον αφορά στο θρομβοποιητικό ερέθισμα, οι συγκεντρώσεις TPO σε υγιή τελειόμηνα και πρόωρα νεογνά είναι υψηλότερες από τους υγιείς ενήλικες, αν και τα θρομβοπενικά νεογνά τείνουν να έχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις TPO από τους ενήλικες με παρόμοιους μηχανισμούς θρομβοπενίας.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα προγονικά MK εμβρύων και νεογνών πολλαπλασιάζονται με ταχύτερο ρυθμό από ότι στους ενήλικες. (174) Τα προγονικά MK (CD34⁺ κύτταρα) στα νεογνά δίνουν γένεση σε μεγάλες αποικίες MK που περιέχουν 10 φορές περισσότερα MK από τα αντίστοιχα προγονικά των ενηλίκων. (175) Η συγκέντρωση επίσης των προγονικών MK στην κυκλοφορία είναι αρκετά υψηλότερη στα νεογνά σε σχέση με τους ενήλικες και μειώνεται όσο αυξάνεται η ηλικία κύησης. (176)

Τα MK που δημιουργούνται στο έμβρυο και το νεογνό, ωστόσο, είναι σημαντικά μικρότερα και έχουν χαμηλότερη πλοειδία από τα MK των ενηλίκων, τόσο in vitro όσο και in vivo. (177) Πιθανότατα αντανακλώντας το μικρό τους μέγεθος, τα MK που προέρχονται από ομφάλιο αίμα παράγουν επίσης λιγότερα αιμοπετάλια ανά κύτταρο από τα MK που προέρχονται από ενήλικες. (178) Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις, τα MK στα νεογνά έχουν ευρέως θεωρηθεί ότι είναι ανώριμα σε σύγκριση με τα MK από ενήλικες. Σε άλλη όμως μελέτη, MK νεογνών που καλλιεργήθηκαν για 14 ημέρες παρουσία TPO πράγματι είχαν χαμηλότερα επίπεδα πλοειδίας, αλλά ήταν πιο ώριμα κυτταροπλασματικά από τα MK ενηλίκων. Συγκεκριμένα, είχαν υψηλότερα επίπεδα

έκφρασης CD42b δηλαδή GPIIb (ένας δείκτης των ώριμων MK) και υπερδομικά ήταν πιο ώριμα από τα ενήλικα MK ίσης πλοειδίας. (174) Οι παρατηρήσεις αυτές αποκάλυψαν ένα αναπτυξιακά μοναδικό πρότυπο εμβρυϊκής/νεογνικής μεγακαρυοποίησης που χαρακτηρίζεται από ταχύ πολλαπλασιασμό ακολουθούμενο από πλήρη κυτταροπλασματική ωρίμανση χωρίς πολυπλοειδοποίηση. Το καθαρό αποτέλεσμα είναι η παραγωγή μεγάλου αριθμού κυτταροπλασματικά ώριμων, χαμηλής πλοειδίας MK. Από οντογενετική άποψη, αυτό μπορεί να επιτρέπει στα έμβρυα/νεογνά να καλύψουν το γρήγορα αναπτυσσόμενο μυελό των οστών, διατηρώντας φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων.

Πρόσφατες μελέτες έχουν αρχίσει να αποσαφηνίζουν τους μοριακούς μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για αυτές τις διαφορές, και μέχρι στιγμής έχουν αποκαλύψει ένα πολύπλοκο δίκτυο αναπτυξιακά ρυθμιζόμενων μονοπατιών και μεταγραφικών παραγόντων που προάγουν ταυτόχρονα τον πολλαπλασιασμό και την κυτταροπλασματική ωρίμανση των MK. Οι Liu και συν. έδειξαν ότι τα εμβρυϊκά MK ήταν πιο ευαίσθητα στην TPO από τα MK ενηλίκων, επειδή παρουσίασαν σημαντικά ισχυρότερη φωσφορυλίωση των μορίων σηματοδότησης του TPO υποδοχέα (συμπεριλαμβανομένου του JAK2 και 2 μορίων του mTOR μονοπατιού) ως απόκριση στη διέγερση με TPO. Παράλληλα, η πρωτεΐνη 1 που δεσμεύει το GATA (GATA-1), ένας παράγοντας μεταγραφής κρίσιμος για την ωρίμανση των MK, βρέθηκε να υπάρχει σε 3 φορές υψηλότερα επίπεδα στα εμβρυϊκά σε σχέση με τα ενήλικα MK. Αυτά τα υψηλά επίπεδα GATA-1 πιθανότατα συμβάλλουν σε ταχεία κυτταροπλασματική ωρίμανση των νεογνικών MK. (174)

Πίνακας 7. Διαφορές μεγακαρυοποίησης ανάμεσα σε νεογνά και ενήλικες.

ΝΕΟΓΝΑ vs ΕΝΗΛΙΚΕΣ	
Συγκεντρώσεις TPO	υψηλότερες σε σχέση με ενήλικες
Προγονικά MK	άφθονα στην κυκλοφορία
	μεγαλύτερες αποικίες και περισσότερα MKs ανά αποικία
	πιο ευαίσθητα σε TPO
MKs	πιο μικρά
	μικρότερη πλοειδία
	μεγαλύτερη έκφραση CD42b στην επιφάνεια

4.1.3. Δομικά στοιχεία των αιμοπεταλίων

Όσο αφορά στη μικροδομή των αιμοπεταλίων, έχει αναφερθεί μικρότερος αριθμός πυκνών κοκκίων στα νεογνικά αιμοπετάλια σε έλεγχο με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ενώ ο αριθμός των α κοκκίων παρέμενε ίδιος για όλες τις ηλικίες. (179) Από την άλλη μεριά μορφομετρικές μελέτες δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των νεογνικών και των ενήλικων αιμοπεταλίων όσο αφορά στη μέγιστη διάμετρο των αιμοπεταλίων και το συνολικό αριθμό κοκκίων σε κατάσταση ηρεμίας. (180)

Οι υποδοχείς GP Ib-IX-V (υποδοχέας του VWF), GP IIb-IIIa (υποδοχέας του ινωδογόνου) και GP Ia-IIb (υποδοχέας του κολλαγόνου) είναι όλοι παρόντες στα εμβρυικά και νεογνικά αιμοπετάλια. (181) Σε μια μελέτη με κυτταρομετρία ροής φάνηκε ότι τα νεογνικά αιμοπετάλια εκφράζουν μειωμένα ποσοστά GP IIb-IIIa κατά 15%–20% σε σχέση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων, ενώ έχουν ίδια ποσοστά GP Ib-IX-V και GP Ia-IIb. (182) Άλλη μελέτη έδειξε πως η έκφραση GP Iba είναι υψηλότερη στα αιμοπετάλια από ομφάλιο αίμα, και μάλιστα περισσότερο στα πρόωρα, σε σχέση με ενηλίκων, εύρημα που συνάδει με τα αυξημένα επίπεδα VWF. (183)

Παρόμοια σύσταση της μεμβράνης των αιμοπεταλίων σε φωσφολιπίδια έχει επίσης αναφερθεί ανάμεσα σε δείγματα ομφάλιου λώρου και ενηλίκων, προσφέροντας επαρκή προπηκτική επιφάνεια και στα νεογνά. (184) Μαζί με την ακτίνη του κυτταροσκελετού, η β1 τουμπουλίνη είναι το βασικό συστατικό του δικτύου των μικροσωληνίσκων και παίζει ρόλο στο σχήμα αλλά και στην αποκοκκίωση των αιμοπεταλίων. Ενώ στα νεογνικά αιμοπετάλια παράγεται η μισή περίπου ποσότητα β1-τουμπουλίνης, η αύξηση άλλων ισομορφών επιτρέπει και στα νεογνικά αιμοπετάλια να έχουν το δισκοειδές σχήμα. (180)

4.1.4. Απόκριση εμβρυϊκών MK στη θρομβοπενία

Μελέτες σε θρομβοπενικούς ασθενείς έχουν δείξει ότι, υπό κανονικές συνθήκες, ο μυελός των ενηλίκων ανταποκρίνεται στην αυξημένη ζήτηση αιμοπεταλίων αυξάνοντας πρώτα το μέγεθος MK και την πλοειδία και στη συνέχεια αυξάνοντας τον αριθμό MK. Αυτές οι αλλαγές τελικά οδηγούν σε 2 έως 8 φορές αύξηση της μάζας MK. Μελέτες μυελού σε θρομβοπενικά και μη θρομβοπενικά νεογνά και ενήλικες καταλήγουν ότι τα θρομβοπενικά νεογνά μπορούν να αυξήσουν τον αριθμό, αλλά όχι το μέγεθος των MK τους. (185) Αυτά τα ευρήματα υποστηρίζουν την αντίληψη ότι τα νεογνά έχουν αναπτυξιακούς περιορισμούς στην ικανότητά τους να αυξάνουν το

μέγεθος των MK ως ανταπόκριση στην αυξημένη ζήτηση αιμοπεταλίων και συνεπώς την κατάλληλη ανταπόκριση στη θρομβοπενία.

Από την άλλη πλευρά, ο δείκτης IPF σε ομφάλιο αίμα τελειόμηνων νεογνών ήταν 3.0%–3.8%, όσο των υγιών ενηλίκων. Σε μια πρόσφατη εργασία δημοσιεύθηκαν τιμές αναφοράς για το δείκτη IPF στα νεογνά και φάνηκε να μειώνονται όσο αυξάνεται η ηλικία κύησης. (186) Ο δείκτης IPF αντικατοπτρίζει το ποσοστό των νεαρών αιμοπεταλίων στην κυκλοφορία και χρησιμοποιείται στη διαφορική διάγνωση της θρομβοπενίας σε μειωμένης παραγωγής και αυξημένης καταστροφής.

4.2. Δοκιμασίες ελέγχου πρωτογενούς αιμόστασης στα νεογνά

Η πήξη του αίματος έχει μελετηθεί ικανοποιητικά σε νεογνά, αλλά λόγω της δυσκολίας λήψης επαρκών όγκων αίματος για διάφορες δοκιμασίες λειτουργικότητας αιμοπεταλίων, λίγα δεδομένα είναι διαθέσιμα για τη λειτουργικότητα των νεογνικών αιμοπεταλίων. Αν και τα πρόωρα νεογνά διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο αιμορραγίας σε σχέση με τα τελειόμηνα, οι περισσότερες έρευνες για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων σε νεογνικό πληθυσμό έχουν γίνει σε αίμα τελειόμηνων νεογνών και στις περισσότερες μελέτες χρησιμοποιήθηκαν δείγματα αίματος ομφάλιου λώρου. (187)

4.2.1. Τελειόμηνα νεογνά

Μελέτες συσσώρευσης αιμοπεταλίων (aggregometry)

Οι πρώτες ενδείξεις αναπτυξιακών διαφορών μεταξύ νεογνών και ενηλίκων προήλθαν από μελέτες συσσώρευσης αιμοπεταλίων (aggregometry) που πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας PRP από δείγμα αίματος ομφάλιου λώρου. Αυτές οι αρχικές μελέτες έδειξαν ότι τα νεογνικά αιμοπετάλια αποκρίνονται λιγότερο από τα αιμοπετάλια των ενηλίκων σε διάφορους αγωνιστές όπως το ADP, η επινεφρίνη, το κολλαγόνο, η θρομβίνη και τα ανάλογα θρομβοξάνης (π.χ. U46619). (188-191) Τα νεογνικά αιμοπετάλια καταδεικνύουν χαμηλότερη ενεργοποίηση ως απόκριση στο TRAP και το NO. (192, 193) Αντίθετα, η επαγόμενη από τη ριστοσετίνη συγκόλληση των νεογνικών αιμοπεταλίων είναι ενισχυμένη σε σύγκριση με τους ενήλικες. Η συγκόλληση των αιμοπεταλίων από τη ριστοσετίνη εξαρτάται από τα υψηλότερα επίπεδα και την ενισχυμένη δραστηριότητα του κυκλοφορούντος VWF και

του υποδοχέα του GP Ib/IX/V. (194, 195) Οι κλασικές μελέτες συσσωματομετρίας, παρά τη διαγνωστική τους δυνατότητα, δεν χρησιμοποιούνται συνήθως για την αξιολόγηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων σε νεογνά, λόγω του μεγάλου όγκου δείγματος και της απαιτούμενης εμπειρίας του εργαστηρίου.

Κυτταρομετρία ροής

Δεδομένου ότι η λειτουργία των αιμοπεταλίων διαμεσολαβείται από μεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες, η ανίχνευση επιφανειακών γλυκοπρωτεϊνών μέσω κυτταρομετρίας ροής και μονοκλωνικών αντισωμάτων που συνδέονται είτε με αιμοπετάλια σε ηρεμία είτε μετά από ενεργοποίηση παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων. Μελέτες κυτταρομετρίας ροής σε νεογνά έχουν επιβεβαιώσει τη μειωμένη έκφραση δεικτών επιφανειακής ενεργοποίησης σε νεογνικά αιμοπετάλια που διεγείρονται με θρομβίνη, ADP και επινεφρίνη. (188, 190, 196, 197) Η δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων μπορεί, τουλάχιστον εν μέρει, να προκληθεί από μειωμένη εμφάνιση υποδοχέων προσκόλλησης (198) και χαμηλή P-σελεκτίνη, που εκδηλώνεται με μειωμένη επιφανειακή CD 62P. (199) Πρόσφατα, νεογνικά αιμοπετάλια φάνηκε να αντιδρούν λιγότερο στο πεπτιδίο που σχετίζεται με κολλαγόνο και στο δηλητήριο φιδιού ροδοσυστίνη, που ενεργοποιούν τον κολλαγονικό υποδοχέα GPVI και τον υποδοχέα 2 της C-τύπου λεκτίνης, αντίστοιχα. (200) Ένα πλεονέκτημα των μελετών κυτταρομετρίας ροής είναι η αξιολόγηση και της βασικής κατάστασης της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. (196) Μεταξύ των μειονεκτημάτων της μεθόδου περιλαμβάνονται το υψηλό κόστος εξοπλισμού και αντιδραστηρίων, το απαιτούμενο έμπειρο προσωπικό και η ανάγκη για παρατεταμένη επεξεργασία δειγμάτων. Αυτά έχουν μειώσει τη χρήση της ως πιθανό εργαλείο ελέγχου ρουτίνας για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων των νεογνών.

Διαφορετικοί μηχανισμοί ευθύνονται για τη μειωμένη απαντητικότητα των νεογνικών αιμοπεταλίων στους διάφορους αγωνιστές:

1. η υποαντιδραστικότητα στην επινεφρίνη οφείλεται στο μειωμένο αριθμό των α2-αδρνεργικών υποδοχέων στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων (191, 201, 202)

2. η μειωμένη απάντηση στη θρομβίνη είναι αποτέλεσμα μειωμένης έκφρασης των υποδοχέων θρομβίνης PAR-1 και PAR-4 στα νεογνικά αιμοπετάλια (203)

3. η μειωμένη ανταπόκριση στα ανάλογα θρομβοξάνης είναι αποτέλεσμα μειωμένης σηματοδότησης μετά τη σύνδεση με τον υποδοχέα [IP3, κινητοποίηση ενδοκυττάριου ασβεστίου, ενεργοποίηση πρωτεϊνικής κινάσης C] (194)

4. η ελαττωματική απάντηση στο κολλαγόνο και τη ροδοσυτίνη οφείλεται σε μειωμένη έκφραση των υποδοχέων μαζί με ελαττωματικό μονοπάτι σηματοδότησης (200)

Επίσης έχει περιγραφεί από την άλλη μεριά, αυξημένη ευαισθησία στην ανασταλτική επίδραση της PG E1 κατά τη διάρκεια της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης επαγόμενης από ADP και κολλαγόνο. (204)

Παράλληλα, και η αποκοκκίωση των αιμοπεταλίων των νεογνών είναι μειωμένη ως απάντηση σε διάφορους αγωνιστές, σε σχέση με τους ενήλικες. Αυτό μπορεί να σχετίζεται με το μειωμένο αριθμό πυκνών κοκκίων που ανευρίσκεται στα νεογνικά αιμοπετάλια. (179) Όμως όπως αναφέρθηκε τα α κοκκία, που υπερτερούν στα αιμοπετάλια, είναι όμοια μεταξύ νεογνών και ενηλίκων. Αυτό έρχεται να εξηγήσει η εργασία των Caravitos και συν. που επισημαίνει τη μειωμένη εξωκύτωση των α κοκκίων μέσω μειωμένων επιπέδων συνταξίνης -11. (180)

Παραδόξως, ενώ ο υπολειτουργικός φαινότυπος των αιμοπεταλίων in vitro θα προέβλεπε μια τάση αιμορραγίας, τα τελειόμηνα νεογνά εμφανίζουν κλινικές ενδείξεις φυσιολογικής αιμόστασης. Συνεπείς με τις κλινικές παρατηρήσεις, αρκετές μελέτες διαπίστωσαν ότι, παρά την υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων, τα υγιή τελειόμηνα νεογνά είχαν ενισχυμένη πρωτοπαθή αιμόσταση σε σύγκριση με μεγαλύτερα παιδιά ή ενήλικες.

Χρόνος ροής

Ο χρόνος ροής μετρά τον χρόνο που απαιτείται για τη δημιουργία ενός αιμοστατικού θρόμβου αιμοπεταλίων, το οποίο συμβαίνει μέσω της αλληλεπίδρασης των αιμοπεταλίων με τις υποενδοθηλιακές δομές ενός τραυματισμένου αγγείου, αναστέλλοντας την αιμορραγία σε μια τυποποιημένη επιφανειακή τομή του δέρματος. Η διαγνωστική του αξία στα νεογνά είναι αμφιλεγόμενη, κυρίως λόγω της περιορισμένης εμπειρίας στην εκτέλεση της δοκιμής και της υψηλής εξάρτησης από το χειριστή. (205) Οι χρόνοι ροής που πραγματοποιήθηκαν σε υγιή τελειόμηνα νεογνά ήταν μικρότεροι από τους αντίστοιχους σε ενήλικες. (206) Ένας παρατεταμένος

χρόνος ροής με φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων υποδηλώνει ποιοτική διαταραχή των αιμοπεταλίων. Αυτή η εξέταση δεν είναι χρήσιμη για την αξιολόγηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων σε ασθενείς με σοβαρή θρομβοπενία, επειδή σε αριθμό αιμοπεταλίων χαμηλότερο από $75 - 100 \times 10^9/L$, ο χρόνος ροής συνήθως παρατείνεται ανάλογα με τη σοβαρότητα της θρομβοπενίας. (205)

CPA

Χρησιμοποιώντας τον αναλυτή CPA, ο οποίος εξετάζει την προσκόλληση αιμοπεταλίων ολικού αίματος και τη συσσώρευση σε μια πλάκα επικαλυμμένη με εξωκυττάρια θεμέλια ουσία κάτω από φυσιολογικές συνθήκες αρτηριακής ροής, τα αιμοπετάλια υγιών τελειόμηνων νεογνών επέδειξαν πιο εκτεταμένες ιδιότητες πρόσφυσης από τα αιμοπετάλια ενηλίκων, εύρημα που διαμεσολαμβάνεται από τις υψηλότερες ποσότητες και την ενισχυμένη συγκολλητική δραστηριότητα του VWF στο νεογνικό πλάσμα. (207)

PFA-100

Ομοίως, μελέτες που χρησιμοποιούν τον αναλυτή PFA-100, μια *in vitro* δοκιμασία πρωτοπαθούς αιμόστασης, διαπίστωσαν ότι σε δείγματα ομφαλίου λώρου από τελειόμηνα νεογνά οι χρόνοι κλεισίματος ήταν μικρότεροι από τους αντίστοιχους μεγαλύτερων παιδιών και ενηλίκων. (130, 131, 208-210) (Πίνακας 8) Τα πλεονεκτήματα αυτού του οργάνου περιλαμβάνουν την απλότητα και την αναπαραγωγικότητα.

Πίνακας 8. Συγκεντρωτικός πίνακας διαφορών των χρόνων CTs μεταξύ τελειόμηνων νεογνών και ενηλίκων.

	ΑΡΘΡΟ	N	COL/EPI CT (sec)	COL/ADP CT (sec)
Ενήλικες	Mammen και συν., 1998 (122)	206	94-191	72-120
	Carcao και συν., 1998 (130)	39	82- 142	67-111
	Israels και συν., 2001 (131)	21	89 – 133	74 – 108
	Roschitz και συν., 2001 (208)	25	84-150	64-98
	Boudewijns και συν., 2003 (209)	20	85-165	72-120
	Saxonhouse και συν., 2010 (210)	10	94.6 - 135.4	63.2 – 84
Τελειόμηνα νεογνά	Carcao και συν., 1998 (130)	17	61 – 108	48–65
	Israels και συν., 2001 (131)	31	55 – 109	44 – 76
	Roschitz και συν., 2001 (208)	70	50 – 112	43–98
	Boudewijns και συν., 2003 (209)	80	49 – 168	40-92
	Saxonhouse και συν., 2010 (210)	21	65.1 - 112.3	46.7 - 55.9

Συνολικά, αυτές οι μελέτες προτείνουν ενισχυμένη αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων και του τοιχώματος των αγγείων σε νεογνά που πιθανόν να σχετίζεται με διάφορες παραμέτρους οι οποίες ενισχύουν την πρωτοπαθή αιμόσταση και εξουδετερώνουν την υποαντιδραστικότητα των νεογνικών αιμοπεταλίων. Σε αυτές περιλαμβάνονται:

- ο υψηλότερος αιματοκρίτης των νεογνών (211)
- ο υψηλότερος MCV (212)
- η παρουσία πολλών εμπύρηνων ερυθρών στα δείγματα νεογνικού αίματος (213)
- οι υψηλότερες συγκεντρώσεις VWF. Σημαντικά υψηλότερα επίπεδα VWF αναφέρονται σε νεογνά, τα οποία στη συνέχεια μειώνονται φθάνοντας τις τιμές των ενηλίκων μετά το πρώτο έτος ζωής (214)
- η επικράτηση των μεγαλύτερων πολυμερών VWF στο νεογνικό αίμα (195)

Στη νεογνική περίοδο, η προσκόλληση των αιμοπεταλίων ενισχύεται, σε σύγκριση με τους ενήλικες. Η GP Ib εμφανίζεται νωρίς στα εμβρυϊκά αιμοπετάλια, περίπου στις 18 έως 26 εβδομάδες κύησης όμως οι συγκεντρώσεις του VWF στο πλάσμα των νεογνών ευρίσκεται σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από τους ενήλικες. Το

νεογνικό πλάσμα περιέχει επίσης αυξημένη αναλογία λειτουργικών μορφών VWF υψηλού μοριακού βάρους, που έχουν ως αποτέλεσμα ενισχυμένη αιμοπεταλιακή προσκόλληση που μπορεί να αντισταθμίσει τη μειωμένη εγγενή ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων σε υγιή νεογνά, αλλά μπορεί να αφήσουν τα άρρωστα νεογνά σε αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας. (215)

Όσο αφορά στα υγιή μεγαλύτερα παιδιά, οι CTs είναι παρόμοιοι με τους υγιείς ενήλικες, αλλά πιο παρατεταμένοι σε σχέση με αυτούς υγιών νεογνών. (130)

4.2.2. Πρόωρα νεογνά

Λαμβάνοντας υπόψιν ότι τα πρόωρα νεογνά έχουν την υψηλότερη συχνότητα θρομβοπενίας και το μεγαλύτερο κίνδυνο αιμορραγίας, η μελέτη της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και της αιμοστατικής ισορροπίας σε αυτή την υποομάδα των νεογνών έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία.

Γενικά, η *in vitro* υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων είναι πιο έντονη σε πρόωρα νεογνά σε σύγκριση με τα τελειόμηνα. Μελέτες συσσωματομετρίας επιβεβαίωσαν ότι τα αιμοπετάλια των πρόωρων νεογνών είναι υποαντιδραστικά κατά τη γέννηση σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων. (194) Αυτές οι διαφορές ήταν πιο εμφανείς μεταξύ των νεογνών που γεννήθηκαν σε ηλικία κύησης μικρότερη των 30 εβδομάδων, υποδηλώνοντας συσχέτιση μεταξύ της αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων και της ηλικίας κύησης. (216) Ο έλεγχος της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και με κυτταρομετρία ροής υποστηρίζει ότι η υποαντιδραστικότητα είναι πιο εμφανής στα πρόωρα νεογνά. (196, 217) Σε μια μελέτη νεογνών που εστίασε στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων από αίμα ομφάλιου λώρου και περιφερικό αίμα 20 τελειόμηνων και 37 πρόωρων νεογνών, εφαρμόζοντας κυτταρομετρία ροής για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της έκφρασης μεμβρανικής γλυκοπρωτεΐνης πριν και μετά τη διέγερση με TRAP, οι συγγραφείς κατέληξαν ότι η αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων αυξάνεται με την ηλικία κύησης. (190) Σύμφωνα με τα παραπάνω ευρήματα, οι χρόνοι ροής που εξετάστηκαν την πρώτη ημέρα ζωής φάνηκαν να είναι μεγαλύτεροι στα πρόωρα σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά. (218) Δύο μελέτες με CPA έδειξαν επίσης ότι τα αιμοπετάλια από υγιή πρόωρα νεογνά παρουσίασαν μειωμένη προσκόλληση αιμοπεταλίων σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια τελειόμηνων νεογνών (αν και πάλι ήταν αυξημένη σε σχέση με υγιείς ενήλικες). (219, 220) Αυτές οι διαφορές στην προσκόλληση αιμοπεταλίων δεν σχετίζονταν με χαμηλότερα επίπεδα

αντιγόνου VWF ή δραστηριότητα ριστοσεΐνης στα πρόωρα σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά, υποδηλώνοντας ότι οφείλονταν στην εγγενή διαφορά στην ανάπτυξη της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων. (219) Οι CTs που μετρήθηκαν με PFA-100 ως απόκριση στο ADP (αλλά όχι στην επινεφρίνη) ήταν επίσης αντιστρόφως συσχετιζόμενοι με την ηλικία κύησης. Αυτές οι διαφορές πιθανότατα αντανακλούν την πιο έντονη υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων και τις χαμηλότερες τιμές αιματοκρίτη που βρέθηκαν σε υγιή πρόωρα σε σύγκριση με τελειόμηνα νεογνά. Για λόγους που δεν έχουν πλήρως αποσαφηνιστεί, οι CTs σε δείγματα περιφερικού αίματος νεογνών (ακόμη και τις πρώτες 2 ημέρες της ζωής) ήταν μεγαλύτεροι από τους CTs σε δείγματα αίματος ομφάλιου λώρου, αν και σε όλες τις ηλικίες κύησης παρέμειναν μικρότεροι από τους CTs των ενηλίκων, υποδηλώνοντας ότι τα πρόωρα νεογνά έχουν επίσης επαρκή πρωτοπαθή αιμόσταση. (210)

Αυτή η υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων είναι πιο εμφανής μεταξύ των πιο πρόωρων νεογνών (με ηλικία κύησης μικρότερη των 30 εβδομάδων) κατά την πρώτη εβδομάδα της ζωής και μπορεί να ενισχύεται από ιατρικές καταστάσεις και φάρμακα στη ΜΕΝΝ. Μια μελέτη που βασίστηκε στο στανταρισμένο και πιστοποιημένο εργαλείο εκτίμησης νεογνικής αιμορραγίας (NeoBAT) κατέδειξε ότι 25% όλων των νεογνών που νοσηλεύονται σε ΜΕΝΝ εμφανίζουν ένα επεισόδιο αιμορραγίας (11% σοβαρής, 1% μέτριας και 13% ήπιας βαρύτητας). Τα πρόωρα νεογνά μικρότερα των 28 εβδομάδων διέτρεχαν το μεγαλύτερο κίνδυνο αιμορραγίας. (221) Ενώ τα αποτελέσματα του PFA-100 και των μελετών προσκόλλησης αιμοπεταλίων υποδηλώνουν ότι, παρά την υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων τους, τα πρόωρα βρέφη έχουν επαρκή πρωτογενή αιμόσταση (δηλαδή οι CTs είναι μικρότεροι ή παρόμοιοι με εκείνους των ενηλίκων), το ότι τα νεογνά που διατρέχουν τον υψηλότερο κίνδυνο αιμορραγίας είναι ακριβώς αυτά που γεννήθηκαν πριν τις 30 εβδομάδες κύησης κατά τις πρώτες 10-14 ημέρες της ζωής εγείρει το προφανές ερώτημα εάν η δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων που υπάρχει κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου συμβάλλει σε αυτόν τον κίνδυνο και, εάν ναι, πώς θα πρέπει να επηρεάσει τις αποφάσεις μετάγγισης αιμοπεταλίων σε αυτό τον πληθυσμό. Ωστόσο, είναι σαφές από πρόσφατες έρευνες ότι τα πρόωρα νεογνά την πρώτη εβδομάδα ζωής γενικά μεταγγίζονται σε υψηλότερους αριθμούς αιμοπεταλίων από τα μεγαλύτερα παιδιά ή τους ενήλικες. (222) Η μόνη προηγούμενη τυχαίοποιημένη δοκιμή έδειξε ότι οι μεταγγίσεις αιμοπεταλίων σε συνθήκες ήπιας έως μέτριας βαρύτητας θρομβοπενίας (αριθμός αιμοπεταλίων $50 - 150 \times 10^9/L$) δεν μείωσαν την επίπτωση ή

τη σοβαρότητα της IVH σε πρόωρα βρέφη, υποδηλώνοντας ότι άλλοι παράγοντες εκτός από τον αριθμό των αιμοπεταλίων ευθύνονται για την υψηλή επίπτωση της IVH σε αυτόν τον πληθυσμό. (223)

Πρόσφατα έχουν προταθεί νέες μέθοδοι αξιολόγησης του κινδύνου αιμορραγίας σε θρομβοπενικά πρόωρα νεογνά. Με δεδομένο τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και τη δυναμική φύση του νεογνικού συστήματος πρωτογενούς αιμόστασης, θεωρείται πιθανό πως μέθοδοι αξιολόγησης σε ολικό αίμα, όπως το PFA-100, θα είναι ένας καλύτερος δείκτης αιμορραγικού κινδύνου σε πρόωρα νεογνά σε σχέση με τον αριθμό αιμοπεταλίων ή τη λειτουργικότητα *in vitro*, αφού λαμβάνει υπόψιν τον αριθμό των αιμοπεταλίων, τη λειτουργικότητά τους, τον αιματοκρίτη και τον VWF. Σε μια μελέτη που συμπεριέλαβε 54 νεογνά με ηλικία κύησης μικρότερη των 27 εβδομάδων, φάνηκε πως οι COL/ADP CTs και όχι ο αριθμός των αιμοπεταλίων σχετίζονται καλύτερα με τον κίνδυνο αιμορραγίας χρησιμοποιώντας ένα σταθμισμένο εργαλείο αιμορραγίας – Bleeding Assessment Tool. (224)

4.2.3. Μεταγεννητική περίοδος

Η διαθεσιμότητα δοκιμασιών λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων ολικού αίματος που απαιτούν μικρές ποσότητες αίματος κατέστησε δυνατή την αξιολόγηση μεταγεννητικών αλλαγών στη λειτουργία των αιμοπεταλίων με την πάροδο του χρόνου. Οι περισσότερες μελέτες, που εστιάζουν στο έλεγχο του χρονικού διαστήματος που επιτελείται ομαλοποίηση της *in vitro* υποαντιδραστικότητας των νεογνικών αιμοπεταλίων, έχουν πραγματοποιηθεί με κυτταρομετρία ροής. Η κυτταρομετρική ανάλυση ροής σε ομφαλικό και περιφερικό αίμα δείχνει μια γενικευμένη υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων κατά τις πρώτες ημέρες της ζωής στη θρομβίνη, το κολλαγόνο, το ADP και το U46619 (ανάλογο της TxA₂). Αυτή η υποαντιδραστικότητα φτάνει σε φυσιολογικά επίπεδα ενηλίκων μεταξύ της πέμπτης και της ένατης ημέρας ζωής. Κοινό συμπέρασμα ήταν η σημαντική βελτίωση έως πλήρη ομαλοποίηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων τελειόμηνων και πρόωρων νεογνών στις 10-14 ημέρες της ζωής. (190, 217, 225) Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγει και μελέτη συσσωματομετρίας 20 τελειόμηνων και 20 πρόωρων νεογνών. (216) Νεογνά πρόωρα με εξαιρετικά χαμηλό βάρος γέννησης εμφανίζουν τη μέγιστη υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων την 3^η-4^η ημέρα ζωής, περίοδος που συμπίπτει με την αυξημένη επίπτωση IVH. (217, 225) Σε μελέτη που αξιολογούσε τους

χρόνους ροής σε 240 νεογνά διαφορετικής ηλικίας κύησης διαπιστώθηκε ότι κατά την 10^η ημέρα ζωής όλα τα νεογνά είχαν μικρότερους χρόνους ροής από τη γέννηση και οι διαφορές που υπήρχαν ανάλογα και με την ηλικία κύησης είχαν εξαφανιστεί. (218) Από την άλλη πλευρά αξίζει να σημειωθεί μελέτη σε 125 υγιή νεογνά, βρέφη και μεγαλύτερα παιδιά η οποία έδειξε επιμονή της ανεξήγητης υποαντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων πέρα από τη νεογνική περίοδο. (197)

4.3. Κληρονομικές και επίκτητες διαταραχές των αιμοπεταλίων στα νεογνά

Οι περισσότερες διαταραχές της λειτουργικότητας των νεογνικών αιμοπεταλίων είναι σπάνιες, έχουν ήπια έως μέτρια κλινικά συμπτώματα και ταξινομούνται είτε ως κληρονομικές είτε ως επίκτητες. Οι γενετικές αιτίες είναι συνήθως μεταλλάξεις που έχουν ως αποτέλεσμα ανεπάρκεις ή ελαττωματικούς υποδοχείς GPs. Δύο γενετικές διαταραχές με μέτρια έως σοβαρά συμπτώματα που μπορεί να εμφανιστούν κατά τη γέννηση είναι η θρομβασθένεια Glanzmann και το σύνδρομο Bernard-Soulier. Η θρομβασθένεια Glanzmann περιλαμβάνει ανεπάρκεια της GP IIb/IIIa, κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο και έχει ως αποτέλεσμα αιμοπετάλια που δεν συσσωματώνονται ως απόκριση σε φυσιολογικά ερεθίσματα, εκτός από τη ριστοσεΐνη. Ο αριθμός των αιμοπεταλίων και η μορφολογία με μικροσκοπία φωτός είναι φυσιολογική. Το σύνδρομο Bernard-Soulier είναι μια αυτοσωματική υπολειπόμενη διαταραχή που προκύπτει από ανεπάρκεια του GP Ib υποδοχέα των αιμοπεταλίων, ο οποίος μεσολαβεί στην αρχική αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τα υποενδοθηλιακά συστατικά μέσω του VWF. Αυτό το σύνδρομο μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρή αιμορραγική διαταραχή. Τα αιμοπετάλια δε συσσωματώνονται ως απόκριση στη ριστοσεΐνη. Σε αυτή η κατάσταση ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι χαμηλός, αλλά τα αιμοπετάλια είναι χαρακτηριστικά μεγάλα. (226) Οι συγγενείς διαταραχές της απέκκρισης των αιμοπεταλίων προκαλούν ήπια έως μέτρια αιμορραγία. Σε αυτό το υποσύνολο διαταραχών περιλαμβάνονται το σύνδρομο γκρίζων αιμοπεταλίων, η ανεπάρκεια πυκνών κόκκων, το σύνδρομο Chediak-Higashi και το σύνδρομο Hermansky-Pudlak.

Σε αντίθεση με τα κληρονομικά ελαττώματα, οι επίκτητες διαταραχές της λειτουργίας των αιμοπεταλίων είναι συχνές. Ένα αιμοστατικό έλλειμμα μπορεί να εμφανιστεί ως αποτέλεσμα φαρμάκων που χορηγούνται στη μητέρα ή το νεογνό ή να οφείλεται σε παθήσεις της μητέρας κατά τη διάρκεια της κύησης.

Τελειόμηνα νεογνά που γεννήθηκαν από μητέρες με υπέρταση κύησης και διαβήτη κύησης εμφάνισαν φτωχότερη πρόσφυση αιμοπεταλίων σε σύγκριση με υγιή τελειόμηνα νεογνά. (220, 227) Από την άλλη μεριά, η σύνθεση προσταγλανδίνης και οι μελέτες συσσώρευσης αιμοπεταλίων είναι ενισχυμένες σε δείγματα από ομφάλιο αίμα νεογνών μητέρων με ΣΔΚ και συνοδεύονται από αυξημένα επίπεδα θρομβοξάνης. (228) Η επίδραση της υπέρτασης κύησης στον αριθμό και τη λειτουργικότητα των νεογνικών αιμοπεταλίων θα αναλυθεί στο κεφάλαιο για την πρωτογενή αιμόσταση στα νεογνά με ΕΥΑ.

Η χορήγηση χαμηλής δόσης ασπιρίνης (100mg/day) στη μητέρα συστήνεται σε περιπτώσεις υπέρτασης κύησης. Αν και κάποιες μελέτες αναφέρουν ότι η προγεννητική χορήγηση ασπιρίνης δε μεταβάλλει τον αριθμό και την ικανότητα συσσώρευσης των νεογνικών αιμοπεταλίων (229) ή τη σύνθεση TxB₂ (230), άλλες αναφέρουν μείωση της TxB₂. (231) Φαίνεται πως η πιθανολογούμενη διαταραχή των νεογνικών αιμοπεταλίων είναι εμφανής όταν η χορήγηση συμβαίνει τις τελευταίες 7 ημέρες προ του τοκετού. (232)

Τα αιμοπετάλια των νεογνών που γεννιούνται από μητέρες που έλαβαν μαγνήσιο ενδοφλέβια ως τοκολυτική αγωγή, τείνουν να είναι λιγότερο αποτελεσματικά στη δημιουργία συσσωματώματος ως απάντηση σε ενεργοποίηση από ADP αλλά όχι στο κολλαγόνο. (233)

Νεογνά με περιγεννητική ασφυξία έχουν χαμηλότερο αριθμό αιμοπεταλίων αλλά αυξημένο MPV. Η υποξία οδηγεί σε ενίσχυση της ερυθροποίησης σε βάρος της μεγακαρυοποίησης. (234) Τα αυξημένα επίπεδα θρομβοξάνης στα ασφυκτικά νεογνά υποδηλώνουν πιθανή ενεργοποίηση και κατανάλωση αιμοπεταλίων ως υποκείμενο μηχανισμό θρομβοπενίας.

Η αναιμία (αιματοκρίτης < 30%) αποδείχθηκε ότι παρατείνει το χρόνο ροής σε πρόωρα νεογνά την πρώτη εβδομάδα της ζωής. (235)

Η συσχέτιση μεταξύ θρομβοπενίας και σήψης είναι καλά τεκμηριωμένη (236) και αριθμός αιμοπεταλίων < 50 x 10⁹/L αποτελεί ισχυρό αρνητικό προγνωστικό παράγοντα στα νεογνά με σήψη. Χρησιμοποιώντας CPA, τα πρόωρα βρέφη με σήψη εμφανίζουν χαμηλότερη προσκόλληση αιμοπεταλίων από τα υγιή πρόωρα βρέφη, υποδηλώνοντας αιμορραγική τάση σε αυτόν τον πληθυσμό. (237)

Η ινδομεθακίνη, η οποία χρησιμοποιείται συχνά για το κλείσιμο του αρτηριακού πόρου σε πρόωρα νεογνά, σχετίζεται με διπλασιασμό του χρόνου ροής σε 25 πρόωρα βρέφη. (238) Η ιβουπροφαίνη, που χρησιμοποιείται για τον ίδιο σκοπό, δεν επηρέασε τους χρόνους ροής, αλλά παράτεινε ελαφρώς τους CTs στο PFA-100 ως απόκριση στην επινεφρίνη. (239)

Η αμπικιλίνη, το αντιβιοτικό που συχνά χρησιμοποιείται για τη θεραπεία νεογνών με υποψία πρώιμης έναρξης σήψη, επίσης παράτεινε το χρόνο ροής των νεογνών μετά από 3 με 4 δόσεις, αλλά δεν επηρέασε σημαντικά τους CTs των νεογνών. (240) Μεταξύ νεογνών με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης (<1500 g), μακρά θεραπεία αμπικιλίνης (>5 ημέρες) συσχετίστηκε με παράταση του χρόνου ροής κατά μέσο όρο 2 λεπτά την πρώτη εβδομάδα της ζωής. (241)

Το εισπνεόμενο NO, που χρησιμοποιείται σε πνευμονική υπέρταση, μπορεί επίσης να μειώσει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (αναστέλλοντας την ενεργοποίηση GP IIb/IIIa) και να αναστείλει την προσκόλληση αιμοπεταλίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, αυξάνοντας πιθανώς τον κίνδυνο για IVH. (242) Μια μελέτη βασισμένη σε TEG βρήκε ότι η MA (που εξαρτάται από τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων) ήταν χαμηλότερη σε νεογνά με πνευμονική υπέρταση τόσο πριν όσο και μετά τη θεραπεία με NO. (243)

Σε νεογνά έχει αναφερθεί διαταραχή της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και θρομβοπενία σε περιπτώσεις παραμένουσας πνευμονικής υπέρτασης, εισρόφησης μηκωνίου και συγγενούς διαφραγματοκήλης που αντιμετωπίζονται με εξωσωματική κυκλοφορία (ECMO). Κατά την ECMO, η δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων επιμένει παρά τις μεταγγίσεις αιμοπεταλίων και η λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων επανέρχεται στο φυσιολογικό 8 ώρες μετά. (244) Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην απώλεια GP I και GP VI, τη μείωση των μεγάλων πολυμερών VWF, (245) και τη μειωμένη έκφραση P-σελεκτίνης (CD62P) και CD63 σε αιμοπετάλια νεογνών που βρίσκονται σε ECMO.

Οι χρόνοι ροής και οι PFA-100 CTs παρατείνονται στα νεογνά που υποβάλλονται σε θεραπευτική υποθερμία, αλλά επανέρχονται στο φυσιολογικό με την επαναθέρμανση. (220)

4.4. Επιδράσεις των μεταγγίσεων αιμοπεταλίων στην πρωτογενή νεογνική αιμόσταση

Μία μόνο μελέτη αξιολόγησε τις επιδράσεις των μεταγγίσεων αιμοπεταλίων στη νεογνική αιμόσταση. (246) Αυτή η μελέτη βασίστηκε στην υπόθεση ότι η υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων των τελειόμηνων νεογνών αποτελεί μέρος μιας ευαίσθητης ισορροπίας στο αιμοστατικό σύστημα, επειδή εξουδετερώνεται από τις υψηλότερες τιμές αιματοκρίτη, τις υψηλότερες συγκεντρώσεις VWF και την υπεροχή των πολυμερών VWF στο αίμα των νεογνών. Δεδομένου ότι οι μεταγγίσεις προέρχονται από ενήλικες δότες, αξιολογήθηκε αν μετάγγιση ενηλίκων (σχετικά υπεραντιδραστικών) αιμοπεταλίων σε νεογνά θα οδηγούσε σε υπερπηκτικό προφίλ. Για να δοκιμαστεί η υπόθεση, έγινε ανάμιξη αιμοπεταλίων νεογνών ή ενηλίκων με αίμα θρομβοπενικών νεογνών και ενηλίκων και στη συνέχεια αξιολογήθηκε η συσσώρευση αιμοπεταλίων και η αιμόσταση ολικού αίματος με το PFA-100 και τη θρομβοελαστογραφία. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι οι CTs μετά από διέγερση με κολλαγόνο και επινεφρίνη ήταν σημαντικά μικρότεροι σε νεογνικό αίμα που «μεταγγίζεται» in vitro με αιμοπετάλια ενηλίκων σε σύγκριση με αίμα που «μεταγγίζεται» με αιμοπετάλια νεογνών. Ισχύει επίσης το αντίθετο: αίμα ενηλίκων που «μεταγγίστηκε» in vitro με νεογνικά αιμοπετάλια είχε μεγαλύτερους CTs μετά τη διέγερση με κολλαγόνο και επινεφρίνη από το αίμα που «μεταγγίζεται» με αιμοπετάλια ενηλίκων. Αυτή η μελέτη τόνισε τη σημασία των διαφορών μεταξύ του νεογνικού και ενηλίκου αιμοστατικού συστήματος και ανέδειξε την πιθανότητα «αναπτυξιακής αναντιστοιχίας» που σχετίζεται με μεταγγίσεις αιμοπεταλίων. Η δυνατότητα ανάπτυξης υπερπηκτικότητας σε νεογνά που έχουν μεταγγιστεί είναι ιδιαίτερα σημαντική σε νεογνά που μεταγγίζονται για ήπια/μέτρια θρομβοπενία, καθώς τα νεογνά έχουν την υψηλότερη συχνότητα θρόμβωσης μεταξύ όλων των παιδιατρικών ηλικιακών ομάδων.

Πολλές μελέτες παρατήρησης περιγράφουν φτωχή συσχέτιση μεταξύ της θρομβοπενίας και του αιμορραγικού κινδύνου στα νεογνά, έλλειψη αποτελεσματικότητας της μετάγγισης των αιμοπεταλίων στην πρόληψη των αιμορραγιών (247), ακόμη και συσχέτιση των μεταγγίσεων των αιμοπεταλίων με αυξημένη θνητότητα και θνησιμότητα. (248) Τα αποτελέσματα της μελέτης PlaNeT-2 προτείνουν να χρησιμοποιούνται χαμηλότερα όρια ($<25 \times 10^9/L$) για την προφυλακτική χορήγηση αιμοπεταλίων ακόμη και σε νεογνά υψηλού κινδύνου και τονίζουν για άλλη μια φορά την αρνητική επίδραση των μεταγγίσεων. (249)

4.5. Συνολική εικόνα πρωτογενούς αιμόστασης στα νεογνά

Τα διαθέσιμα στοιχεία υποδηλώνουν έντονα ότι η *in vitro* υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων των υγιών τελειόμηνων νεογνών θα πρέπει να εκλαμβάνεται ως αναπόσπαστο μέρος ενός προσεκτικά ισορροπημένου και εύρυθμου νεογνικού αιμοστατικού συστήματος, αντί για αναπτυξιακή ανεπάρκεια. (Πίνακας 9) Οντογενετικά, αυτές οι διαφορές στην αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων μπορεί να είναι ένας σημαντικός μηχανισμός για την πρόληψη ανεπιθύμητης ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και θρόμβωσης κατά τη γέννηση, μια διαδικασία που συσχετίζεται συχνά με ιστικό τραυματισμό και υπερέκκριση επινεφρίνης. Ωστόσο, το πώς οι διάφορες ασθένειες της μητέρας και του νεογνού διαταράσσουν αυτό το ευαίσθητο σύστημα και εάν συμβάλλουν στην αιμορραγία, είναι ερωτήματα που παραμένουν αναπάντητα.

Πίνακας 9. Πρωτογενής αιμόσταση στα νεογνά. (250)

Αριθμός και λειτουργικότητα αιμοπεταλίων	<ul style="list-style-type: none"> • Μέσος αριθμός αιμοπεταλίων στα νεογνά εντός των τιμών αναφοράς των ενηλίκων • Νεογνικά αιμοπετάλια υποαντιδραστικά σε απάντηση σε διάφορους αγωνιστές <i>in vitro</i> (πρόωρα > τελειόμηνα) • Βελτίωση λειτουργικότητας αιμοπεταλίων την 10^η –14^η ημέρα ζωής
Αντιρροπιστικοί παράγοντες	<ul style="list-style-type: none"> • Αυξημένος HCT • Αυξημένος MCV • Αυξημένα επίπεδα VWF και κυρίως μεγάλων πολυμερών του
Εξετάσεις πρωτογενούς αιμόστασης	<ul style="list-style-type: none"> • Χρόνοι ροής νεογνών < ενηλίκων • PFA-100 CTs νεογνών < ενηλίκων <p>Δηλαδή ενισχυμένη πρωτογενής αιμόσταση στα νεογνά παρά την υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων.</p>
Επίδραση μεταγγίσεων αιμοπεταλίων	<p>Μεταγγίσεις αιμοπεταλίων μόνο σε θρομβοπενικά νεογνά με ενεργό αιμορραγία.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Πρόωρα νεογνά χωρίς ενεργό αιμορραγία που έλαβαν προφυλακτική μετάγγιση αιμοπεταλίων για AMΠ <50 × 10⁹/L είχαν σημαντικά μεγαλύτερη θνητότητα και αιμορραγίες από νεογνά που μεταγγίστηκαν για AMΠ <25 × 10⁹/L. • Νεογνά υψηλού κινδύνου ωφελούνται από τα χαμηλότερα όρια μεταγγίσεων όσο και τα σταθερά νεογνά χαμηλού κινδύνου.

5. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ

Η αιμόσταση είναι μια δυναμική διαδικασία, η οποία εξελίσσεται ενδομήτρια. Έτσι, οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών πήξης σταδιακά αυξάνονται κατά τη διάρκεια της κύησης και είναι χαμηλότερες στα πρόωρα νεογνά σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά. (251) Στο νεογνό, οι συγκεντρώσεις πλάσματος των εξαρτώμενων από βιταμίνη Κ παραγόντων πήξης (II, VII, IX, X) και παραγόντων επαφής (XI, XII, προκαλλικρεΐνη-PK και υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο-HMWK) αποτελούν περίπου το 50% των τιμών ενηλίκων. (252) Τιμές αντίστοιχες των ενηλίκων επιτυγχάνονται μεταξύ μερικών μηνών και έως άνω των 16 ετών. Η ικανότητα των νεογνών να παράγουν θρομβίνη είναι επίσης μειωμένη. Ωστόσο, το αιμοστατικό σύστημα εξισορροπείται από την προστατευτική επίδραση των φυσιολογικών ελλείψεων των αναστολέων της πήξης, όπως και από τη μειωμένη ινωδολυτική ικανότητα. (253) (Πίνακας 10)

5.1 . Δοκιμασίες ελέγχου πήξης-ινωδόλυσης

Η TEG και η ROTEM είναι ιξωδοελαστικά POCT που προσφέρουν γρήγορη και σφαιρική αξιολόγηση της αιμόστασης σε μικρούς όγκους δειγμάτων ολικού αίματος, γεγονός που τις κάνει ελκυστικές στην αξιολόγηση της νεογνικής αιμόστασης. Προσφέρουν πληροφορίες για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, το σχηματισμό θρόμβου, τη συστατικότητα του θρόμβου και την ινωδόλυση. Οι πιο πρόσφατες μελέτες στα νεογνά δείχνουν πιο γρήγορη έναρξη και μετάδοση του θρόμβου στα νεογνά. (254, 255) Αυτή η προπνηκτική κατάσταση που απεικονίζει η TEG, παρά την παράταση των κλασικών τεστ πήξης (PT και aPTT), ενισχύει την υπόθεση ότι η νεογνική αιμόσταση δεν είναι ελαττωματική αλλά πολύ προσεκτικά ισορροπημένη. (Πίνακας 11)

Πίνακας 10. Διαφορές παραγόντων πήξης, φυσικών ανασταλτών και παραγόντων ινωδόλυσης ανάμεσα σε νεογνά και ενήλικες. (256)

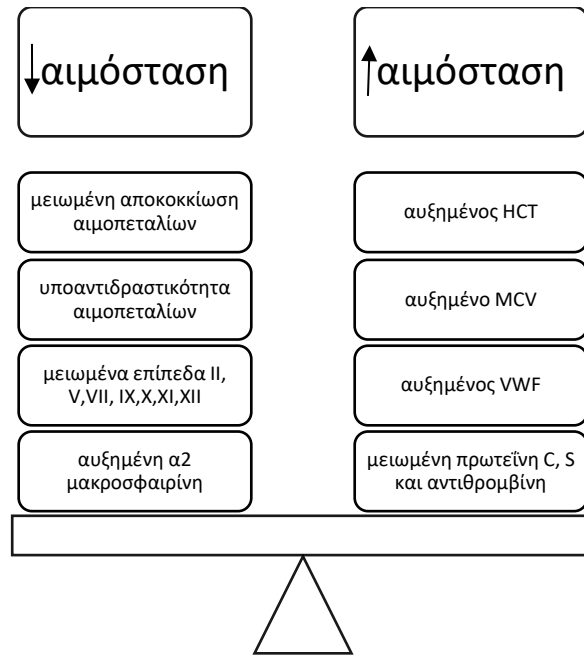
	ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΝΕΟΓΝΑ vs ΕΝΗΛΙΚΕΣ	ΗΛΙΚΙΑ ΟΜΑΛΟΠΟΙΗΣΗΣ
Πήξη	FII, FVII, FIX, FX	Μειωμένοι (40–66%)	1 έτους (έως 16 ετών για FVII)
	FXI, FXII, PK, HMWK	Μειωμένοι (37–54%)	1 έτους
	FV	Φυσιολογικός ή μειωμένος (70%)	1 έτους
	FVIII	Φυσιολογικός ή αυξημένος (100%)	1 μηνός
	Ινωδογόνο	Μειωμένο ή φυσιολογικό	1 έτους
	PT	Παρατεταμένος ή φυσιολογικός	1 έτους
	aPTT	Παρατεταμένος	1 έτους (έως 16 ετών)
Φυσικοί ανασταλτές πήξης	Αντιθρομβίνη	Μειωμένη (63%)	3 μηνών
	Πρωτεΐνη C	Μειωμένη (35%)	16 ετών
	Πρωτεΐνη S	Μειωμένη (36%)	3 μηνών
Ινωδόλυση	Πλασμινογόνο	Μειωμένο (36%)	6 μηνών
	α2 αντιπλασμίνη	Φυσιολογικό ή μειωμένο (85%)	6 μηνών
	tPA	Αυξημένος	1 εβδομάδας
	D-dimer	Αυξημένα	16 ετών

Πίνακας 11. Πήξη και ινωδόλυση στα νεογνά. (250)

Επίπεδα παραγόντων πήξης	<ul style="list-style-type: none"> • Τα νεογνά έχουν χαμηλότερα επίπεδα σχεδόν όλων των παραγόντων πήξης, ειδικά των εξαρτώμενων από βιταμίνη Κ • Τα επίπεδα των FVIII, FXIII, και του ινωδογόνου είναι φυσιολογικά • Τα επίπεδα του VWF είναι αυξημένα • Τα επίπεδα αυξάνονται σταδιακά κατά τη διάρκεια της νεογνικής, βρεφικής και παιδικής ηλικίας (Αναπτυξιακή Αιμόσταση)
Επίπεδα φυσικών ανασταλτών	<ul style="list-style-type: none"> • Τα νεογνά έχουν χαμηλότερα επίπεδα AT, πρωτεΐνης C και S • Τα επίπεδα της α2-μακροσφαιρίνης είναι μεγαλύτερα
Εργαστηριακή αξιολόγηση δευτερογενούς αιμόστασης	<ul style="list-style-type: none"> • Οι PT και PTT είναι πιο παρατεταμένοι στα νεογνά σε σχέση με τους ενήλικες (πρόωρα > τελειόμηνα) και μειώνονται τις πρώτες ημέρες ζωής • Ο χρόνος παραγωγής θρομβίνης είναι συντομότερος στα νεογνά σε σχέση με τους ενήλικες • Οι μέθοδοι ελέγχου αιμόστασης σε ολικό αίμα (TEG, ROTEM) δείχνουν πιο γρήγορη έναρξη και μετάδοση της πήξης στα νεογνά
Μετάγγιση FFP	<ul style="list-style-type: none"> • FFP πρέπει να χορηγείται σε νεογνά που αιμορραγούν λόγω έλλειψης παραγόντων πήξης • Προφυλακτική χορήγηση FFP σε πρόωρα νεογνά με παρατεταμένους PT ή PTT δε μειώνει τον κίνδυνο ή τη σοβαρότητα IVH.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Είναι σαφές ότι τόσο η υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων όσο και τα μειωμένα επίπεδα παραγόντων πήξης αντισταθμίζονται αποτελεσματικά από άλλους μηχανισμούς στο αιμοστατικό σύστημα των νεογνών όπως τα υψηλά επίπεδα VWF, ο υψηλός αιματοκρίτης και MCV, τα μειωμένα επίπεδα φυσικών ανασταλτών, με αποτέλεσμα ένα καλά ισορροπημένο νεογνικό αιμοστατικό σύστημα, ίσως ελαφρώς κεκλιμένο προς έναν προθρομβωτικό φαινότυπο. (Σχήμα 1) Όσο σημαντική και αν είναι η μετάγγιση αιμοπεταλίων και η χορήγηση FFP σε ενεργό μείζονα αιμορραγία, όταν βασίζεται μόνο σε εργαστηριακές εξετάσεις σε νεογνά χωρίς ενεργό αιμορραγία μπορεί να αποτύχει να μειώσει την πιθανότητα αιμορραγίας ή ακόμη και να οδηγήσει σε αυξημένη νεογνική νοσηρότητα και θνησιμότητα στην περίπτωση των αιμοπεταλίων.



Σχήμα 1. Σχηματική απεικόνιση αιμοστατικής ισορροπίας νεογνού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ V

ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΗ ΑΥΞΗΣΗ (ΕΥΑ) –INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION (IUGR)

1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η βέλτιστη αύξηση και ανάπτυξη κατά τις πρώτες 1.000 ημέρες της ζωής είναι κεντρικής σημασίας για την υγεία του νεογνού αλλά και την υγεία καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής. Με την ανάπτυξη να εξαρτάται από πολλούς άμεσους και έμμεσους παράγοντες όπως η μητρική διατροφή και το περιβάλλον του πλακούντα, είναι σημαντικό να δοθεί προτεραιότητα στην προγεννητική παρακολούθηση και τη μεταγεννητική φροντίδα. Όσον αφορά στη νοσηρότητα, ο περιορισμός της ανάπτυξης ενός εμβρύου μπορεί να εκδηλωθεί ως προωρότητα, ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση, μικρό για την ηλικία κύησης βάρος ή χαμηλό βάρος γέννησης. Η διάκριση μεταξύ αυτών των όρων συμπεριλαμβανομένου του χρόνου διάγνωσης είναι καθοριστική για την κατάλληλη νεογνική φροντίδα. Τα νεογνά μπορούν να ταξινομηθούν με βάση την ηλικία κύησης κατά τη γέννηση (πρόωρα, όψιμα πρόωρα, τελειόμηνα και παρατασιακά), το βάρος γέννησης (εξαιρετικά χαμηλό βάρος γέννησης [ELBW], πολύ χαμηλό βάρος γέννησης [VLBW], χαμηλό βάρος γέννησης [LBW]) και το βάρος γέννησης συνδυασμένο με την ηλικία κύησης (μικρό για την ηλικία κύησης [SGA], κατάλληλο για την ηλικία κύησης [AGA], μεγάλο για την ηλικία κύησης [LGA]). Το SGA αναφέρεται σε νεογνό με βάρος γέννησης κάτω από το 10ο εκατοστημόριο για την ηλικία κύησης σύμφωνα με τα διαγράμματα αύξησης του πληθυσμού. (257) (πίνακας 12)

Πίνακας 12. Ταξινόμηση νεογνών με βάση την ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης και τη σχέση τους.

Ηλικία κύησης	πρόωρα-preterm: < 33 ⁺⁶ wk όψιμα πρόωρα –late preterm: 34-36 ⁺⁶ wk τελειόμηνα –term: 37-41 ⁺⁶ wk παρατασιακά –postterm: >42wk
Βάρος γέννησης	χαμηλού βάρους γέννησης – LBW: <2500g πολύ χαμηλού βάρους γέννησης – VLBW: <1500g εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης – ELBW: <1000g
Βάρος γέννησης σε σχέση με ηλικία κύησης	μικρό για την ηλικία κύησης-SGA : <10 ^η ΕΘ κατάλληλο για την ηλικία κύησης –AGA: 10 ^η – 90 ^η ΕΘ μεγάλο για την ηλικία κύησης –LGA: >90 ^η ΕΘ

Ως ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση (EYA) ορίζεται ο ρυθμός εμβρυϊκής ανάπτυξης που είναι μικρότερος από τον κανονικό για το δυναμικό ανάπτυξης ενός συγκεκριμένου βρέφους ανάλογα με τη φυλή και το φύλο του εμβρύου. Οι όροι EYA και SGA συχνά χρησιμοποιούνται εναλλάξ στη βιβλιογραφία, αν και υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο. Το SGA διαγιγνώσκεται όταν το βάρος γέννησης είναι μικρότερο από τα πληθυσμιακά πρότυπα στα διαγράμματα ανάπτυξης (λιγότερο από το 10ο εκατοστημόριο για τη συγκεκριμένη ηλικία κύησης). Το SGA αναφέρεται στο βάρος γέννησης χωρίς να λαμβάνεται υπόψιν η ενδομήτρια ανάπτυξη. Τα SGA νεογνά είναι νεογνά που βρίσκονται στο κατώτερο όριο της κανονικής κατανομής ενός πληθυσμού για ιδιοσυστατικούς παράγοντες. Από την άλλη πλευρά, ένα νεογνό με EYA μπορεί να έχει ένα κατάλληλο βάρος γέννησης ανάλογα με την ηλικία κύησης, αλλά μπορεί να έχει υποστεί οποιαδήποτε ενδομήτρια επιβράδυνση της ανάπτυξης ως συνέπεια μιας περιγεννητικής προσβολής, επομένως, η EYA είναι κλινικός ορισμός και εφαρμόζεται σε νεογνά με κλινικές ενδείξεις υποσιτισμού. Είναι σημαντικό ότι το νεογνό με βάρος γέννησης μικρότερο από το 10^ο εκατοστημόριο μπορεί να είναι SGA, αλλά όχι νεογνό με EYA, και ένα νεογνό με βάρος γέννησης μεγαλύτερο από το 10^ο εκατοστημόριο μπορεί να έχει EYA. (258) Η EYA εξακολουθεί να αποτελεί πρόκληση για τους κλινικούς ιατρούς παρά την πρόοδο τόσο στη μαιευτική όσο και στη νεογνική φροντίδα.

