



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

**ΝΕΟΓΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ - ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΝΙΚΟΛΕΤΤΑ Μ. ΙΑΚΩΒΙΔΟΥ**  
**ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ-ΝΕΟΓΝΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ**  
**ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΝΕΟΓΝΑ**  
**ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΘΕΟΔΩΡΑΚΗ ΜΑΡΘΑ**  
Παιδίατρος - Νεογνολόγος  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΕΣΥ  
ΜΕΝΝ ΓΝΝΠ «Άγιος Παντελεήμων»

**ΑΘΗΝΑ 2023**



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΝΕΟΓΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ - ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΝΙΚΟΛΕΤΤΑ Μ. ΙΑΚΩΒΙΔΟΥ  
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ-ΝΕΟΓΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ  
ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΝΕΟΓΝΑ  
ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΘΕΟΔΩΡΑΚΗ ΜΑΡΘΑ**  
Παιδιάτρος - Νεογνολόγος  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΕΣΥ  
ΜΕΝΝ ΓΝΝΠ «Άγιος Παντελεήμων»

**ΑΘΗΝΑ 2023**

**Ημερομηνία αίτησης διατριβής: 31.10.2016**

**Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 29.11.2016**

**Μέλη τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

1. Μπούτσικου Θεοδώρα (Επιβλέπον μέλος Δ.Ε.Π.), Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Νεογνολογική Κλινική «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
2. Νικολέττα Ιακωβίδου, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
3. Βαλσάμη Σερένα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Αιματολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Ν.Υ. Αιμοδοσίας-Αιματολογικό Εργαστήριο «Αρεταίειο» Νοσοκομείο

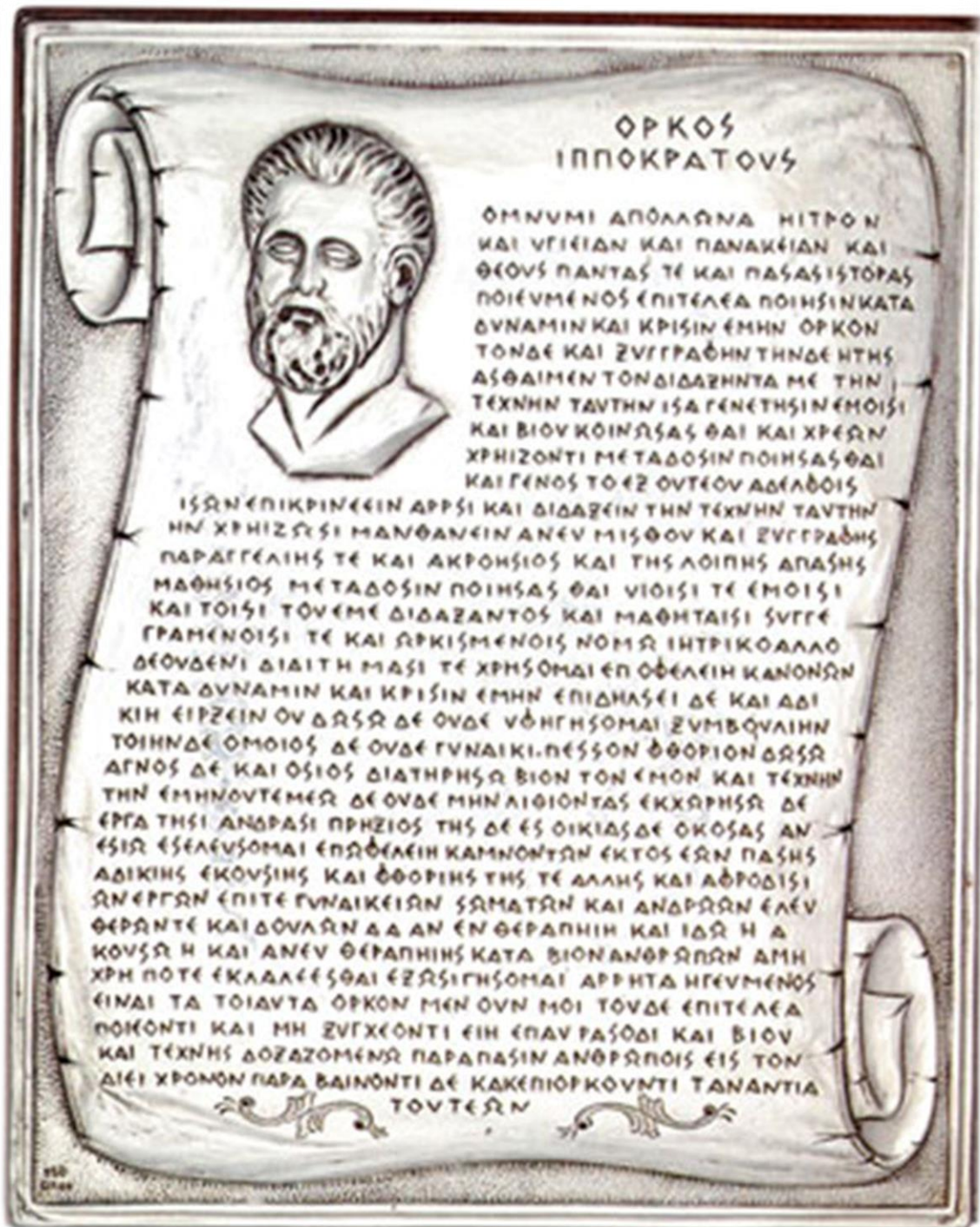
**Ημερομηνία ορισμού θέματος διατριβής: 24.02.2017**

**Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής:**

**Μέλη επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:**

1. Μπούτσικου Θεοδώρα, (Επιβλέπον μέλος Δ.Ε.Π.), Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Νεογνολογική Κλινική «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
2. Νικολέττα Ιακωβίδου, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
3. Πολίτου Μαριάννα, Καθηγήτρια Αιματολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Αιματολογικού-Υπηρεσία Αιμοδοσίας «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
4. Τσαντές Αργύριος, Καθηγητής Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, , Διευθυντής Αιματολογικού Εργαστηρίου-Μονάδας Αιμοδοσίας, Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»
5. Βαλσάμη Σερένα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Αιματολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Ν.Υ. Αιμοδοσίας- Αιματολογικό Εργαστήριο «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
6. Κόσσυβα Λυδία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής, Β' Παν/κή Παιδιατρική Κλινική, Νοσοκομείο Παιδων «Π.και Α.Κυριακού»
7. Ηλιοδρομίτη Ζωή, Επίκουρη Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Νεογνολογική Κλινική «Αρεταίειο» Νοσοκομείο

**Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής Καθηγητής Γεράσιμος Δ. Σιάσος**



Στην οικογένειά μου

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ .....	1
ΠΡΟΛΟΓΟΣ .....	4
<b>I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ.....	8
1.1. Εισαγωγή.....	8
1.2. Πρωτογενής αιμόσταση .....	11
1.3. Δευτερογενής αιμόσταση .....	26
1.4. Ινωδόλυση .....	35
2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ .....	40
2.1. Έλεγχος πρωτογενούς αιμόστασης .....	41
2.2. Έλεγχος εξωγενούς-ενδογενούς οδού πήξεως .....	45
3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΜΒΡΥΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ .....	49
4. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΣΤΟ ΝΕΟΓΝΟ .....	64
4.1. Αιμορραγικές διαταραχές στο νεογνό .....	64
4.1.1. Κληρονομικές αιμορραγικές διαταραχές .....	66
4.1.2. Επίκτητες αιμορραγικές διαταραχές .....	69
4.2. Θρομβωτικές διαταραχές στο νεογνό .....	77
5. ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ/ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ .....	83
5.1. Η τεχνική της Θρομβοελαστομετρίας .....	83
5.2. Η χρήση της θρομβοελαστομετρίας στα νεογνά .....	92
<b>II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	95
1. ΣΚΟΠΟΣ.....	96
2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	97
2.2.1. ΥΛΙΚΟ.....	97
2.2.2. ΜΕΘΟΔΟΣ .....	98
3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ .....	103
3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	104

3.2. Εύρος τιμών αναφοράς δοκιμασιών ROTEM .....	107
3.3. ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ROTEM ΜΕ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ .....	110
3.3.1. Συσχετίσεις παραμέτρων ROTEM σε τελειόμηνα νεογνά .....	110
3.3.2. Συσχετίσεις παραμέτρων ROTEM σε πρόωρα νεογνά .....	116
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	123
5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	130
6. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	132
<b>III. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>135</b>
<b>IV. ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ .....</b>	<b>148</b>

## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ADP	Διφωσφορική αδενοσίνη
AGA	Κανονικό βάρος για την ηλικία κύησης
APTT	Χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης
ATP	Τριφωσφορική αδενοσίνη
CFT	Χρόνος δημιουργίας θρόμβου (κατά ROTEM)
COX-1	Κυκλοοξυγενάση-1
CPB	Cardiopulmonary bypass-Εξωσωματική κυκλοφορία
CT	Χρόνος πήξης (κατά ROTEM)
CT	Closure time (PFA-100)
D-d,DD	D-διμερή
ECMO	Εξωσωματική οξυγόνωση με μεμβράνη/
EPI	Αναστολέας της εξωγενούς οδού της πήξης (extrinsic pathway inhibitor)
EXTEM	Αντιδραστήριο της μεθόδου ROTEM για ανίχνευση της εξωγενούς οδού της πήξης
F/FDP's	Προϊόντα αποδομής ινώδους /ινωδογόνου
FFP	Φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα
FIX concentrate	Συμπυκνωμένος παράγων IX
FIXa	Ενεργοποιημένος παράγων IX
Fva	Ενεργοποιημένος παράγων V
FVIIa	Ενεργοποιημένος παράγων VII
FVIIIa	Ενεργοποιημένος παράγων VIII
Fxa	Ενεργοποιημένος παράγων X
FXIa	Ενεργοποιημένος παράγων XI
GPIb	Γλυκοπρωτείνη Ib
GPIbIX	Γλυκοπρωτείνη IbIX
GPIIb/IIIa	Γλυκοπρωτείνη GPIIb/IIIa
GPVII	Γλυκοπρωτείνη VII
HCoFII	Συμπαράγοντας II ηπαρίνης
HMWK	High molecular weight kininogen
Ht	Αιματοκρίτης
INR	International Normalized Ratio
IPF	Immature platelet fractions
ISTH	Διεθνής εταιρεία θρόμβωσης αιμόστασης
IVH	Ενδοκοιλιακή αιμορραγία



IUGR	Ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση
LAT	Οπτική συσσωματομετρία (Light transmission agregometry)
LI30%,LI45%,LI60%%	Εναπομένουσα σταθερότητα θρόμβου στα 30,45,60 min
MCF	Μέγιστη σταθερότητα θρόμβου(ROTEM)
MCV	Μέσος όγκος ερυθρών
ML	Μέγιστη λύση του θρόμβου
MPV	Μέσος όγκος αιμοπεταλίων
NCCLS	National Comitee for Clinical Laboratory Standards
NeoBAT	Neonatal bleeding assessment tool
NET	Neutrophil extracellular trap
NO	Μονοξείδιο αζώτου
PAF	Platelet activating factor
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1-αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1
PAI-2	Plasminogen activator inhibitor-2-αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-2
PAR	Protease activated receptor
PC	Πρωτεΐνη C
PCC	Prothrombin Complex Concentrate
PCR	Polymerase chain reaction
PCT	Plateletcrit-Αιμοπεταλιοκρίτης
PDW	Platelet distribution width-εύρος κατανομής μεγέθους αιμοπεταλίων
PEEP	Τελοεκπνευστική πίεση
PFA-100	Platelet function assay
Pg	Πλασμινογόνο
PGE1	Προσταγλανδίνη E1
PGI2	Προστακυκλίνη
PK	Προκαλλικρεΐνη
PLT	Αιμοπετάλια
POC	Point of care
PRP	Platelet rich plasma
PS	Πρωτεΐνη S
PT	Χρόνος προθρομβίνης
PTT	Χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης
PVC	Polyvinylchloride
RDS	Respiratory distress syndrom/Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας
ROTEM	Rotational thromboelastometry/Περιστροφική θρομβοελαστομετρία

<b>SD</b>	<b>Τυπική απόκλιση</b>
<b>SGA</b>	<b>Μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό</b>
<b>TAFI</b>	<b>Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor</b>
<b>TEG</b>	<b>Thromboelastography-Θρομβοελαστογραφία</b>
<b>TEM</b>	<b>Thromboelastometry-Θρομβοελαστομετρία</b>
<b>TF</b>	<b>Tissue factor-ιστικός παράγων</b>
<b>TFPI</b>	<b>Tissue factor pathway inhibitor-αναστολέας οδού ιστικού παράγοντα</b>
<b>t-PA</b>	<b>tissue-Plasminogen Activator-ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου</b>
<b>TPO</b>	<b>Thyroid peroxidase antibodies</b>
<b>TT</b>	<b>Χρόνος θρομβίνης</b>
<b>TxA2</b>	<b>Θρομβοξάνη A2</b>
<b>uPA</b>	<b>Urokinase plasminogen activator</b>
<b>VLBW</b>	<b>Πολύ χαμηλού βάρους γέννησης</b>
<b>Vwf</b>	<b>von Willebrand Factor</b>
<b>AT</b>	<b>Αντιθρομβίνη</b>
<b>ΔΕΠ</b>	<b>Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη</b>
<b>ΚΤ</b>	<b>Καισαρική τομή</b>
<b>MENN</b>	<b>Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών</b>
<b>ΝΕΚ</b>	<b>Νεκρωτική εντεροκολίτιδα</b>
<b>ΣΑΔ</b>	<b>Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας</b>
<b>ΣΔ</b>	<b>Σακχαρώδης διαβήτης</b>
<b>ΣΕ</b>	<b>Συμπυκνωμένα ερυθρά</b>
<b>ΤΕΡ</b>	<b>Τελευταία έμμηνος ρύση</b>
<b>ΥΙΕ</b>	<b>Υποξική Ισχαιμική Εγκεφαλοπάθεια</b>
<b>ΦΤ</b>	<b>Φυσιολογικός τοκετός</b>

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ένα γοητευτικό, προκλητικό μα και επίπονο ταξίδι έφτασε στο τέλος του με τη διεκπεραίωση αυτού του πονήματος.

Η διατριβή αυτή πραγματοποιήθηκε στην Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ στο Νεογνολογικό Τμήμα, στο «Αρεταίειο» Νοσοκομείο, υπό την διεύθυνση της καθηγήτριας Παιδιατρικής-Νεογνολογίας κ.Ιακωβίδου Νικολέττας .Η συλλογή του δείγματος έγινε στο Μαιευτικό Τμήμα και στην ΜΕΝΝ του Γ.Ν.Νίκαιας «Αγ.Παντελεήμων» κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος 2017-Φεβρουάριος 2020.

Πριν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω όσους συνέβαλαν στην εκπόνηση της παρούσης διατριβής. και ιδιαίτερα: την Καθηγήτρια Παιδιατρικής- Νεογνολογίας Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, κ.Ιακωβίδου Νικολέττα για την αμέριστη συμπαράστασή της, την κατανόηση που επέδειξε στις αντικειμενικές δυσκολίες, την καθοδήγηση, την ουσιαστική ενθάρρυνσή καθώς και το εξαίρετο κλίμα συνεργασίας που διαμόρφωσε.

Ιδιαίτερα, επίσης, αισθάνομαι την ανάγκη και οφείλω να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα κ.Μπούτσικου Θεοδώρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Νεογνολογικό Τμήμα «Αρεταίειο» Νοσοκομείο, για την πολύτιμη βοήθειά της, την πάντα πρόθυμη καθοδήγησή της, τις παραγωγικές υποδείξεις της, την συμπαράστασή της, την κατανόησή της, το πνεύμα ενθάρρυνσης και την άψογη συνεργασία.

Επίσης ευχαριστώ θερμά την κ.Βαλσάμη Σερένα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Αιματολογίας Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Ν.Υ.Αιμοδοσίας Αιματολογικό Εργαστήριο «Αρεταίειο» Νοσοκομείο,ως μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής,για την υποστήριξή της και την συνδρομή της στην εκπόνηση της διατριβής αυτής.