2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η ΕΥΑ είναι ένα σημαντικό πρόβλημα για τη δημόσια υγεία, ειδικά σε χώρες που δε διαθέτουν επαρκείς πόρους. Η συχνότητα εμφάνισης SGA σε ανεπτυγμένες χώρες, όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες, είναι 10% και το ένα τρίτο αυτών των περιπτώσεων αντιπροσωπεύουν νεογνά με ΕΥΑ. Αυτή η συχνότητα είναι έξι φορές μεγαλύτερη στις αναπτυσσόμενες σε σύγκριση με τις ανεπτυγμένες χώρες. Νεογνά με ΕΥΑ αντιπροσωπεύουν το 24% των γεννήσεων ή περίπου 30 εκατομμύρια νεογέννητα ετησίως. Η συχνότητα εμφάνισης ΕΥΑ ποικίλλει μεταξύ χωρών, πληθυσμών, φυλών και αυξάνεται με τη μείωση της ηλικίας κύησης. Το μεγαλύτερο ποσοστό νεογνών με ΕΥΑ εντοπίζεται στην Ασία (75%), ακολουθούμενη από την Αφρική (20%) και τη Λατινική Αμερική (5%). (259)

3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Με βάση τις ανθρωπομετρικές μετρήσεις και τα αίτια διακρίνουμε κυρίως 2 τύπους ΕΥΑ, τον ασύμμετρο και το συμμετρικό. (πίνακας 13)

3.1. Ασύμμετρος τύπος

Αυτός ο τύπος αντιστοιχεί περίπου στο 70–80% των περιπτώσεων. Ονομάζεται ως «brain-sparing» και εμφανίζεται αργότερα κατά τη διάρκεια της κύησης, στα τέλη του δεύτερου και στο τρίτο τρίμηνο. Η πιο κοινή αιτία είναι η μητροπλακουντιακή ανεπάρκεια. Αυτά τα έμβρυα έχουν φυσιολογική ανάπτυξη μέχρι το τρίτο τρίμηνο, ακολουθούμενη από μη ικανοποιητική αύξηση βάρους στη συνέχεια. Οι παράμετροι του υπερήχου δείχνουν μειωμένο περίμετρο κοιλίας με φυσιολογική αμφιβρεγματική διάμετρο, περίμετρο κεφαλής και μήκος μηριαίου οστού. (260, 261)

3.2. Συμμετρικός τύπος

Αυτός ο τύπος αντιπροσωπεύει περίπου το 20–30% των συνολικών περιπτώσεων. Αυτό το μοτίβο ανάπτυξης ξεκινά νωρίς στην εγκυμοσύνη και το βρέφος έχει μειωμένο αριθμό κυττάρων. Η αιτιολογία είναι συνήθως κάποια γενετική διαταραχή ή συγγενής λοίμωξη στο έμβρυο. Ο προγεννητικός έλεγχος αυτών των εμβρύων παρουσιάζει αναλογική μείωση στην αμφιβρεγματική διάμετρο, την περίμετρο κεφαλής, την περίμετρο κοιλίας και το μήκος μηριαίου οστού. (261) Η πρόγνωση είναι φτωχότερη σε σύγκριση με τον ασύμμετρο τύπο όσον αφορά τη θνησιμότητα και τη νοσηρότητα. (262)

Πίνακας 13. Σύγκριση συμμετρικής και ασύμμετρης ΕΥΑ.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΣΥΜΜΕΤΡΙΚΗ ΕΥΑ	ΑΣΥΜΜΕΤΡΗ ΕΥΑ
Περίοδος ενδομήτριας προσβολής	αρχικά στάδια κύησης	τελευταίο τρίμηνο
Συχνότητα	20-30%	70-80%
Αιτιολογία	γενετικά αίτια συγγενείς λοιμώξεις	μητροπλακουντιακή ανεπάρκεια
Προγεννητικοί υπερηχογραφικοί δείκτες	HC, AC, BPD, FL όλα αναλογικά μειωμένα	μείωση AC >> μείωση σε HC, BPD, FL
Αριθμός κυττάρων	μειωμένος	Φυσιολογικός
Μέγεθος κυττάρων	φυσιολογικό	Μειωμένο
Ponderal Index	φυσιολογικό (>2)	χαμηλό (<2)
Μεταγεννητικές ανθρωπομετρικές παράμετροι	αναλογική μείωση σε βάρος, μήκος και HC	μείωση σε βάρος και μήκος, διατήρηση HC
Σημεία υποσιτισμού	λιγότερο έκδηλα	πιο έκδηλα
Πρόγνωση	φτωχή	Καλή

HC= head circumference- περίμετρος κεφαλής, AC= abdominal circumference- περίμετρος κοιλίας, BPD= biparietal diameter- αμφιβρεγματική διάμετρος, FL= femur length- μήκος μηριαίου οστού, Ponderal Index= [βάρος (σε g) x100 / μήκος (σε cm)³].

4. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η ΕΥΑ μπορεί να προκαλείται από μητρικούς, πλακουντιακούς, εμβρυικούς ή γενετικούς παράγοντες. Σχεδόν το ένα τρίτο των νεογνών με ΕΥΑ οφείλεται σε γενετικά αίτια και τα δύο τρίτα σχετίζονται με το εμβρυϊκό περιβάλλον.

4.1. Μητρικοί παράγοντες κινδύνου

Η φυλή και οι ακραίες ηλικίες της μητέρας (κάτω από 16 ετών και άνω των 35 ετών) έχουν βρεθεί ότι αποτελούν παράγοντες κινδύνου για ΕΥΑ. (263, 264) Η χαμηλή κοινωνικοοικονομική κατάσταση και η διαβίωση σε μια αναπτυσσόμενη χώρα αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου. Η χαμηλή κοινωνικοοικονομική κατάσταση σχετίζεται πιθανώς με τη διατροφή καθώς και τη κατάχρηση ουσιών, ενώ η ζωή σε αναπτυσσόμενη χώρα σχετίζεται με μητρική αναιμία ή υποσιτισμό. (265) Διάφορες μητρικές ασθένειες που έχουν επίδραση στην κυκλοφορία του αίματος, με αποτέλεσμα τη μείωση της μητροπλακουντιακής ροής αίματος, οδηγούν σε ΕΥΑ. Αυτές

περιλαμβάνουν την υπέρταση (κύησης και μη) που μπορεί να επιπλέκεται με προεκλαμψία, το διαβήτη που σχετίζεται με αγγειοπάθεια, τη χρόνια νεφρική νόσο, το συστηματικό ερυθματώδη λύκο, το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, τη δρεπανοκυτταρική αναιμία κ.α. Πολυμορφισμοί κληρονομικής θρομβοφιλίας (δηλαδή ανεπάρκεια αντιθρομβίνης III, ελλείψεις παράγοντα V Leiden, πρωτεΐνης C και S) δε φαίνεται να οδηγούν σε ΕΥΑ. (266)

Η χρήση τεχνολογιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) είναι ένας παράγοντας κινδύνου για ΕΥΑ τόσο ανεξάρτητα σε μονήρεις κυήσεις όσο και ως αποτέλεσμα πολύδυμης κύησης. (267)

Γυναίκες με ακραίες τιμές βάρους σώματος προ κύησης και αύξησης βάρους στη διάρκεια της κύησης είναι σε υψηλότερο κίνδυνο γέννησης νεογνού με ΕΥΑ. Ένα σύντομο αλλά και αντίθετα ένα μεγάλο μεσοδιάστημα μεταξύ κυήσεων φαίνεται να σχετίζεται με ΕΥΑ. Μια ομάδα ερευνητών έδειξε ότι βρέφη που συνελήφθησαν σε λιγότερο από έξι μήνες μετά από μια γέννηση ζώντος νεογνού είχαν υψηλότερες πιθανότητες για χαμηλό βάρος γέννησης, πρόωρο τοκετό και ΕΥΑ. Ομοίως, τα έμβρυα που συνελήφθησαν 120 μήνες ή περισσότερο μετά από γέννηση ζώντος νεογνού είχαν υψηλότερες πιθανότητες για αυτές τις τρεις ανεπιθύμητες εκβάσεις ακόμη και όταν ελέγχονταν για συγχυτικές μεταβλητές, όπως ακραίες αναπαραγωγικές ηλικίες, χρήση καπνού και κοινωνικοοικονομική κατάσταση.(268)

Η περιβαλλοντική έκθεση στο καπνό τσιγάρου μπορεί να σχετίζεται με χαμηλό βάρος γέννησης και το κάπνισμα μειώνει το βάρος γέννησης κατά περίπου 150–200 g. (269) Οι Kharrazi και συν. αξιολόγησαν τη σχέση μεταξύ της περιβαλλοντικής έκθεσης σε καπνό τσιγάρου και δυσμενών εκβάσεων κύησης και παρατήρησαν μια γραμμική δόσοεξαρτώμενη επίδραση των επιπέδων νικοτίνης στο μέσο βάρος και μήκος γέννησης. (270) Παρόμοια αποτελέσματα έδειξε η μελέτη που διεξήχθη από τους Hanke και συν., που έδειξε ότι οι συγκεντρώσεις νικοτίνης στον ορό στο 2^ο τρίμηνο επηρεάζουν δυσμενώς την εμβρυϊκή BPD. (271) Ο μηχανισμός της αρνητικής επίδρασης του καπνίσματος οφείλεται σε υψηλότερα επίπεδα μονοξειδίου του άνθρακα στο μητρικό αίμα, οδηγώντας σε δευτερογενή υποξαιμία του εμβρύου αλλά και στις αγγειοσυσπαστικές επιδράσεις της νικοτίνης. Το παθητικό κάπνισμα έχει επίσης αποδειχθεί ότι οδηγεί σε ΕΥΑ. Μελέτες που ελέγχουν τις επιπτώσεις του παθητικού καπνίσματος στην έκβαση της κύησης ανακάλυψαν ότι γυναίκες που είχαν

έκθεση είχαν σημαντικά υψηλότερη επίπτωση πρόωρου τοκετού και SGA νεογνών σε σύγκριση με μη εκτεθειμένες μητέρες. (272)

Η μεγάλη κατανάλωση αλκοόλ από τη μητέρα συνδέεται με το εμβρυϊκό αλκοολικό σύνδρομο, όμως η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να σχετίζεται με EYA.(273) Τοξικές εκθέσεις της μητέρας, συμπεριλαμβανομένων διαφόρων φαρμάκων, όπως η βαρφαρίνη, τα στεροειδή, τα αντινεοπλασματικά, οι αντιμεταβολίτες και οι ανταγωνιστές φυλλικού οξέος έχουν ως αποτέλεσμα EYA. (274) Η μητρική κατανάλωση παράνομων ναρκωτικών ουσιών όπως η μαριχουάνα, η κοκαΐνη, οι αμφεταμίνες κατά τη διάρκεια της κύησης σχετίζεται με διαταραχή της εμβρυϊκής ανάπτυξης.(275)

Οι γυναίκες που ζουν σε μεγάλα υψόμετρα έχουν επηρεασμένη ροή αίματος στον πλακούντα λόγω μειωμένου όγκου αίματος και μειωμένη ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου που οδηγεί σε EYA. (276) Με παρόμοιο μηχανισμό επιδρούν οι κυανωτικές καρδιοπάθειες και οι αιμοσφαιρινοπάθειες. (277) Μητρική μόλυνση και παρασιτικές προσβολές, όπως π.χ TORCH, ελονοσία, φυματίωση, ουρολοιμώξεις και βακτηριακή κολπίτιδα έχουν σχετιστεί με EYA. (278)

4.2. Πλακουντιακοί παράγοντες κινδύνου

Σε μια εργασία όπου μελετήθηκε το βάρος του πλακούντα και το βάρος γέννησης 1600 νεογνών με EYA και 15000 AGA νεογνών, αναφέρεται ότι ο πλακούντας των νεογνών με EYA ήταν κατά 24% μικρότερος σε μέγεθος από αυτό των AGA νεογνών. Το βάρος του πλακούντα ήταν επίσης χαμηλότερο σε SGA νεογνά σε σχέση με AGA νεογνά με το ίδιο βάρος γέννησης. (279) Οι ερευνητές υπέθεσαν ότι η EYA σχετίζεται με χαμηλή λειτουργική μάζα πλακουντιακού ιστού, η οποία οδηγεί σε μείωση της περιοχής για ανταλλαγή ουσιών μεταξύ μητέρας και εμβρύου, που οδηγεί στη μείωση της ικανότητας μεταφοράς οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών από τη μητέρα στο έμβρυο. Η επαρκής διείσδυση της τροφοβλάστης και η αύξηση της μητροπλακουντιακής ροής αίματος είναι απαραίτητες για την κάλυψη της ζήτησης του αναπτυσσόμενου εμβρύου. Τεχνικές Doppler στα αγγεία του ομφαλίου και στις μητριαίες αρτηρίες έχουν δείξει αυξημένη αγγειακή αντίσταση σε αυτά τα αγγεία σε EYA και αυτό συμβαίνει δευτερογενώς σε ανεπαρκή διείσδυση της τροφοβλάστης στις σπειροειδείς αρτηρίες.(280)

Μονήρης ομφαλική αρτηρία, αληθής κόμπος, αποκόλληση πλακούντα, έμφρακτο πλακούντα ανιχνεύονται πιο συχνά στην ομάδα νεογνών με EYA, πάλι μέσω μειωμένης μεταφοράς θρεπτικών συστατικών στο έμβρυο.

Ο μεμονωμένος πλακουντιακός μωσαϊκισμός αναφέρεται σε χρωμοσωμικό μωσαϊκισμό (που συνήθως περιλαμβάνει τρισωμία) που εντοπίζεται στον πλακούντα, αλλά όχι στο έμβρυο. Εμφανίζεται περισσότερο συχνά στους πλακούντες που σχετίζονται με EYA παρά σε έμβρυα με φυσιολογικό βάρος. Σε μια μελέτη όπου ανέλυσαν 70 νεογνά με EYA και 70 AGA νεογνά ανέφεραν ότι ο πλακουντιακός μωσαϊκισμός εμφανίστηκε σημαντικά περισσότερο σε πλακούντα νεογνών με EYA και ότι αυτοί οι πλακούντες ιστολογικά εμφάνισαν μεγαλύτερα ποσοστά αγγειοπάθειας και εμφράκτων. (281) Σε άλλη μελέτη, οι Stipoljen και συν. ανέφεραν ότι ο μωσαϊκισμός ήταν δύο φορές πιο συχνός στους πλακούντες των βρεφών με καθυστέρηση στην ανάπτυξη σε σύγκριση με εκείνους σε νεογνά με κατάλληλη ανάπτυξη. (282)

Η χρόνια λαχνίτιδα αγνώστου αιτιολογίας χαρακτηρίζεται παθολογικά από εστιακές περιοχές φλεγμονής με μονοπύρνα κύτταρα και περιοχές νέκρωσης σε χοριακές λάχνες, και αποτελεί διάγνωση αποκλεισμού. Ανιχνεύεται σε 7- 33% των πλακούντων με EYA, ανεξήγητη προωρότητα, προεκλαμψία, περιγεννητική ασφυξία και ενδομήτριο εμβρυϊκό θάνατο. (283)

Οι Szentpeteri I και συν. διεξήγαγαν μια μελέτη για την περιγραφή μοτίβων πλακουντιακής γονιδιακής έκφρασης ενδογλίνης σε κυήσεις με EYA σε σύγκριση με φυσιολογικές κυήσεις. Παρατήρησαν ότι το γονίδιο ενδογλίνης του πλακούντα ήταν σημαντικά υπερεκφρασμένο στην ομάδα με EYA με σημαντικά υψηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης ενδογλίνης στον πλακούντα. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυτό οδηγεί σε αγγειακή δυσλειτουργία που οδηγεί σε χρόνια εμβρυϊκή υποξία, η οποία δευτερευόντως επάγει τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF) για τη διέγερση της αγγειογένεσης, η οποία μπορεί να εξηγηθεί ως απόκριση για την αποκατάσταση της εμβryo- πλακουντιακής κυκλοφορίας. (284)

4.3. Εμβρυϊκοί παράγοντες κινδύνου

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες του εμβρύου αντιπροσωπεύουν το 10-20% του συνόλου νεογνών με EYA. Οι πιο κοινές χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι οι τρισωμίες 13 (σύνδρομο Patau), 18 (σύνδρομο Edwards) και 21 (σύνδρομο Down). (285) Άλλες χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι αυτοσωματικές ελλείψεις, δακτυλιοειδή χρωμοσώματα και μονογονεϊκή δισωμία. (286) Γενετικά σύνδρομα, τα οποία είναι γνωστό ότι

προκαλούν ΕΥΑ περιλαμβάνουν: σύνδρομο Bloom, σύνδρομο Russell-Silver, σύνδρομο Cornelia de Lange, σύνδρομο Rubenstein-Taybi, σύνδρομο Dubowitz, σύνδρομο Seckel, σύνδρομο Johanson–Blizzard, σύνδρομο Fanconi, σύνδρομο Roberts. (266)

Οι συγγενείς λοιμώξεις αποτελούν περίπου το 5% του συνόλου των περιπτώσεων ΕΥΑ. Οι κοινές λοιμώξεις στις ανεπτυγμένες χώρες περιλαμβάνουν την τοξοπλάσμωση και τον κυτταρομεγαλοϊό, με μείωση της ερυθράς λόγω του εμβολιασμού. (287) Στις αναπτυσσόμενες χώρες τα κοινά αίτια είναι η ελονοσία, η συγγενής HIV λοίμωξη, η σύφιλη και η ερυθρά. Η ελονοσία είναι η κυρίαρχη μολυσματική αιτία στον αναπτυσσόμενο κόσμο, δηλαδή την Αφρική και τη Νοτιοανατολική Ασία και αντιπροσωπεύει το 40% των περιπτώσεων σε μέρη όπου είναι ενδημική. (288) Το πλασμάδιο της ελονοσίας ενεργοποιεί το ανοσοποιητικό σύστημα και φλεγμονώδεις διεργασίες μέσω των αιμοπεταλίων, που οδηγούν σε απόφραξη και μείωση της αγγειακής παροχής στο έμβρυο. (289)

Μεταβολικές διαταραχές, οι οποίες έχουν αναφερθεί ότι προκαλούν ΕΥΑ περιλαμβάνουν την αγενεσία παγκρέατος, τη συγγενή απουσία νησίδων Langerhans, τη συγγενή λιποδυστροφία, τη γαλακτοζαιμία, τη φαινυλκετονουρία και τον παροδικό νεογνικό σακχαρώδη διαβήτη. (278)

Οι πολύδυμες κυήσεις αναφέρεται ότι σχετίζονται με περίπου 3% των περιπτώσεων ΕΥΑ. Αυτό παρατηρείται πιο συχνά σε μονοχοριακά δίδυμα ή υψηλότερης τάξης κύηση. Μια ασυμφωνία ανάπτυξης 15% ή μεγαλύτερη εμφανίζεται σε περίπου 30% των διδύμων κυήσεων. Αυτό έχει αποδοθεί κυρίως σε χωροταξικούς λόγους της μήτρας. (290)

4.4. Γενετικοί παράγοντες κινδύνου

Πολυμορφισμοί στα γονίδια της μητέρας, του πλακούντα και του εμβρύου έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν την ανάπτυξη του εμβρύου. (278) (πίνακας 14)

Πίνακας 14. Γονίδια που σχετίζονται με ΕΥΑ.

Πλακουντιακά	γονίδια Homeobox, SERPINA3, Cullin, PIGF, Bcl-2, IGF1, IGF2, IGFBP-3, EGF
Μητρικά	ενδοθηλίνη -1, λεπτίνη, βισφατίνη
Εμβρυικά	πρωτεΐνη S100B, IGF-1, IGF-1R, SHOX

PIGF= αυξητικός παράγοντας πλακούντα, IGF= ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας, IGFBP= πρωτεΐνης δέσμευσης του IGF, EGF= επιδερμικός αυξητικός παράγοντας

5. ΠΡΟΛΗΨΗ

Η υψηλή συχνότητα ΕΥΑ στις αναπτυσσόμενες χώρες σε σύγκριση με τις ανεπτυγμένες οφείλεται συνήθως σε κοινωνικοοικονομικούς λόγους όπως η διάκριση λόγω φύλου και δε φαίνεται να μειώνεται με παρεμβάσεις που απευθύνονται αποκλειστικά σε έγκυες γυναίκες αλλά στο κοινωνικό σύνολο. Η φροντίδα πριν από τη σύλληψη, όπως ορίζεται από τον ΠΟΥ, είναι η «παροχή προληπτικών, προαγωγικών ή θεραπευτικών υγειονομικών και κοινωνικών παρεμβάσεων πριν από τη σύλληψη». Παρέμβαση όπως φροντίδα και εμπλουτισμός της γυναικείας διατροφής, καθυστέρηση της ηλικίας στην πρώτη εγκυμοσύνη, πρόληψη της έμφυλης βίας, θεραπεία χρόνιων ασθενειών θα βοηθήσει θετικά στη μείωση της επίπτωσης της ΕΥΑ στις αναπτυσσόμενες χώρες. (291)

Συμπληρώματα διατροφής: Όσον αφορά στα προγεννητικά συμπληρώματα, ο ΠΟΥ συνιστά σίδηρο και φυλλικό οξύ ως συμπληρώματα ρουτίνας στην εγκυμοσύνη. Σύμφωνα με ανασκόπηση της Cochrane Database, οι γυναίκες που έλαβαν UNIMMAP, ένα πολλαπλό μικροθρεπτικό συμπλήρωμα, σε σύγκριση με ένα συμπλήρωμα σιδήρου με ή χωρίς φυλλικό οξύ, είχαν μειωμένο κίνδυνο γέννησης βρεφών SGA, LBW ή θνησιγένειας.(292)

Αντιαιμοπεταλιακή αγωγή για προεκλαμψία: Σε μετα-ανάλυση της Cochrane Database που περιελάμβανε 59 δοκιμές και 37.560 γυναίκες αναφέρεται ότι υπήρχε 10% μείωση σε γεννήσεις με ΕΥΑ. (293) Σύμφωνα με πρόσφατες οδηγίες της ACOG το 2018 για τη χρήση ασπιρίνης στην κύηση, προτείνεται η χρήση χαμηλής δόσης ασπιρίνης (81mg/ημέρα) για τις έγκυες υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη προεκλαμψίας, μεταξύ 12^{ης} και 28^{ης} εβδομάδας (ιδανικά πριν την 16^η) και μέχρι τον τοκετό.(294)

Διακοπή καπνίσματος: Παρεμβάσεις διακοπής καπνίσματος μειώνουν το ποσοστό LBW νεογνών, πρόωρων τοκετών και νεογνών με ΕΥΑ. (295)

Άλλες παρεμβάσεις, που έχουν δοκιμαστεί σε εγκυμονούσες με ΕΥΑ είναι (278):

- (α) Ανάπαυση στο κρεβάτι για τη μητέρα
- (β) Παρεντερική διατροφή στη μητέρα
- (γ) Συμπληρώματα ασβεστίου για την υπέρταση
- (δ) Αντιυπερτασική αγωγή για ήπια έως μέτρια υπέρταση
- (ζ) Οξυγονοθεραπεία
- (η) Προφυλακτική αντιβιοτική θεραπεία στη μητέρα

6. ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Ο στόχος της προγεννητικής παρακολούθησης είναι η έγκαιρη ανίχνευση της ΕΥΑ και η παρακολούθηση που θα οδηγήσει σε έγκαιρη αλλαγή του χρόνου και τρόπου μαιεύσης. Υπάρχει ακόμα διαμάχη σχετικά με τον τύπο και το χρόνο της προγεννητικής παρακολούθησης.

Τα τυπικά διαγνωστικά εργαλεία περιλαμβάνουν λεπτομερές μητρικό και οικογενειακό ιστορικό για παράγοντες κινδύνου, σωματική εξέταση της μητέρας συμπεριλαμβανομένου του βάρους της μητέρας πριν την εγκυμοσύνη και το ύψος, τη διατροφική κατάσταση, την καρδιοτοκογραφία και το υπερηχογράφημα με Doppler. Το αρχικό και σημαντικό βήμα για τη διάγνωση της ΕΥΑ περιλαμβάνει την ακριβή χρονολόγηση της κύησης και μετρήσεις του βάρους του εμβρύου, γιατί και τα δύο χρειάζονται για την παρακολούθηση της ανάπτυξης του. Η ηλικία κύησης πρέπει να υπολογίζεται με βάση την τελευταία έμμηνο ρύση και το κεφαλοουραίο μήκος (crown-rump length, CRL) στο πρώτο τρίμηνο.

Μόλις εντοπιστούν μητρικοί παράγοντες κινδύνου για ΕΥΑ, η μητέρα πρέπει να αξιολογείται με καρυότυπο για ανευπλοειδία, για μητρική λοίμωξη από τοξόπλασμα και CMV, σύφιλη και ελονοσία σε περιοχές με υψηλή ενδημικότητα. Επειδή τα έμβρυα με περιορισμένη ανάπτυξη έχουν υψηλή συχνότητα δομικών και γενετικών

ανωμαλιών, συνιστάται επίσης η λεπτομερής υπερηχογραφική εξέταση της ανατομίας του εμβρύου από ειδικό αν δεν έχει εκτελεστεί ήδη.

Το υπερηχογράφημα παραμένει η καλύτερη μέθοδος για την αξιολόγηση του εμβρύου με περιορισμένη ανάπτυξη, καθώς επιτρέπει σχετικά ακριβείς μετρήσεις του εμβρυϊκού βάρους και του τύπου της EYA. Το εμβρυϊκό βάρος θα πρέπει να εκτιμηθεί χρησιμοποιώντας βιομετρικές μετρήσεις (AC, HC, BPD και FL) στο δεύτερο τρίμηνο. (296) Προτείνεται η χρήση προσαρμοσμένων διαγραμμάτων αύξησης βάρους εμβρύου για τη διάγνωση της EYA. (297) Η παρακολούθηση της ανάπτυξης περιλαμβάνει σειριακές υπερηχογραφικές μετρήσεις της εμβρυϊκής βιομετρίας. Τα έμβρυα με EYA μπορούν να αξιολογηθούν επαρκώς με σειριακά υπερηχογραφήματα κάθε 3-4 εβδομάδες.

Το βιοφυσικό προφίλ, που αντικατοπτρίζει την οξεοβασική κατάσταση του εμβρύου, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση του κινδύνου και για την παρακολούθηση των εμβρύων με EYA. Στα έμβρυα αυτά, οι αλλαγές του βιοφυσικού προφίλ ακολουθούν ένα προκαθορισμένο μοτίβο, το οποίο περιλαμβάνει την μείωση της αντιδραστικότητας πρώτα, ακολουθούμενη από την εμβρυϊκή αναπνοή, την εμβρυϊκή κίνηση και τελευταία τη μείωση στο αμνιακό υγρό. (298) Ολιγοϋδράμνιο καλείται ο όγκος αμνιακού υγρού κάτω από 200-500ml. Με υπερηχογραφικά δεδομένα ορίζεται ως βαθύτερος κάθετος θύλακος κάτω από 2 cm, δείκτης αμνιακού υγρού κάτω από 5 cm ή κάτω από την 5^η εκατοστιαία θέση για την ηλικία κύησης. Η ανακατανομή της ροής του αίματος σε βάρος των νεφρών και των πνευμόνων δικαιολογεί τη μειωμένη παραγωγή ούρων από το έμβρυο και άρα το μειωμένο αμνιακό υγρό. (299)

Οι ταχύτητες Doppler είναι χρήσιμες ως κλινικό εργαλείο ειδικά σε περίπτωση ανεπάρκειας του πλακούντα. Οι μητριάιες αρτηρίες δίνουν πληροφορίες σχετικά με τη μητρική κυκλοφορία, ενώ η ομφαλική αρτηρία, η μέση εγκεφαλική αρτηρία και ο φλεβώδης πόρος για την εμβρυϊκή κυκλοφορία. Το υπερηχογράφημα Doppler της μητριάιας αρτηρίας έχει περιορισμένη ευαισθησία και ειδικότητα για την πρόβλεψη δυσμενούς έκβασης σε έμβρυα με EYA που διαγνώστηκαν κατά τη διάρκεια του τρίτου τριμήνου. Οι ανωμαλίες Doppler που παρατηρούνται στην EYA είναι η αύξηση της αντίστασης στα αγγεία ή η απουσία και αντίστροφη διαστολική ροή (AREDF).(300) Αξιολόγηση με υπερηχογράφημα Doppler μπορεί να παρέχει μια εικόνα για την αιτιολογία της EYA, καθώς αυξημένη αντίσταση στην ομφαλική αρτηρία υποδηλώνει ότι η εγκυμοσύνη περιπλέκεται από υποκείμενη ανεπάρκεια πλακούντα. Επίσης,

απούσα ή αντίστροφη τελοδιαστολική ροή στην ομφαλική αρτηρία σχετίζεται με αυξημένη συχνότητα περιγεννητικής θνησιμότητας (301) και μπορεί να επηρεάσει τις αποφάσεις σχετικά με το χρόνο τοκετού στο πλαίσιο περιορισμού της εμβρυϊκής ανάπτυξης. (302) Οι δείκτες της κυματομορφής Doppler που μελετώνται στα ανωτέρω αγγεία είναι κυρίως:

- S= μέγιστη ταχύτητα συστολής
- D= ελάχιστη ταχύτητα διαστολής
- S/D= πηλίκο συστολικού/διαστολικού κύματος
- A= μέση ταχύτητα
- PI (δείκτης παλμικότητας)= S-D/A
- SI (δείκτης αντίστασης)= S-D/S.

7. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΕΜΒΡΥΟΥ ΜΕ ΕΥΑ-ΤΡΟΠΟΣ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΣ ΜΑΙΕΥΣΗΣ

Ο βέλτιστος χρόνος μαιεύσης ενός εμβρύου με ΕΥΑ εξαρτάται από την υποκείμενη αιτιολογία, την εκτιμώμενη ηλικία κύησης και άλλα κλινικά ευρήματα όπως η προγεννητική παρακολούθηση του εμβρύου. Για παράδειγμα, η αλλαγή του χρόνου τοκετού για τα έμβρυα με ανευπλοειδία ή συγγενή λοίμωξη μπορεί να μην βελτιώνει σημαντικά το αποτέλεσμα. Ο περιορισμός εμβρυϊκής ανάπτυξης από μόνος του δεν αποτελεί ένδειξη για καισαρική τομή και ο τρόπος μαιεύσης θα πρέπει να βασίζεται σε άλλες κλινικές περιστάσεις. Το doppler ομφαλικής αρτηρίας θα πρέπει να είναι το κύριο εργαλείο παρακολούθησης στο έμβρυο με ΕΥΑ καθώς έχει δείξει ότι μειώνει την περιγεννητική νοσηρότητα και θνησιμότητα. Σε μια δοκιμή, γυναίκες με έμβρυα με περιορισμό ανάπτυξης των οποίων οι μαιευτήρες ήταν αβέβαιοι εάν η μαιεύση θα ήταν επωφελής, τυχαιοποιήθηκαν είτε στην ομάδα πρώιμης παρέμβασης (μαιεύση εντός 48 ωρών) ή στην μελλοντική διαχείριση (με προγεννητική επιτήρηση μέχρι να γίνει αισθητό ότι η μαιεύση δε θα πρέπει να καθυστερήσει άλλο). Τα ποσοστά χορήγησης βηταμεθαζόνης ήταν ίδια και στις δύο ομάδες. Η περιγεννητική επιβίωση ήταν παρόμοια και στο 6^ο και 12^ο έτος παρακολούθησης δεν υπήρχαν διαφορές στις γνωστικές, συμπεριφορικές ή κινητικές ικανότητες των παιδιών που γεννήθηκαν από γυναίκες στην ομάδα πρόωρου τοκετού έναντι αυτών στην ομάδα διαχείρισης κινδύνου. (303) Με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα το Αμερικανικό Κολλέγιο Μαιευτήρων Γυναικολόγων (ACOG) στις οδηγίες του το 2019 προτείνει: 1) τοκετό στις 38 0/7–39 6/7 εβδομάδες κύησης σε περιπτώσεις μεμονωμένου περιορισμού

ανάπτυξης του εμβρύου και 2) τοκετό στις 32 0/7 έως 37 6/7 εβδομάδες κύησης σε περιπτώσεις εμβρύου με ΕΥΑ με πρόσθετους παράγοντες κινδύνου για ανεπιθύμητη έκβαση (π.χ. ολιγοϋδράμνιο, μη φυσιολογικό Doppler ομφαλικής αρτηρίας, μητρικοί παράγοντες κινδύνου ή συννοσηρότητες). (304) Όταν αναμένεται τοκετός για έμβρυο με ΕΥΑ πριν από τις 34 εβδομάδες κύησης, ο τοκετός πρέπει να προγραμματιστεί σε εξειδικευμένο κέντρο με μονάδα εντατικής θεραπείας νεογνών. Τα προγεννητικά κορτικοστεροειδή συνιστώνται εάν ο τοκετός αναμένεται πριν από τις 33 6/7 εβδομάδες κύησης γιατί σχετίζονται με βελτιωμένα πρόωρα νεογνικά αποτελέσματα. Επιπλέον, προγεννητικά κορτικοστεροειδή συνιστώνται σε γυναίκες στις οποίες ο τοκετός αναμένεται μεταξύ 34 0/7 και 36 6/7 εβδομάδων κύησης, οι οποίες διατρέχουν κίνδυνο πρόωρου τοκετού εντός 7 ημερών, και που δεν έχουν λάβει προηγούμενο σχήμα προγεννητικών κορτικοστεροειδών. (305) Για περιπτώσεις στις οποίες ο τοκετός γίνεται πριν από τις 32 εβδομάδες κύησης, θειικό μαγνήσιο θα πρέπει να δίνεται για την εμβρυϊκή και νεογνική νευροπροστασία. (306)

8. ΜΕΤΑΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΕΥΑ-ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η μεταγεννητική διάγνωση σε νεογνό με ΕΥΑ περιλαμβάνει πολλά στοιχεία όπως την κλινική εξέταση, την ανθρωπομετρία και διάφορους υπολογιζόμενους δείκτες.

8.1. Ανθρωπομετρία

Υπάρχουν διαφωνίες σχετικά με τα διαγράμματα ανάπτυξης που χρησιμοποιούνται καθώς αυτές οι καμπύλες ανάπτυξης μπορεί να μην αποτελούν αληθινή αναπαράσταση του συνολικού πληθυσμού λόγω μικρού μεγέθους δείγματος και ετερογένειας του πληθυσμού. Έχει αποδειχθεί ότι προσαρμοσμένα διαγράμματα ανάπτυξης που λαμβάνουν υπόψιν τα μητρικά χαρακτηριστικά όπως ύψος, βάρος ή δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), εθνικότητα και το νεογνικό φύλο είναι πιο ακριβή στη διάγνωση νεογνού με ΕΥΑ. (307) Στο συμμετρικό τύπο, το βάρος, η HC και το μήκος θα είναι μικρότερα από τη 10^η εκατοστιαία θέση ενώ στον ασύμμετρο τύπο μόνο το βάρος θα είναι μικρότερο από τη 10^η εκατοστιαία θέση και τα υπόλοιπα θα είναι ανάλογα με την ηλικία κύησης.

8.2. Κλινική εξέταση

Τα νεογνά με ΕΥΑ έχουν ποικίλα τυπικά χαρακτηριστικά υποσιτισμού. Αυτά περιλαμβάνουν:

- Βάρος μικρότερο από το αναμενόμενο για την ηλικία κύησης
- Σχετικά μεγάλη κεφαλή σε σύγκριση με το υπόλοιπο σώμα
- Μεγάλη πρόσθια πηγή λόγω μειωμένου σχηματισμού μεμβρανώδους οστού
- Απώλεια περιστοματικού λίπους, το πρόσωπο έχει τυπική συρρίκνωση ή εικόνα ηλικιωμένου (old man look)
- Μικρή ή σκαφοειδής κοιλιά, λεπτός ομφάλιος συχνά κεχρωσμένος με μηκύνιο
- Μειωμένη μάζα σκελετικών μυών και υποδόριο λίπος, με λεπτά χέρια και πόδια
- Το δέρμα είναι χαλαρό, ξηρό και απολεπίζεται εύκολα
- Μακριά νύχια στα δάχτυλα
- Σχετικά μεγάλα χέρια και πόδια σε σύγκριση με το σώμα με αυξημένες δερματικές πτυχές
- Χαλαρές πτυχές δέρματος στον αυχένα, στη μασχάλη, στις ωμοπλάτες και στη βουβωνική χώρα
- Ευερεθιστότητα
- Μειωμένος σχηματισμός του μαστού και ανώριμα έξω γεννητικά όργανα θήλεος λόγω απώλειας υποδόριου λίπους.

Σε περίπτωση συμμετρικού τύπου εξετάζουμε το νεογνό για τυχόν συσχετιζόμενα δυσμορφικά χαρακτηριστικά, συγγενείς ανωμαλίες και χαρακτηριστικά συγγενούς λοίμωξης ειδικά της ομάδας TORCH (μικροκεφαλία, πετέχειες, εξάνθημα δίκην blueberry μάφιν, καρδιαγγειακή ανωμαλία, ηπατοσπληνομεγαλία, χοριοαμφιβληστροειδίτιδα και καταρράκτη).

8.3. Ponderal Index

Το Ponderal Index χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του βαθμού υποσιτισμού του εμβρύου. Υπολογίζεται ως αναλογία σωματικού βάρους σε γραμμάρια προς το μήκος σε εκατοστά εκφρασμένο ως [βάρους (σε g) x100 / μήκος (σε cm)³]. Ponderal Index μικρότερο από το 10^ο εκατοστημόριο αντανακλά τον υποσιτισμό του εμβρύου, ενώ μικρότερο από 3^ο εκατοστημόριο υποδηλώνει σοβαρό ενδομήτριο υποσιτισμό. (258)

8.4. Περιφέρεια μέσου βραχίονα και αναλογίες MAC/HC (Δείκτης Kanawati και McLaren's)

Η περιφέρεια στο μέσο του βραχίονα του νεογέννητου συνδέεται με το βάρος γέννησης και είναι πολύ καλός δείκτης χαμηλού και ανεπαρκούς βάρους γέννησης. (308) Η κανονική τιμή των αναλογιών MAC/HC είναι 0,32–0,33 και σε τελειόμηνα νεογνά με ΕΥΑ, τιμή μικρότερη από 0,27 θεωρείται χαρακτηριστική του εμβρυϊκού υποσιτισμού. (309)

8.5. Cephalization index

Αυτός ο δείκτης προτάθηκε για πρώτη φορά από τους Harel και συν. με τον όρο cephalization index (CI). Αυτό υπολογίζεται ως αναλογία HC προς το σωματικό βάρος. Οι ερευνητές υπέθεσαν ότι όσο υψηλότερη η αναλογία κεφαλής/βάρος σώματος, τόσο πιο σοβαρή η ΕΥΑ και ο υψηλότερος δείκτης αντικατοπτρίζει μεγαλύτερο βαθμό ευαλωτότητας του εγκεφάλου και αυξημένη πιθανότητα εγκεφαλικής παράλυσης και σοβαρής ψυχοκινητικής καθυστέρησης. Η μέση αναλογία HC: σωματικού βάρους για το πρόωρο νεογνό με ΕΥΑ είναι $0,0209 \pm 0,001$ και για το τελειόμηνο νεογνό με ΕΥΑ είναι $0,0170 + 0,00059$. (310)

8.6. Λόγος περιμέτρου κεφαλής προς περίμετρο κοιλίας (HC/AC)

Ο λόγος αυτός προτάθηκε το 1977 από τους Campbell και Thoms προκειμένου να διαφοροποιήσουν τα έμβρυα ως «συμμετρικά» ή «ασύμμετρα». Φυσιολογικά ο λόγος αυτός μειώνεται όσο η κύηση προχωρά. Τα ασύμμετρα νεογνά έχουν λόγο μεγαλύτερο από την 95^η ΕΘ στα αντίστοιχα νορμογράμματα. Σε μελέτη των Dashe και συν. φαίνεται ο λόγος αυτός να σχετίζεται με πτωχό περιγεννητικό αποτέλεσμα. (262)

8.7. Κλινική αξιολόγηση της βαθμολογίας διατροφής (Βαθμολογία CAN)

Η βαθμολογία κλινικής αξιολόγησης της διατροφής (CAN) είναι μια απλή, συστηματική μέθοδος εντοπισμού εμβρυϊκού υποσιτισμού. Η βαθμολογία αποτελείται από ορατά σημάδια του υποσιτισμού του εμβρύου, και εκτιμά την απώλεια υποδόριου ιστού και μυϊκής μάζας σε 8 περιοχές του σώματος, συμπεριλαμβανομένων των παρειών, του λαιμού, του πώγωνα, των χεριών, των ποδιών, των γλουτών, του στήθους και της κοιλιάς. Η υφή των μαλλιών του βρέφους αποτελεί την ένατη παράμετρο, που είναι γενικά πιο λεπτό, πιο λείο και ίσιο με περιοχές αποχρωματισμού. Η βαθμολογία CAN θεωρείται πολύ καλός δείκτης για τον προσδιορισμό της διατροφικής κατάστασης του νεογνού. (311)

9. ΒΡΑΧΥΠΡΟΘΕΣΜΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

Τα περιγεννητικά προβλήματα νεογνών με ΕΥΑ περιλαμβάνουν περιγεννητική ασφυξία, εισρόφηση μηκωνίου και παραμένουσα πνευμονική υπέρταση. Επιπλέον, τα νεογνά με ΕΥΑ έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο για άμεσες μεταγεννητικές επιπλοκές, όπως υποθερμία, υπογλυκαιμία, πολυκυτταραιμία, ίκτερο, δυσκολίες σίτισης, ΝΕΚ και όψιμης έναρξης σήψη. (312)

Η περιγεννητική θνησιμότητα είναι υψηλή στα νεογνά με ΕΥΑ σε σύγκριση με τα AGA νεογνά. Αυτό οφείλεται σε ανεπιθύμητη επίδραση παρατεταμένης ενδομήτριας υποξίας, ασφυξίας κατά τη γέννηση, απρόβλεπτων συμβάντων όπως αποκόλληση πλακούντα, πρόπτωση ομφάλιου λώρου ή συναφείς συγγενείς ανωμαλίες. (313, 314) Σε μια ανασκόπηση από 20 κοόρτες στον αναπτυσσόμενο πληθυσμό, φάνηκε ότι σε σύγκριση με τα τελειόμηνα AGA νεογνά, ο σχετικός κίνδυνος RR για νεογνική θνησιμότητα ήταν 1,83 και για μετανεογνική θνησιμότητα ήταν 1,90 για νεογνά με ΕΥΑ. Έμβρυα με ΕΥΑ με απύουσα ή αντίστροφη τελοδιαστολική ροή της ομφαλικής αρτηρίας έχουν αυξημένη συχνότητα νεογνικής θνησιμότητας και νοσηρότητας. (315)

Η περιγεννητική ασφυξία είναι αποτέλεσμα οξείας εμβρυϊκής υποξίας υπερτιθέμενη στη χρόνια εμβρυϊκή υποξία και οξέωση. (316) Η πρόληψη της περιγεννητικής ασφυξίας περιλαμβάνει τακτική προγεννητική και κατά τον τοκετό παρακολούθηση, τακτική παρακολούθηση της ανάπτυξης του εμβρύου με υπερηχογράφημα, βιοφυσικό προφίλ, μαίευση στον κατάλληλο χρόνο και έγκαιρη αναγνώριση των επιπλοκών με έγκαιρη παραπομπή και αποτελεσματική αναζωογόνηση των νεογνών. Νεογνά με ΕΥΑ έχουν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό Apgar score <7 στα 5 λεπτά ζωής σε σύγκριση με τα AGA νεογνά. (317) Αυτός ο κίνδυνος τονίζει τη σημασία του τοκετού σε κέντρο τριτοβάθμιας φροντίδας.

Η υπογλυκαιμία παρατηρείται λόγω μειωμένων αποθηκών γλυκογόνου, μειωμένης γλυκονεογένεσης, αυξημένης ευαισθησίας στην ινσουλίνη, μειωμένου λιπώδους ιστού και μειωμένης ικανότητας οξειδωσης ελεύθερων λιπαρών οξέων και τριγλυκεριδίων. Υπογλυκαιμία μπορεί επίσης να είναι αποτέλεσμα ασφυξίας, πολυκυτταραιμίας ή υποθερμίας. Ο κίνδυνος υπογλυκαιμίας είναι μεγαλύτερος τις πρώτες ημέρες ζωής λόγω ξαφνικής διακοπής της μητρικής παροχής γλυκόζης και καθυστέρησης στη μεταγεννητική προσαρμογή. (318) Αυτά τα νεογνά χρειάζονται παρακολούθηση του σακχάρου με πρώιμη σίτιση μετά τη γέννηση με παρακολούθηση των σημείων και των συμπτωμάτων της υπογλυκαιμίας. (312) Τα νεογνά με ΕΥΑ είναι

σε κίνδυνο για παρατεταμένο νεογνικό υπερινσουλινισμό, που υπογραμμίζει την ανάγκη διατήρησης υψηλότερου στόχου γλυκόζης στο πλάσμα. Συνιστάται στόχος γλυκόζης πλάσματος άνω των 50 mg/dL πριν από τις 48 ώρες ηλικίας και αυξάνεται ο στόχος σε μεγαλύτερη από 60 mg/dL ηλικίας πέραν των 48 ωρών.(319) Τα ποσοστά υπογλυκαιμίας κυμαίνονται από 5% έως 17%. (320)

Υπεργλυκαιμία παρατηρείται επίσης μερικές φορές σε νεογνά με ΕΥΑ λόγω ανωριμότητας του παγκρέατος που οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή ή έκκριση ινσουλίνης, υπερβολικής εξωγενούς παροχής γλυκόζης και αυξημένων επιπέδων κατεχολαμινών και γλυκαγόνης. Η διαχείριση περιλαμβάνει τακτική παρακολούθηση του επιπέδου σακχάρου και αποφυγή υπερβολικής ποσότητας έγχυσης γλυκόζης. (321)

Η υποθερμία είναι μια κοινή επιπλοκή σε νεογνά με ΕΥΑ, που αγγίζει το 18%, εάν δεν γίνει η κατάλληλη φροντίδα για τη διατήρηση της θερμοκρασίας μετά τη γέννηση. (322) Υπάρχουν πολλές αιτίες για την προδιάθεση για υποθερμία που περιλαμβάνουν τη σχετικά μεγάλη επιφάνεια σώματος, το μειωμένο λίπος σώματος και υποδόριο ιστό, την εξασθενημένη θερμορύθμιση και εξάντληση κατεχολαμινών. Επιπλέον, ταυτόχρονη εμφάνιση είτε υποξίας είτε υπογλυκαιμίας μπορεί να επηρεάσει την παραγωγή θερμότητας. (312) Για την πρόληψη της υποθερμίας πρέπει ο τοκετός και η σίτιση (θηλασμός) να γίνουν σε θερμοουδέτερο περιβάλλον (χρήση θερμαντήρα) με διασφάλιση διατροφικής υποστήριξης, συμπεριλαμβανομένου του συχνού θηλασμού και της μεθόδου «καγκουρό». (323)

Η πολυκυτταραιμία ορίζεται ως φλεβικός αιματοκρίτης μεγαλύτερος από 65% και εμφανίζεται στα νεογνά με ΕΥΑ. Αυτή η πολυκυτταραιμία οφείλεται σε αυξημένη σύνθεση ερυθροποιητίνης δευτερογενώς σε χρόνια ενδομήτρια υποξία. (324) Η πολυκυτταραιμία μπορεί να οδηγήσει σε συμπτώματα από όλα τα συστήματα του βρέφους. Τα νεογνά με ΕΥΑ θα πρέπει να παρακολουθούνται για τον αιματοκρίτη τους στις 2, 12 και 24 ώρες μετά τη γέννηση. Αν το βρέφος είναι συμπτωματικό, η πολυκυτταραιμία μπορεί να αντιμετωπιστεί με μερική αφαιμαξομετάγγιση και αναπλήρωση υγρών. (325)

Η ανεπάρκεια του πλακούντα και η χρόνια υποξία μπορεί να οδηγήσουν σε θρομβοπενία, ουδετεροπενία και/ή λευκοπενία. Τα νεογνά με ΕΥΑ βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων ως αποτέλεσμα ανοσολογικού ελλείμματος, συγγενούς λοίμωξης, και χαμηλών T και B κυττάρων στο περιφερικό αίμα. (326) Η διαχείριση περιλαμβάνει την πρόληψη μεταγεννητικής λοίμωξης με μέτρα αντισηψίας, ενίσχυση

ανοσίας με πρώιμη, επιθετική και βέλτιστη διατροφή και θεραπεία μεταγεννητικής λοίμωξης με αντιβιοτικά.(327)

Το νεογνό με ΕΥΑ είναι επιρρεπές στην ανάπτυξη πρώιμης έναρξης υπασβεστιαμίας, ειδικά εάν είναι πρόωρο ή έχει ενδείξεις περιγεννητικής ασφυξίας. (328) Η συχνότητα της υπασβεστιαμίας είναι υψηλότερη στις 48–72 ώρες ζωής και χρειάζεται παρακολούθηση. (329) Η υπασβεστιαμία χρειάζεται διαχείριση είτε με ενδοφλέβια είτε με από του στόματος συμπληρώματα ανάλογα με το αν είναι συμπτωματική ή ασυμπτωματική.

Η παραμένουσα πνευμονική υπέρταση εμφανίζεται σε νεογνά με ΕΥΑ λόγω χρόνιας υποξίας που οδηγεί σε αναδιαμόρφωση της πνευμονικής αγγείωσης, με επέκταση του μυϊκού χιτώνα στα κυψελιδικά αγγεία, ανεξάρτητα από την ηλικία κύησης. (330) Η διαχείριση της περιλαμβάνει την αποφυγή υποξίας και υπεροξίας, ομαλοποίηση του μεταβολικού περιβάλλοντος, καρδιαγγειακή υποστήριξη, πνευμονικά αγγειοδιασταλτικά και μηχανικό αερισμό. (331)

Στα νεογνά με ΕΥΑ παρατηρείται συχνά σύνδρομο εισρόφησης μηκωνίου, λόγω χρόνιας υποξίας που οδηγεί σε κεχρωσμένο αμνιακό υγρό και εισρόφηση. Η σοβαρότητα ποικίλλει από ήπιο έως σοβαρό σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας που απαιτεί αερισμό. Η διαχείριση περιλαμβάνει συνεχή παρακολούθηση του εμβρύου κατά τον τοκετό και έγκαιρη ανίχνευση. Η θεραπεία περιλαμβάνει επαρκή αερισμό με πρόληψη της υποξίας.(332)

Η πνευμονική αιμορραγία παρατηρείται λόγω μη φυσιολογικής αγγείωσης και επίσης λόγω άλλων συννοσηροτήτων όπως υποθερμία, πολυκυτταραιμία, ασφυξία και ΔΕΠ. Η διαχείριση περιλαμβάνει την πρόληψη της υποθερμίας, ήπιο αερισμό και υποστηρικτική φροντίδα για πνευμονική αιμορραγία.(320)

Η δυσανεξία στις τροφές και η ΝΕΚ παρατηρούνται συχνά στα νεογνά με ΕΥΑ. (320) Αυτά οφείλονται σε ενδογενή μειωμένη εντερική αιμάτωση λόγω εκτροπής του αίματος ως απόκριση στην υποξία σε ζωτικά όργανα (καρδιά, εγκέφαλο, επινεφρίδια), εντερική ισχαιμία και υποπερισταλτισμό. (333) Η επίπτωση της ΝΕΚ αυξάνεται περαιτέρω σε νεογνά με απουσία ή αντίστροφη τελική διαστολική ροή στην ομφαλική αρτηρία στο Doppler. (334) Η παρατεταμένη ενδομήτρια υποξία-ισχαιμία μπορεί να επηρεάσει την μεταβολική ικανότητα των ηπατοκυττάρων, η οποία μπορεί να επηρεάσει αρνητικά το μεταβολισμό των πρωτεϊνών καθώς και τη μεταφορά χολικών αλάτων. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε δυσανεξία στις πρωτεΐνες και αυξημένη

συχνότητα χολόστασης σε ολική παρεντερική διατροφή στα νεογνά αυτά. Αυτά τα αποτελέσματα μπορεί να διαρκέσουν για αρκετές εβδομάδες μετά τον τοκετό. Η διαχείριση περιλαμβάνει προσεκτική και σταδιακά αυξανόμενη εντερική σίτιση και προτίμηση στη χορήγηση μητρικού γάλακτος.

Η νεφρική δυσλειτουργία εμφανίζεται συνήθως δευτεροπαθώς σε υποξία/ισχαιμία που οδηγεί σε νεφρική σωληναριακή βλάβη, λιγότερους νεφρώνες/σπειράματα και μειωμένο νεφρικό όγκο και συνήθως εκδηλώνεται ως ολιγουρία με διαταραγμένες νεφρικές παραμέτρους. (335) Η διαχείριση περιλαμβάνει καρδιαγγειακή υποστήριξη και διατήρηση της αιμάτωσης των νεφρών.

Η συχνότητα εμφάνισης αμφιβληστροειδοπάθειας προωρότητας είναι αυξημένη σε αυτά τα βρέφη λόγω ενδομήτριας υποξίας, διαταραγμένων επιπέδων αυξητικών παραγόντων και μειωμένης αντιοξειδωτικής ικανότητας.(313) Ο κίνδυνος μπορεί να είναι πενταπλάσιος για τα πρόωρα με EYA σε σχέση με τα AGA πρόωρα νεογνά.

10. ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΕΣ ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ

Τα βρέφη με EYA διατρέχουν κίνδυνο για μειωμένη αύξηση και νευροανάπτυξη, διαταραχές διαφόρων οργάνων και είναι επιρρεπή να αναπτύξουν νόσο των ενηλίκων με απαρχή στη νηπιακή ηλικία.

Μακροπρόθεσμη σωματική ανάπτυξη

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που καθορίζουν τη μεταγεννητική ανάπτυξη του βρέφους με EYA όπως η αιτία της καθυστέρησης της ανάπτυξης, η μεταγεννητική διατροφική πρόσληψη, η οικονομική κατάσταση των γονέων και το κοινωνικό περιβάλλον. Τα βρέφη με EYA που είναι συμμετρικά έχουν κακή ανάπτυξη μεταγεννητικά και παραμένουν μικρά σε όλη τη ζωή καθώς έχουν μειωμένο αριθμό κυττάρων κατά τη γέννηση. Σε σύγκριση με τα συμμετρικά, τα ασύμμετρα βρέφη με EYA έχουν καλύτερη πρόγνωση και μεταγεννητική ανάπτυξη καθώς ο αριθμός των κυττάρων είναι φυσιολογικός και υπάρχει μόνο μείωση στο μέγεθος των κυττάρων, αλλά η ανάπτυξη εξαρτάται από το βέλτιστο περιβάλλον και την επαρκή μεταγεννητική θερμιδική πρόσληψη που τους παρέχεται. (336) Τα περισσότερα βρέφη με EYA έχουν αύξουσα ανάπτυξη κατά τα πρώτα 2 έτη της ηλικίας, με την πλειονότητα της ανάπτυξης να εμφανίζεται εντός των πρώτων 6 μηνών μετά τη γέννηση. (337) Όσο πιο πρόωρο

είναι το βρέφος και/ή πιο σοβαρή η EYA τόσο μικρότερη η πιθανότητα το παιδί να αποκτήσει φυσιολογικό ύψος. (338) Η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με αυξητική ορμόνη για το κοντό ανάστημα έχει αναφερθεί σε παιδιά με ιστορικό EYA. Οι Διεθνείς Εταιρείες Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας προτείνουν τα παιδιά που γεννιούνται SGA με ύψος κάτω από 2,5 τυπικές αποκλίσεις σε ηλικία 2 ετών ή με ύψος κάτω από 2 SD σε ηλικίας 4 ετών να είναι υποψήφια για θεραπεία με αυξητική ορμόνη.(339) Η θεραπεία με αυξητική ορμόνη επηρεάζει επίσης ευνοϊκά τη σύσταση του σώματος, την αρτηριακή πίεση και το μεταβολισμό των λιπιδίων.

Μακροπρόθεσμη νευροαναπτυξιακή έκβαση

Τα βρέφη με EYA έχουν μεγάλη πιθανότητα να έχουν μείζονες γνωστικές και νευροαναπτυξιακές ανωμαλίες σε σύγκριση με τα αντίστοιχα AGA νεογνά της ίδιας ηλικίας κύησης. Το νευροαναπτυξιακό αποτέλεσμα εξαρτάται από τον τύπο της EYA, τα περιγεννητικά συμβάντα (340), τις ανωμαλίες στο Doppler (341) και επίσης τη μεταγεννητική πορεία όπως εμφάνιση υπογλυκαιμίας, νεογνικής σήψης, μηνιγγίτιδας, υποξικής-ισχαιμικής εγκεφαλοπάθειας και νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. Τα κοινά νευρολογικά προβλήματα που παρατηρούνται σε αυτά τα παιδιά περιλαμβάνουν (342):

- Χαμηλότερες βαθμολογίες σε γνωστικά τεστ
- Σχολικές δυσκολίες ή απαίτηση ειδικής αγωγής
- Σοβαρή κινητική δυσλειτουργία και διαταραχές στη λεπτή κινητικότητα
- Προβλήματα συμπεριφοράς (σύνδρομο υπερκινητικότητας-ελλειμματικής προσοχής)
- Μειωμένη ικανότητα εργασίας
- Εγκεφαλική παράλυση
- Χαμηλή κοινωνική ικανότητα
- Κακή ακαδημαϊκή επίδοση
- Κακή αντιληπτική απόδοση

Ένα μη βέλτιστο ενδομήτριο περιβάλλον αυξάνει το στρες στο αναπτυσσόμενο έμβρυο, το οποίο οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων γλυκοκορτικοειδών που μπορεί να συμβάλλουν σε επιβλαβείς επιπτώσεις στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο. Μελέτες σε ζώα δείχνουν μείωση του όγκου και του αριθμού των νευρώνων σε ιππόκαμπο και παρεγκεφαλίδα. (343) Η βλάβη στα βασικά γάγγλια μπορεί να οδηγήσει σε δυσκολίες στις εκτελεστικές λειτουργίες, ενώ βλάβες στους μετωπιαίους/βρεγματικούς φλοιούς

και στις οδούς λευκής ουσίας που συνδέουν αυτές τις περιοχές οδηγούν σε προβλήματα με υψηλότερο επίπεδο γνώσης. Αλλοιωμένη ανάπτυξη εγκεφάλου, ιδιαίτερα στο μετωπιαίο λοβό, οδηγεί σε νευροψυχολογικές δυσκολίες και μείωση του IQ.(344)

Μακροχρόνιες ενδοκρινολογικές διαταραχές

- *Άξονας αυξητικής ορμόνης-IGF*: Σε παιδιά με EYA, υπάρχουν αλλαγές στην ημερήσια έκκριση αυξητικής ορμόνης και μειωμένα επίπεδα IGF-1 και IGFBP-3. (345) Όχι τόσο στην πρώιμη μεταγεννητική ζωή, αλλά αργότερα στην παιδική ηλικία, η αξιολόγηση του άξονα είναι σημαντική σε ένα παιδί με EYA που έχει επίμονα κακή ανάπτυξη ύψους με σημεία ανεπάρκειας αυξητικής ορμόνης και/ή υποϋποφυσισμό.
- *Άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια*: Η προς τα πάνω ρύθμιση του άξονα συμβαίνει προγεννητικά σε έμβρυα με EYA και μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη του μεταβολικού συνδρόμου και της υπέρτασης ως ενήλικες. Ζωικά μοντέλα προγεννητικού στρες και μητρικού υποσιτισμού παράγουν απογόνους με χαμηλό βάρος γέννησης, με υπερλειτουργία του άξονα και δια βίου υπέρταση και αυξημένη γλυκόζη.(346)
- *Εφηβεία, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και αναπαραγωγικά προβλήματα*: Η εμμηναρχή μπορεί να εμφανιστεί 5 έως 10 μήνες νωρίτερα από το κανονικό σε κορίτσια με ιστορικό EYA, και αυτό μπορεί δυνητικά να οδηγήσει σε μειωμένο ανάστημα ενηλίκων. (347) Αυτό μπορεί να σχετίζεται με τις συγκεντρώσεις της λεπτίνης στην κυκλοφορία που έχουν επιπτώσεις στη γοναδοτροπίνη. Η ανάλυση του υποθαλαμικού DNA δείχνει επίσης σημαντικές αλλαγές στα πρότυπα μεθυλίωσης που σχετίζονται με την έναρξη της εφηβείας στα κορίτσια. (348) Η αντίσταση στην ινσουλίνη, η δυσλιπιδαιμία και ο υπερανδρογονισμός μπορεί να οδηγήσει σε σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών στην εφηβεία.(349)

Η έναρξη της ήβης είναι ελαφρώς καθυστερημένη στα αγόρια με EYA και εκδηλώνεται με μικρότερο όγκο όρχεων και χαμηλότερη ινχιμπίνη Β και τεστοστερόνη ορού. (350) Τα αγόρια με ιστορικό EYA μπορεί να έχουν μη φυσιολογικό αριθμό σπερματοζωαρίων που σχετίζεται ιδιαίτερα με το μητρικό κάπνισμα. Το χαμηλό βάρος γέννησης/SGA σχετίζεται επίσης με υποσπαδία και κρυφορχία. (351)

Μακροπρόθεσμες συνέπειες σε διάφορα όργανα

Η ΕΥΑ μπορεί να οδηγήσει σε νεφρική ανεπάρκεια καθώς μπορεί να σχετίζεται με χαμηλό αριθμό νεφρώνων, χαμηλότερο ρυθμό σπειραματικής διήθησης, υψηλότερο λόγο λευκώματος/κρεατινίνη ούρων και προδιάθεση για υπέρταση. (352)

Η διαταραχή της εμβρυϊκής διαθεσιμότητας οξυγόνου βλάπτει την πνευμονική ανάπτυξη και επηρεάζει τη μακροχρόνια λειτουργία των πνευμόνων. Στις περισσότερες περιπτώσεις με ΕΥΑ, η ανεπάρκεια του πλακούντα εμφανίζεται στο τέλος του δεύτερου τριμήνου, όταν παράλληλα συντελείται η ανάπτυξη του περιφερικού αναπνευστικού συστήματος. Τα βρέφη με ΕΥΑ διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο για σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας και βρογχοπνευμονική δυσπλασία.(353)

Εμβρυϊκή προέλευση νόσων των ενηλίκων

Ο Barker παρατήρησε ότι τα μωρά που γεννήθηκαν τις δεκαετίες του 1920 και του 1930 και είχαν χαμηλό βάρος κατά τη γέννηση ή σε ηλικία ενός έτους, όταν έφθασαν σε ηλικία 50-70 ετών είχαν υψηλή συχνότητα στεφανιαίας νόσου, καρδιαγγειακών παθήσεων, σακχαρώδους διαβήτη, υπερινσουλινισμού και υπερχοληστερολαιμίας. (354) Προτείνεται λοιπόν, ότι η προσβολή κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής οδηγεί σε αυτές τις ασθένειες των ενηλίκων.

- *Λιτός φαινότυπος (υπόθεση Barker):* Αυτή είναι η πιο αποδεκτή υπόθεση για την εξήγηση της εμβρυϊκής προέλευσης της νόσου των ενηλίκων. Αυτή η υπόθεση πρότείνει ότι όταν το ενδομήτριο περιβάλλον είναι φτωχό για οποιοδήποτε λόγο (μητρικό, πλακουντιακό ή εμβρυϊκό), το έμβρυο προσπαθεί να προσαρμοστεί σε αυτό το εχθρικό περιβάλλον για να επιβιώσει. Αυτή η προσαρμογή περιλαμβάνει προτεραιοποίηση της ανάπτυξης του εγκεφάλου σε βάρος άλλων ιστών όπως οι μύες, το ήπαρ και το πάγκρεας, μειωμένη παραγωγή και ευαισθησία στην εμβρυϊκή ινσουλίνη και στον IGF-1 και επίσης αυξημένη προς τα άνω ρύθμιση του άξονα υποθαλάμος-υπόφυση-επινεφριδίων. Ο μεταβολικός προγραμματισμός (επιγενετική τροποποίηση) συμβαίνει σε κρίσιμη στιγμή στην ανάπτυξη του εμβρύου. Αυτές οι αλλαγές κάνουν το έμβρυο να προσαρμοστεί σε φτωχή μεταγεννητική διατροφή, αλλά όταν η διατροφή κατά τη μεταγεννητική ζωή είναι φυσιολογική ή υπερβολική, οδηγείται σε ανώμαλη ανάπτυξη. (357)

11. ΦΡΟΝΤΙΔΑ ΣΤΟΝ ΤΟΚΕΤΟ

Κατά τη γέννηση, η ανάνηψη, ο χρόνος απολίνωσης του ομφάλιου λώρου, η θερμορύθμιση και η έναρξη του θηλασμού είναι βασικά συστατικά της φροντίδας στην αίθουσα τοκετού για κάθε νεογέννητο, ειδικά όμως για νεογνά υψηλού κινδύνου όπως αυτά με EYA. Επιπλέον, είναι συνετό για κάθε μονάδα εντατικής θεραπείας νεογνών η ενίσχυση και η εφαρμογή προτύπων υγιεινής, ιδιαίτερα σε συνεργασία με τις οικογένειες, καθώς η ευαισθησία σε λοιμώξεις είναι μεγαλύτερη σε υψηλού κινδύνου, βρέφη.

Αναζωογόνηση

Αν και η πλειονότητα των βρεφών μεταβαίνει από το ενδομήτριο στο εξωμήτριο περιβάλλον ικανοποιητικά, το 5-10% των βρεφών χρειάζεται καρδιοαναπνευστική παρέμβαση. Η αναζωογόνηση και η σταθεροποίηση του νεογνού αμέσως μετά τη γέννηση είναι κρίσιμης σημασίας για την πρόληψη εγκεφαλικής βλάβης. Είναι σημαντικό να εξασφαλιστεί η θέρμανση, τα απτικά ερεθίσματα και η κατάλληλη τοποθέτηση για να εξασφαλιστεί βατότητα του αεραγωγού.

Καθυστερημένη απολίνωση ομφάλιου λώρου

Οι οδηγίες του ΠΟΥ προτείνουν ότι ο βέλτιστος χρόνος απολίνωσης του ομφάλιου λώρου είναι 1-3 λεπτά μετά τη γέννηση, καθώς αυτό επιτρέπει τη μεταφορά αποθηκών σιδήρου από τον πλακούντα. (358) Αυτή η σύσταση ισχύει τόσο για τελειόμηνα όσο και για πρόωρα βρέφη. Τα αναγνωρισμένα άμεσα οφέλη για τα πρόωρα νεογνά περιλαμβάνουν αύξηση αιματοκρίτη και αρτηριακής πίεσης, μειωμένο κίνδυνο NEK και IVH, καθώς και μειωμένη ανάγκη για μεταγγίσεις αίματος, χορήγηση επιφανειοδραστικού παράγοντα και μηχανικό αερισμό.

Θερμορύθμιση

Η υποστηρικτική θερμική φροντίδα των νεογνών με περιορισμένη ανάπτυξη είναι ιδιαίτερα σημαντική σύντομα μετά τη γέννηση, καθώς αυτά τα βρέφη έχουν αυξημένη μη αισθητή απώλεια νερού και μικρή ικανότητα να θερμορρυθμίζουν τη θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος λόγω του μειωμένου φαιού λίπους και του υποδόριου λίπους, τους ανώριμους επιδερμικούς φραγμούς και τη μεγαλύτερη αναλογία επιφάνειας προς μάζα σώματος. Κατά συνέπεια, τα πρόωρα βρέφη, τα LBW και τα SGA είναι εξαιρετικά ευάλωτα στην υποθερμία. Οι παρεμβάσεις για θερμική προστασία περιλαμβάνουν θέρμανση της αίθουσας τοκετού, άμεσο στέγνωμα,

κατάλληλα ρούχα, επαφή δέρμα με δέρμα και εξωτερικές πηγές θερμότητας όπως θερμοκοιτίδες ή θερμαντήρες ακτινοβολίας. Κατά την προετοιμασία του τοκετού, το πρότυπο φροντίδας περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός θερμοουδέτερου περιβάλλοντος στην αίθουσα τοκετού, με θερμοκρασία αέρα τουλάχιστον 25°C σύμφωνα με τον ΠΟΥ. (359)

Έναρξη Θηλασμού

Το μητρικό γάλα ευρέως αναγνωρίζεται ως η κύρια πηγή διατροφής τόσο για τα τελειόμηνα όσο και για τα πρόωρα βρέφη, καθώς και για βρέφη με EYA, SGA και LBW. Το μητρικό γάλα δίνει πολλά ανοσολογικά, βιοενεργά, ψυχολογικά και περιβαλλοντικά οφέλη και για τις μητέρες και τα βρέφη. Από αυτά αξίζει να σημειωθούν η νευρολογική και γαστρεντερική ωρίμανση, καθώς και μείωση της συχνότητας εμφάνισης μεταγεννητικών συνεπειών όπως π.χ NEK, μεταγεννητικός περιορισμός ανάπτυξης και θνησιμότητα. Η τυπική πρακτική φροντίδας συμβουλεύει την έναρξη του θηλασμού εντός της πρώτης ώρας του τοκετού, προκειμένου να λάβουν τα νεογνά το πρωτόγαλα. (360)

Κριτήρια εξόδου από το μαιευτήριο και κατ' οίκον φροντίδα

Οι κατευθυντήριες γραμμές από την Αμερικανική Ακαδημία Παιδιατρικής αναφέρουν κριτήρια απαραίτητα για εξιτήριο βρέφους υψηλού κινδύνου. Αυτό περιλαμβάνει αξιολόγηση της φυσιολογικής κατάστασης του βρέφους, οικογενειακή και περιβαλλοντική ετοιμότητα και ετοιμότητα της κοινότητας και του συστήματος υγείας για τη διασφάλιση της συνεχούς φροντίδας και παρακολούθησης. Τα βρέφη πρέπει να έχουν σταθερή αύξηση βάρους 30g/ημέρα, διατήρηση φυσιολογικής θερμοκρασίας σώματος, καρδιοαναπνευστική σταθερότητα και κατάλληλη σίτιση από το στήθος ή το μπιμπερό πριν από το εξιτήριο. Θα πρέπει να παρέχονται πληροφορίες συμβουλευτικής υποστήριξης θηλασμού και γαλουχίας. Επιπλέον, πρέπει να γίνονται ανοσοποιήσεις, μεταβολικός έλεγχος, εξετάσεις ακοής και οφθαλμών και θα πρέπει να αναπτυχθούν ολοκληρωμένα και εξατομικευμένα σχέδια κατ' οίκον φροντίδας. Τα βρέφη με EYA θα πρέπει να παρακολουθούνται έγκαιρα για νευρολογικές και αναπτυξιακές παρεκκλίσεις, για να διασφαλιστούν οι κατάλληλες παραπομπές και να γίνεται έγκαιρη παρέμβαση. (361)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ VI

ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ ΜΕ ΕΥΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το αιμοποιητικό σύστημα είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την ομοιόσταση των νεογνών υψηλού κινδύνου όπως τα νεογνά με ΕΥΑ. Οι περισσότερες μελέτες επικεντρώνονται στην πολυκυτταραιμία, αποτέλεσμα κυρίως της ενδομήτριας υποξίας, και στην ουδετεροπενία που σχετίζεται με ευπάθεια στις λοιμώξεις. Τα τελευταία χρόνια αρκετό ενδιαφέρον κερδίζει και η μελέτη της αιμόστασης. Η θρομβοπενία αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό των νεογνών με ΕΥΑ και διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί για τον υπεύθυνο παθοφυσιολογικό μηχανισμό. Λιγότερα είναι γνωστά όσο αφορά στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων των νεογνών αυτών κυρίως λόγω τεχνικών δυσκολιών που προκύπτουν από τις αιμοληψίες σε αυτά τα νεογνά.

Είναι δύσκολο να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για τον αιμοστατικό μηχανισμό στο σύνολο των νεογνών με ΕΥΑ κυρίως λόγω των διαφορετικών πληθυσμών, μεθόδων και σχεδιασμών καθώς και του μικρού αριθμού δείγματος των περισσότερων μελετών. Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει σύγχυση όσο αφορά στους όρους SGA, IUGR/FGR και νεογνά μητέρων με υπέρταση κύησης (PIH)/ προεκλαμψία. Στη συνέχεια θα παραθέσουμε τα δεδομένα που αφορούν εστιασμένα στην πρωτογενή αιμόσταση, τόσο στον αριθμό όσο και στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, με γνώμονα τη συγκεκριμένη υποκατηγορία των νεογνών και με προσπάθεια διαχωρισμού των δεδομένων ανάλογα με την ορολογία.

2. ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Τα SGA νεογνά είναι πολύ πιθανό να εμφανίσουν θρομβοπενία τις πρώτες ημέρες ζωής τους. (362-364) Η επίπτωση της θρομβοπενίας στα SGA νεογνά είναι 31.5%, 3 φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη των AGA νεογνών. Σύμφωνα με μια μελέτη στην Ολλανδία, το ποσοστό αυτό φαίνεται να ξεπερνά το 50% των SGA νεογνών και η σοβαρότητα της θρομβοπενίας αυξάνεται όσο μειώνεται η ηλικία κύησης. (365) Ο χαμηλότερος αριθμός αιμοπεταλίων ανευρίσκεται την 4^η ημέρα ζωής. Την 14^η ημέρα ζωής τα μισά νεογνά και την 21^η ημέρα ζωής τα 2/3 των νεογνών έχουν αριθμό

αιμοπεταλίων $>150 \times 10^9/L$. (366) Η θρομβοπενία είναι πιο σοβαρή και επίμονη όσο η σοβαρότητα του SGA αυξάνεται, δηλαδή όσο το βάρος γέννησης μειώνεται. (234, 366-368) SGA νεογνά χωρίς ιστορικό προεκλαμψίας έχουν χαμηλότερα αιμοπετάλια από μη-SGA με προεκλαμψία. Αυτό υπογραμμίζει πως η παρουσία ή όχι προεκλαμψίας ανάμεσα στα SGA νεογνά δεν επηρεάζει την πιθανότητα θρομβοπενίας. (366) Ο MCV είναι υψηλότερος στα SGA νεογνά, εύρημα που μπορεί να εξηγηθεί από το χαμηλότερο αριθμό αιμοπεταλίων. (234, 368) Το PDW είναι σημαντικά αυξημένο στα SGA νεογνά, καταδεικνύοντας την παραγωγή νέων και ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων καθώς η ενεργοποίηση οδηγεί σε αλλαγές σχήματος (σφαιρικό σχήμα, ψευδοπόδια). (234, 368)

Στα νεογνά με EYA, άσχετα από την αιτία που προκάλεσε την ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης, ο αριθμός των αιμοπεταλίων φαίνεται να συσχετίζεται με παραμέτρους του προγεννητικού υπερηχογραφικού ελέγχου. Συγκεκριμένα αναφέρεται αρνητική συσχέτιση του αριθμού των αιμοπεταλίων με το PI της ομφαλικής αρτηρίας και του φλεβώδους πόρου και θετική με το PI της μέσης εγκεφαλικής. (369) Η ταχεία επιδείνωση της καρδιαγγειακής κατάστασης των εμβρύων με EYA προγεννητικά επηρεάζει δυσμενώς τη συχνότητα και τη σοβαρότητα της θρομβοπενίας. (370) Νεογνά με EYA και θρομβοπενία είχαν χαμηλότερο βάρος γέννησης, χαμηλότερη HC, αυξημένη PI ομφαλικής αρτηρίας και χαμηλότερη PI μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας σε σχέση με νεογνά με EYA χωρίς θρομβοπενία. (371) Από την άλλη πλευρά, σημειώνεται πως τελειόμηνα υγιή νεογνά με EYA έχουν ίδιους αριθμούς αιμοπεταλίων με τα AGA νεογνά και μόνο νεογνά με EYA που είναι πρόωρα ή έχουν κάποια λοίμωξη έχουν χαμηλότερους αριθμούς αιμοπεταλίων. (372)

Η PIH και η προεκλαμψία είναι οι αιτίες EYA που έχουν μελετηθεί περισσότερο, όσο αφορά στην επίπτωση τους στον αριθμό των αιμοπεταλίων των νεογνών. Η PIH είναι παράγοντας κινδύνου για θρομβοπενία πρώιμης έναρξης στα νεογνά (373) και η σοβαρότητα είναι μεγαλύτερη για νεογνά με ηλικία κύησης μικρότερη από τις 36 εβδομάδες. (374, 375) Ο αριθμός των αιμοπεταλίων στα νεογνά φαίνεται να σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με την αρτηριακή πίεση της μητέρας. (375)

Η θρομβοπενία στα νεογνά με EYA μπορεί να εξηγηθεί από διάφορους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς. Η αγγειακή δυσλειτουργία του πλακούντα οδηγεί σε διαταραχή πήκτικότητας και καταστροφή αιμοπεταλίων από χρησιμοποίηση. (376) Άλλος μηχανισμός μπορεί να είναι η διαταραχή της ισορροπίας της TxA2 τοπικά στον

πλακούντα που οδηγεί σε αγγειοσύσπαση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων. (377) Προτείνεται όμως ότι η επίδραση που έχει η προεκλαμψία στις αιματολογικές διαταραχές, κυρίως στη θρομβοπενία, του νεογνού δε σχετίζεται άμεσα με τα ιστοπαθολογικά ευρήματα (μικροθρόμβοι) του πλακούντα αλλά προκαλείται μέσω άλλων μηχανισμών. (378) Η ενδομήτρια υποξία που βιώνουν τα έμβρυα με ΕΥΑ καταλήγει σε εκτροπή των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων προς ερυθροποίηση σε βάρος της μεγακαρυοποίησης και μπορεί να ευθύνεται για την πολυκυτταραιμία και τη θρομβοπενία στα νεογνά με ΕΥΑ. (379) Η ανώριμη μεγακαρυοποίηση μπορεί επίσης να αποδοθεί στην ανωριμότητα των οργάνων (ήπαρ και σπλήνας) λόγω της ανακατανομής της κυκλοφορίας στα πιο ευγενή όργανα (εγκέφαλος-καρδιά-επινεφρίδια) (brain-sparing effect). Αυξημένα επίπεδα ΤΡΟ ανιχνεύονται σε SGA νεογνά σε σύγκριση με AGA νεογνά και υποστηρίζουν την επηρεασμένη μεγακαρυοποίηση. Η ΤΡΟ συντίθεται στο ήπαρ του εμβρύου και του νεογνού και διεγείρει την παραγωγή αιμοπεταλίων. Όταν ο αριθμός των αιμοπεταλίων πέφτει, τα επίπεδα της ΤΡΟ αυξάνουν και διεγείρουν τη θρομβοποίηση. Αυξημένα επίπεδα ΤΡΟ σε συνδυασμό με θρομβοπενία σημαίνουν διαταραχή της θρομβοποίησης. (380) Άλλη μελέτη υποστηρίζει όμως πως ανευρίσκονται χαμηλά επίπεδα ΤΡΟ και IPF σε SGA νεογνά σε σύγκριση με AGA νεογνά. (364) Τα πρόωρα νεογνά μητέρων με ΡΙΗ έχουν σημαντικά χαμηλότερο αριθμό αιμοπεταλίων, ο οποίος δεν μπορεί πάντοτε να συσχετισθεί πάντοτε με τα επίπεδα της ΤΡΟ σε ομφαλικό αίμα, αλλά έχει βρεθεί να σχετίζεται με τα αυξημένα επίπεδα διαλυτής fms-like τυροσινικής κινάσης 1. (367, 381) Η υπόθεση της διαταραγμένης θρομβοποίησης υποστηρίζεται περαιτέρω από το χαμηλό αριθμό προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων στον ομφάλιο λώρο SGA νεογνών. (382)

3. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Αν και η θρομβοπενία που ανευρίσκεται στα SGA νεογνά έχει καλά περιγραφεί και υπάρχουν μελέτες κατανόησης των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που οδηγούν σε αυτή, οι μελέτες ελέγχου της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων στα νεογνά με ΕΥΑ είναι ελάχιστες με αντικρουόμενα αποτελέσματα μέχρι στιγμής. Οι περισσότερες μελέτες επικεντρώνονται και πάλι στην υποκατηγορία των νεογνών που γεννιούνται από μητέρες με ΡΙΗ ή προεκλαμψία.

3.1. ΜΕΛΕΤΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΙΣ ΕΓΚΥΕΣ

Σε έγκυες με έμβρυα με ΕΥΑ φαίνεται πως η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων παίζει ρόλο στη διαταραχή της πλακουντοποίησης και την παθοφυσιολογία της προεκλαμψίας. Στις νορμοτασικές έγκυες η διαταραχή περιορίζεται στην πλακουντιακή κυκλοφορία ενώ στις υπερτασικές επεκτείνεται στη συστηματική κυκλοφορία με χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων και τελικά μειωμένη απάντηση των αιμοπεταλίων σε κολλαγόνο και ADP. (383) Σε μελέτη 33 εγκύων με ΕΥΑ μέσω LTA φάνηκε πως τα αιμοπετάλια έχουν μειωμένη αντιδραστικότητα σε όλους τους αγωνιστές (AA, ADP, κολλαγόνο, TRAP, επινεφρίνη) και μάλιστα η υποαντιδραστικότητα είναι πιο έντονη σε ΡΙΗ ή προεκλαμψία. (384) Έγκυες με προεκλαμψία έχουν μειωμένο αριθμό αιμοπεταλίων, αυξημένο MPV και αυξημένο PDW, αυξημένους δείκτες ενεργοποίησης αιμοπεταλίων *in vitro* όπως αποδεικνύουν μελέτες κυτταρομετρίας ροής αλλά μειωμένη συσσώρευση αιμοπεταλίων ως απάντηση σε κολλαγόνο, ADP, αδρεναλίνη και AA. Η μειωμένη συσσώρευση πιθανόν είναι αποτέλεσμα εξάντλησης των αιμοπεταλίων από τη συνεχή ενεργοποίηση, η οποία εμπλέκεται στη χαρακτηριστική ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. (385) Σε αυτές τις διαταραχές της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων βασίζεται και η πρακτική προφυλακτικής χορήγησης χαμηλής δόσης ασπιρίνης ήδη από τα αρχικά στάδια της κύησης σε περίπτωση προεκλαμψίας.

3.2. ΜΕΛΕΤΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ

Αυξημένη ενεργοποίηση αιμοπεταλίων (αυξημένο CD61 και CD62) βρέθηκε σε δείγματα ομφαλίου από κυήσεις με πλακουντιακή ανεπάρκεια και παθολογικό Doppler ομφαλικής αρτηρίας. Από την άλλη μεριά, τα αιμοπετάλια των νεογνών αυτών είχαν μειωμένη ενεργοποίηση ως απάντηση στη θρομβίνη. (386) Μάλιστα φάνηκε πως ο βαθμός υποτροφίας επηρεάζει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, με νεογνά με βάρος γέννησης κάτω από 5^η ΕΘ να εκφράζουν σε υψηλότερα ποσοστά CD62P σε σχέση με νεογνά με βάρος γέννησης μεταξύ 5^{ης} και 10^{ης} ΕΘ. (387) Αυξημένα επίπεδα υδρολάσης του PAF έχουν ανευρεθεί σε ομφάλιο αίμα νεογνών με ΕΥΑ σε σχέση με AGA νεογνά και μάλιστα εμφανίζουν αρνητική συσχέτιση με το βάρος γέννησης. Ο PAF προάγει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και ο καταβολισμός του μέσω της υδρολάσης στα έμβρυα με ΕΥΑ έχει πιθανά αντιρροπιστική βάση. (388) Οι Obe et al. σε μελέτη ομφαλίου αίματος μικρού αριθμού νεογνών με ΕΥΑ (N=8) βρήκαν παρατεταμένους χρόνους CTs σε σύγκριση με 10 AGA νεογνά. (389)

Η ΡΙΗ και η προεκλαμψία έχουν συσχετισθεί με αιμοπεταλιακή δυσλειτουργία στα νεογνά. Όταν εξετάστηκε η ενεργότητα των αιμοπεταλίων σε δείγμα ομφάλιου αίματος νεογνών από μητέρες με ΡΙΗ, η προσκόλληση των αιμοπεταλίων τους σε CPA ήταν μειωμένη. Το εύρημα αυτό δε φαίνεται να σχετίζεται με τη θρομβοπενία αλλά αντανακλά μια αληθή υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων καθώς ο αριθμός των αιμοπεταλίων δε διέφερε στις 2 ομάδες νεογνών. Αυτό μπορεί να είναι αποτέλεσμα μιας υπεραντιστάθμισης από την εμβρυική πλευρά που οδηγεί σε χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων και διαταραγμένη λειτουργικότητα. (227) Σε μελέτες με κυτταρομετρία ροής τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια νεογνών μητέρων με προεκλαμψία εκφράζουν χαμηλότερα επίπεδα CD62P (P-σελεκτίνης), CD63 (δείκτης ενεργοποίησης αιμοπεταλίων), CD9 και CD36 (GP IV) σε σύγκριση με νεογνά υγιών μητέρων. Αυτό το εύρημα υποστηρίζει ότι η προεκλαμψία επηρεάζει την έκφραση GPs στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων που μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων οδηγώντας σε έναν επιπρόσθετο κίνδυνο αιμορραγίας στα θρομβοπενικά νεογνά μητέρων με προεκλαμψία. (390) Από την άλλη πλευρά, επίσης σε μελέτες με κυτταρομετρία ροής διαπιστώθηκε μεγαλύτερη αύξηση στους δείκτες CD41, CD62P, CD63 μετά από *in vitro* ενεργοποίηση με ADP στα νεογνά μητέρων με προεκλαμψία σε σύγκριση με την αύξηση που παρατηρήθηκε σε νεογνά φυσιολογικών κυήσεων. (391) Το εύρημα αυτό επιβεβαιώθηκε και σε πρόωρα νεογνά μητέρων με προεκλαμψία σε σύγκριση με πρόωρα νεογνά υγιών μητέρων και αποδόθηκε στα αυξημένα επίπεδα του διαλυτού υποδοχέα-1 του VEGF (που δρα ως αναστολέας του VEGF). (392) Η διαλυτή P-selectin, πέρα από δείκτης ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και ενδοθηλίου, έχει και προπηκτική δράση. Έχει ανευρεθεί αυξημένη σε δείγματα ομφάλιου λώρου σε κυήσεις με προεκλαμψία χωρίς ΕΥΑ σε σύγκριση τόσο με κυήσεις χωρίς προεκλαμψία αλλά και με κυήσεις με προεκλαμψία και ΕΥΑ, υπογραμμίζοντας μια ξεχωριστή επίδραση της προεκλαμψίας όχι απόλυτα κατανοητή. (393)

Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί για να εξηγήσουν τις επιδράσεις της υπέρτασης κύησης στα αιμοπετάλια. Αυτοί περιλαμβάνουν τροποποιημένο μεταβολισμό του ασβεστίου, αλλοίωση των GP της μεμβράνης των αιμοπεταλίων, αυξημένη απελευθέρωση β-θρομβοσφαιρίνης πλάσματος και μεταβολή στη βιοδιαθεσιμότητα του NO. (386, 390, 394) Όσο αφορά στο μεταβολισμό του ασβεστίου, δεν φαίνεται να υπάρχει διαφορά στο ελεύθερο κυτταροπλασματικό ασβέστιο των αιμοπεταλίων ανάμεσα στα νεογνά υπέρτασικών και νορμοτασικών κυήσεων. (395)

Η ενδομήτρια έκθεση στον καπνό έχει συνδεθεί με ΕΥΑ, πρόωρο τοκετό, χαμηλό βάρος γέννησης, και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο συγγενών καρδιοπαθειών, λοιμώξεων αναπνευστικού, αλλεργιών, αιφνίδιου βρεφικού θανάτου και κακή νευροαναπτυξιακή έκβαση. (396, 397) Μεταξύ των ενηλίκων, οι καπνιστές τείνουν να εκδηλώνουν ενισχυμένη συσσώρευση αιμοπεταλίων και προδιάθεση σε θρομβώσεις σε σύγκριση με τους μη καπνιστές. (398, 399) Οι μελέτες σε νεογνά με προγεννητική έκθεση σε καπνό τσιγάρου είναι ελάχιστες και οι περισσότερες δε διαχωρίζουν αν πρόκειται για AGA νεογνά ή νεογνά με ΕΥΑ. Έλεγχος των έμμορφων στοιχείων του αίματος καταδεικνύει ίδιο αριθμό ερυθρών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων αλλά μειωμένο αριθμό δικτυοερυθροκυττάρων και λευκών αιμοσφαιρίων στην ομάδα των νεογνών μητέρων που κάπνιζαν. (400) Παλαιότερες μελέτες υποστήριζαν ότι οι PT, aPTT και οι δείκτες ινωδόλυσης καθώς και οι μελέτες συσσωματομετρίας και η παραγωγή TxB2 δε διέφεραν ανάμεσα στις 2 ομάδες νεογνών. (401, 402) Πρόσφατη μελέτη βασισμένη σε ROTEM ανέδειξε ένα προπηκτικό προφίλ σε νεογνά μητέρων που κάπνιζαν κατά τη διάρκεια της κύησης μέσω συντομότερων CTs. (403)

Για τις μελέτες που ελέγχουν τις ιξωδοελαστικές ιδιότητες του ολικού αίματος (TEG/ROTEM), ενώ έχουν κερδίσει έδαφος στη νεογνολογία, διαπιστώνεται κενό στην εκτίμηση των νεογνών με ΕΥΑ με τις τεχνικές αυτές. Έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες σε SGA και VLBW νεογνά. Στα SGA νεογνά, πληθυσμός που περιλαμβάνει ως υποομάδα και νεογνά με ΕΥΑ, το αιμοστατικό σύστημα φαίνεται να είναι πλήρως λειτουργικό χωρίς τάση για θρόμβωση ή αιμορραγία σε σύγκριση με AGA νεογνά. (404) Στη γέννηση VLBW νεογνά παρουσιάζουν αυξημένο χρόνο σχηματισμού θρόμβου και μειωμένη ισχύ θρόμβου σε σχέση με υγιή τελειόμηνα νεογνά. Το μειωμένο MA σχετίζεται με διαταραγμένη λειτουργικότητα αιμοπεταλίων. (405)

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ΥΠΟΘΕΣΗ

Η μελέτη αυτή στηρίχθηκε στην υπόθεση ότι τα νεογνά με ΕΥΑ εμφανίζουν διαταραχές στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και αυτές μπορούν να αποτυπωθούν μέσω των CTs με τη μέθοδο PFA-100.

II. ΣΚΟΠΟΣ

Αρχικός στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να καθοριστεί το εύρος τιμών αναφοράς των CTs σε δείγματα ομφάλιου αίματος από υγιή AGA πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά (μάρτυρες).

Με γνώμονα το κενό που υπάρχει στη μελέτη της λειτουργικότητας των νεογνών με ΕΥΑ, δεύτερος στόχος ήταν ο προσδιορισμός των CTs σε δείγματα ομφάλιου αίματος πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών με ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση, η σύγκριση τους με τους αντίστοιχους των AGA νεογνών και η συσχέτιση τους με διάφορες περιγεννητικές παραμέτρους.

III. ΥΛΙΚΟ

Το υλικό της διδακτορικής διατριβής αποτελούν 192 νεογνά τα οποία γεννήθηκαν στο Αρεταίειο Νοσοκομείο το διάστημα από τον Ιανουάριο 2017 έως και το Δεκέμβριο 2018. Η μελέτη διενεργήθηκε με την καθοδήγηση της Τριμελούς Επιτροπής (Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Βαλσάμη, Καθηγήτρια κα Ιακωβίδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Μπούτσικου) και τη συνεργασία του Νεογνολογικού Τμήματος, των ιατρών της Αίθουσας Τοκετών και του Χειρουργείου καθώς και το Αιματολογικό Εργαστήριο – Υπηρεσία Αιμοδοσίας (όπου πραγματοποιήθηκε το εργαστηριακό σκέλος της μελέτης).

Σύμφωνα με το πρωτόκολλο της διατριβής κάθε επίτοκος ενημερωνόταν πλήρως για το σκοπό και το αντικείμενο της μελέτης, τη διαδικασία της λήψης ομφάλιου αίματος μετά τον τοκετό και μετά από έγγραφη συγκατάθεση πραγματοποιούταν λήψη του δείγματος και κατηγοριοποίηση.

Στην ομάδα των **118 υγιών AGA νεογνών** (control) συμπεριελήφθησαν:

104 τελειόμνηνα νεογνά: Ως υγιή τελειόμνηνα νεογνά ορίστηκαν τα νεογνά με ηλικία κύησης μεγαλύτερη από 37 εβδομάδες και κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης (AGA), τα οποία γεννηθήκαν με φυσιολογικό τοκετό ή καισαρική τομή, με ελεύθερο περιγεννητικό ιστορικό και χωρίς προβλήματα έως και την έξοδο τους από το μαιευτήριο.

14 πρόωρα νεογνά: Ως υγιή πρόωρα νεογνά ορίστηκαν τα νεογνά με ηλικία κύησης μικρότερη από 37 εβδομάδες και κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης (AGA), τα οποία γεννηθήκαν με φυσιολογικό τοκετό ή καισαρική τομή. Πρόωρα νεογνά που κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους εκδήλωσαν κλινική σημειολογία συμβατή με διαταραχές της πηκτικότητας αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Η πλειοψηφία αφορούσε σε μονόδυμες κυήσεις με εξαίρεση τρεις δίδυμες κυήσεις (6 στα 118 νεογνά).

Κριτήρια αποκλεισμού για την ομάδα των υγιών AGA νεογνών αποτελούσαν:

- Αιματοκρίτης στο δείγμα ομφάλιου αίματος < 35%
- Αριθμός αιμοπεταλίων στο δείγμα ομφάλιου αίματος <100.000/mL
- Θερμοκρασία στη γέννηση <35°C
- Γνωστές ή ύποπτες μείζονες συγγενείς διαμαρτυρίες /ή χρωμοσωμιακή ανωμαλία

- Οικογενειακό ιστορικό αιμορραγικής διάθεσης
- Στοιχεία περιγεννητικού στρες, όπως pH ομφαλικού αίματος < 7,25, επείγουσα καισαρική τομή λόγω εμβρυϊκής δυσπραγίας, κλινικά σημεία περιγεννητικής υποξίας/ασφυξίας
- Apgar score < 8 στο 1^ο ή στο 5^ο λεπτό
- Βάρος γέννησης < 10^η ΕΘ ή στοιχεία από το μαιευτικό ιστορικό (π.χ. υπέρταση κύησης) και την κλινική εξέταση του νεογνού ενδεικτικά ενδομήτριας υπολειπόμενης αύξησης
- Σακχαρώδης διαβήτης κύησης

Στην ομάδα των **74 νεογνών με EYA** συμπεριελήφθησαν:

48 τελειόμηνα νεογνά: Νεογνά με ηλικία κύησης μεγαλύτερη ή ίση από 37 εβδομάδες τα οποία πληρούσαν τα κριτήρια χαρακτηρισμού ως νεογνά με EYA.

26 πρόωρα νεογνά: Νεογνά με ηλικία κύησης μικρότερη από 37 εβδομάδες τα οποία πληρούσαν τα κριτήρια χαρακτηρισμού ως νεογνά με EYA.

Ως νεογνά με EYA χαρακτηρίζονταν εκείνα των οποίων το βάρος γέννησης ήταν κάτω από τη 10^η εκατοστιαία θέση που έχει υπολογιστεί για κάθε ένα νεογνό με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος AUDIPOG ή είχαν σαφή προγεννητική μείωση της ΕΘ του εκτιμώμενου βάρους και ενδείξεις EYA όπως παθολογικό Doppler. Ο υπολογισμός της εξατομικευμένης εκατοστιαίας θέσης πραγματοποιείται αφού ληφθούν υπόψιν καθοριστικοί παράγοντες του βάρους γέννησης, όπως η ηλικία κύησης, το φύλο, το βάρος της μητέρας στην αρχή της κύησης, το ύψος και η ηλικία της μητέρας, η εθνικότητα και ο τόκος. (<https://www.audipog.net/Estimation-croissance>) Μελέτες Doppler της ομφαλικής αρτηρίας, της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας και του φλεβώδους πόρου και μέτρηση του PI προγραμματίζονταν σε τακτά χρονικά διαστήματα προγεννητικά για τον καθορισμό της σοβαρότητας της ενδομήτριας καθυστέρησης της αύξησης. Επειδή στα νεογνά με βάρος γέννησης κάτω από τη 10η εκατοστιαία θέση περιλαμβάνονται και SGA νεογνά, τα οποία είναι μέρος του κατώτερου άκρου της κανονικής κατανομής και δεν έχουν κανένα από τα κλινικά σημεία των νεογνών με EYA, η αιτία της EYA προσδιορίστηκε σε κάθε περίπτωση. Τα αίτια περιλάμβαναν κατά σειρά:

- Παθολογικά ευρήματα σε προγεννητικά Doppler: 22 περιπτώσεις
- Κάπνισμα: 12 περιπτώσεις

- Σακχαρώδη διαβήτη είτε προ κύησης (τύπου 1 ή 2) ή κύησης: 7 περιπτώσεις
- Δίδυμος κύηση: 9 περιπτώσεις
- Υπέρταση κύησης/ προεκλαμψία: 5 περιπτώσεις
- Υποθυρεοειδισμός: 5 περιπτώσεις
- Θρομβοφιλία: 4 περιπτώσεις
- Άλλα αίτια (πχ. Κατάχρηση καφεΐνης, αλκοόλ): 10 περιπτώσεις

Δεκαέξι από τα 74 νεογνά με EYA γεννήθηκαν από δίδυμες κυήσεις. Μόνο 2 στα 74 νεογνά είχαν βάρος γέννησης > 10^η ΕΘ. Το πρώτο στην 11^η ΕΘ είχε σαφή πτώση της ΕΘ του εκτιμώμενου βάρους προγεννητικά (από 80^η στην 11^η) και το δεύτερο στην 17^η ΕΘ είχε ολιγάμνιο και ρικνό πλακούντα.

Κριτήρια αποκλεισμού για την ομάδα των νεογνών με EYA αποτελούσαν:

- Αιματοκρίτης στο δείγμα ομφάλιου αίματος < 35%
- Αριθμός αιμοπεταλίων στο δείγμα ομφάλιου αίματος <100.000/mL
- Θερμοκρασία στη γέννηση <35°C
- Ενδείξεις χοριοαμνιονίτιδας
- Γνωστές ή ύποπτες μείζονες συγγενείς διαμαρτυρίες /ή χρωμοσωμική ανωμαλία
- Οικογενειακό ιστορικό αιμορραγικής διάθεσης

Σε όλα τα νεογνά της μελέτης ελήφθη λεπτομερές οικογενειακό, μαιευτικό, περιγεννητικό και νεογνικό ιστορικό. Τα δημογραφικά στοιχεία, το ατομικό μητρικό και το οικογενειακό ιστορικό λαμβανόταν από τους γονείς με προσωπική συνέντευξη. Το μαιευτικό και περιγεννητικό ιστορικό λαμβανόταν από το μαιευτήρα, τη μαία ή το νεογνολόγο που ήταν παρόντες στον τοκετό. Τέλος το νεογνολογικό ιστορικό, τα σωματομετρικά στοιχεία και τα ευρήματα της κλινικής εξέτασης του νεογνού συμπληρώνονταν από το νεογνολόγο και τον ιατρικό φάκελο του νεογνού.

Στην ομάδα των νεογνών με EYA υπολογίστηκε επίσης ο λόγος περιμέτρου κεφαλής προς βάρος γέννησης (δείκτης CI -cephalization index) (310) και ο λόγος περιμέτρου κεφαλής προς περίμετρο κοιλίας (HC/AC) ως εργαλεία εκτίμησης της εμβρυϊκής δυσπραγίας. (262)

Ακολουθεί το ερωτηματολόγιο που χρησιμοποιήθηκε για την άντληση πληροφοριών.

Ερωτηματολόγιο

A/A:

CENTILE:

ΣΤΟΙΧΕΙΑ

1. ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ:
2. ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΜΗΤΕΡΑΣ:
3. ΗΛΙΚΙΑ:
4. ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ:
5. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ: a.
ΠΑΝΤΡΕΜΕΝΗ/ΑΡΡΑΒΩΝΙΑΣΜΕΝΗ/ΣΥΜΒΙΩΣΗ, b. ΔΙΑΖΕΥΓΜΕΝΗ/ ΣΕ ΔΙΑΣΤΑΣΗ
c. ΧΗΡΑ d. ΜΟΝΟΓΟΝΕΙΚΗ
6. ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ ΜΗΤΕΡΑΣ: a. ΧΕΙΡΩΝΑΚΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ, b. ΑΠΑΙΤΕΙ
ΠΟΛΥΩΡΗ ΟΡΘΟΣΤΑΣΙΑ, c. ΕΡΓΑΣΙΑ >8 ΩΡΕΣ ΤΗ ΜΕΡΑ
7. ΑΝΕΡΓΗ: a. ΣΥΖΥΓΟΣ ΑΝΕΡΓΟΣ b. ΔΙΚΑΙΟΥΧΟΣ ΠΕΡΙΘΑΛΨΗΣ ΣΤΟ ΕΣΥ
8. ΎΨΟΣ ΜΗΤΕΡΑΣ
9. ΒΑΡΟΣ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ
10. ΒΑΡΟΣ ΣΤΟ ΤΕΛΟΣ ΤΗΣ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗΣ
11. ΕΒΔΟΜΑΔΑ ΚΥΗΣΗΣ
12. ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΟΔΟΥ
13. ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ
14. ΤΗΛΕΦΩΝΟ
15. ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ: a. ΑΠΟΦΟΙΤΟΣ ΔΗΜΟΤΙΚΟΥ/ΓΥΜΝΑΣΙΟΥ, b.
ΑΠΟΦΟΙΤΟΣ ΛΥΚΕΙΟΥ, c. ΑΠΟΦΟΙΤΟΣ ΑΕΙ/ΤΕΙ, d. ΚΑΤΟΧΟΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ/ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΟΥ

ΑΤΟΜΙΚΟ ΑΝΑΜΝΗΣΤΙΚΟ ΜΗΤΕΡΑΣ

- | | | |
|-----------------------------|-----|-----|
| 1. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ: | OXI | NAI |
| 2. ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ: | OXI | NAI |

3. ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΝΕΦΡΩΝ: ΟΧΙ ΝΑΙ
4. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ: ΟΧΙ ΝΑΙ
5. ΑΛΛΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (π.χ. ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ): ΟΧΙ ΝΑΙ
6. ΛΗΨΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ: ΟΧΙ ΝΑΙ
7. ΔΙΑΤΡΟΦΗ: ΚΑΛΗ ΚΑΚΗ
8. ΚΑΠΝΙΣΜΑ: ΟΧΙ ΝΑΙ

ΗΛΙΚΙΑ ΕΝΑΡΞΗΣ ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ

ΗΛΙΚΙΑ ΔΙΑΚΟΠΗΣ ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΣΙΓΑΡΩΝ ΗΜΕΡΗΣΙΩΣ

9. ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΑΛΚΟΟΛ: ΟΧΙ ΝΑΙ

ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΑΝΑ ΕΒΔΟΜΑΔΑ

ΕΙΔΟΣ: ΚΡΑΣΙ ΜΠΥΡΑ ΟΥΙΣΚΥ ΑΛΛΟ

10. ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΚΑΦΕ: ΟΧΙ ΝΑΙ

ΕΙΔΟΣ :ΕΛΛΗΝΙΚΟΣ ΣΤΙΓΜΙΑΙΟΣ ΓΑΛΛΙΚΟΣ ΑΛΛΟΣ

11. ΣΙΤΙΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ

ΚΡΕΑΣ ΛΑΧΑΝΙΚΑ ΟΣΠΡΙΑ ΦΡΟΥΤΑ ΕΙΔΙΚΗ
ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΛΟΓΩ ΚΑΤΑΓΩΓΗΣ

12. ΑΛΛΕΡΓΙΕΣ

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

1. ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ

2. ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ

3. ΑΙΜΑΤΟΛ. ΝΟΣΗΜΑΤΑ- ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΠΗΞΗΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ

4. ΑΛΛΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ: ΣΔ Ι ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ
ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ(ΥΠΟ/ΥΠΕΡ) ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

ΜΑΙΕΥΤΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ/ ΠΑΡΟΥΣΑ ΚΥΗΣΗ

1. ΤΟΚΟΣ
2. ΠΡΟΗΓΗΘΕΙΣΕΣ ΚΥΗΣΕΙΣ: a. ΦΥΛΟ b. ΒΑΡΟΣ
3. ΑΠΟΒΟΛΕΣ: a. ΑΥΤΟΜΑΤΕΣ b. ΔΙΑΚΟΠΗ ΚΥΗΣΗΣ c. ΘΝΗΣΙΓΕΝΗ ΝΕΟΓΝΑ
4. ΣΥΛΛΗΨΗ : a. ΦΥΣΙΚΗ b. ART
5. ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ: a. ΚΑΘΕ ΜΗΝΑ b. ΚΑΘΕ ΤΡΙΜΗΝΟ c. ΣΠΑΝΙΑ
6. US β ΕΠΙΠΕΔΟΥ:
7. ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ
 - a. ΕΜΒΡΥΟΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ
 - b. ΚΑΜΠΥΛΗ ΣΑΚΧΑΡΟΥ : ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ TIMEΣ
 - c. TORCH
 - d. Κ/Α ΚΟΛΠΙΚΟΥ i. ΕΒΔΟΜΑΔΑ ii. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ iii. ΑΓΩΓΗ
 - e. Κ/Α ΟΥΡΩΝ
 - f. ΛΕΥΚΩΜΑ ΟΥΡΩΝ
 - g. ΤΕΛΕΥΤΑΙΑ Hb ΠΡΙΝ ΤΟΝ ΤΟΚΕΤΟ
8. ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ
ΕΒΔΟΜΑΔΑΣ ΚΥΗΣΗΣ: ΑΜΦΙΒΡΕΓΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ: ΚΟΙΛΙΑΚΗ ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ:
ΑΛΛΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ:
9. DOPPLER: ΝΑΙ ΟΧΙ
10. ΑΜΝΙΟΚΕΝΤΗΣΗ: ΝΑΙ ΟΧΙ
11. ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΜΒΡΥΙΚΩΝ ΚΙΝΗΣΕΩΝ
12. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ Non-Stress Test
13. ΛΟΙΜΩΞΗ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΚΥΗΣΗΣ:

- ΟΥΡΟΛΟΙΜΩΞΗ ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ
ΧΟΡΙΟΑΜΝΙΟΝΙΤΙΔΑ
14. ΚΑΠΝΙΣΜΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΚΥΗΣΗΣ: ΟΧΙ ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΑΝΑ ΗΜΕΡΑ
15. ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΑΛΚΟΟΛ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ: ΟΧΙ
ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΑΝΑ ΕΒΔΟΜΑΔΑ
16. ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΚΑΦΕ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ: ΟΧΙ
ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΑΝΑ ΗΜΕΡΑ
17. ΟΠΙΟΕΙΔΗ Ή ΑΛΛΑ ΝΑΡΚΩΤΙΚΑ: ΝΑΙ ΟΧΙ
18. ΥΠΕΡΤΑΣΗ ΚΥΗΣΗΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ
ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑ: ΟΧΙ ΝΑΙ
19. ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ
ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΟΣ ΜΕ ΔΙΑΙΤΑ
ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΟΣ ΜΕ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ
20. ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΕΣ
21. ΑΠΟΚΟΛΛΗΣΗ
22. ΠΡΟΔΡΟΜΙΚΟΣ ΠΛΑΚΟΥΝΤΑΣ
23. ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ
24. ΠΡΟΩΡΗ ΡΗΞΗ ΥΜΕΝΩΝ (PROM): ΟΧΙ ΝΑΙ
25. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΡΟΩΡΟΣ ΤΟΚΕΤΟΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ
26. ΜΕΙΩΜΕΝΟΣ ΟΓΚΟΣ ΑΜΝΙΑΚΟΥ ΥΓΡΟΥ: ΝΑΙ ΟΧΙ
27. ΡΗΞΗ ΘΥΛΑΚΙΟΥ (ΑΥΤΟΜΑΤΗ): ΟΧΙ <18h >18h
28. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΜΗΚΩΝΙΟΥ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΑΜΝΙΑΚΟΥ ΥΓΡΟΥ: ΟΧΙ ΝΑΙ-
ΕΝΤΟΝΩΣ ΝΑΙ-ΗΠΙΑ
29. ΦΑΡΜΑΚΑ: ΝΑΙ ΟΧΙ
ΑΣΠΙΡΙΝΗ ΗΧΜΒ ΛΕΒΟΘΥΡΟΞΙΝΗ

30. ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ: a. ΚΑΜΙΑ ΔΟΣΗ b. ΑΤΕΛΗΣ ΣΥΝΕΔΡΙΑ c. ΠΛΗΡΗΣ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

31. ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ: a. ΑΜΠΙΚΙΛΛΙΝΗ b. ΚΕΦΟΞΙΤΙΝΗ ΩΡΑ:

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΓΕΝΝΗΣΗΣ

1. ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΩΡΑ

2. ΗΛΙΚΙΑ ΚΥΗΣΗΣ

3. ΕΙΔΟΣ ΤΟΚΕΤΟΥ: ΚΟΛΠΙΚΟΣ ΚΑΙΣΑΡΙΚΗ ΤΟΜΗ ΑΝΕΥ ΩΔΙΝΩΝ
ΚΑΙΣΑΡΙΚΗ ΤΟΜΗ ΜΕΤΑ ΕΝΑΡΞΗ ΤΟΚΕΤΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥΛΚΙΑ

4. ΠΡΟΒΟΛΗ: ΚΕΦΑΛΙΚΗ ΙΣΧΙΑΚΗ ΕΓΚΑΡΣΙΑ

5. ΑΝΑΛΓΗΣΙΑ (ΠΕΘΙΔΙΝΗ): ΝΑΙ ΟΧΙ

6. ΕΙΔΟΣ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑΣ: ΕΠΙΣΚΛΗΡΙΔΙΟΣ ΡΑΧΙΑΙΑ ΓΕΝΙΚΗ

7. ΤΙΜΗ ΜΕΤΡΗΣΗΣ pH ΟΜΦΑΛΙΟΥ

8. APGAR SCORE 1^ο ΛΕΠΤΟ 5^ο ΛΕΠΤΟ

9. ΑΝΑΝΗΨΗ: ΚΑΜΙΑ ΑΣΚΟΣ ΜΕ ΜΑΣΚΑ ΘΩΡΑΚΙΚΕΣ ΣΥΜΠΙΕΣΕΙΣ
ΑΔΡΕΝΑΛΙΝΗ

10. ΠΛΑΚΟΥΝΤΑΣ

11. ΟΜΑΔΑ ΑΙΜΑΤΟΣ ΜΗΤΕΡΑΣ (.....) Rh (.....) COOMBS (....)

12. ΟΜΑΔΑ ΑΙΜΑΤΟΣ ΝΕΟΓΝΟΥ (.....) Rh (.....) COOMBS (....)

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΝΕΟΓΝΟΥ/ ΚΛΙΝΙΚΗ – ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

1. ΦΥΛΟ: ΑΡΡΕΝ ΘΗΛΥ

2. ΕΙΔΟΣ ΚΥΗΣΗΣ: ΜΟΝΗΡΗΣ ΠΟΛΥΔΥΜΟΣ ΣΕΙΡΑ ΕΜΒΡΥΟΥ

3. ΒΑΡΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ:

4. ΜΗΚΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ:

5. ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ ΚΕΦΑΛΗΣ:

6. ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ ΚΟΙΛΙΑΣ:

7. ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ:

8. ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΣΗ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΑΣ ΑΥΞΗΣΗΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ

ΣΥΜΜΕΤΡΙΚΗ ΑΣΥΜΜΕΤΡΗ

9. ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΙΚΤΕΡΟΥ: ΗΜΕΡΑ ΜΕΓΙΣΤΗ ΤΙΜΗ ΕΙΔΟΣ ΦΩΤΟΘΕΡΑΠΕΙΑ
ΑΦΜ

10. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΝΤΙΒΙΩΣΗΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ

11. ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ

12. ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ: ΟΧΙ ΝΑΙ

13. ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ: (αναλυτική περιγραφή)

14. ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ: (αναλυτική περιγραφή)

15. ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ: (αναλυτική περιγραφή)

16. ΝΕΦΡΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

17. ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

18. ΣΙΤΙΣΗ: ΘΗΛΑΣΜΟΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΜΕΙΚΤΗ

ΗΜΕΡΕΣ ΕΩΣ ΠΛΗΡΗ ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΣΙΤΙΣΗ

ΓΑΣΤΡΙΚΟΣ ΚΑΘΕΤΗΡΑΣ ΒΙΒΕΡΟΝ

ΧΑΜΗΛΟΤΕΡΟ ΚΑΤΑΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟ ΒΑΡΟΣ ΣΩΜΑΤΟΣ

ΗΜΕΡΕΣ ΕΩΣ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΚΤΗΣΗ ΒΑΡΟΥΣ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΓΕΥΜΑΤΩΝ ΑΝΑ ΗΜΕΡΑ

19. ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΕΠΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ: ΕΜΕΤΟΙ ΑΝΑΓΩΓΕΣ ΚΕΝΩΣΕΙΣ

ΠΡΟΩΡΑ ΝΕΟΓΝΑ

1. ΔΙΑΣΩΛΗΝΩΣΗ

2. RDS

3. BPD

4. ΥΠΟΓΛΥΚΑΙΜΙΑ

5. ΥΠΟΘΕΡΜΙΑ

6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΙΝΟΤΡΟΠΩΝ

7. ΑΝΟΙΧΤΟΣ ΒΟΤΑΛΕΙΟΣ ΠΟΡΟΣ

8. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΝΤΙΒΙΩΣΗΣ

9. ΠΑΡΕΝΤΕΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

10. ΙΚΤΕΡΟΣ

11. ΝΕΚ

12. ΕΝΔΟΚΡΑΝΙΑ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ

13. ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ/ ΣΠΑΣΜΟΙ

14. ROP

15. ΛΟΙΜΩΞΗ

ΗΜΕΡΕΣ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ ΣΕ ΤΡΙΤΟΒΑΘΜΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ

IV. ΜΕΘΟΔΟΙ

1. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Σε όλους τους τοκετούς των νεογνών της μελέτης πραγματοποιήθηκε καθυστερημένη απολίνωση ομφάλιου λώρου. Τα δείγματα αίματος λαμβάνονταν από εκπαιδευμένη ομάδα ιατρών του Νεογνολογικού Τμήματος από την ομφαλική φλέβα διπλά απολινωμένου ομφάλιου λώρου. Η αιμοληψία πραγματοποιούνταν με σύριγγα 21-gauge και το δείγμα (2 ml) τοποθετούνταν σε πλαστικό φιαλίδιο που περιείχε 3.2% (0.109M) κιτρικό νάτριο σε αναλογία (ολικό αίμα: αντιπηκτικό 9: 1). Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στην προσεκτική αιμοληψία χωρίς να δημιουργούνται υψηλές ροές και την ήπια ανάδευση του δείγματος με το αντιπηκτικό του φιαλιδίου προκειμένου να αποφευχθεί ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα δείγματα αίματος φυλάσσονταν σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι την ανάλυση τους.

2. ΜΕΘΟΔΟΣ PFA-100

Όλα τα δείγματα ολικού αίματος εξετάστηκαν χωρίς πρόσθετη επεξεργασία με τον αναλυτή PFA-100® - Platelet Function Analyzer (DADE BEHRING) μέσα σε 4 ώρες από την αιμοληψία. Η μέθοδος PFA-100 προσφέρει μια in vitro αξιολόγηση της πρωτογενούς, εξαρτώμενης από τα αιμοπετάλια αιμόστασης και περιγράφεται αναλυτικά στο αντίστοιχο κεφάλαιο του γενικού μέρους (κεφάλαιο III). Τόσο η χρήση του αναλυτή όσο και ο χειρισμός των δειγμάτων ήταν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Πριν την ανάλυση των δειγμάτων προηγούταν έλεγχος ποιότητας μέσω της επιλογής "self-test" που προσφέρει ο αναλυτής, εάν δεν είχε πραγματοποιηθεί ήδη εκείνη την ημέρα, με σκοπό την εξασφάλιση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων. Οι μετρήσεις έγιναν με μονότυπη σειρά, δηλαδή τοποθετούνταν ένα φυσιγγίο με 0,8mL δείγματος κάθε φορά. Τα δείγματα που περιείχαν πήγματα αίματος απορρίπτονταν και δε γίνονταν μετρήσεις. Σε περίπτωση ένδειξης «απόφραξης ροής»- «flow obstruction», η μέτρηση επαναλαμβανόταν και γινόταν καταγραφή του δεύτερου αποτελέσματος.

Για κάθε δείγμα αίματος έγινε καταγραφή δυο CTs σε δευτερόλεπτα με τη χρήση των 2 φυσιγγίων:

- COL/EPI CT: 2μg κολλαγόνου τύπου I και 10 μg επινεφρίνη
- COL/ADP CT: 2μg κολλαγόνου τύπου I και 50 μg 5' ADP

3. ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΟΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Γενική αίματος: Ο προσδιορισμός του αριθμού των αιμοπεταλίων, του μέσου όγκου αιμοπεταλίων (MPV), του αιματοκρίτη και του αριθμού και του τύπου των λευκών αιμοσφαιρίων γινόταν μέσω του αιματολογικού αναλυτή Abbott cell-dyn 3700 hematology analyzer σε δείγματα ολικού αίματος τόσο των νεογνών (αίμα ομφαλίου) όσο και των μητέρων τους (περιφερικό φλεβικό αίμα προ του τοκετού). Ακολουθούσε οπτική επιβεβαίωση των ευρημάτων σε περιπτώσεις θρομβοπενίας με μικροσκόπηση επιχρίσματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα.

V. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

1. ΕΥΡΟΣ ΤΙΜΩΝ CTs ΣΕ ΥΓΙΗ ΑΓΑ ΠΡΟΩΡΑ ΚΑΙ ΤΕΛΕΙΟΜΗΝΑ ΝΕΟΓΝΑ

Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση λογισμικού SAS 9.4 για Windows (SAS Institute Inc. NC, USA). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση (SD) ή διάμεση τιμή (IQR) για τις αριθμητικές παραμέτρους (COL/EPI CT, COL/ADP CT, βάρος γέννησης κλπ) και ως αριθμός παρατηρήσεων και το αντίστοιχο ποσοστό για τα κατηγορικά δεδομένα. Οι συγκρίσεις ανάμεσα στις δύο ομάδες (πρώωρα και τελειόμηνα) έγιναν για τα αριθμητικά δεδομένα με το Kruskal-Wallis test (λόγω μη κανονικής κατανομής) και μέσω του chi-square test για τα κατηγορικά δεδομένα. Σε περιπτώσεις όπου ο αριθμός των περιπτώσεων δεν ήταν επαρκής χρησιμοποιήθηκε το Fisher test. Υπολογίσαμε το συντελεστή συσχέτισης Spearman (r_s) για έλεγχο συσχέτισης των COL/EPI και COL/ADP CTs με διάφορες περιγεννητικές παραμέτρους. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0.05$.

2. ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ CTs ΣΕ ΝΕΟΓΝΑ ΜΕ ΕΥΑ

Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση λογισμικού SAS 9.4 για Windows (SAS Institute Inc. NC, USA). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεση τιμή (IQR) για τις αριθμητικές παραμέτρους και ως ποσοστό για τα κατηγορικά δεδομένα. Οι συγκρίσεις ανάμεσα στις ομάδες έγιναν για τα αριθμητικά δεδομένα με το Kruskal-Wallis test (λόγω μη κανονικής κατανομής) και μέσω του chi-square test για τα κατηγορικά δεδομένα. Ο έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των COL/EPI και COL/ADP CTs της ομάδας των νεογνών με ΕΥΑ και των αριθμητικών παραμέτρων έγινε με έλεγχο του συντελεστή συσχέτισης Pearson (r). Τέλος εφαρμόστηκε μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0.05$ και ο έλεγχος ήταν αμφίπλευρος.

VI. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. AGA ΝΕΟΓΝΑ

Τον πληθυσμό της μελέτης αποτέλεσαν 104 τελειόμηνα και 14 πρόωρα νεογνά. Τα δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των νεογνών που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1. Δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά 118 υγιών AGA νεογνών.

		Τελειόμηνα (N=104)	Πρόωρα (N=14)	p value
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)		39.1 ± 1.4	35.7 ± 1.2	<0.0001
Βάρος γέννησης (γραμμάρια)		3360 (3170-3650)	2535 (2360-2730)	<0.0001
ΕΘ		53.2 ± 23.1	40.4 ± 24.4	0.0490
Θερμοκρασία στη γέννηση (°C)		36.3 ± 0.3	36.1 ± 0.4	0.1453
Φύλο	Άρρεν	48 (46%)	7 (50%)	0.7865
	Θήλυ	56 (54%)	7 (50%)	
Είδος τοκετού	Κολπικός	38 (36%)	2 (14%)	0.1354
	Καισαρική τομή	66 (64%)	12 (86%)	
Ομάδα αίματος	O	39 (38%)	7 (50%)	0.3938
	Non-O	65 (62%)	7 (50%)	
Ασπιρίνη	Όχι	96 (92%)	12 (86%)	<0.001
	Ναι >7ημέρες*	8 (8%)	0	
	Ναι <7ημέρες*	0	2 (14%)	
ΗΧΜΒ	Όχι	97 (93%)	11 (79%)	0.0970
	Ναι	7 (7%)	3 (21%)	
Λεβοθυροξίνη	Όχι	90 (87%)	10 (71%)	0.3857
	Ναι	13 (13%)	3 (21%)	
Αμπικιλίνη	Όχι	97 (93%)	9 (64%)	0.0056
	Ναι	7 (7%)	5 (36%)	
Πεθιδίνη	Όχι	99 (95%)	14 (100%)	1
	Ναι	5 (5%)	0	
Επισκληρίδιος αναισθησία	Όχι	28 (27%)	1 (7%)	0.183
	Ναι	76 (73%)	13 (93%)	
Γενική αναισθησία	Όχι	103 (99%)	14 (100%)	1
	Ναι	1 (1%)	0	

WBC νεογνού (x10³/μL)	13.5 (11.7-15.4)	10.5 (8.3-14)	0.0882
Hct νεογνού (%)	45.5 ± 4.2	44.5 ± 4.5	0.4605
PLT νεογνού (x10⁹/L)	258,5 ± 68	256,4 ± 57	0.8157
MPV νεογνού (fL)	9.5 ± 1.4	9.6 ± 1.1	0.8800

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση (SD) ή διάμεση τιμή (IQR) για τις αριθμητικές παραμέτρους και ως αριθμός παρατηρήσεων και το αντίστοιχο ποσοστό για τα κατηγορικά δεδομένα. ΕΘ: Εκατοστιαία θέση βάρους γέννησης. ΗΧΜΒ: Ηπαρίνη Χαμηλού Μοριακού Βάρους. Τα φάρμακα αφορούν στη μητέρα πριν τον τοκετό. * Χορήγηση τελευταίας δόσης ασπιρίνης στη μητέρα περισσότερο ή λιγότερο από 7 ημέρες από τον τοκετό.