Ιδιαίτερη μνεία οφείλω, στην κ.Σώκου Ροζέτα, Παιδίατρο-Νεογνολόγο Διευθύντρια ΕΣΥ, ΜΕΝΝ Γ.Ν.Νίκαιας «Αγ.Παντελεήμων», πολύτιμη συνεργάτη εδώ και πολλά έτη, για την οποία τρέφω εξαιρετική εκτίμηση και αγάπη, καθώς πέρα από την μακρόχρονη συνεργασία, μας συνδέει όχι μόνο το κοινό αίσθημα αέναης αναζήτησης της γνώσης, αλλά και το ύψιστο καθημερινό μέλημα της βέλτιστης φροντίδας των ασθενών μας. Την

ευχαριστώ θερμά, γιατί με την μοναδική εμπειρία της στο αντικείμενο της θρομβοελαστομετρίας στο πεδίο της Νεογνολογίας, τις εμπνευσμένες ιδέες της, το άσβεστο πάθος της για προαγωγή της γνώσης, την αισιοδοξία και ενθάρρυνσή της στις δυσκολίες που πολλές φορές προέκυπταν, υπήρξε ακλόνητο στήριγμα και ο πολυτιμότερος αρωγός στην εκπόνηση αυτής της διατριβής.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ .Πουλιάκη Αβραάμ, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, ΠΓΝ «Αττικόν», για την σημαντική δουλειά του στην στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσης μελέτης και την πολύτιμη βοήθειά του. Παράλληλα θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους συναδέλφους, που συνέδραμαν στην συλλογή των δειγμάτων, για την σημαντική συμβολή τους στην υλοποίηση του έργου αυτού.

Τελευταίο αλλά και το μεγαλύτερο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου και στην αδελφή μου, για την κατανόηση, την συμπαράσταση και την υποστήριξη τους, που λειτούργησαν καταλυτικά ώστε να επιτευχθεί η εκπόνηση αυτής της διατριβής.

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αιμόσταση είναι ένα δυναμικό εξελισσόμενο σύστημα, που ωριμάζει από την εμβρυική έως την ενήλικη ζωή. Το φυσιολογικό νεογέννητο έρχεται στον κόσμο με ένα σύνθετο αιμοστατικό έλλειμμα σε συνάρτηση με την ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης και την ηπατική ανωριμότητα. Οι φυσιολογικές, εξαρτώμενες από την ηλικία διαφορές του αιμοστατικού μηχανισμού, χαρακτηρίζουν την αναπτυξιακή αιμόσταση.

Παρά τις φυσιολογικές διαφορές που παρουσιάζουν τα νεογνά σε όλους τους παράγοντες του συστήματος πήξης- ινωδόλυσης σε σχέση με τα παιδιά και τους ενήλικες, η υφιστάμενη λειτουργική αντιστάθμιση της ανεπάρκειας των περισσοτέρων παραγόντων εξασφαλίζει την αιμοστατική ισορροπία, ώστε το φυσιολογικό τελειόμηνο ή πρόωρο νεογνό δεν εκδηλώνει αυξημένη αιμορραγική ή θρομβωτική διάθεση.

Η επίδραση παθολογικών καταστάσεων όμως, ανατρέπει την δυναμική ισορροπία του αιμοστατικού μηχανισμού και οι ασθενείς στις Μονάδες Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών, συχνά παρουσιάζουν διαταραχές του πηκτικού συστήματος, δυνητικά απειλητικές για την ζωή, η διάγνωση και αντιμετώπιση των οποίων είναι πρόκληση για το νεογνολόγο.

Οι ιδιαιτερότητες της νεογνικής ηλικίας που καθορίζει η αναπτυξιακή αιμόσταση, περιορίζουν την διαγνωστική δυνατότητα των συμβατικών δοκιμασιών πήξης στις αιμορραγικές και θρομβωτικές νόσους στα νεογνά.

Η ROTEM είναι ιξωδοελαστική μέθοδος σφαιρικής και δυναμικής αξιολόγησης της πήξης και ινωδόλυσης παρά την κλίση του ασθενούς, που επιτρέπει συμπληρώνοντας τις βασικές δοκιμασίες πήξης, την εφαρμογή στοχευμένης μεταγγισιοθεραπείας σε σύντομο χρόνο.