Οι μετρήσεις των CTs για τα τελειόμηνα και τα πρόωρα υγιή AGA νεογνά παρουσιάζονται και συγκρίνονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2. COL/EPI και COL/ADP CTs σε τελειόμηνα και πρόωρα AGA νεογνά ως διάμεσες τιμές με τα αντίστοιχα όρια αναφοράς (10% και 90% εκατοστημόρια). Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε με Kruskal Wallis test.

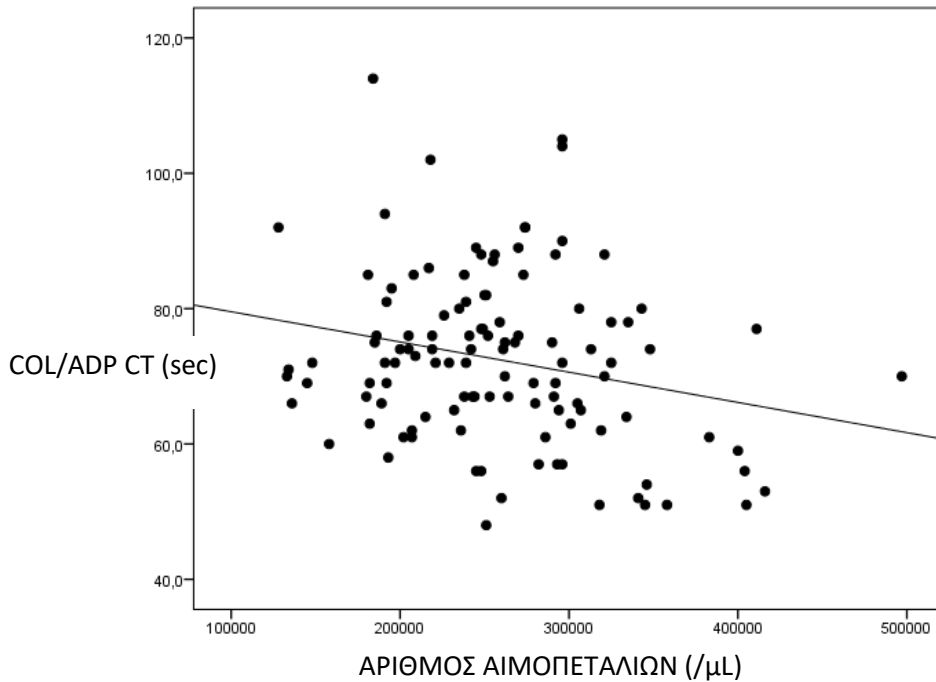
	Τελειόμηνα νεογνά (N=104)	Πρόωρα νεογνά (N=14)	p value
COL/EPI CT (δευτερόλεπτα)	111 (76-164)	149 (101-178)	0.0236
COL/ADP CT (δευτερόλεπτα)	72 (59-85)	78 (64-86)	0.2783

Ο COL/EPI CT ήταν παρατεταμένος στα πρόωρα AGA νεογνά συγκριτικά με τα τελειόμηνα AGA νεογνά σε στατιστικά σημαντικό βαθμό (0.0236). Ο COL/ADP CT ήταν συγκρίσιμος μεταξύ των τελειόμηνων και των πρόωρων AGA νεογνών.

Στο σύνολο των AGA νεογνών (control group) βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ του COL/ADP CT και της ηλικίας κύησης (Spearman's $r = -0,184$, $p = 0.0475$) και του COL/ADP CT και του απόλυτου αριθμού αιμοπεταλίων (Spearman's $r = -0,188$, $p = 0.0437$), σχήμα 1.

Δε βρέθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ του COL/EPI CT και των περιγεννητικών παραμέτρων που εξετάστηκαν και αναφέρονται στον πίνακα 1. Όπως ήταν αναμενόμενο, υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ COL/EPI και COL/ADP CT (Spearman's $r = 0.321$, $p = 0.0004$).

Σχήμα 1. Συσχέτιση μεταξύ COL/ADP CT και αριθμού αιμοπεταλίων, (Spearman's $r = -0,188$, $p = 0.0437$).



2. ΝΕΟΓΝΑ ΜΕ ΕΥΑ

Η μελέτη συμπεριέλαβε 74 νεογνά με ΕΥΑ (48 τελειόμηνα και 24 πρόωρα). Η ομάδα των μαρτύρων περιλάμβανε τα 114 πρόωρα και τελειόμηνα υγιή AGA νεογνά που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Τα δημογραφικά, κλινικά, εργαστηριακά χαρακτηριστικά καθώς και οι περιγεννητικές παράμετροι καταγράφονται στον πίνακα 3. Οι συγκρίσεις έγιναν με το Kruskal-Wallis τεστ για τα αριθμητικά δεδομένα και μέσω του chi-square test για τα κατηγορικά δεδομένα.

Πίνακας 3. Δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά 74 νεογνών με ΕΥΑ και 118 AGA νεογνών.

	AGA νεογνά (N=118)	ΕΥΑ νεογνά (N=74)	p value
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	39 ⁺¹ (38 ⁺² -39 ⁺⁶)	37 ⁺⁶ (36 ⁺¹ -39 ⁺³)	<0.001
Βάρος γέννησης (γραμμάρια)	3305 (3080-3560)	2510 (2080-2740)	<0.001
ΕΘ	50.0 (35.0 -69.0)	5.0 (2.0-8.0)	<0.001
Θερμοκρασία στη γέννηση (°C)	36.3(36.1-36.6)	36.10 (35.90-36.40)	0.007
Θήλα (%)	47	54	0.32
Καισαρική τομή (%)	66	78	0.07
ART (%)	5	12	0.08
APGAR 1' *: <5(%)	0	1	0.04
5-7 (%)	0	4	
8-10 (%)	100	95	
Ομάδα αίματος: O (%)	39	36	0.73
Ασπιρίνη** (%): Όχι	92	80	0.04
<7 ημέρες	2	8	
>7 ημέρες	7	12	
ΗΧΜΒ (%)	8	14	0.27
Λεβοθυροξίνη (%)	14	22	0.16
Αμπικιλίνη (%)	10	7	0.42
Πεθιδίνη (%)	4	1	0.27
Αναισθησία (%): Επισκληρίδιος	75	80	0.49
Γενική	1	5	0.05
WBC νεογνού (x10⁹/L)	13.2(11.4-15.2)	11.4(9.54-13.5)	<0.001
Hb νεογνού (g/dl)	15.15(14.4-16.05)	16.10(15.10-17.00)	<0.001
Hct νεογνού (%)	45.1(42.2-47.75)	48.00(45.00-50.80)	<0.001
PLT νεογνού(x10⁹/L)	251.0(207.5-296.0)	243.0(187.0-283.0)	0.16
MPV νεογνού (fL)	9.8 (8.4 -10.5)	9.70 (8.00-10.40)	0.59

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεση τιμή με εύρος διακύμανσης (25th-75thpctl) για τις αριθμητικές παραμέτρους και ως ποσοστά για τα κατηγορικά δεδομένα. ΕΘ: Εκατοστιαία θέση βάρους γέννησης. ΗΧΜΒ: Ηπαρίνη Χαμηλού Μοριακού Βάρους. Τα φάρμακα αφορούν στη μητέρα πριν τον τοκετό. *Στο 5 λεπτό όλα τα νεογνά είχαν Apgar score >8. ** Χορήγηση τελευταίας δόσης ασπιρίνης στη μητέρα περισσότερο ή λιγότερο από 7 ημέρες από τον τοκετό.

Τα νεογνά με ΕΥΑ χαρακτηρίζονται από χαμηλότερο βάρος γέννησης ($p<0.001$), ΕΘ ($p<0.001$), ηλικία κύησης ($p<0.001$), θερμοκρασία στη γέννηση ($p=0.007$) και Apgar score στο 1^ο λεπτό ($p=0.04$). Μεγαλύτερο ποσοστό εγκύων με έμβρυα με ΕΥΑ ελάμβανε προφύλαξη με ασπιρίνη σε σχέση με τους μάρτυρες ($p=0.04$). Τα νεογνά με ΕΥΑ έχουν χαμηλότερο αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων ($p<0.001$), υψηλότερη αιμοσφαιρίνη ($p<0.001$) και αιματοκρίτη ($p<0.001$) σε σύγκριση με τα AGA νεογνά ενώ δεν παρατηρήθηκε διαφορά στον αριθμό των αιμοπεταλίων.

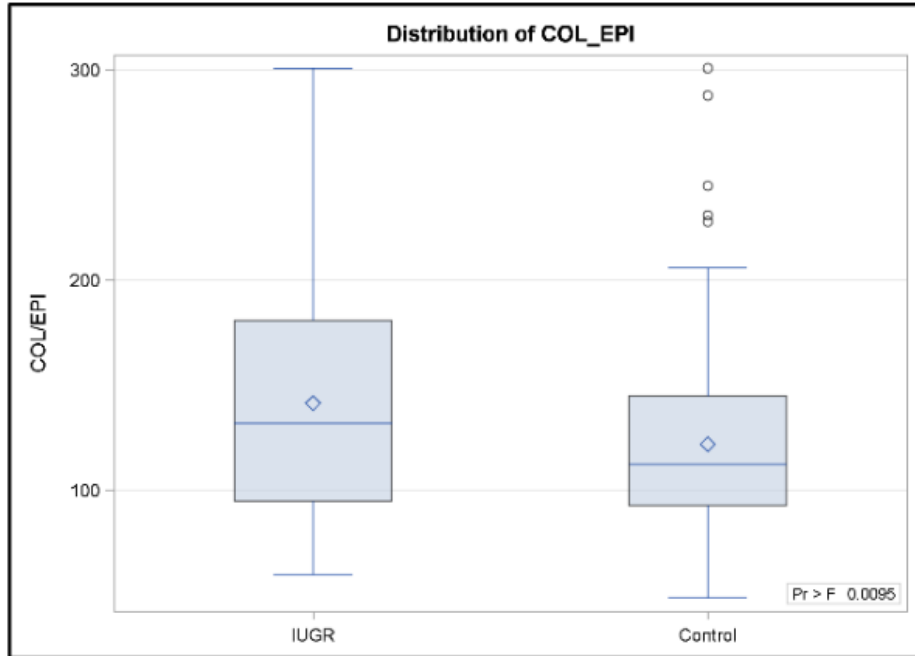
Προχωρήσαμε σε σύγκριση των CTs μεταξύ του συνόλου των νεογνών με ΕΥΑ και των AGA νεογνών. Τα νεογνά με ΕΥΑ παρουσιάζουν παρατεταμένους χρόνους COL/EPI CTs σε σύγκριση με τα AGA νεογνά ($p=0.04$), ενώ δεν παρατηρήθηκε αντίστοιχη διαφορά για τους COL/ADP CTs, πίνακας 4 και σχήμα 2.

Πίνακας 4. COL/EPI και COL/ADP CT σε 74 νεογνά με ΕΥΑ και 118 AGA νεογνά ως διάμεσες τιμές με εύρος διακύμανσης (IQR 25th-75thpctl). Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε με Kruskal Wallis test.

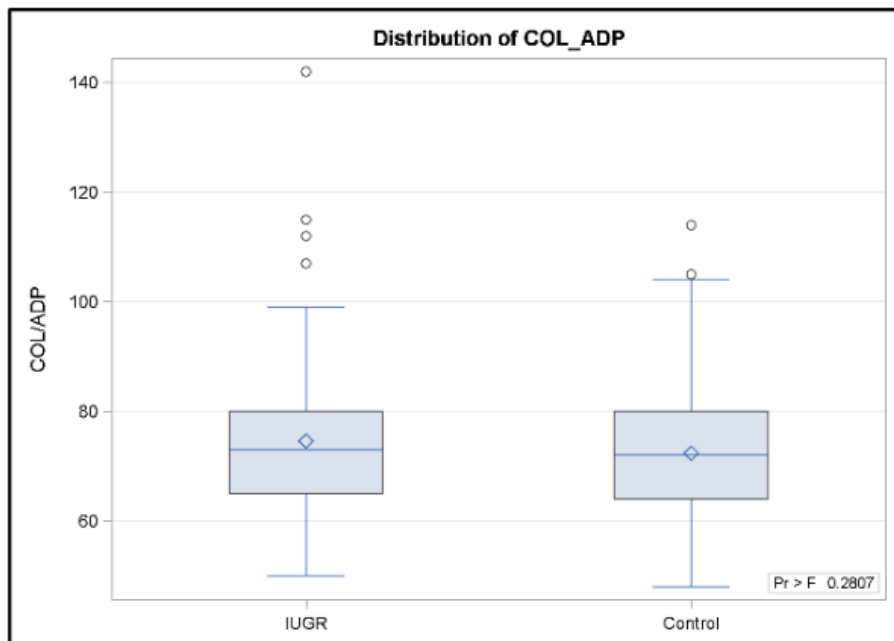
	ΕΥΑ νεογνά (N=74)	AGA νεογνά (N=118)	p value
COL/EPI CT (δευτερόλεπτα)	132 (IQR 95-181)	112,5 (IQR 93-145)	p=0.04
COL/ADP CT (δευτερόλεπτα)	73 (IQR 65-80)	72 (IQR 64-80)	p=0.55

Σχήμα 2.

A. Box και Whisker plots για τις τιμές COL/EPI CT σε νεογνά με EYA (IUGR) και AGA (control) νεογνά ($p=0.04$).



B. Box και Whisker plots για τις τιμές COL/ADP CT σε νεογνά με EYA (IUGR) και AGA (control) νεογνά ($p=0.55$).



Στη συνέχεια προχωρήσαμε σε υπολογισμό των διάμεσων τιμών και έλεγχο των διαφορών των CTs, τόσο των COL/EPI CT όσο και των COL/ADP CT, σε σχέση με διάφορες περιγεννητικές παραμέτρους, πίνακες 5 και 6.

Παρατηρούμε ότι ο χρόνος COL/ADP CT είναι:

A) συντομότερος σε νεογνά με ΕΥΑ που γεννιούνται με φυσιολογικό τοκετό (p 0.007)

B) συντομότερος σε νεογνά με ΕΥΑ που οι μητέρες τους έλαβαν αμπικιλίνη περί τον τοκετό (p 0.005)

Γ) παρατεταμένος σε νεογνά με ΕΥΑ που οι μητέρες τους έλαβαν επισκληρίδιο αναισθησία (p 0.032)

Τόσο ο χρόνος COL/EPI CT όσο και ο COL/ADP CT δε φαίνεται να διαφέρουν ανάλογα με την αιτία που προκαλεί την ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση (υποθυρεοειδισμός, θρομβοφιλία, κάπνισμα, ΡΙΗ/προεκλαμψία).

Πίνακας 5. COL/EPI και COL/ADP CTs για τις διάφορες κατηγορικές παραμέτρους. Οι τιμές παρουσιάζονται ως διάμεσες με τα αντίστοιχα διαστήματα (IQR). Η σύγκριση των τιμών ανά παράμετρο έγινε με το Kruskal Wallis test.

Παράμετρος		COL/EPI CT (δευτερόλεπτα)	p value	COL/ADP CT (δευτερόλεπτα)	p value
Φύλο	Άρρεν	126 (96-158)	0.637	73(63-86)	0.428
	Θήλυ	139 (95-189)		72(65-79)	
Τύπος σύλληψης	ART	135 (94 -206)	0.928	75(72-80)	0.574
	Φυσική	132(98-177)		73 (64-82)	
Είδος τοκετού	ΚΤ	141(96-186)	0.052	74(67-86)	0.007
	ΦΤ	106(93-135)		62(60-75)	
Apgar score 1'	<5	131 (1 case)	0.977	72 (1 case)	0.259
	5-7	135(95-202)		80(80-87)	
	8-10	132(94-181)		73(64-80)	
Ομάδα αίματος νεογνού	O	126(99-203)	0.745	70(62-79)	0.337
	non O	132(93-173)		74(66-82)	
Ασπιρίνη*	Όχι	132(94-181)	0.955	72(62-80)	0.262
	<7 ημέρες	125(102-210)		77(73-82)	
	>7 ημέρες	132(111-154)		76(68-78)	
ΗΧΜΒ	Όχι	132(94.5-183.5)	0.492	73(65-86)	0.336
	Ναι	108.5(96-156)		71.5(60-77)	
Αμπικιλλίνη	Όχι	132(96-183)	0.093	74(66-82)	0.005
	Ναι	104(79-107)		59(57-60)	
Πεθιδίνη	Όχι	132(95-179)	0.553	73(65-82)	0.178
	Ναι	104(104-104)		59(59-59)	
Επισκληρίδιος αναισθησία	Όχι	104(93-139)	0.078	62(59-75)	0.032
	Ναι	138(95-186)		73(67-86)	
Γενική αναισθησία	Όχι	132(94-181)	0.858	73(65-80)	0.827
	Ναι	129(99-181)		72(62-81)	
Υποθυρεοειδισμός	Όχι	135(94-177)	1	73(63-82)	0.815
	Ναι	122(101-193)		73(68-80)	
Θρομβοφιλία	Όχι	132(94-182)	0.615	73(65-82)	0.394
	Ναι	156(106-177)		74(60-76)	
Κάπνισμα	Όχι	132(98-184)	0.448	73(66-84)	0.493
	Ναι	118(93-161)		73(64-77)	
Υπέρταση/προεκλαμψία	Όχι	132(95-184)	0.427	73(65-82)	0.180
	Ναι	127(94-154)		68(57-77)	

ΗΧΜΒ: Ηπαρίνη Χαμηλού Μοριακού Βάρους. Τα φάρμακα αφορούν στη μητέρα πριν τον τοκετό. *Χορήγηση τελευταίας δόσης ασπιρίνης στη μητέρα περισσότερο ή λιγότερο από 7 ημέρες από τον τοκετό.

Πίνακας 6. Έλεγχος της συσχέτισης των COL/EPI CT και COL/ADP CT για κάθε αριθμητική παράμετρο μέσω του συντελεστή γραμμικής συσχέτισης του Pearson [r (p value)].

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	COL/EPI CT	COL/ADP CT
Ηλικία κύησης	-0.0559 (0.636)	-0.06007 (0.614)
Βάρος γέννησης	0.00571 (0.962)	-0.11643 (0.327)
ΕΘ	0.1528 (0.194)	-0.03741 (0.753)
Θερμοκρασία στη γέννηση	0.13529 (0.257)	-0.08409 (0.486)
WBC νεογνού	-0.11839 (0.325)	0.00421 (0.972)
Hb νεογνού	-0.0623 (0.606)	0.22709 (0.059)
Hct νεογνού	-0.052 (0.667)	0.21004 (0.081)
PLT νεογνού	-0.00642 (0.958)	-0.12852 (0.289)
MPV νεογνού	-0.02672 (0.825)	-0.03077 (0.800)
HC	0.02478 (0.836)	-0.06285 (0.603)
AC	0.00728 (0.956)	-0.05938 (0.655)
CI	-0.00509 (0.966)	0.10313 (0.392)
HC/AC	0.0591 (0.654)	0.07005 (0.598)

Δε διαπιστώνεται συσχέτιση μεταξύ των COL/EPI CT και COL/ADP CT και των αριθμητικών παραμέτρων.

Λόγω του μεγάλου ποσοστού πρόωρων νεογνών στην ομάδα των νεογνών με ΕΥΑ (35%) και επειδή είναι γνωστό πως τα πρόωρα νεογνά διατρέχουν το μεγαλύτερο κίνδυνο διαταραχών των αιμοπεταλίων και αιμορραγικών διαταραχών, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των πρόωρων με τα τελειόμηνα νεογνά με ΕΥΑ. Στον πίνακα 7 παρουσιάζονται τα δημογραφικά, κλινικά, εργαστηριακά χαρακτηριστικά και

οι διαφορές τους. Οι συγκρίσεις έγιναν με το Kruskal-Wallis τεστ για τα αριθμητικά δεδομένα και μέσω του chi-square test για τα κατηγορικά δεδομένα.

Τα πρόωρα νεογνά με ΕΥΑ είχαν χαμηλότερο βάρος γέννησης ($p < 0.001$), χαμηλότερη ΕΘ ($p < 0.001$), χαμηλότερο Apgar score στο 1^ο λεπτό ($p = 0.02$), χαμηλότερη περίμετρο κεφαλής ($p < 0.001$), χαμηλότερη περίμετρο κοιλίας ($p < 0.001$) και υψηλότερο CI ($p < 0.001$) σε σχέση με τα τελειόμηνα νεογνά με ΕΥΑ. Μεγαλύτερο ποσοστό ART ($p = 0.03$), καισαρικής τομής ($p = 0.006$), χορήγησης ασπιρίνης ($p < 0.001$) και υποθυρεοειδισμού ($p = 0.01$) διαπιστώθηκε ανάμεσα στις μητέρες πρόωρων νεογνών με ΕΥΑ.

Πίνακας 7. Δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά 48 τελειόμηνων και 26 πρόωρων νεογνών με ΕΥΑ.

	ΤΕΛΕΙΟΜΗΝΑ ΕΥΑ ΝΕΟΓΝΑ (N=48)	ΠΡΟΩΡΑ ΕΥΑ ΝΕΟΓΝΑ (N=26)	p value
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	39 ⁺² (38 -39 ⁺⁴)	35 ⁺⁴ (34 ⁺¹ -36 ⁺²)	<0.001
Βάρος γέννησης (γραμμάρια)	2670 (2510 -2810)	1895 (1700 -2190)	<0.001
ΕΘ	6.0 (4.5 -8.0)	2.0 (2.0 -5.0)	<0.001
Θερμοκρασία στη γέννηση (°C)	36.2(36.0-36.4)	36.0(35.8-36.5)	0.0767
Θήλαα (%)	48	65	0.15
Καισαρική τομή (%)	69	96	0.006
ART (%)	6	23	0.03
APGAR 1' *: <5(%)	0	4	0.02
5-7 (%)	0	12	
8-10 (%)	100	85	
Ομάδα αίματος: O (%)	35	38	0.80
Ασπιρίνη** (%): Όχι	81	77	<0.001
<7 ημέρες	0	23	
>7 ημέρες	19	0	
ΗΧΜΒ (%)	8	23	0.08
Αμπικιλλίνη (%)	8	4	0.46
Πεθιδίνη (%)	2	0	0.45
Αναισθησία (%): Επισκληρίδιος	75	88	0.17
Γενική	4	8	0.52
WBC νεογνού (x10 ⁹ /L)	12.8 (10.7-14.6)	9.57(7.02-11.1)	0.38
Hb νεογνού (g/dl)	16.1(15.1-17.5)	16.2 (15.0-16.9)	0.54
Hct νεογνού (%)	48.0(45.0-53.0)	48.0(44.7-50.0)	0.58
PLT νεογνού(x10 ⁹ /L)	248.0(187.0 -291.0)	233.5 (192.0 -277.0)	0.47
MPV νεογνού (fL)	9.9 (8.2 -10.5)	8.8 (7.6 -10.0)	0.11
Υποθυρεοειδισμός (%)	12	38	0.01
Θρομβοφιλία (%)	8	4	0.49
Κάπνισμα (%)	21	27	0.55
Υπέρταση/προεκλαμψία (%)	8	12	0.65
HC (εκ)	33.6 (32.5-34.3)	31.2(29.7-32.0)	<0.001
AC (εκ)	28.9(27.5-30.5)	26.0(25.0-27.5)	<0.001
CI	1.3(1.2 -1.3)	1.6(1.5 -1.8)	<0.001
HC/AC	1.1(1.1-1.2)	1.2(1.1 -1.2)	0.26

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεση τιμή με εύρος διακύμανσης (25th-75thpctl) για τις αριθμητικές παραμέτρους και ως ποσοστά για τα κατηγορικά δεδομένα. ΕΘ: Εκατοστιαία θέση βάρους γέννησης. ΗΧΜΒ: Ηπαρίνη Χαμηλού Μοριακού Βάρους. Τα φάρμακα αφορούν στη μητέρα πριν τον τοκετό. *Στο 5 λεπτό όλα τα νεογνά είχαν Apgar score >8. ** Χορήγηση τελευταίας δόσης ασπιρίνης στη μητέρα περισσότερο ή λιγότερο από 7 ημέρες από τον τοκετό

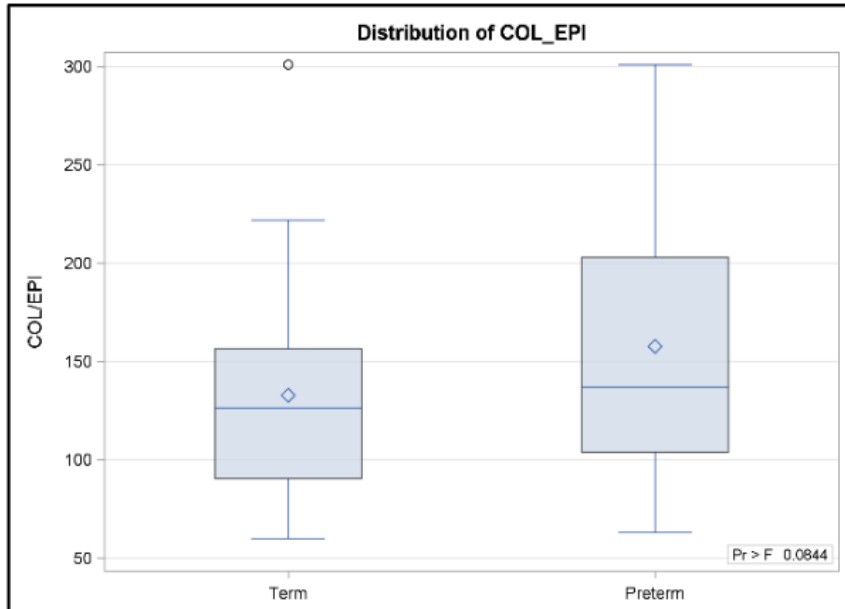
Προχωρήσαμε σε σύγκριση των χρόνων CTs μεταξύ των τελειόμηνων και πρόωρων νεογνών με ΕΥΑ. Τα πρόωρα νεογνά με ΕΥΑ παρουσιάζουν παρατεταμένους χρόνους με COL/EPI (COL/EPI CTs) σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά με ΕΥΑ (p=0.001). Δε διαπιστώνεται διαφορά στους χρόνους με COL/ADP (COL/ADP CTs), πίνακας 8 και σχήμα 3.

Πίνακας 8. COL/EPI και COL/ADP CT σε 48 τελειόμηνα και 24 πρόωρα νεογνά με ΕΥΑ ως διάμεσες τιμές με εύρος διακύμανσης (IQR 25th-75thpctl). Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε με Kruskal Wallis test.

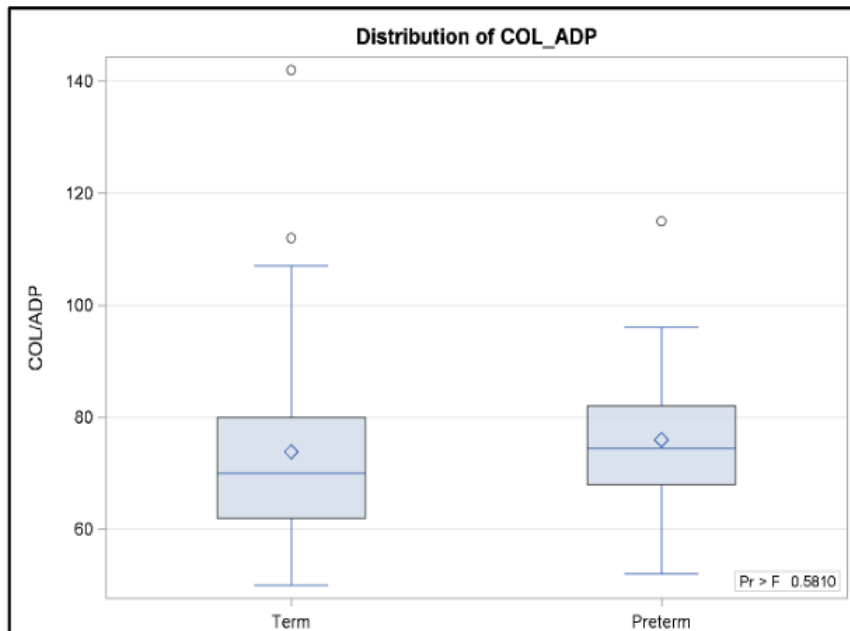
	Τελειόμηνα ΕΥΑ νεογνά (N=48)	Πρόωρα ΕΥΑ νεογνά (N=24)	p value
COL/EPI CT (δευτερόλεπτα)	126 (IQR 90-157)	137 (IQR 104-203)	0.001
COL/ADP CT (δευτερόλεπτα)	70 (IQR 62-80)	75 (IQR 68-82)	0.082

Σχήμα 3.

A. Box και Whisker plots για τις τιμές COL/EPI CT σε τελειόμηνα και πρόωρα νεογνά με ΕΥΑ ($p=0.001$).



B. Box και Whisker plots για τις τιμές COL/ADP CT σε τελειόμηνα και πρόωρα νεογνά με ΕΥΑ ($p=0.082$).



Η παρατηρούμενη επίδραση της ηλικίας κύησης στους CTs επιβεβαιώθηκε περαιτέρω με την εφαρμογή μοντέλου πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης στην ομάδα των νεογνών με ΕΥΑ. Παρατηρούμε ότι τα πρόωρα νεογνά με ΕΥΑ έχουν παρατεταμένο COL/EPI CT αλλά όχι COL/ADP CT σε σχέση με τελειόμηνα νεογνά με ΕΥΑ, πίνακας 9 και 10.

Πίνακας 9. Αποτελέσματα μοντέλου πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για το χρόνο COL/EPI CT.

Παράμετρος	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Ηλικία κύησης: Πρόωρη (ref Τελειόμηνη)	74.29	36.45654	2.0400	0.0479
Βάρος γέννησης	0.20	0.222949	0.8800	0.386
ΕΘ	3.74	2.960498	1.2600	0.2133
Θερμοκρασία στη γέννηση	36.96	25.23869	1.4600	0.1505
Φύλο: Θήλυ (ref Άρρεν)	11.75	17.55211	0.6700	0.5069
Είδος τοκετού ΚΤ (ref ΦΤ)	49.01	37.90503	1.2900	0.2031
Σύλληψη ART (ref Φυσική)	-6.31	31.42048	-0.2000	0.8417
Argar score 1' <7 (ref >8)	-36.92	50.81876	-0.7300	0.4715
Ομάδα αίματος νεογνού O (ref όχι O)	1.87	17.28878	0.1100	0.9143
Ασπιρίνη <7 ημέρες (ref όχι ασπιρίνη)	-38.62	54.69059	-0.7100	0.4839
Ασπιρίνη >7 ημέρες (ref όχι ασπιρίνη)	-1.22	30.78985	-0.0400	0.9686
ΗΧΜΒ: Όχι (ref Ναι)	23.98	46.90962	0.5100	0.6118
Αμπικιλλίνη: Όχι (ref Ναι)	44.44	35.13592	1.2600	0.2129
Πεθιδίνη: Όχι (ref Ναι)	19.38	73.33818	0.2600	0.7929
Επισκληρίδιος αναισθησία: Όχι (ref Ναι)	-7.13	38.97171	-0.1800	0.8557
Γενική αναισθησία: Όχι (ref Ναι)	-12.10	63.67192	-0.1900	0.8502
WBC νεογνού	0.00	0.003258	-0.6500	0.5205
Hb νεογνού	2.89	6.422763	0.4500	0.655
PLT νεογνού	0.00	0.000156	-0.6400	0.5236
MPV νεογνού	0.58	7.275947	0.0800	0.9368
Υποθυρεοειδισμός: Όχι (ref Ναι)	-2.10	26.96476	-0.0800	0.9384
Θρομβοφιλία: Όχι (ref Ναι)	11.42	60.17365	0.1900	0.8503
Κάπνισμα: Όχι (ref Ναι)	14.46	23.35469	0.6200	0.5391
Υπέρταση/προεκλαμψία: Όχι (ref Ναι)	39.64	36.34871	1.0900	0.2817
HC	-4.41	17.86879	-0.2500	0.8061
CI	216.99	349.858	0.6200	0.5385

Πίνακας 10. Αποτελέσματα μοντέλου πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για το χρόνο COL/ADP CT.

Παράμετρος	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t
Ηλικία κύησης: Πρόωρη (ref Τελειόμηνη)	-1.59	9.82	-0.16	0.8724
Βάρος γέννησης	0.09	0.06	1.52	0.1362
ΕΘ	0.66	0.81	0.81	0.4244
Θερμοκρασία στη γέννηση	0.94	6.78	0.14	0.8908
Φύλο: Θήλυ (ref Άρρεν)	-3.22	4.85	-0.66	0.5104
Είδος τοκετού ΚΤ (ref ΦΤ)	13.55	10.27	1.32	0.1941
Σύλληψη ART (ref Φυσική)	-8.36	8.49	-0.98	0.3305
Argar score 1' <7 (ref >8)	11.39	13.64	0.84	0.4085
Ομάδα αίματος νεογνού O (ref όχι O)	-3.69	4.67	-0.79	0.4342
Ασπιρίνη <7 ημέρες (ref όχι ασπιρίνη)	11.91	14.67	0.81	0.4216
Ασπιρίνη >7 ημέρες (ref όχι ασπιρίνη)	3.00	8.50	0.35	0.7261
ΗΧΜΒ: Όχι (ref Ναι)	13.01	12.64	1.03	0.3093
Αμπικιλλίνη: Όχι (ref Ναι)	11.41	9.45	1.21	0.2340
Πεθιδίνη: Όχι (ref Ναι)	2.49	19.69	0.13	0.9000
Επισκληρίδιος αναισθησία: Όχι (ref Ναι)	-1.71	10.56	-0.16	0.8719
Γενική αναισθησία: Όχι (ref Ναι)	3.88	17.40	0.22	0.8246
WBC νεογνού	0.00	0.00	-0.39	0.6955
Hb νεογνού	2.97	1.80	1.65	0.1061
PLT νεογνού	0.00	0.00	-0.65	0.5222
MPV νεογνού	-2.64	1.98	-1.34	0.1890
Υποθυρεοειδισμός: Όχι (ref Ναι)	2.99	7.24	0.41	0.6816
Θρομβοφιλία: Όχι (ref Ναι)	5.04	16.19	0.31	0.7573
Κάπνισμα: Όχι (ref Ναι)	1.20	6.43	0.19	0.8525
Υπέρταση/προεκλαμψία: Όχι (ref Ναι)	11.37	9.75	1.17	0.2505
HC	-5.84	4.96	-1.18	0.2465
CI	146.30	96.44	1.52	0.1369

Τέλος εφαρμόστηκε ένα σύνθετο μοντέλο να για ελεγχθεί ξεχωριστά τυχόν επίδραση της χρήσης ασπιρίνης από τη μητέρα στους CTs των νεογνών. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η χορήγηση ασπιρίνης δεν επηρεάζει τους COL/EPI και COL/ADP CTs ούτε στο σύνολο του πληθυσμού της μελέτης, ούτε στα AGA (control) νεογνά, ούτε στα νεογνά με EYA ούτε όταν έγινε διαχωρισμός σε πρόωρα και τελειόμηνα ($p>0.05$ σε όλες τις περιπτώσεις). Το ίδιο ίσχυε και όταν έγινε διαχωρισμός μεταξύ των ημερών που μεσολάβησαν από την τελευταία δόση μέχρι τον τοκετό (λιγότερο ή περισσότερο από 7 ημέρες).

VII. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. AGA ΝΕΟΓΝΑ

- Τιμές αναφοράς για τους χρόνους CTs σε ομφάλιο αίμα AGA νεογνών.

Είναι γνωστό πως ο in vitro υπολειτουργικός φαινότυπος των νεογνικών αιμοπεταλίων που παρουσιάζεται σε μελέτες συσσωματομετρίας και κυτταρομετρίας ροής δε μεταφράζεται κλινικά σε αιμορραγική διάθεση σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά. Μελέτες που χρησιμοποιούν τον αναλυτή PFA-100 με σκοπό τη σύγκριση της πρωτογενούς αιμόστασης μεταξύ νεογνών και ενηλίκων, συμφωνούν ότι τα νεογνά έχουν συντομότερους CTs σε σχέση με τους ενήλικες. (130, 131, 208-210) Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έρχονται σε συμφωνία με αυτά προηγούμενων μελετών. Για εύκολη σύγκριση των αποτελεσμάτων παρατίθεται ο πίνακας 11.

Πίνακας 11. Συγκεντρωτικός πίνακας διαφορών των χρόνων CTs μεταξύ ενηλίκων, τελειόμηνων νεογνών και πρόωρων νεογνών. (406)

	ΑΡΘΡΟ	N	COL/EPI CT (δευτερόλεπτα)	COL/ADP CT (δευτερόλεπτα)
Ενήλικες	Mammen et al, 1998	206	94 – 191	72 – 120
	Carcao et al, 1998	39	82 – 142	67 – 111
	Israels et al, 2001	21	89 – 133	74 – 108
	Roschitz et al, 2001	25	84 – 150	64 – 98
	Boudewijns et al, 2003	20	85 – 165	72 – 120
	Saxonhouse et al, 2010	10	95 – 135	63 – 84
Τελειόμηνα νεογνά	Carcao et al, 1998	17	61 – 108	48 – 65
	Israels et al, 2001	31	55 – 109	44 – 76
	Roschitz et al, 2001	70	50 – 112	43 – 98
	Boudewijns et al, 2003	80	49 – 168	40 – 92
	Saxonhouse et al, 2010	21	65 – 112	47 – 56
	Παρούσα μελέτη	104	76 – 164	59 – 85
Πρόωρα νεογνά	Saxonhouse et al, 2010	30	58 – 105	46 – 62
	Παρούσα μελέτη	14	101 – 178	64 – 86

Οι μελέτες στα νεογνά αναφέρονται μόνο σε δείγματα ομφάλιου αίματος.

Εάν συγκρίνουμε τους CTs των τελειόμηνων υγιών AGA νεογνών με τους αντίστοιχους των ενηλίκων, παρατηρούμε ότι στα νεογνά είναι ελαφρώς συντομότεροι σε σχέση με τους ενήλικες. Συγκεκριμένα για το COL/EPI CT οι τιμές αναφοράς στα τελειόμηνα νεογνά είναι (76s – 164s) ενώ στους ενήλικες το κατώτερο όριο είναι 84-95s και το ανώτερο όριο είναι 133-191s. Για το COL/ADP CT οι τιμές αναφοράς στα

τελειόμηνα νεογνά είναι (59-85s) ενώ στους ενήλικες το κατώτερο όριο είναι 63-74s ενώ το ανώτερο όριο είναι 84-120s. Η ενισχυμένη πρωτογενής αιμόσταση των τελειόμηνων νεογνών είναι πιο εμφανής με το COL/ADP αντιδραστήριο σε σχέση με το COL/EPI. Μια πιθανή εξήγηση είναι ο αυξημένος αιματοκρίτης που απαντάται στα νεογνά και η συνεπακόλουθη έκκριση ADP από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, η οποία θα μπορούσε να αντισταθμίσει τη μειωμένη έκκριση ADP από τα αιμοπετάλια. (407)

Όσο αφορά στα τελειόμηνα νεογνά, το εύρος αναφοράς των τιμών COL/EPI CT που παρουσιάζονται στη μελέτη μας (76s–164s) είναι συγκρίσιμο με τις τιμές που αναφέρονται από τους Boudewijnjs και συνεργάτες (49-168s) (209), αλλά ελαφρώς παρατεταμένοι σε σχέση με τις εργασίες των Roschitz και συν. (50-112s) (208), Carcao και συν. (61-108s) (130) και Saxophone και συν. (65-112s). (210) Ο μικρότερος αριθμός τελειόμηνων νεογνών σε αυτές τις μελέτες (70, 17 και 21 αντίστοιχα) καθώς και η απουσία αυστηρών κριτηρίων στην επιλογή του πληθυσμού αναφοράς πρέπει να ληφθεί υπόψιν στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Το εύρος αναφοράς των τιμών COL/ADP CT που παρουσιάζονται στη μελέτη μας (59-85s) είναι συγκρίσιμο με τα αποτελέσματα όλων των μελετών που εμφανίζονται στον πίνακα 11.

- **Ο χρόνος COL/EPI CT είναι παρατεταμένος στα πρόωρα AGA νεογνά συγκριτικά με τα τελειόμηνα AGA νεογνά σε στατιστικά σημαντικό βαθμό (0.0236).**

Εξετάζοντας τους χρόνους κλεισίματος για τα πρόωρα AGA νεογνά παρατηρούμε πως τόσο ο COL/EPI CT όσο και ο COL/ADP CT είναι παρατεταμένοι στα πρόωρα νεογνά σε σχέση με τα τελειόμηνα αλλά δεν ξεπερνούν και πάλι τις αντίστοιχες τιμές των ενηλίκων. Το εύρημα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τις εργασίες που υποστηρίζουν τη μεγαλύτερη υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων που συνοδεύει την προωρότητα. Τόσο μελέτες συσσωματομετρίας όσο και μελέτες με κυτταρομετρία ροής υποστηρίζουν ότι η υποαντιδραστικότητα των νεογνικών αιμοπεταλίων είναι πιο εμφανής όσο η ηλικία κύησης μειώνεται. (194, 196, 216, 217) Προς την ίδια κατεύθυνση τόσο μελέτες που ελέγχουν τους χρόνους ροής αναφέρουν παράταση (218) όσο και μελέτες με CPA παρουσιάζουν μειωμένη προσκόλληση αιμοπεταλίων στα πρόωρα νεογνά σε σύγκριση με τα τελειόμηνα. (219, 220)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας, οι COL/EPI CTs είναι παρατεταμένοι στα πρόωρα σε σχέση με τα τελειόμηνα νεογνά (149s vs. 111s) σε

στατιστικά σημαντικό βαθμό ($p=0.0236$) ενώ οι COL/ADP CTs ήταν επίσης παρατεταμένοι (78s vs. 72s), αλλά όχι στατιστικά σημαντικά. Μόνο μια μελέτη έχει ελέγξει τα προηγούμενα χρόνια τους χρόνους CTs σε ομφάλιο αίμα με τη χρήση του αναλυτή PFA-100 σε 30 πρόωρα νεογνά. (210) Στη συγκεκριμένη μελέτη η μέση τιμή των COL/EPI CTs ήταν 88,7s για τα τελειόμηνα και 81,1s για τα πρόωρα νεογνά και των COL/ADP CTs ήταν 51,3s για τα τελειόμηνα και 54,1s για τα πρόωρα νεογνά. Τα ευρήματα αυτά δεν αντικατοπτρίζουν με ξεκάθαρο τρόπο την υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων που συνοδεύει την προωρότητα. Σε αυτό μπορεί να συντελούν διάφορες περιγεννητικές παράμετροι οι οποίες δε φαίνεται να ελήφθησαν υπόψιν στο σχεδιασμό της μελέτης οπότε τα αποτελέσματα είναι περισσότερο πληθυσμιακά και δεν αφορούν σε AGA πρόωρα νεογνά.

- **Υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του COL/ADP CT και της ηλικίας κύησης (Spearman's $r = -0,184$, $p= 0.0475$).**

Όταν εξετάστηκε η συσχέτιση των διάφορων περιγεννητικών παραμέτρων με τους χρόνους κλεισίματος στο σύνολο των 118 AGA νεογνών, προέκυψε αρνητική συσχέτιση του COL/ADP CT με την ηλικία κύησης. Το εύρημα αυτό υποστηρίζει και μελέτη του Saxophone και συν. (210) Εάν αυτή η εκλεκτική συσχέτιση της ηλικίας κύησης με το COL/ADP CT σε σχέση με το COL/EPI CT σχετίζεται με κάποιο ιδιαίτερο μονοπάτι της ελλειμματικής λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων όσο μειώνεται η ηλικία κύησης, μένει να διευκρινιστεί από επιπρόσθετες μελέτες.

- **Υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του COL/ADP CT και του απόλυτου αριθμού αιμοπεταλίων (Spearman's $r = -0,188$, $p= 0.0437$).**

Προηγούμενες μελέτες στη βιβλιογραφία υποστηρίζουν ότι οι χρόνοι CTs μέσω του αναλυτή PFA-100 εξαρτώνται από τον απόλυτο αριθμό αιμοπεταλίων στα δείγματα αίματος, ειδικά για επίπεδα μικρότερα από $100 \times 10^9/L$. (84) Πιο πρόσφατες μελέτες αναφέρουν, από την άλλη πλευρά, ότι οι CTs δε φαίνεται να επηρεάζονται από τον αριθμό των αιμοπεταλίων. (120, 138) Το ίδιο υποστηρίζεται και από μερικές εργασίες σε νεογνικό και παιδιατρικό πληθυσμό. (408, 409) Όμως η πλειοψηφία των μελετών σε νεογνά καταδεικνύει την αρνητική συσχέτιση μεταξύ απόλυτου αριθμού αιμοπεταλίων και CTs. (148, 410) Η παρούσα μελέτη περιλαμβάνει στα αποτελέσματα

της την αρνητική συσχέτιση μεταξύ του απόλυτου αριθμού αιμοπεταλίων και του COL/ADP CT (Spearman's $r = -0,188$, $p = 0.0437$) όσο αφορά το σύνολο των υγιών AGA νεογνών. Η συσχέτιση του COL/ADP CT αλλά όχι του COL/EPI CT με τον αριθμό των αιμοπεταλίων υποστηρίζεται και από μελέτη των Deschmann και συν., που αναφέρουν παράταση μόνο των COL/ADP CTs σε δείγματα με αριθμό αιμοπεταλίων κάτω από $90 \times 10^9/L$. (411) Στη μελέτη μας θέσαμε το κατώτερο όριο των $100 \times 10^9/L$ αιμοπεταλίων για τον ορισμό των υγιών AGA νεογνών και τη συμπερίληψη τους στην ομάδα αναφοράς. Αυτό υπογραμμίζει ότι η αρνητική συσχέτιση μεταξύ COL/ADP CT και αιμοπεταλίων επεκτείνεται και στα μη θρομβοπενικά νεογνά.

2. ΝΕΟΓΝΑ ΜΕ EYA

- **Ο χρόνος COL/EPI CT είναι παρατεταμένος στα νεογνά με EYA σε σύγκριση με τα AGA νεογνά ($p=0.04$).**

Από τη μελέτη μας προκύπτει πως τα νεογνά με EYA παρουσιάζουν παρατεταμένους χρόνους COL/EPI CTs (132s) σε σχέση με τα AGA νεογνά (112,5s) ($p=0.04$), ενώ δε διαπιστώνεται η αντίστοιχη διαφορά για τους COL/ADP CTs. Για την ερμηνεία αυτών των αποτελεσμάτων και την αναζήτηση των υπεύθυνων μηχανισμών θα μπορούσαμε να βασιστούμε στον προτεινόμενο αλγόριθμο του Favoloro για τις περιπτώσεις με παρατεταμένο COL/EPI CT και φυσιολογικό COL/ADP CT. Σύμφωνα με τον αλγόριθμο, αυτή η εκλεκτική παράταση του COL/EPI CT θα μπορούσε να αποδοθεί σε χορήγηση ασπιρίνης, χαμηλό αιματοκρίτη, ήπια θρομβοπενία και διαταραχές των αιμοπεταλίων ή του VWF. (121)

Η χορήγηση ασπιρίνης ευθύνεται για παράταση του COL/EPI CT με COL/ADP CT συνήθως εντός φυσιολογικών ορίων. (128) Η σύσταση της ACOG για χορήγηση προφυλακτικής αγωγής με χαμηλή δόση ασπιρίνης με ενωρίς έναρξη (πριν τις 16 εβδομάδες) σε κυήσεις υψηλού κινδύνου (294) εξηγεί το μεγαλύτερο ποσοστό των μητέρων νεογνών με EYA που λάμβαναν ασπιρίνη (20%) σε σχέση με τις μητέρες των AGA νεογνών (8%). Τόσο το μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης όσο και το σύνθετο μοντέλο που εφαρμόστηκε για να ελεγχθεί ξεχωριστά τυχόν επίδραση της χρήσης ασπιρίνης από τη μητέρα στους χρόνους CTs των νεογνών, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η χορήγηση ασπιρίνης δεν επηρεάζει τους COL/EPI και COL/ADP CTs ούτε στο σύνολο του πληθυσμού της μελέτης, ούτε στα AGA, ούτε στα νεογνά με EYA ($p>0.05$ σε όλες τις περιπτώσεις). Το ίδιο ίσχυε και όταν έγινε διαχωρισμός μεταξύ

των ημερών που μεσολάβησαν από την τελευταία δόση μέχρι τον τοκετό. Αν και έχει ανιχνευθεί μικρή ποσότητα ASA στην εμβρυϊκή κυκλοφορία (231) και σχετικά μειωμένη παραγωγή TxB2 (412), μελέτες συσσωματομετρίας απέτυχαν να επιβεβαιώσουν διαταραχή στη λειτουργικότητα αιμοπεταλίων νεογνών των οποίων οι μητέρες λάμβαναν ασπιρίνη κατά τη διάρκεια της κύησης. (229, 230)

Ο χαμηλότερος αιματοκρίτης στα δείγματα αίματος σχετίζεται με παράταση των COL/EPI CTs. (121) Στην παρούσα μελέτη η ομάδα των νεογνών με EYA παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές αιματοκρίτη σε σύγκριση με τα AGA νεογνά, σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία που σημειώνει ότι η πολυκυτταραιμία είναι συχνό εύρημα στα νεογνά με EYA. (413) Επομένως οι μεταβολές στον αιματοκρίτη δεν μπορούν να εξηγήσουν τους παρατεταμένους COL/EPI CTs των νεογνών με EYA.

Η θρομβοπενία είναι ένας ακόμη παράγοντας που πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν όταν αξιολογούμε ένα αποτέλεσμα αναλυτή PFA-100 με παρατεταμένο COL/EPI CT και φυσιολογικό COL/ADP CT. (84, 118, 123) Αν και η θρομβοπενία αποτελεί χαρακτηριστικό του πληθυσμού των νεογνών με EYA, στην παρούσα μελέτη μπορεί ο αριθμός των αιμοπεταλίων να είναι μικρότερος στα νεογνά με EYA, οι δυο ομάδες όμως δε διαφέρουν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Για αυτό ευθύνεται πιθανώς το κατώτερο όριο των $100 \times 10^9/L$ αιμοπεταλίων που ορίστηκε το οποίο βασίστηκε στις οδηγίες του κατασκευαστή. Ο αποκλεισμός της θρομβοπενίας ως αιτία παράτασης του COL/EPI CT, οδηγεί στην υπόθεση ότι πιθανώς ευθύνονται άλλοι μηχανισμοί (π.χ. διαταραχές των αιμοπεταλίων) για το συγκεκριμένο αποτέλεσμα.

Ο έλεγχος των επιπέδων του VWF ήταν πέρα από τους σκοπούς της διατριβής. Είναι γνωστό πως τα νεογνά έχουν αυξημένα επίπεδα VWF που ευθύνονται για τους συντομότερους CTs. (214) Ο έλεγχος των επιπέδων VWF σε κυήσεις με EYA, κυρίως σε περιπτώσεις προεκλαμψίας, δείχνει αυξημένα επίπεδα στις μητέρες (414), τους πλακούντες (415) και στα νεογνά (μέσω μειωμένης ADAMTS13) (416), που αποδίδονται σε ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και παθολογική πλακουντοποίηση. Όπως και με τα αυξημένα επίπεδα αιματοκρίτη, πιθανόν τα επίπεδα αυτά δεν είναι ικανά να αντισταθμίσουν υποκείμενη αιμοπεταλιακή δυσλειτουργία.

Η παράταση του COL/EPI CT στα νεογνά με EYA θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα δυσλειτουργίας των αιμοπεταλίων. Η παράταση αυτή συμφωνεί με προηγούμενη μελέτη των Obe και συν., στην οποία διαπίστωσαν παρατεταμένους χρόνους κλεισίματος σε ομφάλιο αίμα 8 νεογνών με EYA. (389) Τα ευρήματα αυτά θα

πρέπει να επιβεβαιωθούν και από επιπρόσθετες καλά σχεδιασμένες μελέτες. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα, που αφορούν σε νεογνά μητέρων με προεκλαμψία, είναι αντιφατικά. Από τη μια πλευρά αναφέρεται υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων με μειωμένη προσκόλληση σε CPA (227) και μειωμένη έκφραση GPs σε μελέτες κυτταρομετρίας ροής. (390) Από την άλλη πλευρά, άλλες μελέτες με κυτταρομετρία ροής αναφέρουν αυξημένη έκφραση GPs στην επιφάνεια ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων νεογνών μητέρων με προεκλαμψία (391) και αυξημένες συγκεντρώσεις P-σελεκτίνης στην εμβρυική κυκλοφορία. (393) Η εκλεκτικότητα μάλιστα στην έλλειψη παράτασης του COL/ADP CT μπορεί να αποδοθεί πέρα από τον αυξημένο αιματοκρίτη και σε αυξημένη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων των νεογνών μητέρων με προεκλαμψία όταν το ADP χρησιμοποιείται ως ενεργοποιητής σε κυτταρομετρία ροής. (391)

- **Ο χρόνος COL/ADP CT είναι συντομότερος σε νεογνά με ΕΥΑ που γεννιούνται με φυσιολογικό τοκετό (p=0.007).**

Ο χρόνος COL/ADP CT είναι συντομότερος σε νεογνά με ΕΥΑ που γεννιούνται με κολπικό τοκετό (62s) σε σχέση με εκείνα που γεννιούνται με καισαρική τομή (74s) (p 0.007) και αυτό μπορεί να αποδοθεί στα αυξημένα επίπεδα κυτοκινών (IL-6, IL-1β, TNF-alpha) που ανευρίσκονται σε κολπικούς τοκετούς. (417-419) Η IL-6 επάγει τη θρομβοκυττάρωση μέσω TPO (420), ενισχύει την επαγόμενη από θρομβίνη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, προάγει την απελευθέρωση VWF (421) και ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια μέσω του AA. (422) Ο διαλυτός υποδοχέας της IL-6 απελευθερώνεται έπειτα από ενεργοποίηση αιμοπεταλίων με επινεφρίνη και ADP και εμπλέκεται στη σύνδεση με το ενδοθήλιο. (423) Τέλος, η IL1β ενισχύει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (424) ενώ τόσο η IL-1β όσο και η IL-6 προκαλούν υπεραντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων επιβεβαιωμένη μέσω TEG. (425)

- **Ο χρόνος COL/ADP CT είναι συντομότερος σε νεογνά με ΕΥΑ που οι μητέρες τους έλαβαν αμπικιλίνη περί τον τοκετό (p=0.005).**

Προηγούμενες μελέτες υποστηρίζουν ότι η ADP-επαγόμενη συσσώρευση των αιμοπεταλίων αναστέλλεται τόσο σε ενήλικες (426), όσο και VLBW νεογνά (241) και νεογνά σε MENN (240) που λαμβάνουν αμπικιλίνη. Η παρούσα εργασία καταλήγει

στο αντίθετο συμπέρασμα όσο αφορά στην ομάδα των νεογνών με ΕΥΑ. Τα νεογνά με ΕΥΑ στις μητέρες των οποίων χορηγήθηκε αμπικιλίνη προ του τοκετού είχαν μέσο COL/ADP CT 59 s, έναντι 74s ($p = 0.005$). Υπάρχουν πιθανές εξηγήσεις για το αποτέλεσμα αυτό. Αρχικά στη μελέτη μας η χορήγηση αφορά σε μια δόση αμπικιλίνης στη μητέρα προ τοκετού και έλεγχο της επίδρασης στους χρόνους CTs του νεογνού, όχι σε χορήγηση πολλαπλών δόσεων στο ίδιο το νεογνό. Δεύτερον στα νεογνά της μελέτης μας δεν συμπεριλαμβάνονταν περιπτώσεις λοίμωξης (π.χ. χοριοαμνιονίτιδα) ενώ οι προηγούμενες μελέτες αναφέρονται σε νεογνά με λοίμωξη.

- **Ο χρόνος COL/ADP CT είναι παρατεταμένος σε νεογνά με ΕΥΑ που οι μητέρες τους έλαβαν επισκληρίδιο αναισθησία ($p=0.032$).**

Τα αποτελέσματα της παρούσα μελέτης καταδεικνύουν παράταση στους COL/ADP CTs στην ομάδα των νεογνών με ΕΥΑ στις μητέρες των οποίων χορηγήθηκε επισκληρίδιος αναισθησία (73s) σε σχέση με τις μητέρες που δε χορηγήθηκε (62s) ($p = 0.032$). Πράγματι η ADP επαγόμενη συσσώρευση των αιμοπεταλίων μειώνεται μετά από επισκληρίδιο αναισθησία με βουπιβακαΐνη 0.5% (427), ο PAF μειώνεται με τη λιδοκαΐνη (428) και η αιμοπεταλιακή συσσώρευση αναστέλλεται με τη ροπιβακαΐνη σε μελέτη με αναλυτή PFA-100. (429)

- **Τόσο ο χρόνος COL/EPI CT όσο και ο COL/ADP CT δε φαίνεται να διαφέρουν ανάλογα με την αιτία που προκαλεί την ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση (υποθυρεοειδισμός, θρομβοφιλία, κάπνισμα, υπέρταση/προεκλαμψία).**

Ένα πολύ σημαντικό εύρημα της μελέτης είναι το γεγονός πως τα διάφορα αίτια ενδομήτριας καθυστέρησης της αύξησης δε φαίνεται να επηρεάζουν ξεχωριστά με διαφορετικό τρόπο τους χρόνους CTs των νεογνών με ΕΥΑ. Το σύνολο των νεογνών αυτών που αποτελούν μια ομάδα υψηλού κινδύνου νεογνών με αρκετές περιγεννητικές επιπλοκές φαίνεται να απαντά με τον ίδιο τρόπο όσο αφορά στην πρωτογενή αιμόσταση και αυτό αποτελεί σημαντικό εργαλείο στην κοινή διαχείρισή τους.

- **Ο χρόνος COL/EPI CT είναι παρατεταμένος στα νεογνά με EYA σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά με EYA ($p=0.001$). Το εύρημα αυτό επιβεβαιώθηκε και με εφαρμογή μοντέλου πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης.**

Ο COL/EPI CT είναι παρατεταμένος στα πρόωρα νεογνά με EYA (137s) σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά με EYA (126s) ($p=0.001$), ενώ δεν παρατηρείται αντίστοιχη διαφορά για τον COL/ADP CT, ο οποίος είναι παρατεταμένος αλλά όχι σε βαθμό στατιστικά σημαντικό. Βασιζόμενοι και πάλι στον αλγόριθμο του Favalloro (121) για ερμηνεία του παρατεταμένου COL/EPI CT με COL/ADP CT εντός φυσιολογικών ορίων, εξετάζουμε την επίδραση της χορήγησης ασπιρίνης στη μητέρα, των διαφορών σε αιματοκρίτη και αριθμό αιμοπεταλίων και την πιθανή διαταραχή αιμοπεταλίων στα πρόωρα νεογνά με EYA. Όσο αφορά στη χορήγηση ασπιρίνης, παρά το ότι μεγαλύτερο ποσοστό πρόωρων νεογνών εκτέθηκαν σε προγεννητική χορήγηση ασπιρίνης, η υποανάλυση δεν επιβεβαιώνει επίδραση της ασπιρίνης στους CTs ούτε στην ομάδα των πρόωρων ούτε στην ομάδα των τελειόμηνων νεογνών με EYA. Επιπρόσθετα οι δυο ομάδες πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών με EYA δε διέφεραν στις αιματολογικές παραμέτρους (αιματοκρίτη και αριθμό αιμοπεταλίων).

Η προωρότητα έχει συσχετισθεί με παρατεταμένους χρόνους ροής (BT) (218), μειωμένη ενεργοποίηση αιμοπεταλίων σε μελέτες κυτταρομετρίας ροής (190), μειωμένη προσκολλητική ικανότητα σε CPA (219, 220), παρατεταμένους COL/ADP CTs σε PFA-100 (210) και μειωμένη MCF σε ROTEM. (430) Οι περισσότεροι υποστηρίζουν ότι η καταγεγραμμένη *in vitro* υποαντιδραστικότητα των νεογνικών αιμοπεταλίων, αντισταθμίζεται λιγότερο αποτελεσματικά από τον αυξημένο αιματοκρίτη, τα μεγάλα πολυμερή του VWF κ.α. στα πρόωρα νεογνά, τα οποία διατρέχουν και το μεγαλύτερο κίνδυνο αιμορραγίας. Μελέτη με CPA σε πρόωρα νεογνά μητέρων με υπέρταση κύησης έρχεται να επιβεβαιώσει την υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων στα πρόωρα νεογνά με EYA (227) όπως παρουσιάζει η εργασία μας.

Στην παρούσα μελέτη η ομάδα των πρόωρων νεογνών με EYA αποτελείται κυρίως από όψιμα πρόωρα νεογνά (δηλαδή με ηλικία κύησης 34 με 36+6 εβδομάδες). Τέσσερα στα 26 πρόωρα νεογνά είχαν ηλικία κύησης μικρότερη από 34 εβδομάδες, το μικρότερο 33 + 2 εβδομάδων. Το εύρημα όμως της παράτασης του COL/EPI CT ακόμη και στα όψιμα πρόωρα νεογνά με EYA ενισχύει τη θέση πως η διαταραχή της

λειτουργικότητας που συνοδεύει τα πρόωρα νεογνά εμφανίζεται και στα όψιμα πρόωρα και στα νεογνά με ΕΥΑ.

3. ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΙΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΟΜΦΑΛΙΟ ΛΩΡΟ

Είναι σημαντικό να σημειωθεί πως τα αποτελέσματα των εξετάσεων που αφορούν στους αιμοστατικούς μηχανισμούς επηρεάζονται από αρκετούς παράγοντες όπως ο τρόπος αιμοληψίας, το δείγμα αίματος (ομφάλιο αίμα, περιφερικό φλεβικό, αρτηριακό), η συγκέντρωση αντιπηκτικού, η επεξεργασία του δείγματος και η τεχνική/ αναλυτής που χρησιμοποιείται. Για αυτό είναι σημαντικό κάθε εργαστήριο να εφαρμόζει τις δικές του τιμές αναφοράς.

Ο έλεγχος της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων είναι επίπονος στα νεογνά λόγω του μεγάλου όγκου αίματος που συνήθως απαιτείται, των αιμοληψιών και των εξειδικευμένων εργαστηρίων. Ο αναλυτής PFA-100 είναι ένα POCT που δίνει τη δυνατότητα να έχουμε άμεσα, μέσα σε λίγα λεπτά, αποτελέσματα με μικρούς όγκους αίματος (0,8 mL) και χωρίς επεξεργασία του δείγματος. Τα αποτελέσματα, οι δυο CTs, είναι εύκολο να αξιολογηθούν με βάση τιμές αναφοράς.

Τα δείγματα ομφάλιου αίματος προσφέρουν το πλεονέκτημα της εύκολης πρόσβασης και της αποφυγής των αιμοληψιών στα νεογνά, που αποτελούν παράγοντα πρόκλησης αναιμίας στα νεογνά. Τα δείγματα ομφάλιου αίματος είναι αξιόπιστα για την αξιολόγηση του αριθμού των αιμοπεταλίων (431) και της έκφρασης των GPs στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων (190) και προτείνεται η χρήση τους για τον αρχικό διαγνωστικό έλεγχο ειδικά σε πρόωρα νεογνά. (431) συντριπτική πλειοψηφία μελετών που χρησιμοποιούν PFA-100 για την αξιολόγηση της πρωτογενούς αιμόστασης στο νεογνικό πληθυσμό, έχει πραγματοποιηθεί σε δείγματα ομφάλιου αίματος. (130, 131, 208, 209) Μόνο μια μελέτη αναφέρει παρατεταμένους CTs σε δείγματα περιφερικού αίματος νεογνών σε σχέση με τα δείγματα ομφάλιου, όμως στη συγκεκριμένη μελέτη τα δείγματα δεν ήταν σειριακά και οι πληθυσμοί δεν είχαν τα ίδια χαρακτηριστικά (πχ στα νεογνά στα οποία ελήφθη περιφερικό αίμα είχε χορηγηθεί αμπικιλλίνη, ινδομεθακίνη κλπ.) (210)

4. ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφέρουμε ότι σε κανένα από τα νεογνά τις μελέτης δε διαπιστώθηκε σοβαρό αιμορραγικό συμβάν κατά τη διάρκεια παραμονής τους στη Νεογνολογική Κλινική. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι λόγω των οδηγιών του κατασκευαστή για τη χρήση του αναλυτή PFA-100, νεογνά με αριθμό αιμοπεταλίων μικρότερο από $100 \times 10^9/L$ αποκλείστηκαν από τη μελέτη, ώστε τα αποτελέσματα να είναι πιο αξιόπιστα και οι CTs να αντικατοπτρίζουν καλύτερα τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων. Επίσης ο πληθυσμός της μελέτης μας δεν περιλαμβάνει εξαιρετικά πρόωρα νεογνά που διατρέχουν και το μεγαλύτερο κίνδυνο αιμορραγικών επιπλοκών. Τέλος ο αυξημένος αιματοκρίτης των νεογνών με ΕΥΑ πιθανά επηρεάζει συνολικά την πρωτογενή αιμόσταση και την εκδήλωση κλινικά αιμορραγικών διαταραχών.

VIII. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Οι τιμές των χρόνων COL/EPI CT και COL/ADP CT που μετρήθηκαν σε ομφάλιο αίμα από 118 υγιή πρόωρα και τελειόμηνα AGA νεογνά μπορούν να θεωρηθούν τιμές αναφοράς για το εργαστήριο μας.
2. Ο χρόνος COL/EPI CT είναι παρατεταμένος τόσο στα πρόωρα AGA νεογνά όσο και στα πρόωρα νεογνά με ΕΥΑ, αντανακλώντας την υπολειτουργικότητα των αιμοπεταλίων που συνοδεύει την προωρότητα.
3. Όσο αφορά στο σύνολο των νεογνών με ΕΥΑ φαίνεται η υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων να εκφράζεται μέσα από τους παρατεταμένους χρόνους COL/EPI CTs. Η εκδήλωση με παράταση μόνο του COL/EPI CT και όχι του COL/ADP CT οφείλεται πιθανώς σε ένα ξεχωριστό παθογενετικό μονοπάτι που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Η αύξηση του αιματοκρίτη θα μπορούσε να δρα αντισταθμιστικά στην απουσία εκδήλωσης σοβαρών αιμορραγικών διαταραχών.
4. Στην ομάδα των νεογνών με ΕΥΑ πέρα από την προωρότητα, θα πρέπει να λαμβάνουμε υπόψιν και άλλες περιγεννητικές παραμέτρους στην αξιολόγηση των χρόνων CTs.
5. Η μέθοδος PFA-100 προσφέρει τη δυνατότητα γρήγορης και απλής αρχικής αξιολόγησης της πρωτογενούς αιμόστασης και αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο στην καθημερινή κλινική πράξη.
6. Τα δείγματα αίματος ομφάλιου λώρου προσφέρουν τη δυνατότητα πολλαπλών μετρήσεων (π.χ. αέρια αίματος, ομάδα αίματος) αλλά και των χρόνων CTs μέσω PFA-100, όπως παρουσιάζεται στη μελέτη μας, και μπορούν να έχουν έναν προγνωστικό χαρακτήρα θέτοντας σε αυξημένη επιτήρηση νεογνά υψηλού κινδύνου, όπως τα νεογνά με ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση. Σε κάθε περίπτωση απαιτούνται επιπρόσθετες μελέτες και σε δείγματα περιφερικού αίματος ώστε να αποδειχθεί η αξιοπιστία του PFA-100 όχι μόνο ως διαγνωστικό αλλά και ως θεραπευτικό εργαλείο.

ΙΧ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΕΛΛΗΝΙΚΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Η λειτουργία της αιμόστασης στον ανθρώπινο οργανισμό στηρίζεται στη λεπτή ισορροπία ανάμεσα στην αναχαίτιση της αιμορραγίας και την αποφυγή της θρόμβωσης. Αποτελείται από 3 βασικά στάδια: την πρωτογενή αιμόσταση, τη δευτερογενή αιμόσταση και την ινωδόλυση. Η πρωτογενής αιμόσταση στηρίζεται στην αγγειοσύσπαση και τη δημιουργία αιμοπεταλιακού θρόμβου. Τα αιμοπετάλια, ως βασικοί πρωταγωνιστές, συμμετέχουν μέσω μιας σειράς αλληλένδετων διαδικασιών που περιλαμβάνουν την προσκόλληση στο τραυματισμένο ενδοθήλιο, την ενεργοποίησή τους (αλλαγή σχήματος και αποκοκκίωση) και τη συσσώρευση τους στον αρχικό ασταθή θρόμβο. Οι διαδικασίες αυτές στηρίζονται στη σύνδεση μακρομορίων πχ VWF, κολλαγόνο με γλυκοπρωτεΐνες της επιφάνειάς τους, που οδηγούν κάθε φορά μέσω ποικίλων σηματοδοτικών μονοπατιών στην ενεργοποίηση και αποκοκκίωση τους. Το μικροπεριβάλλον που σχηματίζεται σε συνδυασμό με τις συνθήκες της διατημητικής τάσης στο αγγείο καθορίζουν τις συνδέσεις που θα οδηγήσουν σε συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Η μελέτη της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και της πρωτογενούς αιμόστασης στηρίζεται τα τελευταία χρόνια σε μια σειρά εξετάσεων που βασίζονται στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (π.χ. LTA), στην προσκόλληση σε υψηλό στρες διάτμησης (π.χ. PFA-100), στις μεταβολές των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων, σε κυτταρομετρία ροής και έλεγχο αποκοκκίωσης. Κάθε μια έχει ξεχωριστά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα ενώ γίνεται προσπάθεια εφαρμογής point-of-care tests (POCTs) τα τελευταία χρόνια με σκοπό την ευρεία χρήση τους στην κλινική πράξη.

Η μέθοδος PFA-100 αποτελεί μια γρήγορη, απλή και αναπαραγώγιμη εξέταση αξιολόγησης της πρωτογενούς αιμόστασης. Βασίζεται στην προσκόλληση, ενεργοποίηση και συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων σε συνθήκες υψηλού στρες διάτμησης αποτυπώνοντας με τον καλύτερο δυνατό τρόπο in vitro τις διαδικασίες της πρωτογενούς αιμόστασης. Η αξιολόγηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων στηρίζεται στο χρόνο που απαιτείται για να κλείσει η οπή μιας μεμβράνης με συσσωματώματα αιμοπεταλίων. Ο χρόνος αυτός εκφράζεται ως χρόνος κλεισίματος – closure time (CT). Η μεμβράνη ανάλογα με το φυσίγγιο καλύπτεται είτε από κολλαγόνο και επινεφρίνη (COL/EPI) είτε από κολλαγόνο και ADP(COL/ADP). Προκύπτουν έτσι

δύο CTs η τιμή και ο συνδυασμός των οποίων προσανατολίζει σε διάφορες διαταραχές της πρωτογενούς αιμόστασης.

Η αιμοστατική ισορροπία στο νεογνικό πληθυσμό είναι διαφορετική από τους ενήλικες και είναι μια εξελισσόμενη διαδικασία. Όσο αφορά στην πρωτογενή αιμόσταση η *in vitro* υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων αντισταθμίζεται στα υγιή τελειόμηνα νεογνά αποτελεσματικά από άλλους μηχανισμούς όπως τα υψηλά επίπεδα VWF, ο υψηλός αιματοκρίτης και MCV και θα πρέπει να εκλαμβάνεται ως μέρος ενός προσεκτικά ισορροπημένου νεογνικού αιμοστατικού συστήματος, αντί για αναπτυξιακή ανεπάρκεια. Όσο αφορά στη δευτερογενή αιμόσταση και την ινωδολυση φαίνεται πως τα μειωμένα επίπεδα παραγόντων πήξης αντιροπούνται από τα μειωμένα επίπεδα φυσικών ανασταλτών και τη μειωμένη ινωδολυτική ικανότητα. Οι μεταβολές αυτές προσαρμοστικότητα είναι γνωστές με τον όρο «Αναπτυξιακή Αιμόσταση»-«Developmental Hemostasis». Ενδιαφέρον και πεδίο έρευνας παρουσιάζει το αν και πώς η προωρότητα και οι διάφορες ασθένειες της μητέρας και του νεογνού διαταράσσουν αυτό το ευαίσθητο σύστημα.

Ως ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση (EYA) ορίζεται ο ρυθμός εμβρυϊκής ανάπτυξης που είναι μικρότερος από τον κανονικό για το δυναμικό ανάπτυξης ενός συγκεκριμένου βρέφους ανάλογα με τη φυλή και το φύλο του εμβρύου. Είναι σημαντικό να διαχωρίζεται από τον όρο SGA που αναφέρεται σε νεογνά με βάρος γέννησης μικρότερο από το 10ο εκατοστημόριο για τη συγκεκριμένη ηλικία κύησης. Νεογνά με EYA αντιπροσωπεύουν το 25% των γεννήσεων, δηλαδή περίπου 30 εκατομμύρια νεογέννητα ετησίως. Οφείλεται σε μητρικούς, πλακουντιακούς ή εμβρυϊκούς παράγοντες και διακρίνεται σε δυο μεγάλες κατηγορίες, το συμμετρικό και τον ασύμμετρο τύπο. Η EYA σχετίζεται τόσο με άμεσες μεταγεννητικές επιπλοκές όσο και με σοβαρές μακροχρόνιες επιπτώσεις. Το αιματολογικό προφίλ των νεογνών με EYA χαρακτηρίζεται από αύξηση του αιματοκρίτη, μείωση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων χωρίς όμως να έχει μελετηθεί εκτενώς και σε βάθος το αιμοστατικό προφίλ τους.

Τα τελευταία χρόνια φαίνεται να κερδίζει ενδιαφέρον η μελέτη της επίπτωσης της EYA στη νεογνική αιμόσταση. Η θρομβοπενία αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό των νεογνών με EYA μέσω ποικίλων προτεινόμενων παθοφυσιολογικών μηχανισμών. Οι μελέτες που αφορούν στον έλεγχο της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων νεογνών με EYA είναι λίγες και δεν καταλήγουν σε σαφή συμπεράσματα, με άλλες να

παρουσιάζουν υπεραντιδραστικότητα και άλλες υπολειτουργικότητα των αιμοπεταλίων σε αυτή την ομάδα των νεογνών.

ΣΚΟΠΟΣ: Η παρούσα μελέτη είχε σκοπό αρχικά να καθοριστεί το εύρος τιμών αναφοράς των CTs σε δείγματα ομφάλιου αίματος από υγιή AGA πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά. Βασικός στόχος ήταν να προσδιοριστούν οι CTs σε δείγματα ομφάλιου αίματος πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών με EYA, να συγκριθούν με τους αντίστοιχους των AGA νεογνών και να συσχετιστούν με διάφορες περιγεννητικές παραμέτρους.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ: Το υλικό της διδακτορικής διατριβής αποτελούν 192 νεογνά τα οποία γεννήθηκαν στο Αρεταίειο Νοσοκομείο το διάστημα από τον Ιανουάριο 2017 έως και το Δεκέμβριο 2018. Στην ομάδα των 118 υγιών AGA νεογνών (control) συμπεριελήφθησαν 104 τελειόμηνα νεογνά (με ηλικία κύησης μεγαλύτερη από 37 εβδομάδες και κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης) και 14 πρόωρα νεογνά (με ηλικία κύησης μικρότερη από 37 εβδομάδες και κανονικό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης). Στην ομάδα των 74 νεογνών με EYA συμπεριελήφθησαν 48 τελειόμηνα νεογνά (με ηλικία κύησης μεγαλύτερη ή ίση από 37 εβδομάδες τα οποία πληρούσαν τα κριτήρια χαρακτηρισμού για EYA) και 26 πρόωρα νεογνά (με ηλικία κύησης μικρότερη από 37 εβδομάδες τα οποία πληρούσαν τα κριτήρια χαρακτηρισμού για EYA). Σε όλα τα νεογνά της μελέτης ελήφθη λεπτομερές οικογενειακό, μαιευτικό, περιγεννητικό και νεογνικό ιστορικό. Σε κάθε κύηση καταγράφηκε η αιτία της EYA. Και στις 2 ομάδες (AGA και EYA) εφαρμόστηκαν αυστηρά κριτήρια αποκλεισμού. Όλα τα δείγματα αίματος ελήφθησαν από την ομφαλική φλέβα διπλά απολινωμένου ομφάλιου λώρου από εκπαιδευμένο προσωπικό και εξετάστηκαν χωρίς πρόσθετη επεξεργασία με τον αναλυτή PFA-100® - Platelet Function Analyzer (DADE BEHRING) μέσα σε 4 ώρες από την αιμοληψία. Για κάθε δείγμα αίματος έγινε καταγραφή δυο CTs σε δευτερόλεπτα, COL/EPI CT και COL/ADP CT.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:

AGA νεογνά: Οι τιμές αναφοράς του εργαστηρίου μας σε δείγματα ομφάλιου αίματος είναι στα τελειόμηνα AGA νεογνά COL/EPI CT 76s - 164s και COL/ADP CT 59s - 85s. Για τα πρόωρα AGA νεογνά είναι COL/EPI CT 101s - 178s και COL/ADP CT 64s - 86s. Ο χρόνος COL/EPI CT είναι παρατεταμένος στα πρόωρα AGA νεογνά (149s) συγκριτικά με τα τελειόμηνα AGA νεογνά (111s) σε στατιστικά σημαντικό βαθμό (0.0236). Το εύρημα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τις εργασίες που υποστηρίζουν τη

μεγαλύτερη υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων που συνοδεύει την προωρότητα. Υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του COL/ADP CT και της ηλικίας κύησης (Spearman's $r = -0,184$, $p = 0.0475$) και του COL/ADP CT και του απόλυτου αριθμού αιμοπεταλίων (Spearman's $r = -0,188$, $p = 0.0437$).

Νεογνά με ΕΥΑ: Από τη μελέτη μας προκύπτει πως τα νεογνά με ΕΥΑ παρουσιάζουν παρατεταμένους χρόνους COL/EPI CTs (132s) σε σχέση με τα AGA νεογνά (112,5s) ($p=0.04$), ενώ δε διαπιστώνεται η αντίστοιχη διαφορά για τους COL/ADP CTs. Ο χρόνος COL/ADP CT είναι συντομότερος σε νεογνά με ΕΥΑ που γεννιούνται με φυσιολογικό τοκετό ($p=0.007$), σε νεογνά με ΕΥΑ που οι μητέρες τους έλαβαν αμικικιλίνη περί τον τοκετό ($p=0.005$) και παρατεταμένος σε νεογνά με ΕΥΑ που οι μητέρες τους έλαβαν επισκληρίδιο αναισθησία ($p=0.032$). Τόσο ο χρόνος COL/EPI CT όσο και ο COL/ADP CT δε φαίνεται να διαφέρουν ανάλογα με την αιτία που προκαλεί την ΕΥΑ. Ο COL/EPI CT είναι παρατεταμένος στα πρόωρα νεογνά με ΕΥΑ (137s) σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά με ΕΥΑ (126s) ($p=0.001$), ενώ δεν παρατηρείται αντίστοιχη διαφορά για τον COL/ADP CT.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Ο χρόνος COL/EPI CT είναι παρατεταμένος τόσο στα πρόωρα AGA νεογνά όσο και στα πρόωρα νεογνά με ΕΥΑ, αντανακλώντας την υπολειτουργικότητα των αιμοπεταλίων που συνοδεύει την προωρότητα. Όσο αφορά στο σύνολο των νεογνών με ΕΥΑ φαίνεται η υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων να εκφράζεται μέσα από τους παρατεταμένους χρόνους COL/EPI CTs. Η αύξηση του αιματοκρίτη θα μπορούσε να δρα αντισταθμιστικά στην απουσία εκδήλωσης σοβαρών αιμορραγικών διαταραχών. Στην ομάδα των νεογνών με ΕΥΑ πέρα από την προωρότητα, θα πρέπει να λαμβάνουμε υπόψιν και άλλες περιγεννητικές παραμέτρους στην αξιολόγηση των χρόνων CTs. Η μέθοδος PFA-100 προσφέρει τη δυνατότητα γρήγορης και απλής αρχικής αξιολόγησης της πρωτογενούς αιμόστασης και αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο στην καθημερινή κλινική πράξη. Τα δείγματα αίματος ομφάλιου λώρου μπορούν να έχουν έναν προγνωστικό χαρακτήρα θέτοντας σε αυξημένη επιτήρηση νεογνά υψηλού κινδύνου. Η μελέτη μας θα μπορούσε να βοηθήσει στην ευρύτερη χρήση της μεθόδου PFA-100 στην κλινική νεογνολογία συμβάλλοντας στην καλύτερη εκτίμηση της αιμόστασης στα νεογνά με ΕΥΑ.

X. ABSTRACT

INTRODUCTION: The function of human hemostasis is based on the delicate balance between stopping bleeding and avoiding clotting. It consists of 3 main stages: primary hemostasis, secondary hemostasis and fibrinolysis. Primary hemostasis relies on vasoconstriction and platelet thrombus formation. Platelets, as key players, participate through a series of interrelated processes that include adhesion to the injured endothelium, activation (changes in shape and degranulation), and aggregation into the initial unstable thrombus. These processes are based on the connection of macromolecules such as von Willebrand factor (VWF) and collagen with glycoproteins on platelets' surface, which lead, through various signaling pathways, to their activation and degranulation. The microenvironment in combination with shear stress in vessels determine the connections that will take part in platelet aggregation.

The study of platelet function and primary hemostasis has been based in recent years on a series of tests based on platelet aggregation, adhesion with high shear stress conditions (e.g., PFA-100), changes of viscoelastic nature, flow cytometry and study of degranulation. Each one has distinct advantages and disadvantages. During last decades, an attempt to apply point-of-care tests (POCTs) has been made, which aims to their widespread use in clinical practice.

The PFA-100 method is a rapid, simple, and reproducible test to assess primary hemostasis. It is based on the adhesion, activation, and aggregation of platelets in conditions of high shear stress, representing, *in vitro*, the processes of primary hemostasis. The evaluation of platelet function is based on the time required to close the hole of a membrane with platelet aggregates. This time is expressed as closure time (CT). Depending on the cartridge, the membrane is covered with either collagen and epinephrine (COL/EPI) or collagen and ADP (COL/ADP). The results are two CTs, the value and combination of which point to various disorders of primary hemostasis.

Neonatal hemostatic balance is an evolving process that differs from the one in adults. Regarding primary hemostasis, *in vitro* platelet hyporeactivity is compensated, in healthy term neonates, effectively by other mechanisms such as high VWF levels, high hematocrit, and should be considered part of a carefully balanced

neonatal hemostatic system, rather than a developmental defect. Regarding secondary hemostasis and fibrinolysis, it seems that the reduced levels of coagulation factors are compensated by the reduced levels of natural inhibitors and the reduced fibrinolytic capacity. These adaptive changes are known by the term "Developmental Hemostasis". Whether and how prematurity and various maternal and neonatal diseases disrupt this sensitive system remains a field of interest and research.

Intrauterine growth restriction (IUGR) is defined as fetal growth rate that is less than normal for the growth potential of a particular infant based on the race and sex of the fetus. It is important to distinguish the term "IUGR" from the term "SGA", which refers to infants with a birth weight less than the 10th percentile for that gestational age. IUGR neonates represent 25% of births worldwide, i.e. approximately 30 million newborns per year. Causes of IUGR include maternal, placental or fetal factors and neonates are divided into two major categories, the symmetric and the asymmetric type. IUGR is associated with both immediate postnatal complications and serious long-term effects. The hematological profile of IUGR neonates is characterized by increased hematocrit, decreased leukocyte and platelet count, but their hemostatic profile has not been studied extensively and in depth.

In recent years, the study of the impact of IUGR on neonatal hemostasis seems to be gaining interest. Thrombocytopenia is a common feature of IUGR neonates through a variety of proposed pathophysiological mechanisms. The studies concerning the platelet function of IUGR neonates are few and do not reach clear conclusions, with some showing hyperreactivity and others hypofunction of platelets in this group of neonates.

OBJECTIVE: The present study initially aimed to determine the reference range of CTs in umbilical cord blood samples from healthy appropriate for gestational age (AGA) preterm and term neonates. The main objective was to determine the CTs in umbilical cord blood samples of preterm and full-term IUGR neonates, to compare them with the CTs of AGA neonates and to correlate them with several perinatal parameters.

SUBJECTS AND METHODS: The population of this study consists of 192 newborns, who were born at Aretaieio University Hospital between January 2017 and December 2018. In the group of 118 healthy AGA newborns (control), 104 full-term neonates (with gestational age greater than 37 weeks and normal birth weight for gestational age) and

14 preterm infants (with gestational age of less than 37 weeks and normal birth weight for gestational age) were included. The group of 74 IUGR neonates consists of 48 full-term neonates (gestational age greater than 37 weeks, who met criteria for IUGR) and 26 preterm neonates (gestational age less than 37 weeks, who met criteria for IUGR). A detailed family, obstetric, perinatal and neonatal history was obtained for all participants of the study. In each pregnancy, the cause of IUGR was recorded. Strict exclusion criteria were applied to both groups (AGA and IUGR). All blood samples were obtained from the umbilical vein of a double-clamped umbilical cord by trained personnel and analyzed, without additional processing, *via* the PFA-100® - Platelet Function Analyzer (DADE BEHRING) within 4 hours of blood collection. For each blood sample, two CTs were recorded in seconds, COL/EPI CT and COL/ADP CT.

RESULTS:

AGA neonates: Our laboratory's reference values, in cord blood samples, are for term AGA neonates COL/EPI CT = 76s - 164s and COL/ADP CT= 59s - 85s. For preterm AGA neonates are COL/EPI CT = 101s - 178s and COL/ADP CT = 64s - 86s. COL/EPI CT is prolonged in preterm AGA neonates (149s) compared to term AGA neonates (111s) ($p=0.0236$). This finding is consistent with the greater platelet hyporeactivity that accompanies prematurity. There is a negative correlation between COL/ADP CT and gestational age (Spearman's $r = -0.184$, $p= 0.0475$) and COL/ADP CT and platelet count (Spearman's $r = -0.188$, $p= 0.0437$).

IUGR neonates: Our study shows that IUGR neonates present prolonged COL/EPI CTs (132s) compared to AGA neonates (112.5s) ($p=0.04$), while the corresponding difference is not found for COLs /ADP CTs. COL/ADP CT is shorter in IUGR neonates delivered *via* vaginal delivery ($p=0.007$), in IUGR neonates whose mothers received ampicillin peripartum ($p=0.005$) and prolonged in IUGR neonates whose mothers received epidural anesthesia ($p=0.032$). Both COL/EPI CT and COL/ADP CT do not appear to differ according to the cause of IUGR. COL/EPI CT is prolonged in preterm IUGR neonates (137s) compared to full-term IUGR neonates (126s) ($p=0.001$), while no corresponding difference is observed for COL/ADP CT.

CONCLUSIONS: COL/EPI CT is prolonged in both preterm AGA neonates and preterm IUGR neonates, reflecting the platelet dysfunction that accompanies prematurity. As for IUGR neonates, the hyporeactivity of platelets seems to be expressed through the prolonged COL/EPI CTs. The increased hematocrit could act

as a compensatory mechanism explaining the absence of serious bleeding manifestations. In the group of IUGR neonates, apart from prematurity, we should consider other perinatal parameters in the evaluation of closure times. The PFA-100 method offers the advantage of a quick and simple initial assessment of primary hemostasis and is a useful tool in clinical practice. Umbilical cord blood samples could have a prognostic character among high-risk neonates who require increased surveillance. Our study could help to spread the use of the PFA-100 method in clinical neonatology by contributing to an optimum assessment of hemostasis in IUGR neonates.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Thon JN, Italiano JE, Jr. Does size matter in platelet production? *Blood*. 2012;120(8):1552-61.
2. Leslie M. Cell biology. Beyond clotting: the powers of platelets. *Science*. 2010;328(5978):562-4.
3. Broos K, Feys HB, De Meyer SF, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. Platelets at work in primary hemostasis. *Blood Rev*. 2011;25(4):155-67.
4. Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev*. 2017;36(2):195-8.
5. Farndale RW, Siljander PR, Onley DJ, Sundaresan P, Knight CG, Barnes MJ. Collagen-platelet interactions: recognition and signalling. *Biochem Soc Symp*. 2003(70):81-94.
6. De Meyer SF, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K. von Willebrand factor to the rescue. *Blood*. 2009;113(21):5049-57.
7. Akiyama M, Kashiwagi H, Todo K, Moroi M, Berndt MC, Kojima H, et al. Presence of platelet-associated anti-glycoprotein (GP)VI autoantibodies and restoration of GPVI expression in patients with GPVI deficiency. *J Thromb Haemost*. 2009;7(8):1373-83.
8. Jung SM, Moroi M. Platelet glycoprotein VI. *Adv Exp Med Biol*. 2008;640:53-63.
9. Bernardi B, Guidetti GF, Campus F, Crittenden JR, Graybiel AM, Balduini C, et al. The small GTPase Rap1b regulates the cross talk between platelet integrin alpha2beta1 and integrin alphaIIb beta3. *Blood*. 2006;107(7):2728-35.
10. Savage B, Saldívar E, Ruggeri ZM. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. *Cell*. 1996;84(2):289-97.
11. Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res*. 2007;100(12):1673-85.
12. Du X. Signaling and regulation of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex. *Curr Opin Hematol*. 2007;14(3):262-9.
13. Watson SP, Herbert JM, Pollitt AY. GPVI and CLEC-2 in hemostasis and vascular integrity. *J Thromb Haemost*. 2010;8(7):1456-67.
14. Freyssinet JM, Toti F. Formation of procoagulant microparticles and properties. *Thromb Res*. 2010;125 Suppl 1:S46-8.
15. Brass LF, Manning DR, Cichowski K, Abrams CS. Signaling through G proteins in platelets: to the integrins and beyond. *Thromb Haemost*. 1997;78(1):581-9.
16. Getz TM, Dangelmaier CA, Jin J, Daniel JL, Kunapuli SP. Differential phosphorylation of myosin light chain (Thr)18 and (Ser)19 and functional implications in platelets. *J Thromb Haemost*. 2010;8(10):2283-93.
17. Fabre JE, Nguyen M, Latour A, Keifer JA, Audoly LP, Coffman TM, et al. Decreased platelet aggregation, increased bleeding time and resistance to thromboembolism in P2Y1-deficient mice. *Nat Med*. 1999;5(10):1199-202.
18. Han J, Lim CJ, Watanabe N, Soriani A, Ratnikov B, Calderwood DA, et al. Reconstructing and deconstructing agonist-induced activation of integrin alphaIIb beta3. *Curr Biol*. 2006;16(18):1796-806.
19. Maynard DM, Heijnen HF, Horne MK, White JG, Gahl WA. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry. *J Thromb Haemost*. 2007;5(9):1945-55.
20. McNicol A, Israels SJ. Platelet dense granules: structure, function and implications for haemostasis. *Thromb Res*. 1999;95(1):1-18.
21. Raccuglia G. Gray platelet syndrome. A variety of qualitative platelet disorder. *Am J Med*. 1971;51(6):818-28.

22. Jin J, Quinton TM, Zhang J, Rittenhouse SE, Kunapuli SP. Adenosine diphosphate (ADP)-induced thromboxane A₂ generation in human platelets requires coordinated signaling through integrin alpha(IIb)beta(3) and ADP receptors. *Blood*. 2002;99(1):193-8.
23. Fay WP, Murphy JG, Owen WG. High concentrations of active plasminogen activator inhibitor-1 in porcine coronary artery thrombi. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16(10):1277-84.
24. Singbartl K, Forlow SB, Ley K. Platelet, but not endothelial, P-selectin is critical for neutrophil-mediated acute postischemic renal failure. *FASEB J*. 2001;15(13):2337-44.
25. Nurden P, Nurden AT. Congenital disorders associated with platelet dysfunctions. *Thromb Haemost*. 2008;99(2):253-63.
26. Kahner BN, Shankar H, Murugappan S, Prasad GL, Kunapuli SP. Nucleotide receptor signaling in platelets. *J Thromb Haemost*. 2006;4(11):2317-26.
27. Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH, Islam N, Alyonycheva TN, Safier LB, et al. The endothelial cell ecto-ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39. *J Clin Invest*. 1997;99(6):1351-60.
28. Muller F, Mutch NJ, Schenk WA, Smith SA, Esterl L, Spronk HM, et al. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell*. 2009;139(6):1143-56.
29. Dale GL, Friese P, Batar P, Hamilton SF, Reed GL, Jackson KW, et al. Stimulated platelets use serotonin to enhance their retention of procoagulant proteins on the cell surface. *Nature*. 2002;415(6868):175-9.
30. Yang J, Wu J, Kowalska MA, Dalvi A, Prevost N, O'Brien PJ, et al. Loss of signaling through the G protein, G_z, results in abnormal platelet activation and altered responses to psychoactive drugs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(18):9984-9.
31. Takagi J, Petre BM, Walz T, Springer TA. Global conformational rearrangements in integrin extracellular domains in outside-in and inside-out signaling. *Cell*. 2002;110(5):599-11.
32. Houdijk WP, Sakariassen KS, Nievelstein PF, Sixma JJ. Role of factor VIII-von Willebrand factor and fibronectin in the interaction of platelets in flowing blood with monomeric and fibrillar human collagen types I and III. *J Clin Invest*. 1985;75(2):531-40.
33. Maxwell MJ, Westein E, Nesbitt WS, Giuliano S, Dopheide SM, Jackson SP. Identification of a 2-stage platelet aggregation process mediating shear-dependent thrombus formation. *Blood*. 2007;109(2):566-76.
34. Ruggeri ZM. The role of von Willebrand factor in thrombus formation. *Thromb Res*. 2007;120 Suppl 1:S5-9.
35. Caughey GE, Cleland LG, Gamble JR, James MJ. Up-regulation of endothelial cyclooxygenase-2 and prostanoid synthesis by platelets. Role of thromboxane A₂. *J Biol Chem*. 2001;276(41):37839-45.
36. Harbeck B, Huttelmaier S, Schluter K, Jockusch BM, Illenberger S. Phosphorylation of the vasodilator-stimulated phosphoprotein regulates its interaction with actin. *J Biol Chem*. 2000;275(40):30817-25.
37. Walter U, Gambaryan S. cGMP and cGMP-dependent protein kinase in platelets and blood cells. *Handb Exp Pharmacol*. 2009(191):533-48.
38. Monroe DM, Hoffman M, Roberts HR. Platelets and thrombin generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(9):1381-9.
39. Zwaal RF, Schroit AJ. Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood*. 1997;89(4):1121-32.
40. Bouchard BA, Tracy PB. Platelets, leukocytes, and coagulation. *Curr Opin Hematol*. 2001;8(5):263-9.

41. Scandura JM, Walsh PN. Factor X bound to the surface of activated human platelets is preferentially activated by platelet-bound factor IXa. *Biochemistry*. 1996;35(27):8903-13.
42. Koupouova M, Mick E, Mikhalev E, Benjamin EJ, Tanriverdi K, Freedman JE. Sex differences in platelet toll-like receptors and their association with cardiovascular risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(4):1030-7.
43. Caudrillier A, Kessenbrock K, Gilliss BM, Nguyen JX, Marques MB, Monestier M, et al. Platelets induce neutrophil extracellular traps in transfusion-related acute lung injury. *J Clin Invest*. 2012;122(7):2661-71.
44. Sokol J, Skerenova M, Jedinakova Z, Simurda T, Skornova I, Stasko J, et al. Progress in the Understanding of Sticky Platelet Syndrome. *Semin Thromb Hemost*. 2017;43(1):8-13.
45. B EK, M FB. State of the art in platelet function testing. *Transfus Med Hemother*. 2013;40(2):73-86.
46. Naesh O, Hindberg I, Trap-Jensen J, Lund JO. Post-exercise platelet activation--aggregation and release in relation to dynamic exercise. *Clin Physiol*. 1990;10(3):221-30.
47. Natella F, Nardini M, Belelli F, Pignatelli P, Di Santo S, Ghiselli A, et al. Effect of coffee drinking on platelets: inhibition of aggregation and phenols incorporation. *Br J Nutr*. 2008;100(6):1276-82.
48. Rival J, Riddle JM, Stein PD. Effects of chronic smoking on platelet function. *Thromb Res*. 1987;45(1):75-85.
49. Dalby MC, Davidson SJ, Burman JF, Davies SW. Diurnal variation in platelet aggregation iwth the PFA-100 platelet function analyser. *Platelets*. 2000;11(6):320-4.
50. McEwen BJ. The influence of diet and nutrients on platelet function. *Semin Thromb Hemost*. 2014;40(2):214-26.
51. Blomback M, Konkle BA, Manco-Johnson MJ, Bremme K, Hellgren M, Kaaja R, et al. Preanalytical conditions that affect coagulation testing, including hormonal status and therapy. *J Thromb Haemost*. 2007;5(4):855-8.
52. Scharf RE. Drugs that affect platelet function. *Semin Thromb Hemost*. 2012;38(8):865-83.
53. Harrison P, Mackie I, Mumford A, Briggs C, Liesner R, Winter M, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol*. 2011;155(1):30-44.
54. Favaloro EJ, Lippi G, Adcock DM. Preanalytical and postanalytical variables: the leading causes of diagnostic error in hemostasis? *Semin Thromb Hemost*. 2008;34(7):612-34.
55. Storey RF, Wilcox RG, Heptinstall S. Differential effects of glycoprotein IIb/IIIa antagonists on platelet microaggregate and macroaggregate formation and effect of anticoagulant on antagonist potency. Implications for assay methodology and comparison of different antagonists. *Circulation*. 1998;98(16):1616-21.
56. Hvas AM, Grove EL. Platelet Function Tests: Preanalytical Variables, Clinical Utility, Advantages, and Disadvantages. *Methods Mol Biol*. 2017;1646:305-20.
57. Gresele P, Bury L, Mezzasoma AM, Falcinelli E. Platelet function assays in diagnosis: an update. *Expert Rev Hematol*. 2019;12(1):29-46.
58. Noris P, Klersy C, Gresele P, Giona F, Giordano P, Minuz P, et al. Platelet size for distinguishing between inherited thrombocytopenias and immune thrombocytopenia: a multicentric, real life study. *Br J Haematol*. 2013;162(1):112-9.
59. Berkman N, Michaeli Y, Or R, Eldor A. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and a review of the literature. *Am J Hematol*. 1991;36(3):195-201.
60. Abe Y, Wada H, Tomatsu H, Sakaguchi A, Nishioka J, Yabu Y, et al. A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). *Thromb Res*. 2006;118(4):463-9.

61. International Council for Standardization in Haematology Expert Panel on C, International Society of Laboratory Hematology Task Force on Platelet C. Platelet counting by the RBC/platelet ratio method. A reference method. *Am J Clin Pathol.* 2001;115(3):460-4.
62. DUKE WW. THE RELATION OF BLOOD PLATELETS TO HEMORRHAGIC DISEASE: DESCRIPTION OF A METHOD FOR DETERMINING THE BLEEDING TIME AND COAGULATION TIME AND REPORT OF THREE CASES OF HEMORRHAGIC DISEASE RELIEVED BY TRANSFUSION. *Journal of the American Medical Association.* 1910;55(14):1185-92.
63. Ivy AC ND, Bucher G. The standardization of certain factors in the cutaneous "venostasis" bleeding time technique. *J Lab Clin Med Chem.* 1941;26:1812-22.
64. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature.* 1962;194:927-9.
65. Gresele P, Subcommittee on Platelet Physiology of the International Society on T, Hemostasis. Diagnosis of inherited platelet function disorders: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2015;13(2):314-22.
66. Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, Hayward CP, Kenny D, Nugent D, et al. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost.* 2013.
67. Gadisseur A, Hermans C, Berneman Z, Schroyens W, Deckmyn H, Michiels JJ. Laboratory diagnosis and molecular classification of von Willebrand disease. *Acta Haematol.* 2009;121(2-3):71-84.
68. Hayward CP, Pai M, Liu Y, Moffat KA, Seecharan J, Webert KE, 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):676-84.
69. Hayward CP, Moffat KA, Raby A, Israels S, Plumhoff E, Flynn G, et al. Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry. *Am J Clin Pathol.* 2010;134(6):955-63.
70. Cardinal DC, Flower RJ. The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. *J Pharmacol Methods.* 1980;3(2):135-58.
71. Toth O, Calatzis A, Penz S, Losonczy H, Siess W. Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thromb Haemost.* 2006;96(6):781-8.
72. Wurtz M, Hvas AM, Christensen KH, Rubak P, Kristensen SD, Grove EL. Rapid evaluation of platelet function using the Multiplate(R) Analyzer. *Platelets.* 2014;25(8):628-33.
73. Frelinger AL, 3rd, Gachet C, Mumford AD, Noris P, Mezzano D, Harrison P, et al. Laboratory monitoring of P2Y12 inhibitors: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2018;16(11):2341-6.
74. Favaloro EJ, Lippi G, Franchini M. Contemporary platelet function testing. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(5):579-98.
75. Al Ghaithi R, Drake S, Watson SP, Morgan NV, Harrison P. Comparison of multiple electrode aggregometry with lumi-aggregometry for the diagnosis of patients with mild bleeding disorders. *J Thromb Haemost.* 2017;15(10):2045-52.
76. Hanke AA, Roberg K, Monaca E, Sellmann T, Weber CF, Rahe-Meyer N, et al. Impact of platelet count on results obtained from multiple electrode platelet aggregometry (Multiplate). *Eur J Med Res.* 2010;15(5):214-9.

77. Kong R, Trimmings A, Hutchinson N, Gill R, Agarwal S, Davidson S, et al. Consensus recommendations for using the Multiplate((R)) for platelet function monitoring before cardiac surgery. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(2):143-7.
78. Stissing T, Dridi NP, Ostrowski SR, Bochsén L, Johansson PI. The influence of low platelet count on whole blood aggregometry assessed by Multiplate. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2011;17(6):E211-7.
79. Cattaneo M. Light transmission aggregometry and ATP release for the diagnostic assessment of platelet function. *Semin Thromb Hemost*. 2009;35(2):158-67.
80. Pai M, Wang G, Moffat KA, Liu Y, Seecharan J, Webert K, et al. Diagnostic usefulness of a lumi-aggregometer adenosine triphosphate release assay for the assessment of platelet function disorders. *Am J Clin Pathol*. 2011;136(3):350-8.
81. Smith JW, Steinhubl SR, Lincoff AM, Coleman JC, Lee TT, Hillman RS, et al. Rapid platelet-function assay: an automated and quantitative cartridge-based method. *Circulation*. 1999;99(5):620-5.
82. Lordkipanidze M. Platelet Function Tests. *Semin Thromb Hemost*. 2016;42(3):258-67.
83. van Werkum JW, Harmsze AM, Elsenberg EH, Bouman HJ, ten Berg JM, Hackeng CM. The use of the VerifyNow system to monitor antiplatelet therapy: a review of the current evidence. *Platelets*. 2008;19(7):479-88.
84. Kundu SK, Heilmann EJ, Sio R, Garcia C, Davidson RM, Ostgaard RA. Description of an in vitro platelet function analyzer--PFA-100. *Semin Thromb Hemost*. 1995;21 Suppl 2:106-12.
85. Favaloro EJ, Bonar R. External quality assessment/proficiency testing and internal quality control for the PFA-100 and PFA-200: an update. *Semin Thromb Hemost*. 2014;40(2):239-53.
86. Varon D, Dardik R, Shenkman B, Kotev-Emeth S, Farzame N, Tamarin I, et al. A new method for quantitative analysis of whole blood platelet interaction with extracellular matrix under flow conditions. *Thromb Res*. 1997;85(4):283-94.
87. Chen A, Teruya J. Global hemostasis testing thromboelastography: old technology, new applications. *Clin Lab Med*. 2009;29(2):391-407.
88. Luddington RJ. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clin Lab Haematol*. 2005;27(2):81-90.
89. Armstrong S, Fernando R, Ashpole K, Simons R, Columb M. Assessment of coagulation in the obstetric population using ROTEM(R) thromboelastometry. *Int J Obstet Anesth*. 2011;20(4):293-8.
90. Tanaka KA, Bolliger D, Vadlamudi R, Nimmo A. Rotational thromboelastometry (ROTEM)-based coagulation management in cardiac surgery and major trauma. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2012;26(6):1083-93.
91. Hobson AR, Agarwala RA, Swallow RA, Dawkins KD, Curzen NP. Thrombelastography: current clinical applications and its potential role in interventional cardiology. *Platelets*. 2006;17(8):509-18.
92. Cattano D, Altamirano AV, Kaynak HE, Seitan C, Paniccia R, Chen Z, et al. Perioperative assessment of platelet function by Thromboelastograph Platelet Mapping in cardiovascular patients undergoing non-cardiac surgery. *J Thromb Thrombolysis*. 2013;35(1):23-30.
93. Paniccia R, Priora R, Liotta AA, Abbate R. Platelet function tests: a comparative review. *Vasc Health Risk Manag*. 2015;11:133-48.
94. Pati HP, Jain S. Flow cytometry in hematological disorders. *Indian J Pediatr*. 2013;80(9):772-8.
95. Andres O, Henning K, Strauss G, Pflug A, Manukjan G, Schulze H. Diagnosis of platelet function disorders: A standardized, rational, and modular flow cytometric approach. *Platelets*. 2018;29(4):347-56.

96. Michelson AD. Evaluation of platelet function by flow cytometry. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2006;35(1-2):67-82.
97. Emiliani C, Martino S, Orlacchio A, Vezza R, Nenci GG, Gresele P. Platelet glycohydrolase activities: characterization and release. *Cell Biochem Funct*. 1995;13(1):31-9.
98. Furman MI, Krueger LA, Frelinger AL, 3rd, Barnard MR, Mascelli MA, Nakada MT, et al. GPIIb-IIIa antagonist-induced reduction in platelet surface factor V/Va binding and phosphatidylserine expression in whole blood. *Thromb Haemost*. 2000;84(3):492-8.
99. Gresele P, Harrison P, Bury L, Falcinelli E, Gachet C, Hayward CP, et al. Diagnosis of suspected inherited platelet function disorders: results of a worldwide survey. *J Thromb Haemost*. 2014;12(9):1562-9.
100. Middelburg RA, Roest M, Ham J, Coccoris M, Zwaginga JJ, van der Meer PF. Flow cytometric assessment of agonist-induced P-selectin expression as a measure of platelet quality in stored platelet concentrates. *Transfusion*. 2013;53(8):1780-7.
101. van Asten I, Schutgens REG, Urbanus RT. Toward Flow Cytometry Based Platelet Function Diagnostics. *Semin Thromb Hemost*. 2018;44(3):197-205.
102. Pakala R, Waksman R. Currently available methods for platelet function analysis: advantages and disadvantages. *Cardiovasc Revasc Med*. 2011;12(5):312-22.
103. Muller B. Pharmacology of thromboxane A₂, prostacyclin and other eicosanoids in the cardiovascular system. *Therapie*. 1991;46(3):217-21.
104. Hart RG, Leonard AD, Talbert RL, Pearce LA, Cornell E, Bovill E, et al. Aspirin dosage and thromboxane synthesis in patients with vascular disease. *Pharmacotherapy*. 2003;23(5):579-84.
105. Mumford AD, Frelinger AL, 3rd, Gachet C, Gresele P, Noris P, Harrison P, et al. A review of platelet secretion assays for the diagnosis of inherited platelet secretion disorders. *Thromb Haemost*. 2015;114(1):14-25.
106. Badin MS, Graf L, Iyer JK, Moffat KA, Seecharan JL, Hayward CP. Variability in platelet dense granule adenosine triphosphate release findings amongst patients tested multiple times as part of an assessment for a bleeding disorder. *Int J Lab Hematol*. 2016;38(6):648-57.
107. Wall JE, Buijs-Wilts M, Arnold JT, Wang W, White MM, Jennings LK, et al. A flow cytometric assay using mepacrine for study of uptake and release of platelet dense granule contents. *Br J Haematol*. 1995;89(2):380-5.
108. Hayward CP, Moffat KA, Spitzer E, Timleck M, Plumhoff E, Israels SJ, et al. Results of an external proficiency testing exercise on platelet dense-granule deficiency testing by whole mount electron microscopy. *Am J Clin Pathol*. 2009;131(5):671-5.
109. Ciferri S, Emiliani C, Guglielmini G, Orlacchio A, Nenci GG, Gresele P. Platelets release their lysosomal content in vivo in humans upon activation. *Thromb Haemost*. 2000;83(1):157-64.
110. Clauser S, Cramer-Borde E. Role of platelet electron microscopy in the diagnosis of platelet disorders. *Semin Thromb Hemost*. 2009;35(2):213-23.
111. Simeoni I, Stephens JC, Hu F, Deevi SV, Megy K, Bariana TK, et al. A high-throughput sequencing test for diagnosing inherited bleeding, thrombotic, and platelet disorders. *Blood*. 2016;127(23):2791-803.
112. Bastida JM, Lozano ML, Benito R, Janusz K, Palma-Barqueros V, Del Rey M, et al. Introducing high-throughput sequencing into mainstream genetic diagnosis practice in inherited platelet disorders. *Haematologica*. 2018;103(1):148-62.
113. Alshameeri RS, Mammen EF. Clinical experience with the Thrombostat 4000. *Semin Thromb Hemost*. 1995;21 Suppl 2:1-10.
114. Favaloro EJ. The Platelet Function Analyser (PFA)-100 and von Willebrand disease: a story well over 16 years in the making. *Haemophilia*. 2015;21(5):642-5.

115. Favaloro EJ, Pasalic L, Curnow J. Laboratory tests used to help diagnose von Willebrand disease: an update. *Pathology*. 2016;48(4):303-18.
116. 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):3-10.
117. Kratzer MA, Born GV. Simulation of primary haemostasis in vitro. *Haemostasis*. 1985;15(6):357-62.
118. Harrison P, Robinson MS, Mackie IJ, Joseph J, McDonald SJ, Liesner R, et al. Performance of the platelet function analyser PFA-100 in testing abnormalities of primary haemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1999;10(1):25-31.
119. Heilmann EJ, Kundu SK, Sio R, Garcia C, Gomez R, Christie DJ. Comparison of four commercial citrate blood collection systems for platelet function analysis by the PFA-100 system. *Thromb Res*. 1997;87(1):159-64.
120. Cho YU, Jang S, Park CJ, Chi HS. Variables that affect platelet function analyzer-100 (PFA-100) closure times and establishment of reference intervals in Korean adults. *Ann Clin Lab Sci*. 2008;38(3):247-53.
121. Favaloro EJ. Clinical utility of closure times using the platelet function analyzer-100/200. *Am J Hematol*. 2017;92(4):398-404.
122. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, et al. PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction. *Semin Thromb Hemost*. 1998;24(2):195-202.
123. Jilma B. Platelet function analyzer (PFA-100): a tool to quantify congenital or acquired platelet dysfunction. *J Lab Clin Med*. 2001;138(3):152-63.
124. Favaloro EJ. Clinical application of the PFA-100. *Curr Opin Hematol*. 2002;9(5):407-15.
125. von Pape KW, Aland E, Bohner J. Platelet function analysis with PFA-100 in patients medicated with acetylsalicylic acid strongly depends on concentration of sodium citrate used for anticoagulation of blood sample. *Thromb Res*. 2000;98(4):295-9.
126. Wuillemin WA, Gasser K, Zeerleder SS, Lammler B. Evaluation of a Platelet Function Analyser (PFA-100) in patients with a bleeding tendency. *Swiss Med Wkly*. 2002;132(31-32):443-8.
127. Pearson DA, Paglieroni TG, Rein D, Wun T, Schramm DD, Wang JF, et al. The effects of flavanol-rich cocoa and aspirin on ex vivo platelet function. *Thromb Res*. 2002;106(4-5):191-7.
128. Favaloro EJ. Clinical utility of the PFA-100. *Semin Thromb Hemost*. 2008;34(8):709-33.
129. Rand ML, Carcao MD, Blanchette VS. Use of the PFA-100 in the assessment of primary, platelet-related hemostasis in a pediatric setting. *Semin Thromb Hemost*. 1998;24(6):523-9.
130. Carcao MD, Blanchette VS, Dean JA, He L, Kern MA, Stain AM, 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):70-3.
131. Israels SJ, Cheang T, McMillan-Ward EM, Cheang M. Evaluation of primary hemostasis in neonates with a new in vitro platelet function analyzer. *J Pediatr*. 2001;138(1):116-9.
132. Bock M, De Haan J, Beck KH, Gutensohn K, Hertfelder HJ, Karger R, et al. Standardization of the PFA-100(R) platelet function test in 105 mmol/l buffered citrate: effect of gender, smoking, and oral contraceptives. *Br J Haematol*. 1999;106(4):898-904.
133. Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L, Favaloro JW. Reassessment of ABO blood group, sex, and age on laboratory parameters used to diagnose von Willebrand disorder: potential influence on the diagnosis vs the potential association with risk of thrombosis. *Am J Clin Pathol*. 2005;124(6):910-7.

134. Veyradier A, Fressinaud E, Boyer-Neumann C, Trossaert M, Meyer D. von Willebrand factor ristocetin cofactor activity correlates with platelet function in a high shear stress system. *Thromb Haemost.* 2000;84(4):727-8.
135. Nitu-Whalley IC, Lee CA, Brown SA, Riddell A, Hermans C. The role of the platelet function analyser (PFA-100) in the characterization of patients with von Willebrand's disease and its relationships with von Willebrand factor and the ABO blood group. *Haemophilia.* 2003;9(3):298-302.
136. Ortel TL, James AH, Thames EH, Moore KD, Greenberg CS. Assessment of primary hemostasis by PFA-100 analysis in a tertiary care center. *Thromb Haemost.* 2000;84(1):93-7.
137. Sestito A, Sciahbasi A, Landolfi R, Maseri A, Lanza GA, Andreotti F. A simple assay for platelet-mediated hemostasis in flowing whole blood (PFA-100): reproducibility and effects of sex and age. *Cardiologia.* 1999;44(7):661-5.
138. Haubelt H, Anders C, Vogt A, Hoerdts P, Seyfert UT, Hellstern P. Variables influencing Platelet Function Analyzer-100 closure times in healthy individuals. *Br J Haematol.* 2005;130(5):759-67.
139. Favalaro EJ, Lippi G. Laboratory testing in the era of direct or non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: a practical guide to measuring their activity and avoiding diagnostic errors. *Semin Thromb Hemost.* 2015;41(2):208-27.
140. Favalaro EJ. Utility of the von Willebrand factor collagen binding assay in the diagnosis of von Willebrand disease. *Am J Hematol.* 2017;92(1):114-8.
141. Posan E, McBane RD, Grill DE, Motsko CL, Nichols WL. Comparison of PFA-100 testing and bleeding time for detecting platelet hypofunction and von Willebrand disease in clinical practice. *Thromb Haemost.* 2003;90(3):483-90.
142. Harrison P, Robinson M, Liesner R, Khair K, Cohen H, Mackie I, et al. The PFA-100: a potential rapid screening tool for the assessment of platelet dysfunction. *Clin Lab Haematol.* 2002;24(4):225-32.
143. Podda GM, Bucciarelli P, Lussana F, Lecchi A, Cattaneo M. Usefulness of PFA-100 testing in the diagnostic screening of patients with suspected abnormalities of hemostasis: comparison with the bleeding time. *J Thromb Haemost.* 2007;5(12):2393-8.
144. Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, Martin I, Boyer-Neumann C, Trossaert M, et al. Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress: a study of 60 cases. *Blood.* 1998;91(4):1325-31.
145. Cattaneo M, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Zighetti ML. Evaluation of platelet function with the PFA-100 system in patients with congenital defects of platelet secretion. *Thromb Res.* 1999;96(3):213-7.
146. Cattaneo M. Are the bleeding time and PFA-100 useful in the initial screening of patients with mucocutaneous bleedings of hereditary nature? *J Thromb Haemost.* 2004;2(6):890-1.
147. Quiroga T, Goycoolea M, Munoz B, Morales M, Aranda E, Panes O, et al. Template bleeding time and PFA-100 have low sensitivity to screen patients with hereditary mucocutaneous hemorrhages: comparative study in 148 patients. *J Thromb Haemost.* 2004;2(6):892-8.
148. Carcao MD, Blanchette VS, Stephens D, He L, Wakefield CD, Butchart S, et al. Assessment of thrombocytopenic disorders using the Platelet Function Analyzer (PFA-100). *Br J Haematol.* 2002;117(4):961-4.
149. Hayward CP, Harrison P, Cattaneo M, Ortel TL, Rao AK, Platelet Physiology Subcommittee of the S, et al. Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. *J Thromb Haemost.* 2006;4(2):312-9.

150. Kottke-Marchant K, Powers JB, Brooks L, Kundu S, Christie DJ. The effect of antiplatelet drugs, heparin, and preanalytical variables on platelet function detected by the platelet function analyzer (PFA-100). *Clin Appl Thromb Hemost.* 1999;5(2):122-30.
151. Derhaschnig U, Pachinger C, Jilma B. Variable inhibition of high-shear-induced platelet plug formation by eptifibatid and tirofiban under conditions of platelet activation and high von Willebrand release: a randomized, placebo-controlled, clinical trial. *Am Heart J.* 2004;147(4):E17.
152. Madan M, Berkowitz SD, Christie DJ, Jennings LK, Smit AC, Sigmon KN, et al. Rapid assessment of glycoprotein IIb/IIIa blockade with the platelet function analyzer (PFA-100) during percutaneous coronary intervention. *Am Heart J.* 2001;141(2):226-33.
153. Madan M, Berkowitz SD, Christie DJ, Smit AC, Sigmon KN, Tcheng JE. Determination of platelet aggregation inhibition during percutaneous coronary intervention with the platelet function analyzer PFA-100. *Am Heart J.* 2002;144(1):151-8.
154. Marshall PW, Williams AJ, Dixon RM, Growcott JW, Warburton S, Armstrong J, et al. A comparison of the effects of aspirin on bleeding time measured using the Simplate method and closure time measured using the PFA-100, in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 1997;44(2):151-5.
155. de Meijer A, Vollaard H, de Metz M, Verbruggen B, Thomas C, Novakova I. Meloxicam, 15 mg/day, spares platelet function in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 1999;66(4):425-30.
156. Andersen K, Hurlen M, Arnesen H, Seljeflot I. Aspirin non-responsiveness as measured by PFA-100 in patients with coronary artery disease. *Thromb Res.* 2002;108(1):37-42.
157. Roller RE, Dorr A, Ulrich S, Pilger E. Effect of aspirin treatment in patients with peripheral arterial disease monitored with the platelet function analyzer PFA-100. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2002;13(4):277-81.
158. Cahill RA, McGreal GT, Crowe BH, Ryan DA, Manning BJ, Cahill MR, et al. Duration of increased bleeding tendency after cessation of aspirin therapy. *J Am Coll Surg.* 2005;200(4):564-73; quiz A59-61.
159. Goldenberg NA, Jacobson L, Manco-Johnson MJ. Brief communication: duration of platelet dysfunction after a 7-day course of ibuprofen. *Ann Intern Med.* 2005;142(7):506-9.
160. Raman S, Jilma B. Time lag in platelet function inhibition by clopidogrel in stroke patients as measured by PFA-100. *J Thromb Haemost.* 2004;2(12):2278-9.
161. Geiger J, Teichmann L, Grossmann R, Aktas B, Steigerwald U, Walter U, et al. Monitoring of clopidogrel action: comparison of methods. *Clin Chem.* 2005;51(6):957-65.
162. Gachet C. Regulation of platelet functions by P2 receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2006;46:277-300.
163. Koscielny J, Ziemer S, Radtke H, Schmutzler M, Pruss A, Sinha P, et al. A practical concept for preoperative identification of patients with impaired primary hemostasis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2004;10(3):195-204.
164. Frossard M, Fuchs I, Leitner JM, Hsieh K, Vlcek M, Losert H, et al. Platelet function predicts myocardial damage in patients with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2004;110(11):1392-7.
165. van Ommen CH, Peters M. The bleeding child. Part I: primary hemostatic disorders. *Eur J Pediatr.* 2012;171(1):1-10.
166. van Herrewegen F, Meijers JC, Peters M, van Ommen CH. Clinical practice: the bleeding child. Part II: disorders of secondary hemostasis and fibrinolysis. *Eur J Pediatr.* 2012;171(2):207-14.

167. Blanchette VS, Chen L, de Friedberg ZS, Hogan VA, Trudel E, Decary F. Alloimmunization to the PIA1 platelet antigen: results of a prospective study. *Br J Haematol.* 1990;74(2):209-15.
168. Nowak-Gottl U, Limperger V, Bauer A, Kowalski D, Kenet G. Bleeding issues in neonates and infants - update 2015. *Thromb Res.* 2015;135 Suppl 1:S41-3.
169. Poryo M, Boeckh JC, Gortner L, Zemlin M, Duppre P, Ebrahimi-Fakhari D, et al. Ante-, peri- and postnatal factors associated with intraventricular hemorrhage in very premature infants. *Early Hum Dev.* 2018;116:1-8.
170. Aziz A, Ohlsson A. Surfactant for pulmonary haemorrhage in neonates. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;2:CD005254.
171. Neu J, Walker WA. Necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med.* 2011;364(3):255-64.
172. Wiedmeier SE, Henry E, Sola-Visner MC, Christensen RD. Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47,000 patients in a multihospital healthcare system. *J Perinatol.* 2009;29(2):130-6.
173. Christensen RD, Henry E, Wiedmeier SE, Stoddard RA, Sola-Visner MC, Lambert DK, et al. Thrombocytopenia among extremely low birth weight neonates: data from a multihospital healthcare system. *J Perinatol.* 2006;26(6):348-53.
174. Liu ZJ, Italiano J, Jr., Ferrer-Marin F, Gutti R, Bailey M, Poterjoy B, et al. Developmental differences in megakaryocytopoiesis are associated with up-regulated TPO signaling through mTOR and elevated GATA-1 levels in neonatal megakaryocytes. *Blood.* 2011;117(15):4106-17.
175. Olson TA, Levine RF, Mazur EM, Wright DG, Salvado AJ. Megakaryocytes and megakaryocyte progenitors in human cord blood. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1992;14(3):241-7.
176. Saxonhouse MA, Christensen RD, Walker DM, Hutson AD, Sola MC. The concentration of circulating megakaryocyte progenitors in preterm neonates is a function of post-conceptual age. *Early Hum Dev.* 2004;78(2):119-24.
177. Ma DC, Sun YH, Chang KZ, Zuo W. Developmental change of megakaryocyte maturation and DNA ploidy in human fetus. *Eur J Haematol.* 1996;57(2):121-7.
178. Mattia G, Vulcano F, Milazzo L, Barca A, Macioce G, Giampaolo A, et al. Different ploidy levels of megakaryocytes generated from peripheral or cord blood CD34+ cells are correlated with different levels of platelet release. *Blood.* 2002;99(3):888-97.
179. Urban D, Pluthero FG, Christensen H, Baidya S, Rand ML, Das A, et al. Decreased numbers of dense granules in fetal and neonatal platelets. *Haematologica.* 2017;102(2):e36-e8.
180. Caparros-Perez E, Teruel-Montoya R, Palma-Barquero V, Torregrosa JM, Blanco JE, Delgado JL, et al. Down Regulation of the Munc18b-syntaxin-11 Complex and beta1-tubulin Impairs Secretion and Spreading in Neonatal Platelets. *Thromb Haemost.* 2017;117(11):2079-91.
181. Gruel Y, Boizard B, Daffos F, Forestier F, Caen J, Wautier JL. Determination of platelet antigens and glycoproteins in the human fetus. *Blood.* 1986;68(2):488-92.
182. Simak J, Holada K, Janota J, Stranak Z. Surface expression of major membrane glycoproteins on resting and TRAP-activated neonatal platelets. *Pediatr Res.* 1999;46(4):445-9.
183. Cowman J, Quinn N, Geoghegan S, Mullers S, Oglesby I, Byrne B, et al. Dynamic platelet function on von Willebrand factor is different in preterm neonates and full-term neonates: changes in neonatal platelet function. *J Thromb Haemost.* 2016;14(10):2027-35.
184. Bernhard H, Rosenkranz A, Petritsch M, Kofeler H, Rehak T, Novak M, et al. Phospholipid content, expression and support of thrombin generation of neonatal platelets. *Acta Paediatr.* 2009;98(2):251-5.

185. Sola-Visner MC, Christensen RD, Hutson AD, Rimsza LM. Megakaryocyte size and concentration in the bone marrow of thrombocytopenic and nonthrombocytopenic neonates. *Pediatr Res.* 2007;61(4):479-84.
186. MacQueen BC, Christensen RD, Henry E, Romrell AM, Pyscher TJ, Bennett ST, et al. The immature platelet fraction: creating neonatal reference intervals and using these to categorize neonatal thrombocytopenias. *J Perinatol.* 2017;37(7):834-8.
187. Haley KM, Recht M, McCarty OJ. Neonatal platelets: mediators of primary hemostasis in the developing hemostatic system. *Pediatr Res.* 2014;76(3):230-7.
188. Israels SJ, Rand ML, Michelson AD. Neonatal platelet function. *Semin Thromb Hemost.* 2003;29(4):363-72.
189. Israels SJ, Cheang T, Roberston C, McMillan-Ward EM, McNicol A. Impaired signal transduction in neonatal platelets. *Pediatr Res.* 1999;45(5 Pt 1):687-91.
190. Sitaru AG, Holzhauer S, Speer CP, Singer D, Obergfell A, Walter U, et al. Neonatal platelets from cord blood and peripheral blood. *Platelets.* 2005;16(3-4):203-10.
191. Rajasekhar D, Kestin AS, Bednarek FJ, Ellis PA, Barnard MR, Michelson AD. Neonatal platelets are less reactive than adult platelets to physiological agonists in whole blood. *Thromb Haemost.* 1994;72(6):957-63.
192. Pietrucha T, Wojciechowski T, Greger J, E Jd, Nowak S, Chrul S, et al. Differentiated reactivity of whole blood neonatal platelets to various agonists. *Platelets.* 2001;12(2):99-107.
193. Keh D, Kurer I, Dudenhausen JW, Woltmann W, Falke KJ, Gerlach H. Response of neonatal platelets to nitric oxide in vitro. *Intensive Care Med.* 2001;27(1):283-6.
194. Israels SJ, Odaibo FS, Robertson C, McMillan EM, McNicol A. Deficient thromboxane synthesis and response in platelets from premature infants. *Pediatr Res.* 1997;41(2):218-23.
195. Katz JA, Moake JL, McPherson PD, Weinstein MJ, Moise KJ, Carpenter RJ, et al. Relationship between human development and disappearance of unusually large von Willebrand factor multimers from plasma. *Blood.* 1989;73(7):1851-8.
196. Rajasekhar D, Barnard MR, Bednarek FJ, Michelson AD. Platelet hyporeactivity in very low birth weight neonates. *Thromb Haemost.* 1997;77(5):1002-7.
197. Hezard N, Potron G, Schlegel N, Amory C, Leroux B, Nguyen P. Unexpected persistence of platelet hyporeactivity beyond the neonatal period: a flow cytometric study in neonates, infants and older children. *Thromb Haemost.* 2003;90(1):116-23.
198. Saving KL, Mankin PE, Gorman MJ. Differences in adhesion receptor expression between immature and older platelets and red blood cells of neonates and adults. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2002;24(2):120-4.
199. Wasiluk A, Mantur M, Szczepanski M, Kemona H, Baran E, Kemona-Chetnik I. The effect of gestational age on platelet surface expression of CD62P in preterm newborns. *Platelets.* 2008;19(3):236-8.
200. Hardy AT, Palma-Barqueros V, Watson SK, Malcor JD, Eble JA, Gardiner EE, et al. Significant Hypo-Responsiveness to GPVI and CLEC-2 Agonists in Pre-Term and Full-Term Neonatal Platelets and following Immune Thrombocytopenia. *Thromb Haemost.* 2018;118(6):1009-20.
201. Kuhne T, Imbach P. Neonatal platelet physiology and pathophysiology. *Eur J Pediatr.* 1998;157(2):87-94.
202. Corby DG, O'Barr TP. Decreased alpha-adrenergic receptors in newborn platelets: cause of abnormal response to epinephrine. *Dev Pharmacol Ther.* 1981;2(4):215-25.
203. Schlagenhaut A, Schweintzger S, Birner-Grunberger R, Leschnik B, Muntean W. Comparative evaluation of PAR1, GPIb-IX-V, and integrin alphaIIb beta3 levels in cord and adult platelets. *Hamostaseologie.* 2010;30 Suppl 1:S164-7.

204. Palma-Barqueros V, Torregrosa JM, Caparros-Perez E, Mota-Perez N, Bohdan N, Llanos MDC, et al. Developmental Differences in Platelet Inhibition Response to Prostaglandin E1. *Neonatology*. 2020;117(1):15-23.
205. Del Vecchio A. Use of the bleeding time in the neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr Suppl*. 2002;91(438):82-6.
206. Andrew M, Paes B, Bowker J, Vegh P. Evaluation of an automated bleeding time device in the newborn. *Am J Hematol*. 1990;35(4):275-7.
207. Shenkman B, Linder N, Savion N, Tamarin I, Dardik R, Kennet G, et al. Increased neonatal platelet deposition on subendothelium under flow conditions: the role of plasma von Willebrand factor. *Pediatr Res*. 1999;45(2):270-5.
208. Roschitz B, Sudi K, Kostenberger M, Muntean W. Shorter PFA-100 closure times in neonates than in adults: role of red cells, white cells, platelets and von Willebrand factor. *Acta Paediatr*. 2001;90(6):664-70.
209. Boudewijns M, Raes M, Peeters V, Mewis A, Cartuyvels R, Magerman K, et al. Evaluation of platelet function on cord blood in 80 healthy term neonates using the Platelet Function Analyser (PFA-100); shorter in vitro bleeding times in neonates than adults. *Eur J Pediatr*. 2003;162(3):212-3.
210. Saxonhouse MA, Garner R, Mammel L, Li Q, Muller KE, Greywoode J, et al. Closure times measured by the platelet function analyzer PFA-100 are longer in neonatal blood compared to cord blood samples. *Neonatology*. 2010;97(3):242-9.
211. Gerrard JM, Docherty JC, Israels SJ, Cheang MS, Bishop AJ, Kobrinsky NL, et al. A reassessment of the bleeding time: association of age, hematocrit, platelet function, von Willebrand factor, and bleeding time thromboxane B2 with the length of the bleeding time. *Clin Invest Med*. 1989;12(3):165-71.
212. Andrew M, Paes B, Milner R, Johnston M, Mitchell L, Tollefsen DM, et al. Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood*. 1987;70(1):165-72.
213. Hermansen MC. Nucleated red blood cells in the fetus and newborn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2001;84(3):F211-5.
214. Klarmann D, Eggert C, Geisen C, Becker S, Seifried E, Klingebiel T, et al. Association of ABO(H) and I blood group system development with von Willebrand factor and Factor VIII plasma levels in children and adolescents. *Transfusion*. 2010;50(7):1571-80.
215. 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;2012:506-11.
216. Ucar T, Gurman C, Arsan S, Kemahli S. Platelet aggregation in term and preterm newborns. *Pediatr Hematol Oncol*. 2005;22(2):139-45.
217. Bednarek FJ, Bean S, Barnard MR, Frelinger AL, Michelson AD. The platelet hyporeactivity of extremely low birth weight neonates is age-dependent. *Thromb Res*. 2009;124(1):42-5.
218. Del Vecchio A, Latini G, Henry E, Christensen RD. Template bleeding times of 240 neonates born at 24 to 41 weeks gestation. *J Perinatol*. 2008;28(6):427-31.
219. Linder N, Shenkman B, Levin E, Sirota L, Vishne TH, Tamarin I, et al. Deposition of whole blood platelets on extracellular matrix under flow conditions in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2002;86(2):F127-30.
220. Levy-Shraga Y, Maayan-Metzger A, Lubetsky A, Shenkman B, Kuint J, Martinowitz U, et al. Platelet function of newborns as tested by cone and plate(let) analyzer correlates with gestational Age. *Acta Haematol*. 2006;115(3-4):152-6.

221. Venkatesh V, Curley A, Khan R, Clarke P, Watts T, Josephson C, et al. A novel approach to standardised recording of bleeding in a high risk neonatal population. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2013;98(3):F260-3.
222. Josephson CD, Su LL, Christensen RD, Hillyer CD, Castillejo MI, Emory MR, et al. Platelet transfusion practices among neonatologists in the United States and Canada: results of a survey. *Pediatrics.* 2009;123(1):278-85.
223. Andrew M, Vegh P, Caco C, Kirpalani H, Jefferies A, Ohlsson A, et al. A randomized, controlled trial of platelet transfusions in thrombocytopenic premature infants. *J Pediatr.* 1993;123(2):285-91.
224. Deschmann E, Saxonhouse MA, Feldman HA, Norman M, Barbian M, Sola-Visner M. Association Between In Vitro Bleeding Time and Bleeding in Preterm Infants With Thrombocytopenia. *JAMA Pediatr.* 2019;173(4):393-4.
225. Michelson AD. Platelet function in the newborn. *Semin Thromb Hemost.* 1998;24(6):507-12.
226. Diz-Kucukkaya R. Inherited platelet disorders including Glanzmann thrombasthenia and Bernard-Soulier syndrome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2013;2013:268-75.
227. Strauss T, Maayan-Metzger A, Simchen MJ, Morag I, Shenkmean B, Kuint J, et al. Impaired platelet function in neonates born to mothers with diabetes or hypertension during pregnancy. *Klin Padiatr.* 2010;222(3):154-7.
228. Kaapa P, Knip M, Viinikka L, Ylikorkala O. Increased platelet thromboxane B2 production in newborn infants of diabetic mothers. *Prostaglandins Leukot Med.* 1986;21(3):299-304.
229. Dasari R, Narang A, Vasishtha K, Garewal G. Effect of maternal low dose aspirin on neonatal platelet function. *Indian Pediatr.* 1998;35(6):507-11.
230. Loudon KA, Broughton Pipkin F, Heptinstall S, Fox SC, Tuohy P, O'Callaghan C, et al. Neonatal platelet reactivity and serum thromboxane B2 production in whole blood: the effect of maternal low dose aspirin. *Br J Obstet Gynaecol.* 1994;101(3):203-8.
231. Leonhardt A, Bernert S, Watzer B, Schmitz-Ziegler G, Seyberth HW. Low-dose aspirin in pregnancy: maternal and neonatal aspirin concentrations and neonatal prostanoid formation. *Pediatrics.* 2003;111(1):e77-81.
232. Bleyer WA, Breckenridge RT. Studies on the detection of adverse drug reactions in the newborn. II. The effects of prenatal aspirin on newborn hemostasis. *JAMA.* 1970;213(12):2049-53.
233. Rhee E, Beiswenger T, Oguejiofor CE, James AH. The effects of magnesium sulfate on maternal and fetal platelet aggregation. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(5):478-83.
234. Wasiluk A, Dabrowska M, Osada J, Jasinska E, Laudanski T, Redzko S. Platelet indices in SGA newborns. *Adv Med Sci.* 2011;56(2):361-5.
235. Sola MC, del Vecchio A, Edwards TJ, Suttner D, Hutson AD, Christensen RD. The relationship between hematocrit and bleeding time in very low birth weight infants during the first week of life. *J Perinatol.* 2001;21(6):368-71.
236. Thiery-Antier N, Binquet C, Vinault S, Meziani F, Boisrame-Helms J, Quenot JP, et al. Is Thrombocytopenia an Early Prognostic Marker in Septic Shock? *Crit Care Med.* 2016;44(4):764-72.
237. Finkelstein Y, Shenkman B, Sirota L, Vishne TH, Dardik R, Varon D, et al. Whole blood platelet deposition on extracellular matrix under flow conditions in preterm neonatal sepsis. *Eur J Pediatr.* 2002;161(5):270-4.

238. Corazza MS, Davis RF, Merritt TA, Bejar R, Cvetnic W. Prolonged bleeding time in preterm infants receiving indomethacin for patent ductus arteriosus. *J Pediatr*. 1984;105(2):292-6.
239. Sheffield MJ, Schmutz N, Lambert DK, Henry E, Christensen RD. Ibuprofen lysine administration to neonates with a patent ductus arteriosus: effect on platelet plug formation assessed by in vivo and in vitro measurements. *J Perinatol*. 2009;29(1):39-43.
240. Sheffield MJ, Lambert DK, Henry E, Christensen RD. Effect of ampicillin on the bleeding time of neonatal intensive care unit patients. *J Perinatol*. 2010;30(8):527-30.
241. Sheffield MJ, Lambert DK, Baer VL, Henry E, Butler A, Snow GL, et al. Effect of ampicillin on bleeding time in very low birth-weight neonates during the first week after birth. *J Perinatol*. 2011;31(7):477-80.
242. Cheung PY, Salas E, Schulz R, Radomski MW. Nitric oxide and platelet function: implications for neonatology. *Semin Perinatol*. 1997;21(5):409-17.
243. Tanriverdi S, Koroglu OA, Uygur O, Balkan C, Yalaz M, Kultursay N. The effect of inhaled nitric oxide therapy on thromboelastogram in newborns with persistent pulmonary hypertension. *Eur J Pediatr*. 2014;173(10):1381-5.
244. Konkle BA. Acquired disorders of platelet function. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011:391-6.
245. Cheung PY, Sawicki G, Salas E, Etches PC, Schulz R, Radomski MW. The mechanisms of platelet dysfunction during extracorporeal membrane oxygenation in critically ill neonates. *Crit Care Med*. 2000;28(7):2584-90.
246. Ferrer-Marin F, Chavda C, Lampa M, Michelson AD, Frelinger AL, 3rd, Sola-Visner M. Effects of in vitro adult platelet transfusions on neonatal hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2011;9(5):1020-8.
247. Sparger KA, Assmann SF, Granger S, Winston A, Christensen RD, Widness JA, et al. Platelet Transfusion Practices Among Very-Low-Birth-Weight Infants. *JAMA Pediatr*. 2016;170(7):687-94.
248. Baer VL, Lambert DK, Henry E, Snow GL, Sola-Visner MC, Christensen RD. Do platelet transfusions in the NICU adversely affect survival? Analysis of 1600 thrombocytopenic neonates in a multihospital healthcare system. *J Perinatol*. 2007;27(12):790-6.
249. Curley A, Stanworth SJ, Willoughby K, Fustolo-Gunnink SF, Venkatesh V, Hudson C, et al. Randomized Trial of Platelet-Transfusion Thresholds in Neonates. *N Engl J Med*. 2019;380(3):242-51.
250. Davenport P, Sola-Visner M. Hemostatic Challenges in Neonates. *Front Pediatr*. 2021;9:627715.
251. Andrew M, Vegh P, Johnston M, Bowker J, Ofori F, Mitchell L. Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood*. 1992;80(8):1998-2005.
252. Reverdiau-Moalic P, Delahousse B, Body G, Bardos P, Leroy J, Gruel Y. Evolution of blood coagulation activators and inhibitors in the healthy human fetus. *Blood*. 1996;88(3):900-6.
253. Monagle P, Barnes C, Ignjatovic V, Furmedge J, Newall F, Chan A, et al. Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories. *Thromb Haemost*. 2006;95(2):362-72.
254. Edwards RM, Naik-Mathuria BJ, Gay AN, Olutoye OO, Teruya J. Parameters of thromboelastography in healthy newborns. *Am J Clin Pathol*. 2008;130(1):99-102.
255. Sewell EK, Forman KR, Wong EC, Gallagher M, Luban NL, Massaro AN. Thromboelastography in term neonates: an alternative approach to evaluating coagulopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2017;102(1):F79-F84.

256. Toulon P. Developmental hemostasis: laboratory and clinical implications. *Int J Lab Hematol.* 2016;38 Suppl 1:66-77.
257. Lee PA, Chernausk SD, Hokken-Koelega AC, Czernichow P, International Small for Gestational Age Advisory B. International Small for Gestational Age Advisory Board consensus development conference statement: management of short children born small for gestational age, April 24-October 1, 2001. *Pediatrics.* 2003;111(6 Pt 1):1253-61.
258. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr.* 1967;71(2):159-63.
259. de Onis M, Blossner M, Villar J. Levels and patterns of intrauterine growth retardation in developing countries. *Eur J Clin Nutr.* 1998;52 Suppl 1:S5-15.
260. Figueras F, Gardosi J. Intrauterine growth restriction: new concepts in antenatal surveillance, diagnosis, and management. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(4):288-300.
261. Platz E, Newman R. Diagnosis of IUGR: traditional biometry. *Semin Perinatol.* 2008;32(3):140-7.
262. Dashe JS, McIntire DD, Lucas MJ, Leveno KJ. Effects of symmetric and asymmetric fetal growth on pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol.* 2000;96(3):321-7.
263. Fang J, Madhavan S, Alderman MH. Low birth weight: race and maternal nativity--impact of community income. *Pediatrics.* 1999;103(1):E5.
264. Strobino DM, Ensminger ME, Kim YJ, Nanda J. Mechanisms for maternal age differences in birth weight. *Am J Epidemiol.* 1995;142(5):504-14.
265. Wilcox MA, Smith SJ, Johnson IR, Maynard PV, Chilvers CE. The effect of social deprivation on birthweight, excluding physiological and pathological effects. *Br J Obstet Gynaecol.* 1995;102(11):918-24.
266. Hendrix N, Berghella V. Non-placental causes of intrauterine growth restriction. *Semin Perinatol.* 2008;32(3):161-5.
267. Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng G, Wilcox LS. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med.* 2002;346(10):731-7.
268. Zhu BP, Rolfs RT, Nangle BE, Horan JM. Effect of the interval between pregnancies on perinatal outcomes. *N Engl J Med.* 1999;340(8):589-94.
269. Andres RL, Day MC. Perinatal complications associated with maternal tobacco use. *Semin Neonatol.* 2000;5(3):231-41.
270. Kharrazi M, DeLorenze GN, Kaufman FL, Eskenazi B, Bernert JT, Jr., Graham S, et al. Environmental tobacco smoke and pregnancy outcome. *Epidemiology.* 2004;15(6):660-70.
271. Hanke W, Sobala W, Kalinka J. Environmental tobacco smoke exposure among pregnant women: impact on fetal biometry at 20-24 weeks of gestation and newborn child's birth weight. *Int Arch Occup Environ Health.* 2004;77(1):47-52.
272. Goel P, Radotra A, Singh I, Aggarwal A, Dua D. Effects of passive smoking on outcome in pregnancy. *J Postgrad Med.* 2004;50(1):12-6.
273. Yang Q, Witkiewicz BB, Olney RS, Liu Y, Davis M, Khoury MJ, et al. A case-control study of maternal alcohol consumption and intrauterine growth retardation. *Ann Epidemiol.* 2001;11(7):497-503.
274. Wen SW, Zhou J, Yang Q, Fraser W, Olatunbosun O, Walker M. Maternal exposure to folic acid antagonists and placenta-mediated adverse pregnancy outcomes. *CMAJ.* 2008;179(12):1263-8.
275. Zuckerman B, Frank DA, Hingson R, Amaro H, Levenson SM, Kayne H, et al. Effects of maternal marijuana and cocaine use on fetal growth. *N Engl J Med.* 1989;320(12):762-8.
276. Krampfl E. Pregnancy at high altitude. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;19(6):535-9.

277. Pritchard JA, Scott DE, Whalley PH, Cunningham FG, Mason RA. The effects of maternal sickle cell hemoglobinopathies and sickle cell trait on reproductive performance. *Am J Obstet Gynecol.* 1973;117(5):662-70.
278. Sharma D, Shastri S, Farahbakhsh N, Sharma P. Intrauterine growth restriction - part 1. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(24):3977-87.
279. Heinonen S, Taipale P, Saarikoski S. Weights of placentae from small-for-gestational age infants revisited. *Placenta.* 2001;22(5):399-404.
280. Zygmont M, Herr F, Munstedt K, Lang U, Liang OD. Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;110 Suppl 1:S10-8.
281. Wilkins-Haug L, Quade B, Morton CC. Confined placental mosaicism as a risk factor among newborns with fetal growth restriction. *Prenat Diagn.* 2006;26(5):428-32.
282. Stipoljev F, Latin V, Kos M, Miskovic B, Kurjak A. Correlation of confined placental mosaicism with fetal intrauterine growth retardation. A case control study of placentas at delivery. *Fetal Diagn Ther.* 2001;16(1):4-9.
283. Boog G. Chronic villitis of unknown etiology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;136(1):9-15.
284. Szentpeteri I, Rab A, Kornya L, Kovacs P, Brubel R, Joo JG. Placental gene expression patterns of endoglin (CD105) in intrauterine growth restriction. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;27(4):350-4.
285. Snijders RJ, Sherrod C, Gosden CM, Nicolaidis KH. Fetal growth retardation: associated malformations and chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;168(2):547-55.
286. Soong YK, Wang TH, Lee YS, Chen CP, Chang CL, Ho SY, et al. Genome-wide detection of uniparental disomy in a fetus with intrauterine growth restriction using genotyping microarrays. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2009;48(2):152-8.
287. Khan NA, Kazzi SN. Yield and costs of screening growth-retarded infants for torch infections. *Am J Perinatol.* 2000;17(3):131-5.
288. Walker PG, ter Kuile FO, Garske T, Menendez C, Ghani AC. Estimated risk of placental infection and low birthweight attributable to *Plasmodium falciparum* malaria in Africa in 2010: a modelling study. *Lancet Glob Health.* 2014;2(8):e460-7.
289. Rogerson SJ, Grau GE, Hunt NH. The microcirculation in severe malaria. *Microcirculation.* 2004;11(7):559-76.
290. Lewi L, Gucciardo L, Huber A, Jani J, Van Mieghem T, Done E, et al. Clinical outcome and placental characteristics of monochorionic diamniotic twin pairs with early- and late-onset discordant growth. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199(5):511 e1-7.
291. Lassi ZS, Kumar R, Mansoor T, Salam RA, Das JK, Bhutta ZA. Essential interventions: implementation strategies and proposed packages of care. *Reprod Health.* 2014;11 Suppl 1:S5.
292. Haider BA, Bhutta ZA. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;4:CD004905.
293. Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S, King JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007(2):CD004659.
294. ACOG Committee Opinion No. 743: Low-Dose Aspirin Use During Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2018;132(1):e44-e52.
295. Lumley J, Chamberlain C, Dowswell T, Oliver S, Oakley L, Watson L. Interventions for promoting smoking cessation during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009(3):CD001055.

296. Hadlock FP, Harrist RB, Sharman RS, Deter RL, Park SK. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur measurements--a prospective study. *Am J Obstet Gynecol.* 1985;151(3):333-7.
297. Kiserud T, Benachi A, Hecher K, Perez RG, Carvalho J, Piaggio G, et al. The World Health Organization fetal growth charts: concept, findings, interpretation, and application. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(2S):S619-S29.
298. Miller J, Turan S, Baschat AA. Fetal growth restriction. *Semin Perinatol.* 2008;32(4):274-80.
299. Magann EF, Chauhan SP, Hitt WC, Dubil EA, Morrison JC. Borderline or marginal amniotic fluid index and peripartum outcomes: a review of the literature. *J Ultrasound Med.* 2011;30(4):523-8.
300. Alfirevic Z, Stampalija T, Gyte GM. Fetal and umbilical Doppler ultrasound in normal pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010(8):CD001450.
301. Nicolaides KH, Bilardo CM, Soothill PW, Campbell S. Absence of end diastolic frequencies in umbilical artery: a sign of fetal hypoxia and acidosis. *BMJ.* 1988;297(6655):1026-7.
302. Society for Maternal-Fetal Medicine Publications C, Berkley E, Chauhan SP, Abuhamad A. Doppler assessment of the fetus with intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206(4):300-8.
303. Walker DM, Marlow N, Upstone L, Gross H, Hornbuckle J, Vail A, et al. The Growth Restriction Intervention Trial: long-term outcomes in a randomized trial of timing of delivery in fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(1):34 e1-9.
304. American College of O, Gynecologists' Committee on Practice B-O, the Society f-F. ACOG Practice Bulletin No. 204: Fetal Growth Restriction. *Obstet Gynecol.* 2019;133(2):e97-e109.
305. Roberts D, Dalziel S. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006(3):CD004454.
306. Committee Opinion No. 455: Magnesium sulfate before anticipated preterm birth for neuroprotection. *Obstet Gynecol.* 2010;115(3):669-71.
307. Clausson B, Gardosi J, Francis A, Cnattingius S. Perinatal outcome in SGA births defined by customised versus population-based birthweight standards. *BJOG.* 2001;108(8):830-4.
308. Georgieff MK, Sasanow SR, Chockalingam UM, Pereira GR. A comparison of the mid-arm circumference/head circumference ratio and ponderal index for the evaluation of newborn infants after abnormal intrauterine growth. *Acta Paediatr Scand.* 1988;77(2):214-9.
309. Kanawati AA, McLaren DS, Abu-Jawdeh I. Failure to thrive in Lebanon. I. Experience with some simple somatic measurements. *Acta Paediatr Scand.* 1971;60(3):309-16.
310. Harel S, Tomer A, Barak Y, Binderman I, Yavin E. The cephalization index: a screening device for brain maturity and vulnerability in normal and intrauterine growth retarded newborns. *Brain Dev.* 1985;7(6):580-4.
311. Soundarya M, Basavaprabhu A, Raghuvveera K, Baliga B, Shivanagaraja B. Comparative Assessment of Fetal Malnutrition by Anthropometry and CAN Score. *Iran J Pediatr.* 2012;22(1):70-6.
312. Rosenberg A. The IUGR newborn. *Semin Perinatol.* 2008;32(3):219-24.
313. Regev RH, Lusky A, Dolfen T, Litmanovitz I, Arnon S, Reichman B, et al. Excess mortality and morbidity among small-for-gestational-age premature infants: a population-based study. *J Pediatr.* 2003;143(2):186-91.
314. Simchen MJ, Beiner ME, Strauss-Liviathan N, Dulitzky M, Kuint J, Mashiach S, et al. Neonatal outcome in growth-restricted versus appropriately grown preterm infants. *Am J Perinatol.* 2000;17(4):187-92.

315. Vergani P, Roncaglia N, Locatelli A, Andreotti C, Crippa I, Pezzullo JC, et al. Antenatal predictors of neonatal outcome in fetal growth restriction with absent end-diastolic flow in the umbilical artery. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(3 Pt 2):1213-8.
316. Kesavan K, Devaskar SU. Intrauterine Growth Restriction: Postnatal Monitoring and Outcomes. *Pediatr Clin North Am.* 2019;66(2):403-23.
317. Ananth CV, Vintzileos AM. Distinguishing pathological from constitutional small for gestational age births in population-based studies. *Early Hum Dev.* 2009;85(10):653-8.
318. Hosagasi NH, Aydin M, Zenciroglu A, Ustun N, Beken S. Incidence of hypoglycemia in newborns at risk and an audit of the 2011 American academy of pediatrics guideline for hypoglycemia. *Pediatr Neonatol.* 2018;59(4):368-74.
319. Thornton PS, Stanley CA, De Leon DD, Harris D, Haymond MW, Hussain K, et al. Recommendations from the Pediatric Endocrine Society for Evaluation and Management of Persistent Hypoglycemia in Neonates, Infants, and Children. *J Pediatr.* 2015;167(2):238-45.
320. Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. Intrauterine growth restriction - part 2. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(24):4037-48.
321. Hawdon JM, Weddell A, Aynsley-Green A, Ward Platt MP. Hormonal and metabolic response to hypoglycaemia in small for gestational age infants. *Arch Dis Child.* 1993;68(3 Spec No):269-73.
322. Doctor BA, O'Riordan MA, Kirchner HL, Shah D, Hack M. Perinatal correlates and neonatal outcomes of small for gestational age infants born at term gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(3):652-9.
323. McCall EM, Alderdice F, Halliday HL, Vohra S, Johnston L. Interventions to prevent hypothermia at birth in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;2:CD004210.
324. Jeevasankar M, Agarwal R, Chawla D, Paul VK, Deorari AK. Polycythemia in the newborn. *Indian J Pediatr.* 2008;75(1):68-72.
325. Sankar MJ, Agarwal R, Deorari A, Paul VK. Management of polycythemia in neonates. *Indian J Pediatr.* 2010;77(10):1117-21.
326. Mukhopadhyay D, Weaver L, Tobin R, Henderson S, Beeram M, Newell-Rogers MK, et al. Intrauterine growth restriction and prematurity influence regulatory T cell development in newborns. *J Pediatr Surg.* 2014;49(5):727-32.
327. Ferguson AC. Prolonged impairment of cellular immunity in children with intrauterine growth retardation. *J Pediatr.* 1978;93(1):52-6.
328. Hsu SC, Levine MA. Perinatal calcium metabolism: physiology and pathophysiology. *Semin Neonatol.* 2004;9(1):23-36.
329. Altirkawi K, Rozycki HJ. Hypocalcemia is common in the first 48 h of life in ELBW infants. *J Perinat Med.* 2008;36(4):348-53.
330. Steurer MA, Jelliffe-Pawlowski LL, Baer RJ, Partridge JC, Rogers EE, Keller RL. Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn in Late Preterm and Term Infants in California. *Pediatrics.* 2017;139(1).
331. Bendapudi P, Rao GG, Greenough A. Diagnosis and management of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Paediatr Respir Rev.* 2015;16(3):157-61.
332. Swarnam K, Soraisham AS, Sivanandan S. Advances in the management of meconium aspiration syndrome. *Int J Pediatr.* 2012;2012:359571.
333. Bozzetti V, Tagliabue PE, Visser GH, van Bel F, Gazzolo D. Feeding issues in IUGR preterm infants. *Early Hum Dev.* 2013;89 Suppl 2:S21-3.
334. Dorling J, Kempley S, Leaf A. Feeding growth restricted preterm infants with abnormal antenatal Doppler results. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005;90(5):F359-63.

335. Bagby SP. Maternal nutrition, low nephron number, and hypertension in later life: pathways of nutritional programming. *J Nutr.* 2007;137(4):1066-72.
336. Hediger ML, Overpeck MD, Maurer KR, Kuczarski RJ, McGlynn A, Davis WW. Growth of infants and young children born small or large for gestational age: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1998;152(12):1225-31.
337. Karlberg J, Albertsson-Wikland K. Growth in full-term small-for-gestational-age infants: from birth to final height. *Pediatr Res.* 1995;38(5):733-9.
338. Wit JM, Finken MJ, Rijken M, de Zegher F. Preterm growth restraint: a paradigm that unifies intrauterine growth retardation and preterm extrauterine growth retardation and has implications for the small-for-gestational-age indication in growth hormone therapy. *Pediatrics.* 2006;117(4):e793-5.
339. Clayton PE, Cianfarani S, Czernichow P, Johannsson G, Rapaport R, Rogol A. Management of the child born small for gestational age through to adulthood: a consensus statement of the International Societies of Pediatric Endocrinology and the Growth Hormone Research Society. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(3):804-10.
340. Spinillo A, Stronati M, Ometto A, Fazzi E, Lanzi G, Guaschino S. Infant neurodevelopmental outcome in pregnancies complicated by gestational hypertension and intra-uterine growth retardation. *J Perinat Med.* 1993;21(3):195-203.
341. Vossbeck S, de Camargo OK, Grab D, Bode H, Pohlandt F. Neonatal and neurodevelopmental outcome in infants born before 30 weeks of gestation with absent or reversed end-diastolic flow velocities in the umbilical artery. *Eur J Pediatr.* 2001;160(2):128-34.
342. Guellec I, Lapillonne A, Renolleau S, Charlaluk ML, Roze JC, Marret S, et al. Neurologic outcomes at school age in very preterm infants born with severe or mild growth restriction. *Pediatrics.* 2011;127(4):e883-91.
343. Mallard C, Loeliger M, Copolov D, Rees S. Reduced number of neurons in the hippocampus and the cerebellum in the postnatal guinea-pig following intrauterine growth-restriction. *Neuroscience.* 2000;100(2):327-33.
344. Barbey AK, Colom R, Solomon J, Krueger F, Forbes C, Grafman J. An integrative architecture for general intelligence and executive function revealed by lesion mapping. *Brain.* 2012;135(Pt 4):1154-64.
345. de Waal WJ, Hokken-Koelega AC, Stijnen T, de Muinck Keizer-Schrama SM, Drop SL. Endogenous and stimulated GH secretion, urinary GH excretion, and plasma IGF-I and IGF-II levels in prepubertal children with short stature after intrauterine growth retardation. The Dutch Working Group on Growth Hormone. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1994;41(5):621-30.
346. Langley-Evans SC, Gardner DS, Jackson AA. Maternal protein restriction influences the programming of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Nutr.* 1996;126(6):1578-85.
347. Neville KA, Walker JL. Precocious pubarche is associated with SGA, prematurity, weight gain, and obesity. *Arch Dis Child.* 2005;90(3):258-61.
348. Roth CL, Sathyanarayana S. Mechanisms affecting neuroendocrine and epigenetic regulation of body weight and onset of puberty: potential implications in the child born small for gestational age (SGA). *Rev Endocr Metab Disord.* 2012;13(2):129-40.
349. Ibanez L, Potau N, Ferrer A, Rodriguez-Hierro F, Marcos MV, de Zegher F. Reduced ovulation rate in adolescent girls born small for gestational age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(7):3391-3.
350. Cicognani A, Alessandrini R, Pasini A, Pirazzoli P, Cassio A, Barbieri E, et al. Low birth weight for gestational age and subsequent male gonadal function. *J Pediatr.* 2002;141(3):376-9.

351. Main KM, Jensen RB, Asklund C, Hoi-Hansen CE, Skakkebaek NE. Low birth weight and male reproductive function. *Horm Res.* 2006;65 Suppl 3:116-22.
352. Chan PY, Morris JM, Leslie GI, Kelly PJ, Gallery ED. The long-term effects of prematurity and intrauterine growth restriction on cardiovascular, renal, and metabolic function. *Int J Pediatr.* 2010;2010:280402.
353. Sharma P, McKay K, Rosenkrantz TS, Hussain N. Comparisons of mortality and pre-discharge respiratory outcomes in small-for-gestational-age and appropriate-for-gestational-age premature infants. *BMC Pediatr.* 2004;4:9.
354. Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ.* 1989;298(6673):564-7.
355. Hattersley AT, Tooke JE. The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease. *Lancet.* 1999;353(9166):1789-92.
356. Neel JV. Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? 1962. *Bull World Health Organ.* 1999;77(8):694-703; discussion 692-3.
357. Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med.* 2007;261(5):412-7.
358. Bhutta ZA, Das JK, Rizvi A, Gaffey MF, Walker N, Horton S, et al. Evidence-based interventions for improvement of maternal and child nutrition: what can be done and at what cost? *Lancet.* 2013;382(9890):452-77.
359. McCall EM, Alderdice F, Halliday HL, Jenkins JG, Vohra S. Interventions to prevent hypothermia at birth in preterm and/or low birthweight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010(3):CD004210.
360. Imdad A, Bhutta ZA. Nutritional management of the low birth weight/preterm infant in community settings: a perspective from the developing world. *J Pediatr.* 2013;162(3 Suppl):S107-14.
361. Academy of Pediatrics ACoOa, Gynecologists. Guidelines for perinatal care tellA, from: WAcJA, http://www.circulomedicodezarate.org/ebooks/Guidelines_for_Perinatal_Care.pdf.
362. Salonvaara M, Riikonen P, Kekomaki R, Vahtera E, Mahlamaki E, Halonen P, et al. Effects of gestational age and prenatal and perinatal events on the coagulation status in premature infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003;88(4):F319-23.
363. Go H, Ohto H, Nollet KE, Kashiwabara N, Chishiki M, Hoshino M, et al. Perinatal factors affecting platelet parameters in late preterm and term neonates. *PLoS One.* 2020;15(11):e0242539.
364. Takeshita S, Kakita H, Asai S, Asai T, Mori M, Ueda H, et al. Thrombocytopenia and insufficient thrombopoietin production in human small-for-gestational-age infants. *Pediatr Res.* 2022.
365. Fustolo-Gunnink SF, Vlug RD, Smits-Wintjens VE, Heckman EJ, Te Pas AB, Fijnvandraat K, et al. Early-Onset Thrombocytopenia in Small-For-Gestational-Age Neonates: A Retrospective Cohort Study. *PLoS One.* 2016;11(5):e0154853.
366. Christensen RD, Baer VL, Henry E, Snow GL, Butler A, Sola-Visner MC. Thrombocytopenia in Small-for-Gestational-Age Infants. *Pediatrics.* 2015;136(2):e361-70.
367. Tsao PN, Teng RJ, Chou HC, Tsou KI. The thrombopoietin level in the cord blood in premature infants born to mothers with pregnancy-induced hypertension. *Biol Neonate.* 2002;82(4):217-21.
368. Kannar V, Deepthi A, Harendra Kumar M, Junjgowda K, Mariyappa N. Effect of gestational age, prematurity and birth asphyxia on platelet indices in neonates. *Journal of Clinical Neonatology.* 2014;3(3):144-7.

369. Martinelli S, Francisco RP, Bittar RE, Zugaib M. Hematological indices at birth in relation to arterial and venous Doppler in small-for-gestational-age fetuses. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009;88(8):888-93.
370. Baschat AA, Kush M, Berg C, Gembruch U, Nicolaides KH, Harman CR, et al. Hematologic profile of neonates with growth restriction is associated with rate and degree of prenatal Doppler deterioration. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(1):66-72.
371. Maruyama H, Shinozuka M, Kondoh Y, Akahori Y, Matsuda M, Inoue S, et al. Thrombocytopenia in preterm infants with intrauterine growth restriction. *Acta Med Okayama.* 2008;62(5):313-7.
372. Kwiatkowska M, editor Analysis of selected coagulation parameters and blood platelets count in extremely intrauterine growth restricted (IUGR) newborns 2009.
373. Kalagiri RR, Choudhury S, Carder T, Govande V, Beeram MR, Uddin MN. Neonatal Thrombocytopenia as a Consequence of Maternal Preeclampsia. *AJP Rep.* 2016;6(1):e42-7.
374. Burrows RF, Andrew M. Neonatal thrombocytopenia in the hypertensive disorders of pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1990;76(2):234-8.
375. Kumar P. S, K. R. H. Neonatal thrombocytopenia associated with gestational hypertension, preeclampsia and eclampsia: a case-control study. 2016. 2016;3(1):6.
376. Wilcox GR, Trudinger BJ, Cook CM, Wilcox WR, Connelly AJ. Reduced fetal platelet counts in pregnancies with abnormal Doppler umbilical flow waveforms. *Obstet Gynecol.* 1989;73(4):639-43.
377. Sciscione AC, Bessos H, Callan N, Blakemore K, Kickler T. Indicators of platelet turnover in thrombocytopenic infants. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997;104(6):743-5.
378. Zook KJ, Mackley AB, Kern J, Paul DA. Hematologic effects of placental pathology on very low birthweight infants born to mothers with preeclampsia. *J Perinatol.* 2009;29(1):8-12.
379. Meberg A, Jakobsen E, Halvorsen K. Humoral regulation of erythropoiesis and thrombopoiesis in appropriate and small for gestational age infants. *Acta Paediatr Scand.* 1982;71(5):769-73.
380. Wasiluk A, Mantur M, Kemoni H, Szczepanski M, Jasinska E, Milewski R. Thrombopoiesis in small for gestational age newborns. *Platelets.* 2009;20(7):520-4.
381. Tsao PN, Wei SC, Su YN, Chou HC, Chen CY, Hsieh WS. Excess soluble fms-like tyrosine kinase 1 and low platelet counts in premature neonates of preeclamptic mothers. *Pediatrics.* 2005;116(2):468-72.
382. Hiatt AK, Britton KA, Hague NL, Brown HL, Stehman FB, Broxmeyer HE. Comparison of hematopoietic progenitor cells in human umbilical cord blood collected from neonatal infants who are small and appropriate for gestational age. *Transfusion.* 1995;35(7):587-91.
383. Norris LA, Sheppard BL, Burke G, Bonnar J. Platelet activation in normotensive and hypertensive pregnancies complicated by intrauterine growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1994;101(3):209-14.
384. Mullers SM, Burke N, Flood K, Cowman J, O'Connor H, Cotter B, et al. Altered Platelet Function in Intrauterine Growth Restriction: A Cause or a Consequence of Uteroplacental Disease? *Am J Perinatol.* 2016;33(8):791-9.
385. Kazmi RS, Cooper AJ, Lwaleed BA. Platelet function in pre-eclampsia. *Semin Thromb Hemost.* 2011;37(2):131-6.
386. Trudinger B, Song JZ, Wu ZH, Wang J. Placental insufficiency is characterized by platelet activation in the fetus. *Obstet Gynecol.* 2003;101(5 Pt 1):975-81.
387. Wasiluk A, Mantur M, Kemoni H, Milewski R. Platelet expression of CD62P in hypotrophic newborns. *Platelets.* 2012;23(2):161-5.

388. Ohshige A, Yoshimura T, Maeda T, Ito M, Okamura H. Increased platelet-activating factor-acetylhydrolase activity in the umbilical venous plasma of growth-restricted fetuses. *Obstet Gynecol.* 1999;93(2):180-3.
389. Obe O, Bischof H, Dempsey-Hibbert N, Brownbill P, Jones S. 189 Altered platelet function and thrombosis in fetal growth restriction. *Heart.* 2017;103(Suppl 5):A129-A30.
390. Kuhne T, Ryan G, Blanchette V, Semple JW, Hornstein A, Mody M, et al. Platelet-surface glycoproteins in healthy and preeclamptic mothers and their newborn infants. *Pediatr Res.* 1996;40(6):876-80.
391. Klein B, Faridi A, Amo-Takyi BK, Heilmann L, Von Tempelhoff GF, Rath W. Neonatal platelet activation in preeclampsia. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2001;7(1):29-32.
392. Yang J, Zhang H, Niu J, Mu X, Zhang X, Liu Y, et al. Impact of preeclampsia on megakaryocytopoiesis and platelet homeostasis of preterm infants. *Platelets.* 2016;27(2):123-7.
393. Laskowska M, Laskowska K, Leszczynska-Gorzalak B, Oleszczuk J. Umbilical sP-selectin levels are different in preeclamptic pregnancies with intrauterine normal growth and growth restricted fetus. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011;24(6):795-8.
394. El Haouari M, Rosado JA. Platelet function in hypertension. *Blood Cells Mol Dis.* 2009;42(1):38-43.
395. Kilby MD, Broughton Pipkin F, Symonds EM. Neonatal and maternal platelet cytosolic calcium in normotensive and hypertensive pregnancies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1994;71(1):F6-10.
396. Ward C, Lewis S, Coleman T. Prevalence of maternal smoking and environmental tobacco smoke exposure during pregnancy and impact on birth weight: retrospective study using Millennium Cohort. *BMC Public Health.* 2007;7:81.
397. Anderson TM, Lavista Ferres JM, Ren SY, Moon RY, Goldstein RD, Ramirez JM, et al. Maternal Smoking Before and During Pregnancy and the Risk of Sudden Unexpected Infant Death. *Pediatrics.* 2019;143(4).
398. Pamukcu B, Oflaz H, Onur I, Cimen A, Nisanci Y. Effect of cigarette smoking on platelet aggregation. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2011;17(6):E175-80.
399. Sandhya M, Satyanarayana, U., Mohanty, S., & Basalingappa, D. R. Impact of chronic cigarette smoking on platelet aggregation and coagulation profile in apparently healthy male smokers. *International Journal of Clinical and Experimental Physiology.* 2015;2(2):128-33.
400. Mercelina-Roumans PE, Breukers RB, Ubachs JM, van Wersch JW. Hematological variables in cord blood of neonates of smoking and nonsmoking mothers. *J Clin Epidemiol.* 1996;49(4):449-54.
401. Mercelina-Roumans PE, Ubachs JM, van Wersch JW. Hemostasis in newborns of smoking and nonsmoking mothers. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;176(3):662-6.
402. G. Ahlsten UE, H. Kindahl, T. Tuvemol. Aggregation of and thromboxane B2 synthesis in platelets from newborn infants of smoking and non-smoking mothers. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine.* 1985;19(2):167-76.
403. Sokou R, Konstantinidi A, Tsante KA, Tsantes AG, Parastatidou S, Ioakeimidis G, et al. The impact of maternal smoking during pregnancy on hemostatic profile of neonates using thromboelastometry (ROTEM). A pilot observational study. *Placenta.* 2022;129:23-9.
404. Sokou R, Konstantinidi A, Stefanaki C, Tsantes AG, Parastatidou S, Lampropoulou K, et al. Thromboelastometry: studying hemostatic profile in small for gestational age neonates-a pilot observational study. *Eur J Pediatr.* 2019;178(4):551-7.
405. Raffaelli G, Tripodi A, Cavallaro G, Cortesi V, Scalabrino E, Pesenti N, et al. Thromboelastographic profiles of healthy very low birthweight infants serially during their first month. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2020;105(4):412-8.

406. Valsami S, Kollia M, Mougou V, Sokou R, Isaakidou E, Boutsikou M, et al. Evaluation of PFA-100 closure times in cord blood samples of healthy term and preterm neonates. *Clin Chem Lab Med*. 2020;58(4):e113-e6.
407. Alkhamis TM, Beissinger RL, Chediak JR. Artificial surface effect on red blood cells and platelets in laminar shear flow. *Blood*. 1990;75(7):1568-75.
408. Knofler R, Weissbach G, Kuhlisch E. Platelet function tests in childhood. Measuring aggregation and release reaction in whole blood. *Semin Thromb Hemost*. 1998;24(6):513-21.
409. Roschitz B, Thaller S, Koestenberger M, Wirnsberger A, Leschnik B, Fritsch P, et al. PFA-100 closure times in preoperative screening in 500 pediatric patients. *Thromb Haemost*. 2007;98(1):243-7.
410. Saxonhouse MA, Sola MC. Platelet function in term and preterm neonates. *Clin Perinatol*. 2004;31(1):15-28.
411. Deschmann E, Sola-Visner M, Saxonhouse MA. Primary hemostasis in neonates with thrombocytopenia. *J Pediatr*. 2014;164(1):167-72.
412. Parker CR, Jr., Hauth JC, Goldenberg RL, Cooper RL, Dubard MB. Umbilical cord serum levels of thromboxane B2 in term infants of women who participated in a placebo-controlled trial of low-dose aspirin. *J Matern Fetal Med*. 2000;9(4):209-15.
413. Werner EJ. Neonatal polycythemia and hyperviscosity. *Clin Perinatol*. 1995;22(3):693-710.
414. Szpera-Gozdziewicz A, Gozdziewicz T, Boruckowski M, Dworacki G, Breborowicz GH. Relationship between the von Willebrand Factor Plasma Concentration and Ultrasonographic Doppler Findings in Pregnancies Complicated by Hypertensive Disorders: A Pilot Study. *Gynecol Obstet Invest*. 2018;83(3):252-8.
415. Goksever Celik H, Uhri M, Yildirim G. Expression of von Willebrand factor and caldesmon in the placental tissues of pregnancies complicated with intrauterine growth restriction. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019;32(6):916-21.
416. Strauss T, Elisha N, Ravid B, Rosenberg N, Lubetsky A, Levy-Mendelovich S, et al. Activity of Von Willebrand factor and levels of VWF-cleaving protease (ADAMTS13) in preterm and full term neonates. *Blood Cells Mol Dis*. 2017;67:14-7.
417. Malamitsi-Puchner A, Protonotariou E, Boutsikou T, Makrakis E, Sarandakou A, Creatsas G. The influence of the mode of delivery on circulating cytokine concentrations in the perinatal period. *Early Hum Dev*. 2005;81(4):387-92.
418. Gedikbasi A, Salihoglu O, Cankaya A, Arica V, Akkus C, Hatipoglu S, et al. The evaluation of cord blood interleukin-1beta levels in normal and caesarean deliveries. *Hum Exp Toxicol*. 2014;33(12):1193-8.
419. Trevino-Garza C, Villarreal-Martinez L, Estrada-Zuniga CM, Leal-Trevino M, Rodriguez-Balderrama I, Nieto-Sanjuanero A, et al. Leptin, IL-6 and TNF-alpha levels in umbilical cord blood of healthy term newborns in relation to mode of delivery. *J Obstet Gynaecol*. 2016;36(6):719-21.
420. Kaser A, Brandacher G, Steurer W, Kaser S, Offner FA, Zoller H, et al. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood*. 2001;98(9):2720-5.
421. Kerr R, Stirling D, Ludlam CA. Interleukin 6 and haemostasis. *Br J Haematol*. 2001;115(1):3-12.
422. Oleksowicz L, Mrowiec Z, Zuckerman D, Isaacs R, Dutcher J, Puszkin E. Platelet activation induced by interleukin-6: evidence for a mechanism involving arachidonic acid metabolism. *Thromb Haemost*. 1994;72(2):302-8.
423. Marta RF, Goette NP, Lev PR, Chazarreta CD, Pirola CJ, Molinas FC. Normal platelets possess the soluble form of IL-6 receptor. *Cytokine*. 2005;29(1):13-7.

424. Beaulieu LM, Lin E, Mick E, Koupenova M, Weinberg EO, Kramer CD, et al. Interleukin 1 receptor 1 and interleukin 1beta regulate megakaryocyte maturation, platelet activation, and transcript profile during inflammation in mice and humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(3):552-64.
425. Bester J, Pretorius E. Effects of IL-1beta, IL-6 and IL-8 on erythrocytes, platelets and clot viscoelasticity. *Sci Rep.* 2016;6:32188.
426. Schulz C, von Beckerath O, Okrojek R, von Beckerath N, Massberg S. Platelet dysfunction and inhibition of multiple electrode platelet aggregometry caused by penicillin. *Thromb J.* 2010;8:13.
427. Odoom JA, Dokter PW, Sturk A, Ten Cate JW, Sih IL, Bovill JG. The influence of epidural analgesia on platelet function and correlation with plasma bupivacaine concentrations. *Eur J Anaesthesiol.* 1988;5(5):305-12.
428. Sridhar K, Murphy D, Shorten G. Effects of lignocaine on platelet activating factor production: A-219. *European Journal of Anaesthesiology | EJA.* 2004;21:55.
429. Porter J, Crowe B, Cahill M, Shorten G. The effects of ropivacaine hydrochloride on platelet function: an assessment using the platelet function analyser (PFA-100). *Anaesthesia.* 2001;56(1):15-8.
430. 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(2):344-50.
431. Carroll PD. Umbilical Cord Blood-An Untapped Resource: Strategies to Decrease Early Red Blood Cell Transfusions and Improve Neonatal Outcomes. *Clin Perinatol.* 2015;42(3):541-56.

**ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΠΟ ΤΗ
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

Published online: 13.12.2019

High-Risk Pregnancies and Their Impact on Neonatal Primary Hemostasis

Marianna Politou, MD, PhD^{1,*} Vasiliki Mougou, MD, PhD(c)^{2,*} Maria Kollia, MD, PhD(c)²
Rozeta Sokou, MD, PhD² Georgios Kafalidis, MD, PhD² Zoi Iliodromiti, MD, PhD²
Serena Valsami, MD, PhD¹ Theodora Boutsikou, MD, PhD² Nicoletta Iacovidou, MD, PhD²

¹Hematology Laboratory-Blood Bank, Aretaieio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece
²Neonatal Department, Aretaieio Hospital, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Address for correspondence: Nicoletta Iacovidou, MD, PhD, Medical School, Aretaieio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, 76, Vasilissis Avenue, Athens 11528, Greece (e-mail: niciac58@gmail.com).

Semin Thromb Hemost

Abstract

Primary hemostasis, similar to other systems in the adjusting and transitioning neonate, undergoes developmental adaptations in the first days of life. Although platelets of neonates do not differ quantitatively compared with those of adults, they functionally present with major differences, thus supporting the theory of a “hypofunctional” phenotype that is counterbalanced by high hematocrit and more potent von Willebrand factor multimers. No clinical effect of bleeding tendency has hence been established so far for healthy term neonates. However, discrepancies in functionality have been noted, associated with gestational age, with more pronounced platelet hyporesponsiveness in preterm neonates. Multiple methods of in vitro platelet function evaluation such as PFA-100/200, platelet aggregometry, flow cytometry, and cone and platelet analyzer have been used for assessment of neonatal primary hemostasis. Several pregnancies are characterized as “high-risk” when risk factors preexist in maternal history or evolve during pregnancy. These pregnancies require specialized observation as they may have unpredictable outcome. High-risk pregnancies include clinical entities such as preeclampsia, pregnancy-induced smoking during pregnancy, gestational diabetes mellitus (GDM), autoimmune diseases, and other maternal hematological conditions. In some cases, like systemic lupus erythematosus, anti-phospholipid antibody syndrome, and maternal immunologically based thrombocytopenia, neonatal thrombocytopenia is regarded as a prominent hemostasis defect, while in others, like pregnancy-induced hypertension and preeclampsia, both quantitative and qualitative disorders of neonatal platelets have been reported. In other pathologies, like GDM, neonatal primary hemostasis remains vastly unexplored, which raises the need for further investigation. The extent to which primary hemostasis is affected in neonates of high-risk pregnancies is the main objective of this narrative review.

Keywords

- ▶ platelets
- ▶ platelet function
- ▶ neonates
- ▶ primary hemostasis
- ▶ high-risk pregnancies
- ▶ neonatal hemostasis

Neonatal hemostasis has been a field of great interest over the past few decades as recognition has grown of the many dynamic changes that occur during the transitional stage

from fetal to neonatal life. Although the coagulation system has been thoroughly studied in the neonatal population, there are still several issues that have yet to be elucidated, particularly regarding primary hemostasis in this age group. Platelets play a key role in human hemostasis, as they adhere

* Politou and Mougou shared first authorship.

Issue Theme Editorial Compilation VIII;
Guest Editors: Emmanuel J. Favaloro,
PhD, FFSc (RCPA), and Giuseppe Lippi,
MD.

Copyright © by Thieme Medical
Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue,
New York, NY 10001, USA.
Tel: +1(212) 584-4662.

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0039-3400258>.
ISSN 0094-6176.

to the vascular endothelium at sites of injury, and thereafter become activated and secrete a variety of prohemostatic agonists, a process that leads to their aggregation and formation of a primary hemostatic plug. With a lifespan of 5 to 7 days, platelets originating from the bone marrow-derived megakaryocytes (MKs) circulate in blood vessels until active recruitment, via interaction of their membrane glycoprotein (GP) Ib/IX/V complex and plasma von Willebrand factor (VWF), together with subendothelial matrix components. This initial interaction slows the flow of platelets and allows other platelet receptors (GPVI and integrin $\alpha 2\beta 1$) to bind to collagen.¹⁻⁴ Secondary to adhesion, a change of platelet shape leads to platelet aggregation via platelet-to-platelet interactions (the GPIIb/IIIa receptor [also termed integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$] binding fibrinogen), while transduction of secondary signals leads to degranulation and release of mediators from the platelet granules that act as platelet agonists, including thromboxane A₂ (TXA₂), adenosine diphosphate (ADP), and thrombin.^{5,6} These agonists elicit further activation of platelets by expression of adhesion molecules like P-selectin, leading to platelet-platelet interactions and inducing inflammatory reaction with recruitment of leukocytes via cytokine and chemokine secretion. Platelet aggregates, also known as white thrombi, form the primary clot.^{7,8}

In neonates, it has been found that platelet counts present no difference in absolute number compared with adults, but studies support a major discrepancy in their functionality, toward a more hyporesponsive phenotype compared with adult platelets.^{9,10}

Several methodologies (see ►Table 1) have been used for assessing neonatal primary hemostasis, but reference ranges, especially age-specific, have not yet been officially established. The aim of the present narrative review is to summarize current knowledge on primary hemostasis (platelet quantitative and qualitative characteristics) in normal neonates as well as in neonates from high-risk pregnancies. High-risk pregnancies represent cases of high interest as they require special management and close observation (see ►Table 2). Almost 15% of all pregnancies could be characterized as “high-risk” due to potentially life-threatening complications. The most frequently encountered are pregnancies complicated with high blood pressure, diabetes mellitus, preeclampsia, and infections. Preexisting maternal medical conditions or factors such as obesity and age may define a pregnancy as potentially of high risk. Risk factors appearing during any stage of pregnancy may have an impact on the hemostatic system and compromise both maternal and neonatal well-being. We review the literature for the impact of these aforementioned conditions (chosen because of their frequency and clinical significance) on neonatal primary hemostasis and the implicated mechanisms are discussed.^{11,12}

Primary Hemostasis in Neonates

Platelet production begins as early as 5 weeks postconception, when MK progenitors are found in the liver and platelets in the fetal circulation.¹³ The four steps in platelet production as described by Martha Sola-Visner include: production of

Table 1 Methods for assessing platelet function

Method	Principle	Tests reported in neonates
Bleeding time (BT)	In vivo screening test for the interaction between platelets and the blood vessel measuring the time needed to form a hemostatically effective platelet clot (Andrew et al 1989 ¹³²)	Gerrard et al, 1989 ¹³³ Del Vecchio and Sola, 2000 ⁴⁷ Sola et al, 2001 ⁴⁸ Del Vecchio, 2002 ⁴⁵ Del Vecchio et al, 2008 ⁴⁶ Sheffield et al, 2011 ¹³⁴
Platelet aggregometry	Agonist-specific platelet aggregation measured by changes in light transmission ⁵⁰	Gader et al, 1988 ⁵⁰ Uçar et al, 2005 ³⁸ Bonduel et al, 2007 ¹³⁵ Tanous et al, 2017 ¹³⁶
Flow cytometry	Monoclonal antibodies that bind platelet activation markers and other surface glycoproteins via flow cytometry ¹³⁷	Rajasekhar et al, 1994, 1997 ^{35,138} Pietrucha et al, 2001 ¹³⁹ Saving et al, 2002 ¹⁴⁰ Hézarid et al, 2003 ¹⁴¹ Sitaru et al, 2005 ¹⁵⁰ Wasiluk et al, 2008 ¹⁴² Baker-Groberg et al, 2016 ¹⁴³
Cone and platelet analyzer (CPA)	In vitro whole blood assessment of platelet adhesion and aggregation under high shear conditions by measuring platelet surface coverage (SC) on the viscometer ⁵³	Shenkman et al, 1999 ¹⁴⁴ Linder et al, 2002 ¹⁴⁵ Levy-Shraga et al, 2006 ⁵⁴ Strauss et al, 2010 ⁷⁰
Platelet function analyzer (PFA-100/200)	In vitro whole blood assessment of platelet activation and aggregation under high shear conditions and exposure to different agonists by measuring closure time (CT) required to occlude an aperture ⁵⁵	Carcao et al, 1998 ¹⁴⁶ Israels et al, 2001 ¹⁴⁷ Roschitz et al, 2001 ⁵⁶ Boudewijns et al, 2003 ⁴⁰ Saxonhouse et al, 2010 ⁵⁸

Table 2 High-risk pregnancies affecting primary hemostasis

Pregnancy-induced hypertension (PIH)	Pregnancy-induced hypertension (PIH) is persistent de novo hypertension that develops at or after 20 weeks' gestation in the absence of features of preeclampsia ¹⁴⁸
Preeclampsia	Preeclampsia is gestational hypertension accompanied by at least one of the following new-onset conditions at or after 20 weeks' gestation: Proteinuria Other maternal organ dysfunction (acute kidney injury, liver involvement, neurological complications, hematological complications) Uteroplacental dysfunction ¹⁴⁸
HELLP syndrome	Acronym for hemolysis (H), elevated liver enzymes (EL), and low platelet count (LP) ¹⁴⁸
Smoking during pregnancy	
Systemic lupus erythematosus (SLE) / Neonatal lupus syndrome (NLS)	Transplacental passage of maternal immunoglobulin G (IgG) autoantibodies against Sjögren's syndrome autoantigens (SSA (Ro) and SSB (La)) results in neonatal lupus erythematosus syndrome (NLES) ⁹⁹
Antiphospholipid antibody syndrome (APS)	Acquired autoimmune disorder that clinically manifests with recurrent venous or arterial thrombosis and/or fetal loss ¹⁰⁶
Gestational diabetes mellitus (GDM)	State of glucose intolerance of variable severity, that is only detected during pregnancy. GDM is diabetes that is first diagnosed in the second or third trimester of pregnancy that is not clearly either preexisting type 1 or type 2 diabetes ¹⁴⁹
Maternal-fetal quantitative platelet defects (thrombocytopenia)	Gestational thrombocytopenia (80%) Preeclampsia and HELLP syndrome Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) Hemolytic uremic syndrome (HUS) Disseminated intravascular coagulation (DIC) Immune thrombocytopenic purpura (ITP) Alloimmune fetal-neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT)

thrombopoietic factors, such as thrombopoietin (TPO), the most important catalyst in platelet homeostasis, proliferation of MK progenitors, maturation of MKs, and production and release of platelets into the circulation.^{14,15}

Developmental differences between neonatal and adult platelets have been described by several workers. Neonatal MK progenitors exhibit higher and more rapid proliferative capacity than adult platelets, as a result of which progenitor MK cells generate 10-fold more MKs per cell than adults.^{16,17} Neonatal MKs are smaller in size and lower in ploidy than adult MKs. Although they achieve full cytoplasmic maturation with lower levels of ploidy, they produce lower number of platelets per MK.¹⁸ Neonatal MKs cannot expand sufficiently in size when demand increases in case of existing thrombocytopenia, and they only increase in number demonstrating a reduced mean platelet volume (MPV) and a lower platelet reactivity compared with adult MKs that increase first by size and then by number.^{19,20} Other characteristics of neonatal thrombopoiesis are higher TPO concentrations and greater sensitivity to TPO than adults.²¹

Human platelet lifespan is estimated to be around 10 days. Data from mice models support prolongation of neonatal platelet survival, compared with adults, in line with data from human in vitro analyses as well.^{22,23} Immature reticulated platelets are the newest ones to be released from the bone marrow, with high ribonucleic acid content contrary to mature platelets. Their absolute number reflects the extent of thrombopoiesis and is expressed as the immature platelet fraction (IPF), which serves as an emerging biomarker for monitoring of neonatal thrombocytopenia.²⁴ IPF allows the

distinction between consumptive and hypoproliferative etiologies of thrombocytopenia as it is expected to be lower in the latter where megakaryopoiesis is impeded.²⁵ IPF may also have predictive value regarding the management of neonatal thrombocytopenia, since elevation of IPF indicates higher production of young platelets and therefore it may prevent an unnecessary transfusion.²⁶

Platelet numbers reach normal adult hemostatic values by the 22nd week of gestation. Hence, it has been generally presumed that platelets do not differ significantly in number or volume in neonates compared with adults, with values ranging between 150 and 400 × 10⁹/L and 7 and 9 fL, respectively.²⁷ However, Wiedmeier et al in 2009²⁸ studied 47,000 neonates with gestational age between 22 and 42 weeks and demonstrated that platelet counts increase as gestational age advances, with the lower limits of platelet values being lower than those of adults, especially for premature infants. Platelet counts of term infants increase over the first 7 to 14 days of life and remain steady for the next 2 weeks following the pattern of plasma TPO concentration, since TPO peaks on the second day of life and remains higher than that of healthy adults during the first 2 to 3 weeks of life.²⁸ The overall prevalence of neonatal thrombocytopenia is 1 to 5%, mostly affecting preterm-neonatal intensive care unit admitted infants, with a rate there of 22 to 35%. More precisely, approximately 70% of all neonates born with a body weight of < 1 kg present with thrombocytopenia, thus increasing their risk of intraventricular hemorrhage (IVH).^{29,30} However, thresholds that define thrombocytopenia are age-dependent.

Regarding platelet functionality, ultrastructural observations demonstrate a relative hyporesponsive pattern of neonatal platelets, as they exhibit less microtubular structures, fewer pseudopodia, and fewer granules than adult platelets.³¹ Furthermore, neonatal platelets have decreased α and dense granule secretion, reduced expression of surface activation markers, deficiency in phospholipid metabolism, and reduced calcium mobilization compared with those of adults.^{32,33} Receptors that bind activating platelet factors are also fewer and this causes a limited responsiveness to agonists like ADP, thrombin, epinephrine, collagen, and TXA2 analogues.³⁴ Receptor-mediated intracellular signaling pathways also show reduced responses compared with adults as an expression of the platelets' immaturity that evolves in an age-dependent manner. GPIIb/IIIa receptors are not sufficiently expressed on the surface of neonatal platelets and their binding is not as efficient in the activated form of neonatal platelets as in adult platelets.³⁵ The composition in phospholipids of neonatal platelet membranes does not differ from adults, thus leading to adequate production of thrombin. Even in thrombocytopenia, endogenous thrombin potential remains stable due to lower tissue factor pathway inhibitor and antithrombin levels that diminish the amount of phospholipids needed to generate thrombin.³⁶

After the first days of life, this transient comparative hyporesponsiveness, as directly linked to gestational age, gradually subsides and developmental processes generate functionally mature platelets (process of developmental hemostasis).³⁷ The time of complete normalization of neonatal platelet reactivity according to most studies occurs between the 10th and 14th day of life.^{37,38}

Despite their hypofunctional platelets, term neonates exhibit no clinical bleeding tendencies. Contrasting this lowered responsiveness, neonates seem to have an overall enhanced primary hemostasis, a finding reflected by *in vitro* functional tests. This amplified hemostasis has generally been attributed to higher hematocrit of neonates, greater mean corpuscular volume, higher VWF levels in comparison to adults, as well as the presence of ultralarge VWF multimers. These factors enhance cellular interaction and adhesion of platelets to subendothelium and altogether counterbalance the intrinsic hypofunctionality of neonatal platelets.^{39–41}

Platelets from premature neonates exhibit decreased platelet adhesion capacity and lower MPVs than term neonates, which reflects their lower ability to produce younger reticulated platelets.^{42,43} The hyporeactivity of platelets in premature neonates contributes to higher risk for hemorrhagic episodes including intracranial hemorrhage (ICH).⁴³

Methods of Primary Hemostasis Investigation in Neonates (see –Table 1)

Several methods have been used in the evaluation of platelet function, apart from the classical bleeding time (BT), and including platelet aggregometry, platelet function analyzer (PFA)-100/200, and the cone and platelet analyzer (CPA). Notable challenges exist with most methodologies and the interpretation of their results, as they evaluate predominantly

the *ex vivo* response of neonatal platelets and method standardization and age-specific reference ranges are lacking.⁴⁴

Bleeding Time

Bleeding time, measuring the time required for platelets to form a clot in a physical skin wound, has been previously established as an efficient method to evaluate *in vivo* primary hemostasis.⁴⁵ The BT seems to be proportionally related to the severity of thrombocytopenia for platelet counts below $100 \times 10^9/L$ and also appears to be more prolonged at smaller gestational ages.^{46,47}

Bleeding time in preterm neonates may be up to two times as long as that of full-term neonates at the time of birth, while at around the 10th day of life any association between gestational age and BT ceases to exist. This solidifies the theory that platelet functionality is inversely correlated with gestational age and that normalization of human primary hemostasis is a developmental process.⁴⁶ However, this method is highly invasive and has limited reproducibility, thus its use remains controversial due to operational variability, and it is no longer applied in most facilities.^{48,49}

Platelet Aggregometry/Flow Cytometry

Platelet aggregometry represents a technique based on changes that occur in optical density of platelet-rich plasma upon agonist-induced platelet aggregation. It is not greatly applied in neonates because of the high volume of blood that needs to be collected.^{38,50}

Flow cytometry uses monoclonal antibodies to detect platelet surface GPs that serve as platelet activation markers, such as P-selectin and the fibrinogen binding site on GPIIb/IIIa. The methods require minimal blood volumes (5–100 μL) and can also be used on thrombocytopenic patients; however, they remain highly specialized and expensive.⁵¹ It has been demonstrated that preterm and extremely low birth weight infants present with reduced platelet adhesion and aggregation and lower reactivity levels than adult platelets.⁴³ Furthermore, the reduced expression of surface activation markers in term neonates compared with adults seems to persist until the 10th day of life, when neonatal platelet reactivity approaches adult levels.⁵²

Cone and Platelet Analyzer

The CPA induces and quantifies platelet adhesion and aggregation under shear stress conditions by measuring the area of the cone-and-plate viscometer that is covered by platelet clots.⁵³ The method requires a small amount of blood (200 μL of whole citrated blood) and has corroborated the results of other studies, concluding that faster adhesion and aggregation occurs in neonates in comparison to adults, and also confirms an age-dependent platelet functionality.⁵⁴ This methodology, however, still remains far from being a useful tool for clinical utility, due to its limited availability and experience, and is thus mainly used for research.

Platelet Function Analyzer-100/200

PFA-100/200 is an *in vitro*, reproducible system that utilizes small volumes of citrated whole blood, tested by using two

different agonist systems, epinephrine, and ADP, each combined with collagen, thus leading to platelet activation and adhesion/aggregation under shear stress conditions. The time required for primary clot formation is referred to as closure time (CT) for either cartridge (COL/EPI or COL/ADP) and depicts the global platelet-VWF-related hemostasis.⁵⁵

Few existing studies have compared adults and healthy term neonates, with these demonstrating lower CTs in neonates. This has been attributed to the presence of ultralarge VWF multimers rather than to differences in cellular blood constituents, such as higher hematocrit or more elevated white blood cell values that prevail in neonatal populations.^{40,56} PFA-100/200 CTs can be influenced by factors like therapeutic hypothermia, several medications including nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and postconceptional age.^{32,57}

As far as prematurity is concerned, CTs using COL/ADP were found to be inversely correlated with gestational age, but no correlation was found in terms of COL/EPI CTs, thus implying that certain (rather than all) signaling pathways may be affected in neonatal platelet activation cascade.⁵⁷

PFA-100/200 remains at present one of the most widely used methodologies for comprehension and evaluation of neonatal hemostasis. Limitations exist, however, such as demonstration of a significantly important difference between CTs in cord blood samples and in neonatal peripheral blood.⁵⁸

High-Risk Pregnancies and Impact on the Neonate (see ▶Table 2)

Hypertensive Disorders of Pregnancy

Hypertensive disorders of pregnancy affect platelet number and function in maternal and fetal/neonatal circulation. Platelets play an important role in the maintenance of the pathophysiology of pregnancy-induced hypertension (PIH) and preeclampsia. The abnormal placentation causes endothelial dysfunction through vasoactive agents released in maternal circulation. Different pathways (e.g., decreased nitric oxide and prostacyclin, elevated TXA₂, angiotensin II, and cytokines) promote platelet activation. The effectiveness of use of anti-platelet agents for preventing preeclampsia in high-risk pregnancies provides proof for involvement of platelets in the pathogenesis of hypertensive disorders of pregnancy.⁵⁹ As far as maternal circulation and primary hemostasis is concerned, the total number of platelets has been found decreased in several studies,⁵⁹⁻⁶³ whereas the MPV is frequently increased in pregnancies complicated with PIH.^{59,63}

Many studies on platelet function in pregnant women with preeclampsia have been conducted to date. Platelet aggregation studies demonstrated in vitro reduced platelet aggregation in preeclamptic women, as a result of excessive in vivo activation and platelet exhaustion.^{63,64} The presumptive adaptation of platelets to a previous stage of responsiveness as an attempt to improve the uteroplacental perfusion in intrauterine growth restricted (IUGR) pregnancies supports the theory of platelet exhaustion and subsequent hyporesponsiveness.⁶⁵ This theory is strengthened by significantly higher expression of CD63 on platelets' surface of preeclamptic women during early stage pregnancy, and implementation of this finding as a risk factor

of developing preeclampsia.^{61,66} These findings were further confirmed via PFA-100/200.^{62,67,68} However, there are studies that failed to support a significant difference of platelet function between normal pregnancies and pregnancies complicated with PIH or preeclampsia using aggregometry^{68,69} or flow cytometry.⁶³

Few studies have been conducted on platelet function of neonates born to mothers with preeclampsia and their results are inconclusive. Hyporesponsiveness of platelets in offspring of preeclamptic mothers was supported by lower expression of GPs on platelet surfaces¹³ and lower platelet adhesion using CPA.⁷⁰ However, other studies using flow cytometry exhibited higher in vitro responsiveness of platelets to various agonists among this subgroup of neonates.⁶³

Offspring of pregnancies with hypertensive disorders form a high-risk group of neonates. The thrombocytopenia of neonates born to mothers with PIH or preeclampsia has been well documented since late 1970s.^{60,71-77} The frequency of thrombocytopenia in these neonates ranges from 26 to 47%, and is observed at birth until the 3rd day of life, and resolves at day 10.^{74,76} The pathophysiology of this thrombocytopenia remains debated.⁷⁸ Fetal hypoxia due to placental hypoperfusion may suppress the proliferation of MKs, thus resulting in reduction of platelet production in favor of erythropoiesis,^{73,76} while the consumption of platelets on a thrombotic bed of placenta could provide another explanation.^{73,79} On the other hand, Zook et al failed to connect neonatal thrombocytopenia to placental histopathology.⁸⁰ Higher incidences of thrombocytopenia among these infants could also be attributed either to the higher frequency of prematurity at this subgroup of neonates^{70,75} or only to the risk of developing small for gestational age neonates.⁸¹ IVH is more common among infants whose mothers were diagnosed with HELLP syndrome and a possible defect on platelet function may contribute to this risk above the observed thrombocytopenia.⁸²

The American College of Obstetricians and Gynecologists and the Society for Maternal-Fetal Medicine recommend low-dose aspirin (81 mg/day) prophylaxis in women at high risk of preeclampsia, initiated between 12 and 28 weeks of gestation (optimally before 16 weeks), and continued daily until delivery.⁸³ Aspirin in low doses selectively suppresses TXA₂ synthesis without reducing the production of prostacyclin.⁸⁴ A small amount of acetylsalicylic acid reaches fetal circulation.⁸⁵ Although a reduction of TXB₂ levels in umbilical cord blood was documented,⁸⁴⁻⁸⁷ platelet aggregation studies failed to demonstrate differences between the two groups of neonates (neonates whose mothers had received aspirin vs. neonates whose mothers had not received aspirin).^{88,89} None of the studies reported bleeding tendency in neonates whose mothers received daily low-dose aspirin during pregnancy.

Smoking during Pregnancy

In utero tobacco exposure has been linked to IUGR, preterm birth, and low birth weight infants, and is associated with an increased risk of congenital heart disease, orofacial clefts, respiratory infections, poorer cardiovascular and respiratory function, increased rates of sudden unexpected infant death,

metabolic syndrome later in life, and poor neurodevelopmental outcome.⁹⁰⁻⁹² Among adults, smokers tend to exhibit higher platelet aggregability compared with nonsmokers^{93,94} but no difference of total platelet count, platelet distribution width, MPV, or platelet large cell ratio was confirmed between neonates of smoking and nonsmoking mothers.⁹⁵ This finding was further supported in animal models (rats).⁹⁶ However, a recent study identified shorter CTs in neonates of smoking mothers compared with those of nonsmoking controls.⁹⁷ Moreover, although Ahlsten et al found that platelet count was slightly lower in infants of smoking mothers than in control infants, they failed to document differences between the two groups, either in the qualitative or quantitative aggregation responses, or in TXB2 synthesis.⁹⁸

Systematic Lupus Erythematosus/Neonatal Lupus Syndrome

The transplacental passage of maternal immunoglobulin G (IgG) autoantibodies against Sjögren's syndrome autoantigens (SSA (Ro) and SSB (La)) results in neonatal lupus erythematosus syndrome (NLES).⁹⁹ The incidence of NLES is estimated at approximately 2% and increases in subsequent pregnancies.¹⁰⁰ Pregnant women with systemic lupus erythematosus (SLE) tend to have higher rates of stillbirths, gestational diabetes, preterm pregnancies, and IUGR.⁹⁹ NLES may present with cutaneous lesions, cytopenias, and hepatic dysfunction (in decreasing frequency), which are reversible, and with cardiac arrhythmias and atrioventricular block, which are irreversible.¹⁰⁰ The most frequent finding regarding neonatal platelets is transient thrombocytopenia. The incidence varies between 4 and 30% in different studies.^{101,102} Although cytopenias in NLES persist until 3 to 6 months of age, thrombocytopenia tends to be the least frequent compared with neutropenia and anemia.¹⁰³ In the literature, there are only case reports with thrombocytopenia as the only and main presenting symptom of NLES.^{104,105}

Antiphospholipid Antibody Syndrome

Antiphospholipid antibody syndrome is an acquired autoimmune disorder that clinically manifests with recurrent venous or arterial thrombosis and/or fetal loss.¹⁰⁶ Pregnant women may experience recurrent early miscarriage, late fetal loss, premature birth, hypertensive disorders, of pregnancy including preeclampsia and HELLP. Defects on neonatal platelets, mainly thrombocytopenia, are due to these clinical manifestations of pregnancies.¹⁰⁷

Gestational Diabetes Mellitus

The incidence of gestational diabetes mellitus (GDM) varies between 9 and 26% according to the HAPO study (Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes).¹⁰⁸ Fasting plasma glucose, hemoglobin A1c (HbA1c), and oral glucose tolerance test, are some of the screening strategies used to detect GDM.¹⁰⁹ Normal metabolic adaptations occurring during pregnancy are exaggerated in GDM and cause resistance to insulin and maternal hyperglycemia.¹¹⁰ As a consequence of maternal hyperglycemia, fetal pancreatic tissue hypertrophy

and hyperinsulinism occur, which upon abrupt elimination of maternal glucose supply after birth result in neonatal hypoglycemia.¹¹¹

Impaired fasting glucose both as a prediabetic stage and in terms of diabetes is characterized by increased MPVs, which in turn demonstrate a higher activation level of platelets in these patients. MPV generally indicates the average size and reactivity of platelets, with younger and more active platelets being larger in volume. Thus, higher MPVs suggest higher prothrombotic states and predict cardiovascular complications.^{112,113} Studies in GDM have shown a positive correlation between MPV and glucose levels, thus linking higher MPVs with poorer glycemic control and making MPV a useful predictive marker of the gluco-metabolic state in pregnancies.¹¹⁴ Increased platelet activity as demonstrated by high MPVs is linked to persistent hyperglycemia and insulin resistance of GDM. The mechanisms underlying this hyperactivity are proposed to be the following:

Hyperglycemia both in GDM and in type 1 diabetes induces aldose reductase activity, and thus activates the cellular polyol pathway that accumulates osmotically active substances like sorbitol, resulting in platelet swelling. This marked increase in volume leads to platelet activation via microtubule polymerization, degranulation, and enhanced thrombin formation in a collagen milieu.¹¹⁵ The degree of persistent chronic hyperglycemia is depicted by HbA1c, which serves mostly as a marker of glycemic control and is correlated with enhanced platelet aggregation and activation.¹¹⁶

The expression of GPVI collagen receptor is higher in platelets of diabetic individuals, which makes them hyperreactive and leads to an increased rate of cardiovascular events. Reactive oxygen species production caused by downstream of GPVI signaling is proportionally exaggerated in elevated glucose levels.¹¹⁷

Chronic hyperglycemia affects calcium homeostasis by enhancing the calcium influx as a response to collagen and thrombin, thus fostering platelet adhesion.¹¹⁸

Insulin normally exerts an antiaggregating effect on platelets, by means of inhibiting calcium mobilization. In diabetes mellitus, platelets have been reported to exhibit insulin resistance which impairs their normal response to the hormone and leads to platelet hyperreactivity.^{119,120} Regarding insulin resistance, a significant effect is exerted on platelets, as has been demonstrated by the positive correlation between MPV and the levels of insulin and Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance in pregnancies with GDM.¹²¹

The aforementioned studies have been conducted in platelets from healthy adults, thus no data are available so far on the effect of insulin and hyperglycemia in platelets from infants or neonates. In only one study of a mixed population of pregnancies with risk factors, was impaired platelet adhesion detected in infants born to mothers with GDM compared with infants born to healthy mothers.⁷⁰

In terms of platelet number, platelets of infants born to diabetic mothers have been found to be decreased compared with control uncomplicated pregnancies during the first day

of life, which could be explained through a model of chronic hypoxia induced by diabetes.¹²² Another possible mechanism for thrombocytopenia could be high levels of leptin found in mothers with type 1 diabetes, which may lead to platelet consumption due to proaggregatory properties of leptin.¹²³

Thrombocytopenia, however, seems to be a much less frequent complication of GDM.¹²⁴

Maternal-Fetal Quantitative Platelet Defects

The incidence of thrombocytopenia in pregnancy is around 4 to 12% in all pregnancies, with values below $100 \times 10^9/L$ found only in 1 to 5% of all women. Thrombocytopenia in pregnancy includes several entities, with gestational thrombocytopenia accounting for 80% of all cases, followed by preeclampsia and HELLP syndrome, thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome, disseminated intravascular coagulation, and immune thrombocytopenias. Most pathologies have a very minimal impact on the offspring, causing neonatal thrombocytopenia in < 2% of all cases.^{125,126}

Immunologically based thrombocytopenia may present as primary immune thrombocytopenic purpura (ITP) or as alloimmune fetal-neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT). ITP with a pregestational history of maternal thrombocytopenia, accounts for only 3% of all thrombocytopenias of pregnancy, with maternal platelet counts being $< 50 \times 10^9/L$ during the first and second trimester in the majority of the cases. Neonatal thrombocytopenia occurs at a rate of 10 to 15%, with platelet counts as low as $20 \times 10^9/L$ in 5% of these high-risk infants, regardless of the severity of maternal thrombocytopenia.¹²⁷ It has generally been ascertained that neonatal outcomes are independent of maternal thrombocytopenia in ITP, and that the presence of neonatal thrombocytopenia is more common when prematurity is implicated.¹²⁵ The onset of thrombocytopenia due to maternal antiplatelet IgG may be delayed up to the first week postpartum.

Immune neonatal thrombocytopenia can be also encountered in FNAIT. Platelet membrane GPs (integrins GPIb α , GPIIb/III α) identified as human platelet antigens (HPAs) are responsible for sensitization of the maternal immune system when these specific antigens are absent from maternal platelets, but present on fetal platelets through paternal inheritance.¹²⁸ As a result, during episodes of fetomaternal hemorrhage or even through interaction of maternal blood cells with antigen-positive trophoblasts, fetal HPAs act as epitopes that trigger production of maternal antibodies, which cross the placenta and promote fetal platelet destruction. Leading causes are HPA-1a and 5b, while the presence of HLA DRB3*01:01 allele increases the risk of alloantibody formation. Unlike in ITP, FNAIT neonates present with early thrombocytopenia (often platelets are $< 50 \times 10^9/L$) and bleeding symptoms, with their mothers having normal platelet counts.¹²⁹ FNAIT is hence regarded as the platelet equivalent of hemolytic disease of the fetus/newborn, although it may also affect the first pregnancy. The incidence of this condition is 1:1,000 to 3,000 live births, 10% of which are complicated by severe complications like ICH.¹²⁶ In case of

confirmation, fetal ultrasound brain monitoring and fetal blood sampling for platelet count are needed, followed by platelet transfusion and intravenous Ig in the neonate if necessary. HPA typing of both parents and neonate in conjunction with maternal alloantibody screening should be performed for a prompt diagnosis of FNAIT.^{130,131}

Conclusion

Neonatal platelet function, although marked as a developmental process, represents a fully developed and effective system of primary hemostasis that aids the neonate to cope with the high in vivo demands of transition to the extrauterine life.

High-risk pregnancies, through different and complex pathophysiologic pathways, result in adverse events on both mothers and their neonates and their complications may include abnormalities in primary hemostasis.

However, the extent to which platelets of different neonatal subpopulations, such as neonates from pregnancies complicated with preeclampsia, IUGR, GDM, smoking, SLE, and other quantitative platelet defects are phenotypically functional remains a conundrum. Several laboratory tests have been used to characterize in detail the steps of neonatal primary hemostasis, encompassing platelet activation, adhesion, and aggregation, with respect to their unique features both age-wise and according to various risk factors present during the pregnancy. Global assessment of coagulation using a variety of laboratory tests can promote understanding of the pathophysiologic mechanisms and provide the possibility for new screening and assessment methods for high-risk mothers and neonates. Although defects in primary hemostasis have been evaluated in mothers, little has been achieved in the elucidation of alterations in primary hemostasis in the offspring of high-risk pregnancies. Further studies are therefore needed to clarify and characterize the neonatal platelet and their functionality when risk factors are present.

Conflict of Interest

None declared.

References

- Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev* 2017;36(02):195–198
- Jin J, Daniel JL, Kunapuli SP. Molecular basis for ADP-induced platelet activation. II. The P2Y1 receptor mediates ADP-induced intracellular calcium mobilization and shape change in platelets. *J Biol Chem* 1998;273(04):2030–2034
- Ruggeri ZM. The role of von Willebrand factor in thrombus formation. *Thromb Res* 2007;120(Suppl 1):S5–S9
- Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res* 2007;100(12):1673–1685
- Prydzial ELG, Lee FMH, Lin BH, Carter RLR, Tegegn TZ, Belletrutti MJ. Blood coagulation dissected. *Transfus Apheresis Sci* 2018;57(04):449–457
- Wei AH, Schoenwaelder SM, Andrews RK, Jackson SP. New insights into the haemostatic function of platelets. *Br J Haematol* 2009;147(04):415–430
- Herter JM, Rossaint J, Zarbock A. Platelets in inflammation and immunity. *J Thromb Haemost* 2014;12(11):1764–1775

- 8 Stalker TJ, Traxler EA, Wu J, et al. Hierarchical organization in the hemostatic response and its relationship to the platelet-signaling network. *Blood* 2013;121(10):1875–1885
- 9 Kühne T, Imbach P. Neonatal platelet physiology and pathophysiology. *Eur J Pediatr* 1998;157(02):87–94
- 10 Israels SJ. Diagnostic evaluation of platelet function disorders in neonates and children: an update. *Semin Thromb Hemost* 2009;35(02):181–188
- 11 Holness N. High-risk pregnancy. *Nurs Clin North Am* 2018;53(02):241–251
- 12 World Health Organization. UNICEF, United Nations Population Fund, Managing Complications in Pregnancy and Childbirth. 2nd ed. Available at: https://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/managing-complications-pregnancy-childbirth/en/. Accessed September 29, 2019
- 13 Kühne T, Ryan G, Blanchette V, et al. Platelet-surface glycoproteins in healthy and preeclamptic mothers and their newborn infants. *Pediatr Res* 1996;40(06):876–880
- 14 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;2012:506–511
- 15 Ault KA, Rinder HM, Mitchell J, Carmody MB, Vary CP, Hillman RS. The significance of platelets with increased RNA content (reticulated platelets). A measure of the rate of thrombopoiesis. *Am J Clin Pathol* 1992;98(06):637–646
- 16 Murray NA, Roberts IA. Circulating megakaryocytes and their progenitors in early thrombocytopenia in preterm neonates. *Pediatr Res* 1996;40(01):112–119
- 17 Mattia G, Vulcano F, Milazzo L, et al. Different ploidy levels of megakaryocytes generated from peripheral or cord blood CD34+ cells are correlated with different levels of platelet release. *Blood* 2002;99(03):888–897
- 18 Hegyi E, Nakazawa M, Debili N, et al. Developmental changes in human megakaryocyte ploidy. *Exp Hematol* 1991;19(02):87–94
- 19 Park Y, Schoene N, Harris W. Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues. *Platelets* 2002;13(5–6):301–306
- 20 Cremer M, Sola-Visner M, Roll S, et al. Platelet transfusions in neonates: practices in the United States vary significantly from those in Austria, Germany, and Switzerland. *Transfusion* 2011;51(12):2634–2641
- 21 Liu ZJ, Italiano J Jr, Ferrer-Marin F, et al. Developmental differences in megakaryocytopoiesis are associated with up-regulated TPO signaling through mTOR and elevated GATA-1 levels in neonatal megakaryocytes. *Blood* 2011;117(15):4106–4117
- 22 Daly ME. Determinants of platelet count in humans. *Haematologica* 2011;96(01):10–13
- 23 Liu ZJ, Hoffmeister KM, Hu Z, et al. Expansion of the neonatal platelet mass is achieved via an extension of platelet lifespan. *Blood* 2014;123(22):3381–3389
- 24 Kulshrestha M, Sola-Visner M, Widness JA, Veng-Pedersen P, Mager DE. Mathematical model of platelet turnover in thrombocytopenic and nonthrombocytopenic preterm neonates. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2015;308(01):H68–H73
- 25 MacQueen BC, Christensen RD, Henry E, et al. The immature platelet fraction: creating neonatal reference intervals and using these to categorize neonatal thrombocytopenias. *J Perinatol* 2017;37(07):834–838
- 26 Cremer ML. The immature platelet fraction (IPF) in neonates. *Diagnostic Perspect* 2011;1:36–42
- 27 Patrick CH, Lazarchick J, Stubbs T, Pittard WB. Mean platelet volume and platelet distribution width in the neonate. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1987;9(02):130–132
- 28 Wiedmeier SE, Henry E, Sola-Visner MC, Christensen RD. Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47,000 patients in a multihospital healthcare system. *J Perinatol* 2009;29(02):130–136
- 29 Deschmann E, Sola-Visner M, Saxonhouse MA. Primary hemostasis in neonates with thrombocytopenia. *J Pediatr* 2014;164(01):167–172
- 30 Goel R, Josephson CD. Recent advances in transfusions in neonates/infants. *F1000Research*; 2018, 7(F1000 Faculty Rev):609
- 31 Gelman B, Setty BN, Chen D, Amin-Hanjani S, Stuart MJ. Impaired mobilization of intracellular calcium in neonatal platelets. *Pediatr Res* 1996;39(4 Pt 1):692–696
- 32 Del Vecchio A, Motta M, Romagnoli C. Neonatal platelet function. *Clin Perinatol* 2015;42(03):625–638
- 33 Mankin P, Maragos J, Akhand M, Saving KL. Impaired platelet-dense granule release in neonates. *J Pediatr Hematol Oncol* 2000;22(02):143–147
- 34 Corby DG, O'Barr TP. Decreased alpha-adrenergic receptors in newborn platelets: cause of abnormal response to epinephrine. *Dev Pharmacol Ther* 1981;2(04):215–225
- 35 Rajasekhar D, Kestin AS, Bednarek FJ, Ellis PA, Barnard MR, Michelson AD. Neonatal platelets are less reactive than adult platelets to physiological agonists in whole blood. *Thromb Haemost* 1994;72(06):957–963
- 36 Haidl H, Pohl S, Leschnik B, Gallistl S, Muntean W, Schlagenhaufer A. Neonatal thrombocytopenia: Thrombin generation in presence of reduced platelet counts and effects of rFVIIa in cord blood. *Sci Rep* 2019;9(01):8014
- 37 Ravn HB, Andreassen JB, Hvas AM. Does whole blood coagulation analysis reflect developmental haemostasis? *Blood Coagul Fibrinolysis* 2017;28(03):218–223
- 38 Uçar T, Gurman C, Arsan S, Kemahli S. Platelet aggregation in term and preterm newborns. *Pediatr Hematol Oncol* 2005;22(02):139–145
- 39 Saxonhouse MA, Sola MC. Platelet function in term and preterm neonates. *Clin Perinatol* 2004;31(01):15–28
- 40 Boudewijns M, Raes M, Peeters V, et al. Evaluation of platelet function on cord blood in 80 healthy term neonates using the Platelet Function Analyser (PFA-100); shorter in vitro bleeding times in neonates than adults. *Eur J Pediatr* 2003;162(03):212–213
- 41 Katz JA, Moake JL, McPherson PD, et al. Relationship between human development and disappearance of unusually large von Willebrand factor multimers from plasma. *Blood* 1989;73(07):1851–1858
- 42 Ward RM, Beachy JC. Neonatal complications following preterm birth. *BJOG* 2003;110(Suppl 20):8–16
- 43 Bednarek FJ, Bean S, Barnard MR, Frelinger AL, Michelson AD. The platelet hyporeactivity of extremely low birth weight neonates is age-dependent. *Thromb Res* 2009;124(01):42–45
- 44 Favaloro EJ. Clinical utility of closure times using the platelet function analyzer-100/200. *Am J Hematol* 2017;92(04):398–404
- 45 Del Vecchio A. Use of the bleeding time in the neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr Suppl* 2002;91(438):82–86
- 46 Del Vecchio A, Latini G, Henry E, Christensen RD. Template bleeding times of 240 neonates born at 24 to 41 weeks gestation. *J Perinatol* 2008;28(06):427–431
- 47 Del Vecchio A, Sola MC. Performing and interpreting the bleeding time in the neonatal intensive care unit. *Clin Perinatol* 2000;27(03):643–654
- 48 Sola MC, del Vecchio A, Edwards TJ, Suttner D, Hutson AD, Christensen RD. The relationship between hematocrit and bleeding time in very low birth weight infants during the first week of life. *J Perinatol* 2001;21(06):368–371
- 49 Rodgers RP, Levin J. A critical reappraisal of the bleeding time. *Semin Thromb Hemost* 1990;16(01):1–20
- 50 Gader AM, Bahakim H, Jabbar FA, Lambourne AL, Gaafar TH, Edrees YB. Dose-response aggregometry in maternal/neonatal platelets. *Thromb Haemost* 1988;60(02):314–318
- 51 Ramström S, Södergren AL, Tynngård N, Lindahl TL. Platelet function determined by flow cytometry: new perspectives? *Semin Thromb Hemost* 2016;42(03):268–281

- 52 Gatti L, Guarneri D, Caccamo ML, Gianotti GA, Marini A. Platelet activation in newborns detected by flow-cytometry. *Biol Neonate* 1996;70(06):322–327
- 53 Varon D, Dardik R, Shenkman B, et al. A new method for quantitative analysis of whole blood platelet interaction with extracellular matrix under flow conditions. *Thromb Res* 1997;85(04):283–294
- 54 Levy-Shraga Y, Maayan-Metzger A, Lubetsky A, et al. Platelet function of newborns as tested by cone and plate(let) analyzer correlates with gestational age. *Acta Haematol* 2006;115(3-4):152–156
- 55 Hayward CP, Harrison P, Cattaneo M, Ortel TL, Rao AK; Platelet Physiology Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. *J Thromb Haemost* 2006;4(02):312–319
- 56 Roschitz B, Sudi K, Köstenberger M, Muntean W. Shorter PFA-100 closure times in neonates than in adults: role of red cells, white cells, platelets and von Willebrand factor. *Acta Paediatr* 2001;90(06):664–670
- 57 Favalaro EJ. Clinical utility of the PFA-100. *Semin Thromb Hemost* 2008;34(08):709–733
- 58 Saxonhouse MA, Garner R, Mammel L, et al. Closure times measured by the platelet function analyzer PFA-100 are longer in neonatal blood compared to cord blood samples. *Neonatology* 2010;97(03):242–249
- 59 Nadar S, Lip GY. Platelet activation in the hypertensive disorders of pregnancy. *Expert Opin Investig Drugs* 2004;13(05):523–529
- 60 Kleckner HB, Giles HR, Corrigan JJ Jr. The association of maternal and neonatal thrombocytopenia in high-risk pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1977;128(03):235–238
- 61 Janes SL, Goodall AH. Flow cytometric detection of circulating activated platelets and platelet hyper-responsiveness in preeclampsia and pregnancy. *Clin Sci (Lond)* 1994;86(06):731–739
- 62 Davies JR, Fernando R, Hallworth SP. Hemostatic function in healthy pregnant and preeclamptic women: an assessment using the platelet function analyzer (PFA-100) and thromboelastograph. *Anesth Analg* 2007;104(02):416–420
- 63 Kazmi RS, Cooper AJ, Lwaleed BA. Platelet function in preeclampsia. *Semin Thromb Hemost* 2011;37(02):131–136
- 64 O'Brien WF, Saba HI, Knuppel RA, Scerbo JC, Cohen GR. Alterations in platelet concentration and aggregation in normal pregnancy and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1986;155(03):486–490
- 65 Müllers SM, Burke N, Flood K, et al. Altered platelet function in intrauterine growth restriction: a cause or a consequence of uteroplacental disease? *Am J Perinatol* 2016;33(08):791–799
- 66 Konijnenberg A, van der Post JA, Mol BW, et al. Can flow cytometric detection of platelet activation early in pregnancy predict the occurrence of preeclampsia? A prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177(02):434–442
- 67 Vincelot A, Nathan N, Collet D, Mehaddi Y, Grandchamp P, Julia A. Platelet function during pregnancy: an evaluation using the PFA-100 analyser. *Br J Anaesth* 2001;87(06):890–893
- 68 Marietta M, Castelli I, Piccinini F, et al. The PFA-100 system for the assessment of platelet function in normotensive and hypertensive pregnancies. *Clin Lab Haematol* 2001;23(02):131–134
- 69 Can MM, Kaymaz C, Can E, et al. Whole blood platelet aggregation failed to detect differences between preeclampsia and normal pregnancy. *Platelets* 2010;21(06):496–497
- 70 Strauss T, Maayan-Metzger A, Simchen MJ, et al. Impaired platelet function in neonates born to mothers with diabetes or hypertension during pregnancy. *Klin Padiatr* 2010;222(03):154–157
- 71 Brazy JE, Grimm JK, Little VA. Neonatal manifestations of severe maternal hypertension occurring before the thirty-sixth week of pregnancy. *J Pediatr* 1982;100(02):265–271
- 72 Sibai BM, Taslimi MM, el-Nazer A, Amon E, Mabie BC, Ryan GM. Maternal-perinatal outcome associated with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1986;155(03):501–509
- 73 Baschat AA, Gembruch U, Reiss I, Gortner L, Weiner CP, Harman CR. Absent umbilical artery end-diastolic velocity in growth-restricted fetuses: a risk factor for neonatal thrombocytopenia. *Obstet Gynecol* 2000;96(02):162–166
- 74 Tsao PN, Teng RJ, Chou HC, Tsou KI. The thrombopoietin level in the cord blood in premature infants born to mothers with pregnancy-induced hypertension. *Biol Neonate* 2002;82(04):217–221
- 75 Bhat YR, Cherian CS. Neonatal thrombocytopenia associated with maternal pregnancy induced hypertension. *Indian J Pediatr* 2008;75(06):571–573
- 76 Backes CH, Markham K, Moorehead P, Cordero L, Nankervis CA, Giannone PJ. Maternal preeclampsia and neonatal outcomes. *J Pregnancy* 2011;2011:214365
- 77 Sunil Kumar P, Haricharan KR. Neonatal thrombocytopenia associated with gestational hypertension, preeclampsia and eclampsia: a case-control study. *Int J Contemp Pediatr*. 2016;3(01):16–21
- 78 Kalagiri RR, Choudhury S, Carder T, Govande V, Beeram MR, Uddin MN. Neonatal thrombocytopenia as a consequence of maternal preeclampsia. *AJP Rep* 2016;6(01):e42–e47
- 79 Litt JS, Hecht JL. Placental pathology and neonatal thrombocytopenia: lesion type is associated with increased risk. *J Perinatol* 2014;34(12):914–916
- 80 Zook KJ, Mackley AB, Kern J, Paul DA. Hematologic effects of placental pathology on very low birth weight infants born to mothers with preeclampsia. *J Perinatol* 2009;29(01):8–12
- 81 Christensen RD, Baer VL, Henry E, Snow GL, Butler A, Sola-Visner MC. Thrombocytopenia in small-for-gestational-age infants. *Pediatrics* 2015;136(02):e361–e370
- 82 Kim HY, Sohn YS, Lim JH, et al. Neonatal outcome after preterm delivery in HELLP syndrome. *Yonsei Med J* 2006;47(03):393–398
- 83 ACOG Committee Opinion No. 743. Low-Dose Aspirin Use during Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2018;132(01):e44–e52
- 84 Benigni A, Gregorini G, Frusca T, et al. Effect of low-dose aspirin on fetal and maternal generation of thromboxane by platelets in women at risk for pregnancy-induced hypertension. *N Engl J Med* 1989;321(06):357–362
- 85 Leonhardt A, Bernert S, Watzler B, Schmitz-Ziegler G, Seyberth HW. Low-dose aspirin in pregnancy: maternal and neonatal aspirin concentrations and neonatal prostanoid formation. *Pediatrics* 2003;111(01):e77–e81
- 86 Valcamonica A, Foschini M, Soregaroli M, Tarantini M, Frusca T. Low dose aspirin in pregnancy: a clinical and biochemical study of effects on the newborn. *J Perinat Med* 1993;21(03):235–240
- 87 Parker CR Jr, Haut JC, Goldenberg RL, Cooper RL, Dubard MB. Umbilical cord serum levels of thromboxane B2 in term infants of women who participated in a placebo-controlled trial of low-dose aspirin. *J Matern Fetal Med* 2000;9(04):209–215
- 88 Loudon KA, Broughton Pipkin F, Heptinstall S, et al. Neonatal platelet reactivity and serum thromboxane B2 production in whole blood: the effect of maternal low dose aspirin. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101(03):203–208
- 89 Dasari R, Narang A, Vasishta K, Garewal G. Effect of maternal low dose aspirin on neonatal platelet function. *Indian Pediatr* 1998;35(06):507–511
- 90 Ward C, Lewis S, Coleman T. Prevalence of maternal smoking and environmental tobacco smoke exposure during pregnancy and impact on birth weight: retrospective study using Millennium Cohort. *BMC Public Health* 2007;7:81
- 91 Paludetto R, Capasso L, Raimondi F. Infants of smoking mothers. In: Buonocore G, Bracci R, Weindling M, eds. *Neonatology*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG, part of Springer Nature; 2018:709–716

- 92 Anderson TM, Lavista Ferres JM, Ren SY, et al. Maternal smoking before and during pregnancy and the risk of sudden unexpected infant death. *Pediatrics* 2019;143(04):e20183325
- 93 Pamukcu B, Oflaz H, Onur I, Cimen A, Nisanci Y. Effect of cigarette smoking on platelet aggregation. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011;17(06):E175–E180
- 94 Sandhya M, Satyanarayana U, Mohanty S, Basalingappa DR. Impact of chronic cigarette smoking on platelet aggregation and coagulation profile in apparently healthy male smokers. *Intl J Clin Experiment Physiol* 2015;2(02):128–133
- 95 Merclina-Roumans PE, Breukers RB, Ubachs JM, van Wersch JW. Hematological variables in cord blood of neonates of smoking and nonsmoking mothers. *J Clin Epidemiol* 1996;49(04):449–454
- 96 Shakhnabeh JM. Effect of prenatal cigarette smoke exposure on hematological characteristics in adult rat offspring. *Jordan J Biol Sci* 2016;9(03):179–183
- 97 Sokou R, Foudoulaki-Paparizos L, Lytras T, et al. Reference ranges of thromboelastometry in healthy full-term and pre-term neonates. *Clin Chem Lab Med* 2017;55(10):1592–1597
- 98 Ahlsten G, Ewald U, Kindahl H, Tuvemo T. Aggregation of and thromboxane B2 synthesis in platelets from newborn infants of smoking and non-smoking mothers. *Prostaglandins Leukot Med* 1985;19(02):167–176
- 99 Abdwani R, Al Shaqsi L, Al-Zakwani I. Neonatal and obstetrical outcomes of pregnancies in systemic lupus erythematosus. *Oman Med J* 2018;33(01):15–21
- 100 Vanoni F, Lava SAG, Fossali EF, et al. Neonatal systemic lupus erythematosus syndrome: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2017;53(03):469–476
- 101 Kobayashi R, Mii S, Nakano T, Harada H, Eto H. Neonatal lupus erythematosus in Japan: a review of the literature. *Autoimmun Rev* 2009;8(06):462–466
- 102 Cimaz R, Spence DL, Hornberger L, Silverman ED. Incidence and spectrum of neonatal lupus erythematosus: a prospective study of infants born to mothers with anti-Ro autoantibodies. *J Pediatr* 2003;142(06):678–683
- 103 Zuppa AA, Riccardi R, Frezza S, et al. Neonatal lupus: follow-up in infants with anti-SSA/Ro antibodies and review of the literature. *Autoimmun Rev* 2017;16(04):427–432
- 104 Watson R, Kang JE, May M, Hudak M, Kickler T, Provost TT. Thrombocytopenia in the neonatal lupus syndrome. *Arch Dermatol* 1988;124(04):560–563
- 105 Ayadi ID, Ben Hamida E, Boukhris MR, Bezzine A, Chaouachi S, Marrakchi Z. Isolated anti-Ro/SSA thrombocytopenia: a rare feature of neonatal lupus. *Pan Afr Med J* 2015;22:312
- 106 Negrini S, Pappalardo F, Murdaca G, Indiveri F, Puppo F. The antiphospholipid syndrome: from pathophysiology to treatment. *Clin Exp Med* 2017;17(03):257–267
- 107 ChouAK, Hsieh SC, Su YN, et al. Neonatal and pregnancy outcome in primary antiphospholipid syndrome: a 10-year experience in one medical center. *Pediatr Neonatol* 2009;50(04):143–146
- 108 Johns EC, Denison FC, Norman JE, Reynolds RM. Gestational diabetes mellitus: mechanisms, treatment, and complications. *Trends Endocrinol Metab* 2018;29(11):743–754
- 109 American Diabetes Association. (2) Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2015;38(Suppl 1):S8–S16
- 110 Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Int J Mol Sci* 2018;19:3342
- 111 Ashwal E, Hod M. Gestational diabetes mellitus: where are we now? *Clin Chim Acta* 2015;451(Pt A):14–20
- 112 Ozder A, Eker HH. Investigation of mean platelet volume in patients with type 2 diabetes mellitus and in subjects with impaired fasting glucose: a cost-effective tool in primary health care? *Int J Clin Exp Med* 2014;7(08):2292–2297
- 113 Shah B, Sha D, Xie D, Mohler ER III, Berger JS. The relationship between diabetes, metabolic syndrome, and platelet activity as measured by mean platelet volume: the National Health And Nutrition Examination Survey, 1999–2004. *Diabetes Care* 2012;35(05):1074–1078
- 114 Iyidir OT, Degertekin CK, Yilmaz BA, Toruner FB, Akturk M, Arslan M. Elevated mean platelet volume is associated with gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol* 2014;30(09):640–643
- 115 Rusak T, Misztal T, Rusak M, Branska-Januszewska J, Tomasiak M. Involvement of hyperglycemia in the development of platelet procoagulant response: the role of aldose reductase and platelet swelling. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2017;28(06):443–451
- 116 Neergaard-Petersen S, Hvas AM, Grove EL, Larsen SB, Gregersen S, Kristensen SD. The influence of haemoglobin A1c levels on platelet aggregation and platelet turnover in patients with coronary artery disease treated with aspirin. *PLoS One* 2015;10(07):e0132629
- 117 Arthur JF, Jandeleit-Dahm K, Andrews RK. Platelet hyperreactivity in diabetes: focus on GPVI signaling—are useful drugs already available? *Diabetes* 2017;66(01):7–13
- 118 Li Y, Woo V, Bose R, Li Y. Platelet hyperactivity and abnormal Ca (2+) homeostasis in diabetes mellitus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280(04):H1480–H1489
- 119 Santilli F, Simeone P, Liani R, Davi G. Platelets and diabetes mellitus. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2015;120:28–39
- 120 Ferreira IA, Mocking AI, Feijge MA, et al. Platelet inhibition by insulin is absent in type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26(02):417–422
- 121 Kebapcilar L, Kebapcilar AG, Ilhan TT, et al. Is the mean platelet volume a predictive marker of a low Apgar score and insulin resistance in gestational diabetes mellitus? A retrospective case-control study. *J Clin Diagn Res* 2016;10(10):OC06–OC10
- 122 Green DW, Mimouni F, Khoury J. Decreased platelet counts in infants of diabetic mothers. *Am J Perinatol* 1995;12(02):102–105
- 123 Nelson SM, Freeman DJ, Sattar N, Lindsay RS. Erythrocytosis in offspring of mothers with Type 1 diabetes—are factors other than insulin critical determinants? *Diabet Med* 2009;26(09):887–892
- 124 Stewart A, Malhotra A. Gestational diabetes and the neonate: challenges and solutions. *Res Rep Neonatol* 2015;2015:31–39
- 125 Cines DB, Levine LD. Thrombocytopenia in pregnancy. *Blood* 2017;130(21):2271–2277
- 126 ACOG Practice Bulletin No. 207. Thrombocytopenia in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2019;133(03):e181–e193
- 127 Goldman BG, Hehir MP, Yambasu S, O'Donnell EM. The presentation and management of platelet disorders in pregnancy. *Eur J Haematol* 2018;100(06):560–566
- 128 Zdravic D, Yougbare I, Vadasz B, et al. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Semin Fetal Neonatal Med* 2016;21(01):19–27
- 129 Stanworth SJ. Thrombocytopenia, bleeding, and use of platelet transfusions in sick neonates. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2012;2012:512–516
- 130 Ronzoni S, Keunen J, Shah PS, et al. Management and neonatal outcomes of pregnancies with fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia: a single-center retrospective cohort study. *Fetal Diagn Ther* 2019;45(02):85–93
- 131 Winkelhorst D, Murphy MF, Greinacher A, et al. Antenatal management in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review. *Blood* 2017;129(11):1538–1547
- 132 Andrew M, Castle V, Mitchell L, Paes B. Modified bleeding time in the infant. *Am J Hematol* 1989;30(03):190–191
- 133 Gerrard JM, Docherty JC, Israels SJ, et al. A reassessment of the bleeding time: association of age, hematocrit, platelet function, von Willebrand factor, and bleeding time thromboxane B2 with the length of the bleeding time. *Clin Invest Med* 1989;12(03):165–171
- 134 Sheffield MJ, Lambert DK, Baer VL, et al. Effect of ampicillin on bleeding time in very low birth-weight neonates during the first week after birth. *J Perinatol* 2011;31(07):477–480
- 135 Bonduel M, Frontroth JP, Hepner M, Sciuccati G, Feliú-Torres A. Platelet aggregation and adenosine triphosphate release values

- in children and adults. *J Thromb Haemost* 2007;5(08):1782–1783
- 136 Tanous O, Steinberg Shemer O, Yacobovich J, et al. Evaluating platelet function disorders in children with bleeding tendency - A single center study. *Platelets* 2017;28(07):676–681
- 137 Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, Frelinger AL III, Furman MI. Evaluation of platelet function by flow cytometry. *Methods* 2000;21(03):259–270
- 138 Rajasekhar D, Barnard MR, Bednarek FJ, Michelson AD. Platelet hyporeactivity in very low birth weight neonates. *Thromb Haemost* 1997;77(05):1002–1007
- 139 Pietrucha T, Wojciechowski T, Greger J, et al. Differentiated reactivity of whole blood neonatal platelets to various agonists. *Platelets* 2001;12(02):99–107
- 140 Saving KL, Mankin PE, Gorman MJ. Differences in adhesion receptor expression between immature and older platelets and red blood cells of neonates and adults. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002;24(02):120–124
- 141 Hézard N, Potron G, Schlegel N, Amory C, Leroux B, Nguyen P. Unexpected persistence of platelet hyporeactivity beyond the neonatal period: a flow cytometric study in neonates, infants and older children. *Thromb Haemost* 2003;90(01):116–123
- 142 Wasiluk A, Mantur M, Szczepański M, Kemona H, Baran E, Kemona-Chetnik I. The effect of gestational age on platelet surface expression of CD62P in preterm newborns. *Platelets* 2008;19(03):236–238
- 143 Baker-Groberg SM, Lattimore S, Recht M, McCarty OJ, Haley KM. Assessment of neonatal platelet adhesion, activation, and aggregation. *J Thromb Haemost* 2016;14(04):815–827
- 144 Shenkman B, Linder N, Savion N, et al. Increased neonatal platelet deposition on subendothelium under flow conditions: the role of plasma von Willebrand factor. *Pediatr Res* 1999;45(02):270–275
- 145 Linder N, Shenkman B, Levin E, et al. Deposition of whole blood platelets on extracellular matrix under flow conditions in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002;86(02):F127–F130
- 146 Carcao MD, Blanchette VS, Dean JA, 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(01):70–73
- 147 Israels SJ, Cheang T, McMillan-Ward EM, Cheang M. Evaluation of primary hemostasis in neonates with a new in vitro platelet function analyzer. *J Pediatr* 2001;138(01):116–119
- 148 Brown MA, Magee LA, Kenny LC, et al; International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP Classification, Diagnosis, and Management Recommendations for International Practice. *Hypertension* 2018;72(01):24–43
- 149 American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care* 2018;41(Suppl 1):S13–S27
- 150 Sitaru AG, Holzhauser S, Speer CP, et al. Neonatal platelets from cord blood and peripheral blood. *Platelets* 2005;16(3-4):203–221

Letter to the Editor

Serena Valsami^a, Maria Kollia^a, Vasiliki Mougou, Rozeta Sokou, Elina Isaakidou, Maria Boutsikou, Abraham Pouliakis, Zoe Iliodromiti, Robert Carr, Theodora Boutsikou, Nicoletta Iacovidou and Marianna Politou*

Evaluation of PFA-100 closure times in cord blood samples of healthy term and preterm neonates

<https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0948>

Received September 8, 2019; accepted November 6, 2019

Keywords: PFA-100; preterm neonates; term neonates.

To the Editor,

The investigation of neonatal platelet function remains an issue of ongoing research with conflicting results so far. The *in vitro* hyporesponsiveness of neonatal platelets, especially those of preterms, assessed using aggregometry and flow cytometry, is well established in both cord blood and peripheral neonatal blood [1]. However, the *in vitro* assessment of primary hemostasis via a platelet function analyzer (PFA) demonstrated enhanced primary hemostasis in healthy neonates compared to adults [2–5]. Despite the fact that neonatal platelet function has been evaluated via PFA-100 in cord blood samples, differences in study design, methods, population heterogeneity and the small number of samples complicate the establishment of reference ranges in neonates so far. In our study, we

report PFA-100 closure times (CTs) in a large homogeneous population of healthy term and preterm neonates selected with strict inclusion and exclusion criteria with precise and strict preanalytical procedure for samples handling.

PFA-100 is a system of easy, fast, accurate and quantitative *in vitro* measurement of platelet function. Anticoagulated citrated whole blood is inserted in a cartridge with a membrane with an aperture of 147 μm (diameter), which is coated either with collagen and epinephrine (COL/EPI) or adenosine 5'-phosphate (COL/ADP). Platelets, in response to these agents, undergo all stages of primary hemostasis which results in clot formation and occlusion of the aperture. The time in seconds required for full obstruction of the blood flow is defined as CT [6].

One hundred and four full-term (≥37 weeks' gestation) and 14 preterm neonates (<37 weeks' gestation) born at Aretaieio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens and monitored till discharge, were included in our study. Demographic and clinical data are summarized in Table 1. The exclusion criteria included: cord blood Hct <35%, platelet count <100 × 10⁹/L, major chromosomal anomaly, family history of bleeding disorder or platelet dysfunction, cord blood pH <7.25, Apgar score <8 at 1st or 5th min, BW <10th centile, intrauterine growth restriction, history of gestational diabetes or pregnancy-induced hypertension. Blood was collected from the umbilical cord vein immediately after clamping. Specimens were drawn smoothly with a 21-gauge needle into 3.2% sodium-citrate tubes and tested within 4 h according to the manufacturer's instructions. Two CTs (with COL/EPI and COL/ADP agonists) were determined for each subject in duplicate and the mean value was calculated; the correlation between the first and the second measurement was high (r = 0.92 for COL/EPI and r = 0.89 for COL/ADP, p < 0.0001 for both correlations). The method's CV was found as 12.54% for COL/EPI and 8.49% for COL/ADP. The Hospital Ethics Review Committee approved the study and mothers signed an informed consent. The SAS-9.4 software was used to perform the statistical analysis. The results are presented as median

^aSerena Valsami and Maria Kollia share first authorship.

*Corresponding author: Assoc. Prof. Marianna Politou, MD, PhD, Hematology-Immunohematology, Head of Haematology Laboratory-Blood Bank, Aretaieio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, 76 Vas. Sofias Street, 11526 Athens, Greece, Phone: +0030 210 7286301, Fax: +0030 210 7230785, E-mail: mariannapolitou@gmail.com

Serena Valsami: Haematology Laboratory-Blood Bank, Aretaieio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Maria Kollia, Vasiliki Mougou, Rozeta Sokou, Maria Boutsikou, Zoe Iliodromiti, Theodora Boutsikou and Nicoletta Iacovidou: Neonatal Department, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Elina Isaakidou: 2nd Local Health Unit of Keratsini-Drapetsona, 2nd Health Region of Piraeus, Piraeus, Greece

Abraham Pouliakis: 2nd Department of Pathology, National and Kapodistrian University of Athens, "Attikon" University Hospital, Athens, Greece

Robert Carr: Department of Haematology, Guy's and St Thomas' Hospital, King's College London, London, UK

Table 1: Demographic and clinical data along with statistical comparisons.

Variable	Term (n=104)	Preterm (n=14)	p-Value [OR (95% CI)]
Birth weight, g	3360 (3170–3650)	2535 (2360–2730)	<0.0001
Centile	53 (36–70)	32 (21–57)	0.0490
Gestational age, weeks	39 (39–40)	36 (35–37)	<0.0001
Temperature at birth, °C	36 (36–37)	36 (36–36)	0.1453
Neonatal Hct (%)	45 (43–48)	45 (40–47)	0.4605
Neonatal RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4.3 (4.1–4.7)	4.1 (3.9–4.6)	0.0958
Neonatal WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	13.5 (11.7–15.4)	10.5 (8.3–14)	0.0882
Neonatal PLT ($\times 10^3/\text{L}$)	196 (171–234)	204.5 (197–228)	0.8157
Neonatal MPV, fL	9.8 (8.4–10.5)	9.8 (9.1–10.5)	0.8800
Gender			
Male	48 (87.3%)	7 (12.7%)	0.7865 [0.9 (0.3–2.6)]
Female	56 (88.9%)	7 (11.1%)	
Type of delivery			
Vaginal	38 (95.0%)	2 (5.0%)	0.1354
Caesarean	66 (84.6%)	12 (15.4%)	[0.3 (0.1–1.4)]
Blood group			
O	39 (84.8%)	7 (15.2%)	0.3938
Non-O	65 (90.3%)	7 (9.7%)	[0.6 (0.2–1.8)]
Aspirin			
No	96 (88.9%)	12 (11.1%)	<0.001
Yes >7 d before labor	8 (100%)	0	
Yes <7 d before labor	0	2 (100%)	
LMWH			
No	97 (89.8%)	11 (10.2%)	0.0970
Yes	7 (70.0%)	3 (30.0%)	[3.8 (0.9–16.8)]
Levothyroxine			
No	90 (90.0%)	10 (10.0%)	0.3857
Yes	13 (81.3%)	3 (18.8%)	[2.1 (0.5–8.6)]
Ampicillin peripartum			
No	97 (91.5%)	9 (8.5%)	0.0056
Yes	7 (58.3%)	5 (41.7%)	[7.7 (2.0–29.3)]
Pethidine peripartum			
No	99 (87.6%)	14 (12.4%)	1
Yes	5 (100%)	0	OR is NA
Epidural anesthesia			
No	28 (96.6%)	1 (3.4%)	0.183
Yes	76 (85.4%)	13 (14.6%)	[4.8 (0.6–38.3)]
General anesthesia			
No	103 (88.0%)	14 (12.0%)	1
Yes	1 (100%)	0	OR is NA

Results are presented as median and interquartile range (IQR) for the arithmetic parameters and as number of observations (percentage) for the categorical data; bold entries indicate statistically significant differences, for categorical parameters odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) is also presented, excluding cases that it is not applicable (NA) due to zero cases in a group or due to more than two categories; LMWH, low molecular weight heparin; Aspirin, LMWH, Levothyroxin, Ampicillin peripartum, Pethidine peripartum, Epidural anesthesia, General anesthesia: these parameters refer to mother; When considering no administration of aspirin vs. administration of aspirin (irrelevant of intake timing) the following result is observed: $p=0.4056$, $OR=2$, $95\% CI=0.4-10.5$.

value and the interquartile range (IQR) for the arithmetic parameters (COL/EPI, COL/ADP, weight, etc.) and as number of observations along with the relevant percentage for the categorical data. The t-test, Kruskal-Wallis test, chi-squared test, Fisher exact test and Spearman correlation coefficient were used as appropriate. The significance level for all comparisons was set to $p < 0.05$.

According to our results, COL/EPI CT ranges for healthy term neonates and for healthy preterms were: 76s–164s (median 111s) and 101s–178s (median 149s), respectively, ($p=0.0236$) and accordingly COL/ADP ranges: 59s–85s (median 72) and 64s–86s (median 78s), respectively, ($p=0.2783$). Therefore COL/EPI was significantly prolonged in preterms compared to term neonates while

COL/ADP was also prolonged but not statistically significantly, contrarily to the results of Saxonhouse et al. [7]. A slight platelet hyperreactivity and enhanced primary hemostasis in healthy term neonates compared to adult ones was confirmed according to our results as depicted in Table 2 [2, 3, 4, 7, 8]. The enhanced platelet-related primary hemostasis of term neonates is more obvious when COL/ADP CTs are compared. COL/ADP CTs in cord blood tend to remain shorter than the corresponding adult ones (Table 2) [2, 3, 4, 7, 8]. The shorter neonatal CTs could be possibly attributed to enhanced neonatal VWF (von Willebrand factor) activity mediated by high molecular VWF multimers [3, 5] as well as to the higher Hct in neonates [3]. The observation in our study that the difference in responsiveness between neonatal and adult platelets is more apparent with some agonists like ADP than with others like epinephrine raises several questions concerning neonatal platelet function that could be attributed to the decreased alpha-adrenergic receptors on neonatal platelets [1]. Additionally, higher Hct and subsequent release of ADP from neonatal RBCs might compensate for decreased ADP release from neonatal platelets and could also result in more profoundly shortened COL/ADP CTs compared to adults [3].

COL/EPI CT values of term neonates recorded in our study (76s–164s) were comparable to these reported by Boudewijns et al. (49–168s), but slightly prolonged related

to those reported by Roschitz et al. (50–112s), by Carcao et al. (61–108s) and by Saxonhouse et al. (65–112s) [2, 4, 5, 7]. The smaller number of term neonates included in these studies (70, 17 and 21, respectively) should be taken into consideration in the evaluation of their results. On the other hand, our COL/ADP CT reference ranges of term neonates seem to be similar with the results of most of the relevant studies depicted in Table 2.

Regarding preterm neonates, and in accordance with previous results [7], we observe prolonged CTs in healthy preterm neonates compared to term infants, supporting the hyporeactivity of preterms' platelets. Still, CTs of preterm neonates remain shorter or similar to these reported in adults (Table 2). Platelet hyporeactivity has been well reported in preterm and very low birth weight neonates using different laboratory assessment methods [9].

COL/EPI was not correlated with neonatal weight, centile, gestational age and birth temperature, while COL/ADP was negatively correlated with gestational age (Spearman's $r = -0.184$, $p = 0.0475$) in the total neonatal population study. The inverse relationship between CT-ADP and gestational age using PFA-100 found in our study has been previously described [7]. As expected, COL/EPI and COL/ADP were significantly correlated ($r = 0.321$, $p = 0.0004$).

A significant negative correlation of COL/ADP with neonatal PLT count (Spearman's $r = -0.188$, $p = 0.0437$) was noted. There is evidence that low platelet count affects

Table 2: Ranges for COL/EPI and COL/ADP CTs for adults and neonates according to previous studies and present study.

	Article	n	COL/EPI CT	COL/ADP CT	Buffered sodium citrate concentration
Adults	Mammen et al., 1998 [8]	206	94–191	72–120	3.8%
	Carcao et al. [2]	39	82–142	67–111	3.2%
	Bock et al., 1999 [8]	309	82–150	62–100	3.2%
	Israels et al. [3]	21	89–133	74–108	3.2%
	Roschitz et al. [5]	25	84–150	64–98	3.2%
	Boudewijns et al. [4]	20	85–165	72–120	3.8%
	Haubelt et al., 2005 [8]	120	93–223	64–117	3.8%
	Cho et al. [8]	120	80–162	64–121	3.2%
	Saxonhouse et al. [7]	10	95–135	63–84	3.2%
Term neonates	Carcao et al. [2]	17	61–108	48–65	3.2%
	Israels et al. [3]	31	55–109	44–76	3.2%
	Roschitz et al. [5]	70	50–112	43–98	3.2%
	Boudewijns et al. [4]	80	49–168	40–92	3.8%
	Saxonhouse et al. [7]	21	65–112	47–56	3.2%
	Present study	104	76–164	59–85	3.2%
	Saxonhouse et al. [7]	30	58–105	46–62	3.2%
Preterm neonates	Present study	14	101–178	64–86	3.2%

CT, closure time (s); studies referring to adults were conducted in peripheral vein samples while studies referring to neonates were all conducted in cord blood samples; Israels et al. [3]: results based on a mixed population of term and preterm neonates. Bold values refer to the present study.

negatively and prolongs CTs in neonates [6]. This finding is supported by a recent study reporting that CT-ADP, but not CT-EPI, was prolonged in infants with platelet counts below $90 \times 10^9/L$ [10]. The present study imposed a cut-off value of $100 \times 10^9/L$ regarding PLT count. The exclusion of thrombocytopenic neonates indicates that the negative correlation between platelet count and CTs is genuine and does not appear only in extreme PLT count. No other association was found between CTs and other hematological parameters (Hct, RBCs, WBCs and MPV, $r < |0.06|$ and all $p > 0.05$).

PFA-100 serves as a point-of-care test to assess platelet-related primary hemostasis. Establishing age-dependent reference ranges is imperative for the correct interpretation of the results as a normal CT value by adult reference ranges could possibly imply a bleeding tendency in a neonate. Although cord blood well approximates venous, the reported CT values may not apply to samples from peripheral blood. Possible differences between peripheral blood and cord blood CT values have a limited documentation [7] so far and have to be further investigated.

In the present study, we evaluated COL/EPI and COL/ADP CTs in the largest number, so far reported, of cord blood samples of well-characterized neonates. Based on our findings that CT with COL/ADP agonist has a much smaller range, implying that any values outside it could probably be clinically relevant, we suggest that CT measured by PFA-100 and COL/ADP as agonist could be a good way to identify abnormal platelet function in the newborn. This facilitates the interpretation of primary hemostasis in sick neonates or offspring of high-risk pregnancies, and along with further testing, allows prompt intervention and treatment of hemorrhagic complications.

Author contributions: SV and MK: wrote the manuscript; NI and MP: designed the study; MK, VM and EI: performed the sample collection and analysis; RS, NI: supervised sample collection; SV and MP: supervised the sample analysis; MB and AP: performed the statistical analysis; RS, ZI, RC, TB, NI, MP: critically revised the manuscript. All authors have accepted responsibility for the entire content of the 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

1. Saxonhouse MA, Sola MC. Platelet function in term and preterm neonates. *Clin Perinatol* 2004;31:15–28.
2. Carcao MD, Blanchette VS, Dean JA, He L, Kern MA, Stain AM, et al. The Platelet Function Analyzer (PFA-100): a novel in-vitro system for evaluation of primary haemostasis in children. *Br J Haematol* 1998;10:70–3.
3. Israels SJ, Cheang T, McMillan-Ward EM, Cheang M. Evaluation of primary hemostasis in neonates with a new in vitro platelet function analyzer. *J Pediatr* 2001;138:116–9.
4. Boudewijns M, Raes M, Peeters V, Mewis A, Cartuyvels R, Magerman K, et al. Evaluation of platelet function on cord blood in 80 healthy term neonates using the Platelet Function Analyser (PFA-100); shorter in vitro bleeding times in neonates than adults. *Eur J Pediatr* 2003;162:212–3.
5. Roschitz B, Sudi K, Köstenberger M, Muntean W. Shorter PFA-100 closure times in neonates than in adults: role of red cells, white cells, platelets and von Willebrand factor. *Acta Paediatr* 2001;90:664–70.
6. Kundu SK, Hellmann EJ, Sio R, Garcia C, Davidson RM, Ostgaard RA. Description of an in vitro platelet function analyzer PFA-100. *Semin Thromb Hemost* 1995;21:106–12.
7. Saxonhouse MA, Garner R, Mammel L, Li Q, Müller KE, Greywoode J, et al. Closure times measured by the platelet function analyzer PFA-100 are longer in neonatal blood compared to cord blood samples. *Neonatology* 2010;97:242–9.
8. Cho YU, Jang S, Park CJ, Chi HS. Variables that affect platelet function analyzer-100 (PFA-100) closure times and establishment of reference intervals in Korean adults. *Ann Clin Lab Sci* 2008;38:247–53.
9. Rajasekhar D, Barnard MR, Bednarek FJ, Michelson AD. Platelet hyporeactivity in very low birth weight neonates. *Thromb Haemost* 1997;77:1002–7.
10. Deschmann E, Sola-Visner M, Saxonhouse MA. Primary hemostasis in neonates with thrombocytopenia. *J Pediatr* 2014;164:167–72.



OPEN ACCESS

EDITED BY
Giacomo Cavallaro,
IRCCS Ca'Granda Foundation
Maggiore Policlinico Hospital, Italy

REVIEWED BY
Serafina Perrone,
University of Parma, Italy
Michael Nagler,
Bern University Hospital, Switzerland
Matthew Saxonhouse,
Levine Children's Hospital,
United States

*CORRESPONDENCE
Serena Valsami
serenavalsami@yahoo.com

†These authors have contributed
equally to this work and share first
authorship

SPECIALTY SECTION
This article was submitted to
Neonatology,
a section of the journal
Frontiers in Pediatrics

RECEIVED 18 May 2022
ACCEPTED 01 August 2022
PUBLISHED 08 September 2022

CITATION
Kollia M, Iacovidou N, Iliodromiti Z,
Pouliakis A, Sokou R, Mougouli V,
Boutsikou M, Politou M, Boutsikou T
and Valsami S (2022) Primary
hemostasis in fetal growth restricted
neonates studied *via* PFA-100 in cord
blood samples.
Front. Pediatr. 10:946932.
doi: 10.3389/fped.2022.946932

COPYRIGHT
© 2022 Kollia, Iacovidou, Iliodromiti,
Pouliakis, Sokou, Mougouli, Boutsikou,
Politou, Boutsikou and Valsami. This is
an open-access article distributed
under the terms of the Creative
Commons Attribution License (CC BY).
The use, distribution or reproduction
in other forums is permitted, provided
the original author(s) and the copyright
owner(s) are credited and that the
original publication in this journal is
cited, in accordance with accepted
academic practice. No use, distribution
or reproduction is permitted which
does not comply with these terms.

Primary hemostasis in fetal growth restricted neonates studied *via* PFA-100 in cord blood samples

Maria Kollia^{1†}, Nicoletta Iacovidou^{1†}, Zoi Iliodromiti¹,
Abraham Pouliakis², Rozeta Sokou¹, Vasiliki Mougouli¹,
Maria Boutsikou¹, Marianna Politou³, Theodora Boutsikou¹
and Serena Valsami^{3*}

¹Neonatal Department, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece, ²2nd Department of Pathology, "Attikon" University Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece, ³Haematology Laboratory-Blood Bank, Aretaieio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece.

Background: Platelet function of fetal growth restricted (FGR) neonates remains a field of debate. Platelet function analyzer (PFA-100) offers a quantitative *in vitro* assessment of primary, platelet-related hemostasis. Our aim was to examine platelet function using PFA-100 in FGR neonates and associate our results with perinatal parameters.

Methods: PFA-100 was applied on 74 FGR neonates, 48 full-term (>37 weeks' gestation) and 26 preterm neonates (<37 weeks). The control group consisted of 118 healthy neonates. Two closure times (CTs) with COL/EPI and COL/ADP cartridges were determined on cord blood samples for each subject. Statistical analysis was performed by SAS 9.4. The statistical significance level was set at 0.05 and all tests were two-tailed.

Results: COL/EPI CTs were prolonged in FGR (median 132 s, IQR 95–181 s) compared with control neonates (median 112.5 s, IQR 93–145 s), $p = 0.04$. Median COL/EPI CT for term and preterm FGR neonates was 126 s (IQR 90–157 s) and 137 s (IQR 104–203), respectively ($p = 0.001$), and COL/ADP CT was 70 s (IQR 62–80 s) for term and 75 s (IQR 68–82 s) for preterm FGR neonates ($p = 0.08$). Among FGR neonates, COL/EPI CT was related with delivery time (with preterm neonates exhibiting prolonged COL/EPI CTs), $p = 0.05$. No correlation was proved between both CTs and hematological parameters in FGR neonates.

Conclusion: FGR neonates showed impaired platelet function *via* PFA-100, with preterm FGR neonates confronting the greatest risk. Prolonged COL/EPI CTs in FGR neonates seemed to be independent of hematological parameters and could warn for closer evaluation during the first days of their lives.

KEYWORDS

FGR, PFA-100, closure time, platelets, prematurity

Introduction

Fetal growth restriction (FGR), formerly known as intrauterine growth restriction (IUGR), refers to the failure of fetus to reach its intrinsic growth potential, due to pathological causes of maternal, fetal, placental, or genetic origin (1–3). FGR affects 5–10% of all pregnancies (4), is one of the leading causes of perinatal morbidity and mortality, and is associated with long-term chronic diseases (3, 5, 6). A main characteristic of FGR neonates is thrombocytopenia (7–9). Thrombocytopenia could be attributed to destruction of platelets caused by placental vascular pathology (10), shunt of stem cells to erythropoiesis due to intrauterine hypoxia (11), or immaturity of liver and spleen due to redistribution of blood flow and the brain-sparing effect. Thrombocytopenia of FGR neonates is independently associated with lower gestational age (GA) at birth (12).

The investigation of neonatal platelet function in FGR neonates remains an issue of ongoing research with conflicting results so far. Platelet function studies concern mainly neonates born to mothers with pregnancy-induced hypertension (PIH), showing decreased platelet adhesion (13) and expression of glycoproteins on surfaces of activated platelets (14). On the contrary, flow cytometry studies reported higher *in vitro* responsiveness of neonatal platelets to various agonists (15). Regarding preterm FGR neonates, data examining platelet reactivity are scarce, with platelets from preterm offsprings of PIH-pregnancies displaying lower platelet adhesion on cone and platelet analyzer (CPA) (13).

In this study, we hypothesized that FGR neonates have a distinct platelet function, possibly affecting bleeding parameters and subsequent thrombotic risk. Thus, we aimed to examine platelet responsiveness using platelet function analyzer (PFA-100) in this group of neonates and associate our results with several perinatal parameters.

Methods

This is a prospective cohort study of full-term and preterm FGR neonates born at Aretaieio Hospital, National and

Abbreviations: AC, abdominal circumference; ADP, adenosine diphosphate; AGA, appropriate for gestational age; BT, bleeding time; BW, birthweight; CBC, complete blood count; CI, cephalization index; COL, collagen; CPA, cone and platelet analyzer; CS, caesarian section; CT, closure time; EFW, estimated fetal weight; EPI, epinephrine; FGR, fetal growth restriction; GA, gestational age; HC, head circumference; IAP, intrapartum antibiotic prophylaxis; IVF, *in vitro* fertilization; MCF, maximum clot firmness; NICU, neonatal intensive care unit; PAF, platelet activating factor; PFA, platelet function analyzer; PI, pulsatility index; PIH, pregnancy induced hypertension; ROTEM, rotational thromboelastometry; TEG, thromboelastography; VLBW, very low birthweight; VWF, von willebrand factor.

Kapodistrian University of Athens, during a 2-year study period (January 2017–December 2018). The Hospital Ethics Review Committee approved the study and mothers signed an informed consent prior to recruitment. Seventy-four FGR neonates, 48 full-term (>37 weeks' gestation) and 26 preterm neonates (<37 weeks' gestation), were included. Control group consisted of 118 appropriate for gestational age (AGA) neonates, 104 full-term and 14 preterm, who were previously published by our research team (16). Control and FGR group samples were collected during the same study period, at the same hospital by the same team of neonatologists.

Demographic data and perinatal parameters were listed from the maternal and neonatal medical records and are summarized in Tables 1, 2. Neonates were monitored till discharge and any postnatal complication was recorded. Inclusion criteria for the FGR group consisted of a prenatal diagnosis of estimated fetal weight (EFW) <10th centile and a distinct FGR causative pattern. The AUDIPOG computer-generated program was used to calculate the customized percentile for each pregnancy. Normal birth weight (BW) percentile limits were adjusted using significant determinants of BW (maternal age, height and weight, GA, parity, and gender) (<https://www.audipog.net/Estimation-croissance>). Intrauterine follow up of FGR fetuses included repeated Doppler studies assessing the pulsatility index (PI) of the uterine, umbilical, and cerebral arteries. A causative FGR pattern refers to abnormal PI values, thrombophilia, hypothyroidism, smoking, PIH/preeclampsia, diabetes (type 1 or gestational), and multiple pregnancy. In 22 cases, PI values were in the upper limits for the corresponding GA indicating compromised fetal perfusion (17, 18). Notably, 16 of 74 FGR neonates were born by twin pregnancies and 10 of them were siblings of 5 dichorionic/diamniotic pregnancies. Additionally, the cephalization index (CI) (ratio of head circumference to body weight) (19) and the HC/AC ratio (ratio of head circumference to abdominal circumference) were also used as measures of fetal compromise (20). Exclusion criteria, for both groups, included cord blood Hct <35%, cord blood platelet count <100 × 10⁹/L, temperature at birth <35°C, evidence of chorioamnionitis, and any major chromosomal anomaly. Cut-off values of Hct and platelets were selected according to PFA-100 manufacturer's instructions. Data regarding recruitment of our study are presented in the flowchart (Figure 1).

Blood was collected from the umbilical cord vein immediately after clamping the cord. All neonates (FGR and control group) underwent delayed cord clamping for 1 min after birth. The specimen was drawn smoothly with a 21-gauge needle into plastic tubes containing 3.2% (0.109M) buffered sodium citrate (blood: citrate = 9:1) and stored at room temperature after gentle mixing with the anticoagulant. All samples were tested *via* PFA-100[®]—Platelet Function Analyzer (DADE BEHRING) within 4 h according to manufacturer's instructions as previously described (21, 22). PFA-100 is a

TABLE 1 Demographic data of control, FGR, term FGR, and preterm FGR neonates.

Variable	Control	FGR	P-value	Term FGR	Preterm FGR	P-value
N	118	74		48	26	
GA (weeks)	39 ⁺¹ (38 ⁺² –39 ⁺⁶)	37 ⁺⁶ (36 ⁺¹ –39 ⁺³)	<0.001	39 ⁺² (38–39 ⁺⁴)	35 ⁺⁴ (34 ⁺¹ –36 ⁺²)	<0.001
BW (grams)	3,305 (3,080–3,560)	2,510 (2,080–2,740)	<0.001	2,670 (2,510–2,810)	1,895 (1,700–2,190)	<0.001
BW centile	50.0 (35.0–69.0)	5.0 (2.0–8.0)	<0.001	6.0 (4.5–8.0)	2.0 (2.0–5.0)	<0.001
Female (%)	47	54	0.32	48	65	0.15
IVF (%)	5	12	0.08	6	23	0.03
CS (%)	66	78	0.07	69	96	0.006

Arithmetic data are shown as median values (25–75th pctl). Categorical characteristics are presented as percentages. Bold values indicate statistical significance. GA, gestational age; BW, birthweight; IVF, *in vitro* fertilization; CS, caesarian section.

cartridge system of *in vitro* assessment of primary, platelet-related hemostasis that is sensitive to different preanalytical factors such as hemostatic defects, medication effects, platelet deficiencies, and hematocrit disturbances (21, 23), which were taken into consideration in order to obtain more valuable results. Closure times (CTs) for both stimulating agents collagen and epinephrine (COL/EPI) or adenosine 5'-phosphate (COL/ADP) were determined. Additional tests included the complete blood count (CBC) (Abbott cell-dyn 3,700 hematology analyzer) and blood group. Platelet count was confirmed by microscopic evaluation of peripheral blood smears.

Statistical analysis was performed by SAS 9.4 for Windows (SAS Institute Inc., NC, USA) (24). For differences of data expressed in a numeric form, the Kruskal-Wallis test was performed, while comparisons or proportions of qualitative data (Normal/Abnormal or Yes/No values) were performed *via* the chi-square test. Odds ratios were evaluated *via* the Wald's *p*-value. The statistical significance level was set to 0.05 and all tests were two-tailed.

Results

COL/EPI and COL/ADP CTs were compared between FGR and AGA neonates (control group). COL/EPI CTs were prolonged in FGR neonates (median 132 s, IQR 95–181 s) compared with control neonates (median 112.5 s, IQR 93–145 s), $p = 0.04$. No differences were found for COL/ADP CTs, with median COL/ADP CTs of 73 s in FGR neonates (IQR 65–80 s) and 72 s in control neonates (IQR 64–80 s), $p = 0.55$, as shown on Figure 2. Further analysis between FGR and control neonates showed that FGR neonates were characterized by lower BW ($p < 0.001$), BW centile ($p < 0.001$), GA ($p < 0.001$), temperature at birth ($p = 0.007$), and Apgar score at 1st min ($p = 0.04$). A higher percentage of pregnant women of FGR fetuses received aspirin prophylaxis compared with control fetuses ($p = 0.04$). FGR neonates had lower median WBCs count ($p < 0.001$), higher Hb ($p < 0.001$), and higher Hct ($p < 0.001$).

Additionally, differences between term ($N = 48$) and preterm ($N = 24$) neonates among the group of FGR neonates were tested. According to our results, median COL/EPI CTs for term and preterm FGR neonates were 126 s (IQR 90–157 s) and 137 s (IQR 104–203 s), respectively, and accordingly, median COL/ADP CTs were 70 s (IQR 62–80 s) for term and 75 s (IQR 68–82 s) for preterm FGR neonates. Difference was found only in COL/EPI CT ($p = 0.001$) (Figure 2). Moreover, preterm FGR neonates had lower median BW ($p < 0.001$), BW centile ($p < 0.001$), Apgar score at 1st min ($p = 0.02$), median HC ($p < 0.001$), median AC ($p < 0.001$), and higher CI ($p < 0.001$) compared with term FGR neonates. A higher percentage of *in vitro* fertilization (IVF) ($p = 0.03$), caesarian section (CS) ($p = 0.006$), aspirin ($p < 0.001$), and levothyroxine administration ($p = 0.01$) were observed among mothers of preterm FGR neonates (Tables 1, 2).

A mixed model to control the effects of maternal aspirin administration on neonatal CTs was implemented. Results showed that aspirin administration had no effect on COL/EPI or COL/ADP CTs neither in the complete population, nor in the FGR or control group, nor when adjusting for term and preterm neonates ($p > 0.05$ in all cases). The same results were obtained when aspirin administration was grouped into <7 or >7 days from delivery. Furthermore, a multivariate linear regression model was applied to identify factors that could affect both CTs in the whole group of FGR neonates. The statistically important parameter for COL/EPI CT was delivery time (with preterm neonates exhibiting prolonged COL/EPI CTs, $p = 0.05$). As far as COL/ADP CT is concerned, no parameter showed statistical significance.

Finally, we evaluated COL/EPI and COL/ADP CTs in accordance with different parameters in the group of FGR neonates. COL/ADP CTs were shorter in FGR neonates born *via* vaginal delivery, compared with those born *via* CS [62 s (60–75 s) vs. 74 s (67–86 s), ($p = 0.007$)]. COL/ADP CTs were prolonged in FGR neonates whose mothers had received epidural anesthesia compared with other methods of anesthesia [73 s (67–86 s) vs. 62 s (59–75 s), ($p = 0.03$)]. COL/ADP CTs were shorter after intrapartum antibiotic prophylaxis

TABLE 2 Perinatal parameters of control, FGR, term FGR, and preterm FGR neonates.

Variable	Control	FGR	P-value	Term FGR	Preterm FGR	P-value
N	118	74		48	26	
T at birth (°C)	36.3 (36.1–36.6)	36.10 (35.90–36.40)	0.007	36.2 (36.0–36.4)	36.0 (35.8–36.5)	0.0767
APGAR 1: <5*	0	1	0.04	0	4	0.02
5–7 (%)	0	4		0	12	
8–10 (%)	100	95		100	85	
APGAR 5:8–10*	100	100	–	100	100	–
Blood group: O*	39	36	0.73	35	38	0.80
Neonatal WBC (x10 ⁹ /L)	13.2 (11.4–15.2)	11.4 (9.54–13.5)	<0.001	12.8 (10.7–14.6)	9.57 (7.02–11.1)	0.38
Neonatal Hb (g/dl)	15.15 (14.4–16.05)	16.10 (15.10–17.00)	<0.001	16.1 (15.1–17.5)	16.2 (15.0–16.9)	0.54
Neonatal Hct (%)	45.1 (42.2–47.75)	48.00 (45.00–50.80)	<0.001	48.0 (45.0–53.0)	48.0 (44.7–50.0)	0.58
Neonatal PLT (x10 ⁹ /L)	251.0 (207.5–296.0)	243.0 (187.0–283.0)	0.16	248.0 (187.0–291.0)	233.5 (192.0–277.0)	0.47
Neonatal MPV (fL)	9.8 (8.4–10.5)	9.70 (8.00–10.40)	0.59	9.9 (8.2–10.5)	8.8 (7.6–10.0)	0.11
Aspirin: no*	92	80	0.04	81	77	<0.001
<7 days before labor	2	8		0	23	
>7 days before labor	7	12		19	0	
LMWH*	8	14	0.27	8	23	0.08
Anesthesia: epidural*	75	80	0.49	75	88	0.17
General	1	5	0.05	4	8	0.52
Pethidine	4	1	0.27	2	0	0.45
Ampicillin peripartum*	10	7	0.42	8	4	0.46
Hypothyroidism*	14	22	0.16	12	38	0.01
Smoking*	N/A	23	–	21	27	0.55
PIH/preeclampsia*	N/A	9	–	8	12	0.65
Thrombophilia*	N/A	7	–	8	4	0.49
HC (cm)	N/A	32.70 (31.50–34.00)	–	33.6 (32.5–34.3)	31.2 (29.7–32.0)	<0.001
AC (cm)	N/A	28.25 (26.10–29.50)	–	28.9 (27.5–30.5)	26.0 (25.0–27.5)	<0.001
CI	N/A	1.30 (1.24–1.51)	–	1.3 (1.2–1.3)	1.6 (1.5–1.8)	<0.001
HC/AC	N/A	1.15 (1.11–1.21)	–	1.1 (1.1–1.2)	1.2 (1.1–1.2)	0.26

Arithmetic data are shown as median values (25–75th pctl). *Categorical characteristics are presented as percentages. Bold values indicate statistical significance. T, temperature; LMWH, low molecular weight heparin; PIH, pregnancy-induced hypertension; HC, head circumference; AC, abdominal circumference; CI, cephalization index; N/A, not available.

(IAP) with ampicillin compared with no antibiotics [59 s (57–60 s) vs. 74 s (66–82 s), ($p = 0.005$)]. The specific cause of FGR seems to have no impact on CTs ($p > 0.05$ in all cases) (Supplementary Table 1). As expected, COL/EPI CTs and COL/ADP CTs had a positive correlation ($r = 0.37, p < 0.001$). No correlation was proved between COL/EPI and COL/ADP CTs and hematological parameters in FGR neonates.

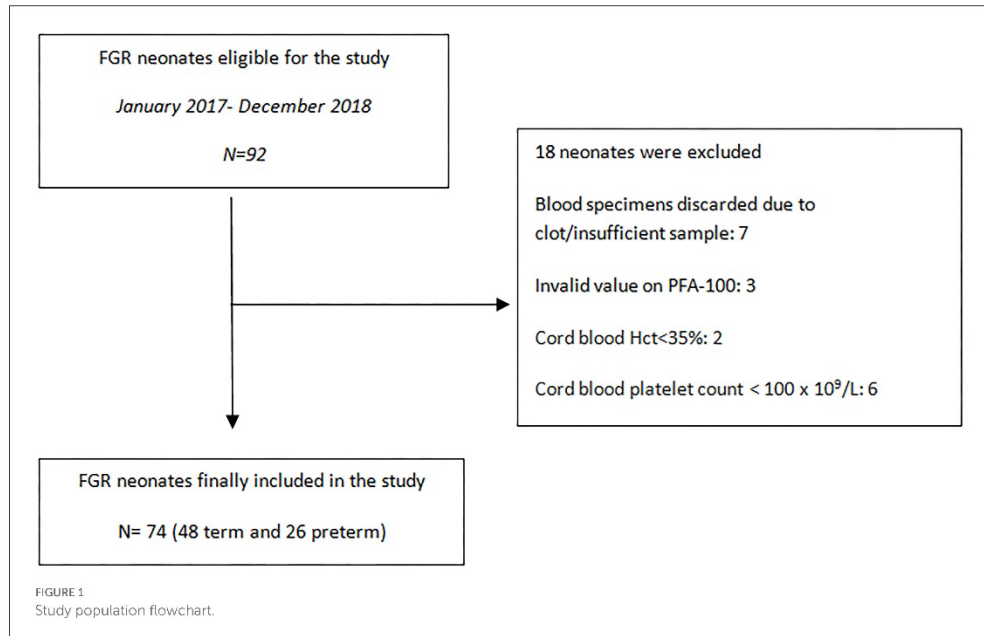
Discussion

Fetal growth restricted neonates confront a significant risk of perinatal morbidities, including hemostatic impairment, and thus, platelet-related primary hemostasis needs to be carefully evaluated. To the best of our knowledge, our cohort represents a study of platelet function via PFA-100 in the largest number of FGR neonates ($n = 74$) reported so far. To make reasonable

interpretation, all data and laboratory findings were compared with a control group of 118 AGA neonates.

Lower BW and BW centile were reasonable according to the definition of FGR neonates. The higher rate of preterm births in FGR neonates is reasonable, as the risk of prematurity in FGR is 3-fold greater than in AGA infants (25). The well-known risk of FGR infants for irregular thermoregulation (26) explains the lower temperature observed in FGR group. FGR infants have a greater risk of perinatal stress due to a sentinel event superimposed on chronic fetal hypoxia from placental insufficiency (3) and this explains lower Apgar scores in FGR newborns, as mentioned in our study.

As expected, preterm neonates had lower somatometric parameters (BW, BW centile, AC, and HC). Furthermore, higher CI and lower Apgar scores reflect the greater compromise of prematurity. A higher percentage of preterm births was observed in pregnancies conceived by IVF, in accordance with the current



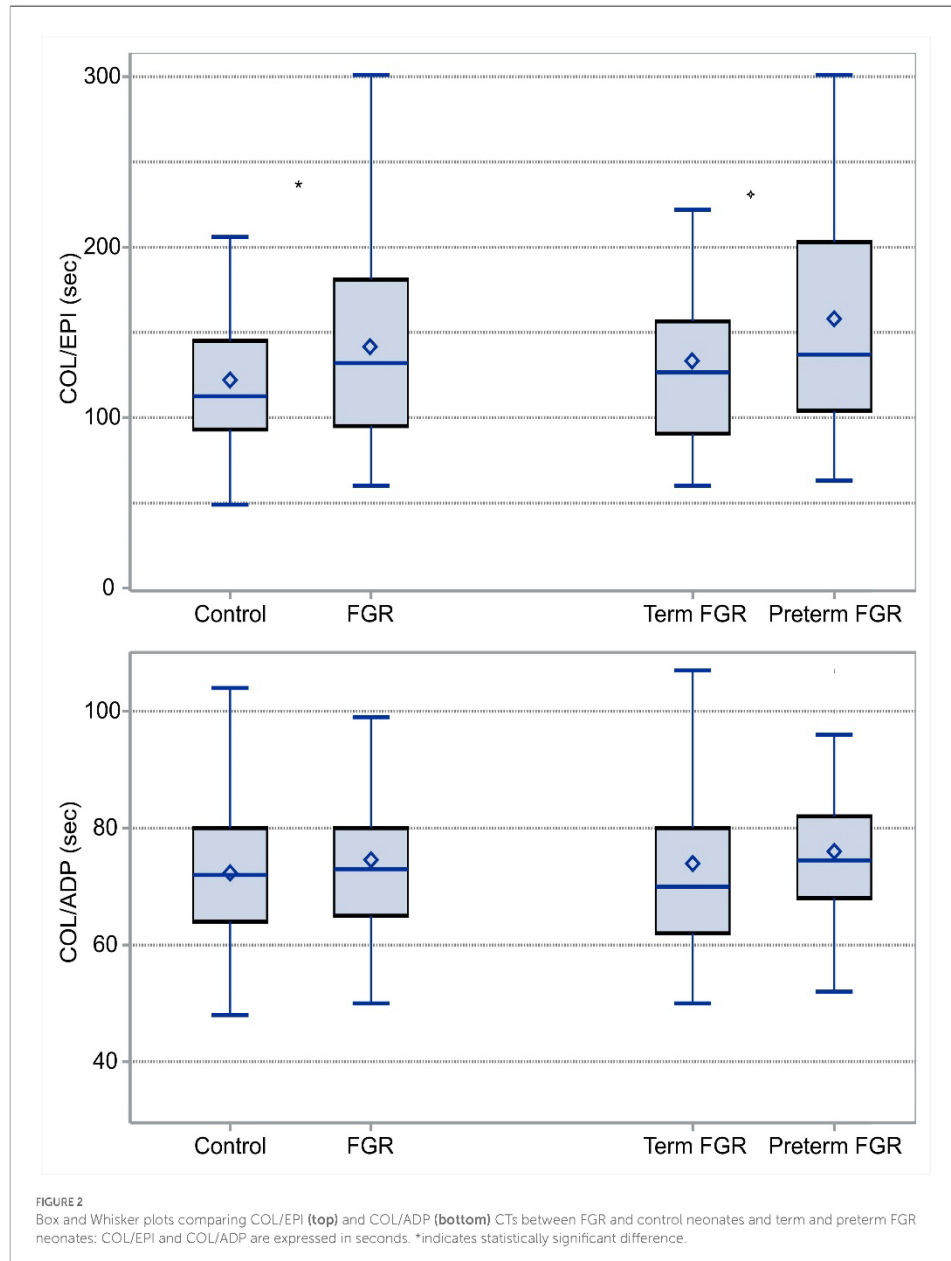
literature (27). Although there is no consensus in the optimal delivery method for a preterm birth, even in FGR fetuses, our institution's practice favors CS as depicted with the higher percentage of preterm neonates born *via* CS (28, 29). The higher incidence of preterm labor in pregnant women with hypothyroidism, despite levothyroxine replacement therapy (30), supports higher percentage of preterm birth in our group of FGR neonates.

Regarding primary hemostasis, COL/EPI CTs were prolonged in FGR compared with control neonates, whereas no corresponding difference was found for COL/ADP CTs. According to the helpful algorithm proposed by Favaloro, prolonged COL/EPI CTs with normal COL/ADP CTs could be attributed to drug effect, low Hct, mild thrombocytopenia, and mild platelet/von Willebrand factor (VWF) dysfunction (31). Aspirin is well-known to prolong COL/EPI CT, when COL/ADP CT is usually normal (23). It is worth noticing that 20% of mothers of our FGR neonates received aspirin during pregnancy, in contrast to 8% of mothers of control newborns. This finding complies with the recommendation of low-dose aspirin prophylaxis, initiated before 16 weeks of gestation for women at a high risk of preeclampsia (32). Subanalysis and linear regression model analysis support that aspirin administration during pregnancy had no effect on COL/EPI or COL/ADP CTs, neither in the complete population nor in the FGR or control group. A small amount of acetylsalicylic acid

reaches fetal circulation (33) and results in reduced levels of thromboxane B₂ in the umbilical cord (34, 35) but, according to our findings and previous platelet aggregation studies, neonatal platelet function does not appear to be affected (36, 37).

It has been shown that lower Hct is correlated with prolongation of COL/EPI CTs (31), while higher neonatal Hct seems to explain shorter bleeding time (BT) and CTs compared with adults, partly by rheologic effects (38). FGR neonates in our study were characterized by higher Hb and Hct, as polycythemia is common in FGR neonates (up to 50%) (39), due to relative hypoxia (40) that likely triggers red cell production (41–44). Thus, the prolongation of COL/EPI CTs among FGR neonates of the present study could not be attributed to the Hct effect. In fact, we could assume that higher Hct of FGR neonates could not compensate impaired activation of platelets.

Low platelet counts were correlated with prolongation of CTs and should be taken into consideration when interpreting CTs (21, 45, 46). It is well-known that the incidence of thrombocytopenia in FGR neonates is higher and more prominent as the severity of FGR increases (7, 8). In our study, the median platelet count of the FGR group did not differ significantly from the corresponding of the control group, as cord blood samples with platelets lower than $100 \times 10^9/L$ were excluded according to our study design. Thus, thrombocytopenia was excluded as a confounding factor in interpreting CT values and the observed



prolongation of COL/EPI CTs was attributed to platelet function abnormalities.

Prolongation of COL/EPI CTs of FGR neonates seems to be the result of platelet dysfunction, although this remains a field of further investigation for this group of neonates, as the majority of studies concerning activation of platelets in FGR neonates were conducted on the subpopulation of neonates born to mothers with PIH. A study of CPA reports lower platelet adhesion in FGR infants (13) and another study supports that preeclampsia influences the expression of GPs on activated neonatal platelet-surface, which may affect platelet function, leading to an additional bleeding risk in thrombocytopenic neonates (14). A study showed that platelets of neonates of preeclamptic mothers had a markedly higher responsiveness to agonists *in vitro* by flow cytometry; however, resting platelets of FGR neonates seemed to be in a slightly lower state of activation (47). Although the use of PFA as a screening tool for inherited platelet function disorders among adults has been questioned (48), prolongation of COL/EPI CT in the present study supports the impaired platelet function of FGR neonates reported from previous studies (13, 14, 47). It is of great importance that platelet hyporesponsiveness seems to apply for the whole group of FGR neonates irrespective of the cause.

As far as white blood cell count is concerned, neutropenia is frequent in offsprings of pregnancies complicated with PIH (43, 49). FGR neonates of our study were also characterized by lower median values of total leucocytes count compared with the control group. However, leucocytes do not have any influence on CTs (50, 51).

Regarding the role of prematurity in our FGR group, COL/EPI CTs of preterm FGR neonates were prolonged compared with term FGR ones. COL/ADP CTs of preterm FGR neonates were also prolonged but not significantly. Multivariate linear regression analysis supported that prematurity affects COL/EPI CTs, whereas no corresponding relation was found for COL/ADP CTs. Concerning low-dose aspirin administration, despite the fact that more preterm FGR neonates were exposed *in utero* to aspirin, our subanalysis supports that aspirin administration during pregnancy had no effect on COL/EPI or COL/ADP CTs as previously mentioned. Preterm and term FGR neonates did not differ in any hematological parameter (Table 2), so we could not speculate that differences in Hct or platelet count are responsible for the prolongation of COL/EPI CTs. Prematurity is a well-known factor affecting platelet responsiveness. Preterm neonates have prolonged bleeding time (BT) (52), decreased platelet reactivity on flow cytometry studies (53), decreased platelet adhesion on CPA (54, 55), prolonged COL/EPI CT (16) or prolonged COL/ADP CT (56) on PFA-100, and lower maximum clot firmness (MCF) on rotational thromboelastometry (ROTEM) (57). The available evidence suggests that the platelet hyporeactivity is less well-compensated by other factors, such as high Hct, in preterm compared with full-term neonates. Although preterm FGR neonates in this

study group were mainly late preterm neonates (meaning GA 34–36 + 6 weeks), our results highlight that platelet dysfunction that accompanies prematurity also applies in FGR preterm neonates. This was also reported in offsprings of pregnancies complicated by PIH with evidence of lower platelet adhesion on CPA, denoting an impaired platelet function (13). It is worth noticing that no bleeding event was recorded in our study group, and this could be attributed to our study population, which did not include neonates with extreme or moderate prematurity (GA <33 weeks) and severe thrombocytopenia, two parameters that characterize FGR neonates with the greatest bleeding risk.

The observation that the difference in responsiveness between platelets of FGR and control neonates is apparent to some agonists (epinephrine) rather than others (ADP) raises several questions concerning neonatal platelet function. Previous studies have shown that COL/ADP CT exhibits a negative correlation with GA (56) and platelet count (58) and, according to a recent study, it was proposed as a tool for bleeding risk assessment (59). In our study, however, no differences were found for COL/ADP CTs in FGR compared with AGA neonates. A possible explanation could be an increase in the available erythrocyte ADP caused by the higher Hct in FGR neonates, which may compensate for the decreased ADP secretion from neonatal platelets (38). Furthermore, a flow cytometry study showed that platelets of neonates of preeclamptic mothers had markedly higher responsiveness to ADP as an agonist, after *in vitro* activation (47).

It is worth noticing that COL/ADP CTs were found to be shorter in FGR neonates delivered *via* vaginal delivery and this could be attributed to the stimulant effect of cytokines, as both IL-6 and IL-1 β induce platelet activation and aggregation through several mechanisms (60–64). Higher levels of cytokines are expressed in cord blood samples of vaginal deliveries of term neonates (65–67) and possibly overexpressed in FGR (68) and preterm (69) deliveries.

As far as the role of anesthesia is concerned, COL/ADP CTs were prolonged in our group of FGR neonates whose mothers received epidural anesthesia during labor. Opioids seem to have no adverse effect on platelet activation and aggregation. In contrast, platelet-activating factor (PAF) concentrations decrease with lignocaine (70) and platelet aggregation is inhibited by ropivacaine *via* PFA-100 (71).

Although previous studies support that ampicillin inhibits ADP-induced platelet aggregation in adults (72, 73), VLBW neonates (74), and NICU patients (75) *via* several mechanisms (76), the opposite was reported in our study. A possible explanation could be the small number of neonates whose mothers received ampicillin peripartum (5 of 74). Moreover, FGR neonates of our study did not have any evidence of bacterial infection as opposed to neonates receiving ampicillin in previous studies (74, 75).

It is worth mentioning that vWF could have possibly contributed to the differences of CT measurements in PFA-100

assay (31). Although assessing vWF levels was beyond the scope of our study, as we aimed to use PFA-100 as a point-of-care tool, this could be considered as a limitation of our study. Moreover, all measurements were conducted on cord blood samples. Cord blood has been suggested for initial workup especially in preterm infants (77) and the majority of studies using PFA-100 in neonatal population were conducted on cord blood samples (22, 38, 50, 78, 79). Cord blood samples are reliable when assessing complete blood count, including platelets (77) and its membrane glycoproteins *via* flow cytometry (53). However, especially when it comes to bleeding risk, results from umbilical cord samples should be interpreted with caution (56, 80, 81). Matching cord blood measurements with venous samples in a larger study could further shed light on the unexplored field of neonatal platelet function during the first few hours of an infant's life.

Conclusion

In summary, the present study supports that FGR neonates demonstrate a relatively hyporesponsive phenotype. This platelet hyporesponsiveness, which should be further evaluated in a larger number of subjects, is overexpressed in preterm FGR neonates. In clinical practice, the evaluation of cord blood CTs, although depicting mainly the intrauterine hemostatic environment, could have a prospective character; cord blood samples offer the advantage of collecting larger blood volumes and perform several tests (i.e., blood gases, blood group, PFA-100), avoiding frequent neonatal blood sampling, a leading cause of anemia of the newborn. An abnormal CT value in a high-risk neonate could warn for closer evaluation and proper management during the first days of their lives.

Data availability statement

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Ethics statement

The studies involving human participants were reviewed and approved by Ethics Committee of Aretaieio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens (31.01.2017). Written informed consent to participate in this study was provided by the participants' legal guardian/next of kin.

References

- Mandruzzato G, Antsaklis A, Botet F, Chervenak FA, Figueras F, Grunebaum A, et al. Intrauterine restriction (Iugr). *J Perinat Med.* (2008) 36:277–81. doi: 10.1515/JPM.2008.050
- Sharma D, Shastri S, Farahbakhsh N, Sharma P. Intrauterine growth restriction - part I. *J Matern Fetal Neonatal Med.* (2016) 29:3977–87. doi: 10.3109/14767058.2016.1152249

Author contributions

MK collected and analyzed data, wrote the initial draft of manuscript, and reviewed and revised the manuscript. NI, SV, MP, and TB conceptualized and designed the study, coordinated and supervised data collection, analyzed data, revised the initial draft manuscript, and reviewed and revised the manuscript. ZI and RS critically reviewed the manuscript for important intellectual content. VM collected data and reviewed the manuscript. AP and MB carried out statistical analyses. All authors approved the final manuscript as submitted and agree to be accountable for all aspects of the work.

Acknowledgments

The content of the manuscript appeared previously online, as a preprint on Research Square (82).

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Supplementary material

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2022.946932/full#supplementary-material>

SUPPLEMENTARY TABLE 1
Neonatal COL/EPI and COL/ADP CTs values as median (IQR) with regard to the cause of FGR.

3. Kesavan K, Devaskar SU. Intrauterine growth restriction: postnatal monitoring and outcomes. *Pediatr Clin North Am.* (2019) 66:403–23. doi: 10.1016/j.pcl.2018.12.009
4. Nardoza LM, Caetano AC, Zamarian AC, Mazzola JB, Silva CR, Marcal VM, et al. Fetal growth restriction: current knowledge. *Arch Gynecol Obstet.* (2017) 295:1061–77. doi: 10.1007/s00404-017-4341-9
5. Sharma D, Shastri S, Sharma P. Intrauterine growth restriction: antenatal and postnatal aspects. *Clin Med Insights Pediatr.* (2016) 10:67–83. doi: 10.4137/CMPed.S40070
6. Rosenberg A. The iugr newborn. *Semin Perinatol.* (2008) 32:219–24. doi: 10.1053/j.semperi.2007.11.003
7. Wasiluk A, Dabrowska M, Osada J, Jasinska E, Laudanski T, Redzko S. Platelet indices in sga newborns. *Adv Med Sci.* (2011) 56:361–5. doi: 10.2478/v10039-011-0030-2
8. Tsao PN, Teng RJ, Chou HC, Tsou KI. The thrombopoietin level in the cord blood in premature infants born to mothers with pregnancy-induced hypertension. *Biol Neonate.* (2002) 82:217–21. doi: 10.1159/000065888
9. Maruyama H, Shinozuka M, Kondoh Y, Akahori Y, Matsuda M, Inoue S, et al. Thrombocytopenia in preterm infants with intrauterine growth restriction. *Acta Med Okayama.* (2008) 62:313–7. doi: 10.18926/AMO/30973
10. Litt JS, Hecht JL. Placental pathology and neonatal thrombocytopenia: lesion type is associated with increased risk. *J Perinatol.* (2014) 34:914–6. doi: 10.1038/jp.2014.117
11. Meberg A, Jakobsen E, Halvorsen K. Humoral regulation of erythropoiesis and thrombopoiesis in appropriate and small for gestational age infants. *Acta Paediatr Scand.* (1982) 71:769–73. doi: 10.1111/j.1651-2227.1982.tb09517.x
12. Fustolo-Gunnink SF, Vlugg RD, Smits-Wintjens VE, Heckman EJ, Te Pas AB, Fijnvandraat K, et al. Early-Onset thrombocytopenia in small-for-gestational-age neonates: a retrospective cohort study. *PLoS ONE.* (2016) 11:e0154853. doi: 10.1371/journal.pone.0154853
13. Strauss T, Maayan-Metzger A, Simchen MJ, Morag I, Shenkman B, Kuint J, et al. Impaired platelet function in neonates born to mothers with diabetes or hypertension during pregnancy. *Klin Pediatr.* (2010) 222:154–7. doi: 10.1055/s-0030-1249092
14. Kühne T, Ryan G, Blanchette V, Semple JW, Hornstein A, Mody M, et al. Platelet-surface glycoproteins in healthy and pre-eclamptic mothers and their newborn infants. *Pediatr Res.* (1996) 40:876–80. doi: 10.1203/00006450-199612000-00018
15. Kazmi RS, Cooper AJ, Lwaleed BA. Platelet function in pre-Eclampsia. *Semin Thromb Hemost.* (2011) 37:131–6. doi: 10.1055/s-0030-1270339
16. Valsami S, Kollia M, Mougion V, Sokou R, Isaakidou E, Boutsikou M, et al. Evaluation of Pfa-100 closure times in cord blood samples of healthy term and preterm neonates. *Clin Chem Lab Med.* (2020) 58:e113–6. doi: 10.1515/cclm-2019-0948
17. Society for Maternal-Fetal Medicine. Electronic address pso, Martins JG, Biggio JR, Abuhamad A. Society for maternal-fetal medicine consult series #52: diagnosis and management of fetal growth restriction: (replaces clinical guideline Number 3, April 2012). *Am J Obstet Gynecol.* (2020) 223:B2–17. doi: 10.1016/j.ajog.2020.05.010
18. American College of O, Gynecologists' Committee on Practice B-C, the Society F.F. Acog practice bulletin No. 204: fetal growth restriction. *Obstet Gynecol.* (2019) 133:e97–109. doi: 10.1097/AOG.00000000000003070
19. Harel S, Tomer A, Barak Y, Binderman I, Yavin E. The cephalization index: a screening device for brain maturity and vulnerability in normal and intrauterine growth retarded newborns. *Brain Dev.* (1985) 7:580–4. doi: 10.1016/S0387-7604(85)80005-X
20. Dashe JS, McIntire DD, Lucas MJ, Leveno KJ. Effects of symmetric and asymmetric fetal growth on pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol.* (2000) 96:321–7. doi: 10.1097/00006250-200009000-00001
21. Kundu SK, Heilmann EJ, Sio R, Garcia C, Davidson RM, Ostgaard RA. Description of an *In Vitro* platelet function analyzer-Pfa-100. *Semin Thromb Hemost.* (1995) 21(Suppl. 2):106–12. doi: 10.1055/s-0032-1313612
22. Rand ML, Carcao MD, Blanchette VS. Use of the Pfa-100 in the assessment of primary, platelet-related hemostasis in a pediatric setting. *Semin Thromb Hemost.* (1998) 24:523–9. doi: 10.1055/s-2007-996051
23. Favalaro EJ. Clinical utility of the Pfa-100. *Semin Thromb Hemost.* (2008) 34:709–33. doi: 10.1055/s-0029-1145254
24. DiMaggio C. *Sas for Epidemiologists Applications and Methods.* New York, NY: Springer (2013).
25. Lackman F, Capewell V, Richardson B, daSilva O, Gagnon R. The risks of spontaneous preterm delivery and perinatal mortality in relation to size at birth according to fetal versus neonatal growth standards. *Am J Obstet Gynecol.* (2001) 184:946–53. doi: 10.1067/mob.2001.111719
26. Doctor BA, O'Riordan MA, Kirchner HL, Shah D, Hack M. Perinatal correlates and neonatal outcomes of small for gestational age infants born at term gestation. *Am J Obstet Gynecol.* (2001) 185:652–9. doi: 10.1067/mob.2001.116749
27. Cavoretto P, Candiani M, Giorgione V, Inversetti A, Abu-Saba MM, Tiberio F, et al. Risk of spontaneous preterm birth in singleton pregnancies conceived after Ivf/Icsi treatment: meta-analysis of cohort studies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2018) 51:43–53. doi: 10.1002/uog.18930
28. Alfrevic Z, Milan SJ, Livio S. Caesarean section versus vaginal delivery for preterm birth in singletons. *Cochrane Database Syst Rev.* (2012) 6:CD000078. doi: 10.1002/14651858.CD000078.pub2
29. Werner EF, Savitz DA, Janevic TM, Ehsanipoor RM, Thung SF, Funai EF, et al. Mode of delivery and neonatal outcomes in preterm, small-for-gestational-age newborns. *Obstet Gynecol.* (2012) 120:560–4. doi: 10.1097/AOG.0b013e318265b16c
30. Parizad Nasirkandy M, Badfar G, Shohani M, Rahmati S, YektaKooshali MH, Abbasizadeh S, et al. The relation of maternal hypothyroidism and hypothyroxinemia during pregnancy on preterm birth: an updated systematic review and meta-analysis. *Int J Reprod Biomed.* (2017) 15:543–52. doi: 10.29252/ijrm.15.9.543
31. Favalaro EJ. Clinical utility of closure times using the platelet function analyzer-100/200. *Am J Hematol.* (2017) 92:398–404. doi: 10.1002/ajh.24620
32. Acog committee opinion No. 743: low-dose aspirin use during pregnancy. *Obstet Gynecol.* (2018) 132:e44–52. doi: 10.1097/AOG.0000000000002708
33. Leonhardt A, Bernert S, Watzel B, Schmitz-Ziegler G, Seyberth HW. Low-dose aspirin in pregnancy: maternal and neonatal aspirin concentrations and neonatal prostanoic formation. *Pediatrics.* (2003) 111:e77–81. doi: 10.1542/peds.111.e77
34. Benigni A, Gregorini G, Frusca T, Chiabrando C, Ballerini S, Valcamonica A, et al. Effect of low-dose aspirin on fetal and maternal generation of thromboxane by platelets in women at risk for pregnancy-induced hypertension. *N Engl J Med.* (1989) 321:357–62. doi: 10.1056/NEJM198908103210604
35. Parker Jr CR, Hauth JC, Goldenberg RL, Cooper RL, Dubard MB. Umbilical cord serum levels of thromboxane b2 in term infants of women who participated in a placebo-controlled trial of low-dose aspirin. *J Matern Fetal Med.* (2000) 9:209–15. doi: 10.1002/1520-6661(200007/08)9:4<209::AID-MFM4>3.0.CO;2-S
36. Loudon KA, Broughton Pipkin F, Heptinstall S, Fox SC, Tuohy P, O'Callaghan C, et al. Neonatal platelet reactivity and serum thromboxane B2 production in whole blood: the effect of maternal low dose aspirin. *Br J Obstet Gynaecol.* (1994) 101:203–8. doi: 10.1111/j.1471-0528.1994.tb13110.x
37. Dasari R, Narang A, Vasishtha K, Garewal G. Effect of maternal low dose aspirin on neonatal platelet function. *Indian Pediatr.* (1998) 35:507–11.
38. Israels SJ, Cheang T, McMillan-Ward EM, Cheang M. Evaluation of primary hemostasis in neonates with a new *in vitro* platelet function analyzer. *J Pediatr.* (2001) 138:116–9. doi: 10.1067/mpd.2001.109794
39. Werner EJ. Neonatal polycythemia and hyperviscosity. *Clin Perinatol.* (1995) 22:693–710. doi: 10.1016/S0095-5108(18)30276-8
40. Kingdom JC, Kaufmann P. Oxygen and placental villous development: origins of fetal hypoxia. *Placenta.* (1997) 18:613–21; discussion 23–6. doi: 10.1016/S0143-4004(97)90000-X
41. Philip AG, Tito AM. Increased nucleated red blood cell counts in small for gestational age infants with very low birth weight. *Am J Dis Child.* (1989) 143:164–9. doi: 10.1001/archpedi.1989.02150140050019
42. Bernstein PS, Minior VK, Divon MY. Neonatal nucleated red blood cell counts in small-for-gestational age fetuses with abnormal umbilical artery doppler studies. *Am J Obstet Gynecol.* (1997) 177:1079–84. doi: 10.1016/S0002-9378(97)70018-8
43. Koenig JM, Christensen RD. Incidence, neutrophil kinetics, and natural history of neonatal neutropenia associated with maternal hypertension. *N Engl J Med.* (1989) 321:557–62. doi: 10.1056/NEJM198908313210901
44. Rollins MD, Maxwell AP, Afrasiabi M, Halliday HL, Lappin TR. Cord blood erythropoietin, Ph, Pao2 and haematocrit following caesarean section before labour. *Biol Neonate.* (1993) 63:147–52. doi: 10.1159/000243924
45. Harrison P, Robinson MS, Mackie II, Joseph J, McDonald SJ, Liesner R, et al. Performance of the platelet function analyser Pfa-100 in testing abnormalities of primary haemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* (1999) 10:25–31. doi: 10.1097/00001721-199901000-00004
46. Jilma B. Platelet function analyzer (Pfa-100): a tool to quantify congenital or acquired platelet dysfunction. *J Lab Clin Med.* (2001) 138:152–63. doi: 10.1067/mlc.2001.117406

47. Klein B, Faridi A, Amo-Takyi BK, Heilmann L, Von Tempelhoff GF, Rath W. Neonatal platelet activation in pre-eclampsia. *Clin Appl Thromb Hemost.* (2001) 7:29–32. doi: 10.1177/107602960100700107
48. Kaufmann J, Adler M, Alberio L, Nagler M. Utility of the platelet function analyzer in patients with suspected platelet function disorders: diagnostic accuracy study. *TH Open.* (2020) 4:e427–36. doi: 10.1055/s-0049-1721502
49. Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr.* (1979) 95:89–98. doi: 10.1016/S0022-3476(79)80096-7
50. Roschitz B, Sudi K, Kostenberger M, Muntean W. Shorter Pfa-100 closure times in neonates than in adults: role of red cells, white cells, platelets and von willebrand factor. *Acta Paediatr.* (2001) 90:664–70. doi: 10.1111/j.1651-2227.2001.tb02431.x
51. Cho YU, Jang S, Park CJ, Chi HS. Variables that affect platelet function analyzer-100 (Pfa-100) closure times and establishment of reference intervals in Korean adults. *Ann Clin Lab Sci.* (2008) 38:247–53. Available online at: <http://www.annclinlabsci.org/content/38/3/247.long>
52. Del Vecchio A, Latini G, Henry E, Christensen RD. Template bleeding times of 240 neonates born at 24 to 41 weeks gestation. *J Perinatol.* (2008) 28:427–31. doi: 10.1038/jp.2008.10
53. Sitaru AG, Holzhauser S, Speer CP, Singer D, Obergfell A, Walter U, et al. Neonatal platelets from cord blood and peripheral blood. *Platelets.* (2005) 16:203–10. doi: 10.1080/09537100400016862
54. Linder N, Shenkman B, Levin E, Sirota L, Vishne TH, Tamarin I, et al. Deposition of whole blood platelets on extracellular matrix under flow conditions in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* (2002) 86:F127–30. doi: 10.1136/fn.86.2.F127
55. Levy-Shraga Y, Maayan-Metzger A, Lubetsky A, Shenkman B, Kuint J, Martinowitz U, et al. Platelet function of newborns as tested by cone and plate(Let) analyzer correlates with gestational age. *Acta Haematol.* (2006) 115:152–6. doi: 10.1159/000090928
56. Saxonhouse MA, Garner R, Mammel L, Li Q, Muller KE, Greywoode J, et al. Closure times measured by the platelet function analyzer Pfa-100 are longer in neonatal blood compared to cord blood samples. *Neonatology.* (2010) 97:242–9. doi: 10.1159/000253755
57. 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. doi: 10.1160/TH09-05-0282
58. Deschmann E, Sola-Visner M, Saxonhouse MA. Primary hemostasis in neonates with thrombocytopenia. *J Pediatr.* (2014) 164:167–72. doi: 10.1016/j.jpeds.2013.08.037
59. Deschmann E, Saxonhouse MA, Feldman HA, Norman M, Barbian M, Sola-Visner M. Association of bleeding scores and platelet transfusions with platelet counts and closure times in response to adenosine diphosphate (ADP) among preterm neonates with thrombocytopenia. *JAMA Netw Open.* (2020) 3:e203394. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.3394
60. Kaser A, Brandacher G, Steuer W, Kaser S, Offner FA, Zoller H, et al. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood.* (2001) 98:2720–5. doi: 10.1182/blood.V98.9.2720
61. Kerr R, Stirling D, Ludlam CA. Interleukin 6 and haemostasis. *Br J Haematol.* (2001) 115:3–12. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.03061.x
62. Oleksowicz L, Mrowiec Z, Zuckerman D, Isaacs R, Dutcher J, Puszkun E. Platelet activation induced by interleukin-6: evidence for a mechanism involving arachidonic acid metabolism. *Thromb Haemost.* (1994) 72:302–8. doi: 10.1055/s-0038-1648857
63. Beaulieu LM, Lin E, Mick E, Koupnova M, Weinberg EO, Kramer CD, et al. Interleukin 1 receptor 1 and interleukin 1beta regulate megakaryocyte maturation, platelet activation, and transcript profile during inflammation in mice and humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* (2014) 34:552–64. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302700
64. Bester J, Pretorius E. Effects of IL-1beta, IL-6 and IL-8 on erythrocytes, platelets and dot viscoelasticity. *Sci Rep.* (2016) 6:32188. doi: 10.1038/srep32188
65. Malamitsi-Puchner A, Protonotariou E, Boutsikou T, Makrakis E, Sarandakou A, Creatas G. The influence of the mode of delivery on circulating cytokine concentrations in the perinatal period. *Early Hum Dev.* (2005) 81:387–92. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2004.10.017
66. Gedikbasi A, Salihoglu O, Cankaya A, Arica V, Akkus C, Hatipoglu S, et al. The evaluation of cord blood interleukin-1beta levels in normal and caesarean deliveries. *Hum Exp Toxicol.* (2014) 33:1193–8. doi: 10.1177/0960327113499049
67. Trevino-Garza C, Villarreal-Martinez L, Estrada-Zuniga CM, Leal-Trevino M, Rodriguez-Balderrama I, Nieto-Sanjuano A, et al. Leptin, IL-6 and TNF-alpha levels in umbilical cord blood of healthy term newborns in relation to mode of delivery. *J Obstet Gynaecol.* (2016) 36:719–21. doi: 10.3109/01443615.2016.1148128
68. Al-Azemi M, Raghupathy R, Azizieh F. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine profiles in fetal growth restriction. *Clin Exp Obstet Gynecol.* (2017) 44:98–103. doi: 10.12891/ceog3295.2017
69. Cappelletti M, Della Bella S, Ferrazzi E, Mavilio D, Divanovic S. Inflammation and preterm birth. *J Leukoc Biol.* (2016) 99:67–78. doi: 10.1189/jlb.3MR0615-272RR
70. Sridhar K, Murphy D, Shorten G. Effects of lignocaine on platelet activating factor production: A-219. *Eur J Anaesthesiol.* (2004) 21:55. doi: 10.1097/00003643-200406002-00198
71. Porter J, Crowe B, Cahill M, Shorten G. The effects of ropivacaine hydrochloride on platelet function: an assessment using the platelet function analyzer (Pfa-100). *Anaesthesia.* (2001) 56:15–8. doi: 10.1046/j.1365-2044.2001.01760.x
72. Brown CH, 3rd, Bradshaw MJ, Natelson EA, Alfrey Jr CP, Williams Jr TW. Defective platelet function following the administration of penicillin compounds. *Blood.* (1976) 47:949–56.
73. Schulz C, von Beckerath C, Okrojek R, von Beckerath N, Massberg S. Platelet dysfunction and inhibition of multiple electrode platelet aggregometry caused by penicillin. *Thromb J.* (2010) 8:13. doi: 10.1186/1477-9560-8-13
74. Sheffield MJ, Lambert DK, Baer VL, Henry E, Butler A, Snow GL, et al. Effect of ampicillin on bleeding time in very low birth-weight neonates during the first week after birth. *J Perinatol.* (2011) 31:477–80. doi: 10.1038/jp.2010.154
75. Sheffield MJ, Lambert DK, Henry E, Christensen RD. Effect of ampicillin on the bleeding time of neonatal intensive care unit patients. *J Perinatol.* (2010) 30:527–30. doi: 10.1038/jp.2009.192
76. Burroughs SF, Johnson GJ. Beta-lactam antibiotic-induced platelet dysfunction: evidence for irreversible inhibition of platelet activation in vitro and in vivo after prolonged exposure to penicillin. *Blood.* (1990) 75:1473–80. doi: 10.1182/blood.V75.7.1473.1473
77. Carroll PD. Umbilical cord blood—an untapped resource: strategies to decrease early red blood cell transfusions and improve neonatal outcomes. *Clin Perinatol.* (2015) 42:541–56. doi: 10.1016/j.clp.2015.04.017
78. Boudewijns M, Raes M, Peeters V, Mewis A, Cartuyvels R, Magerman K, et al. Evaluation of platelet function on cord blood in 80 healthy term neonates using the platelet function analyzer (Pfa-100): shorter in vitro bleeding times in neonates than adults. *Eur J Pediatr.* (2003) 162:212–3. doi: 10.1007/s00431-002-1093-7
79. Edwards RM, Naik-Mathuria BJ, Gay AN, Olutoye OO, Teruya J. Parameters of thromboelastography in healthy newborns. *Am J Clin Pathol.* (2008) 130:99–102. doi: 10.1309/LABNMY41RUD099J2
80. Raffaelli G, Tripodi A, Manzoni F, Scalabrino E, Pesenti N, Amodeo I, et al. Is placental blood a reliable source for the evaluation of neonatal hemostasis at birth? *Transfusion.* (2020) 60:1069–77. doi: 10.1111/trf.15785
81. Grevsen AK, Hviid CVB, Hansen AK, Hvas AM. Platelet count and function in umbilical cord blood versus peripheral blood in term neonates. *Platelets.* (2021) 32:626–32. doi: 10.1080/09537104.2020.1786040
82. Kollia M, Iacovidou N, Iliodromiti Z, Pouliaakis A, Sokou R, Mougou V, et al. The Impact of Intrauterine Growth Restriction (IUGR) on Neonatal Primary Hemostasis. (2021). Available online at: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-983873/v1> (accessed October 25, 2021).