Οι ιξωδοελαστικές μέθοδοι, είναι πολλά υποσχόμενες ως εργαλεία για την ανίχνευση του αιμοστατικού προφίλ των νεογνών, την αναγνώριση του κινδύνου περιεγχειρητικής αιμορραγίας στα νεογνά, των διαταραχών της πήξης στην νεογνική σηψαιμία και άλλες αιμορραγικές καταστάσεις και στην λήψη αποφάσεων σε σύντομο χρόνο για στοχευμένη μεταγγισιοθεραπεία. Τα δημοσιευμένα δεδομένα σχετικά με τις ιξωδοελαστικές δοκιμασίες σε υγιή νεογνά είναι ωστόσο περιορισμένα και αφορούν κυρίως σε δείγματα από ομφάλιο λώρο.

Η θέσπιση τιμών αναφοράς για τις ιξωδοελαστικές δοκιμασίες στα νεογνά είναι αναγκαία για την δημιουργία διαγνωστικών και θεραπευτικών αλγορίθμων με ενσωμάτωση αυτών των μεθόδων.

# 1. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

## 1.1.Εισαγωγή

Η αιμόσταση αποτελεί σύνθετο φυσιολογικό μηχανισμό άμυνας, σε περίπτωση τραυματισμού ή βλάβης των αγγείων, προορισμένο να εμποδίζει την απώλεια αίματος και να διασφαλίζει την ρευστότητα του στον ενδαγγειακό χώρο.

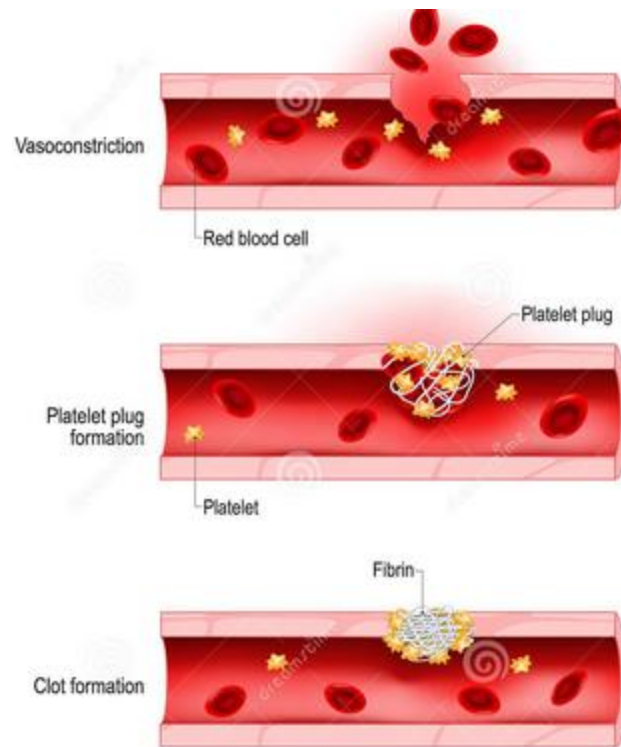
Συνιστώσες που καθορίζουν την επιτυχή αιμόσταση είναι η δημιουργία του αιμοστατικού θρόμβου στο τοίχωμα του αγγείου μετά από βλάβη με στόχο την επίσχεση της αιμορραγίας, η διατήρηση της ρευστότητας του αίματος και η διάλυση των θρόμβων μετά την αποκατάσταση της αγγειακής βλάβης.

Η πολύπλοκη αυτή διαδικασία επιτελείται με το συνδυασμό κυτταρικών παραγόντων του αίματος (κυρίως των αιμοπεταλίων), των παραγόντων της πήξης, της ινωδόλυσης και των ανασταλτών τους, του ενδοθηλίου των αγγείων και βιοχημικών μηχανισμών που συνεργάζονται αρμονικά και αλληλοεπιδρούν για την επίτευξη μιας ευαίσθητης ισορροπίας με 2 πόλους: πήξη και ινωδόλυση.

Η εκτροπή αυτής της ισορροπίας προς τη μία ή την άλλη πλευρά οδηγεί στην πρόκληση θρόμβωσης σαν αποτέλεσμα υπερπηκτικότητας ή αιμορραγίας σαν συνέπεια υποπηκτικότητας λόγω ανεπάρκειας των παραγόντων πήξης ή αυξημένης δραστηριότητας του ινωδολυτικού συστήματος.[1, 2]

Διακρίνονται τρία στάδια στην αιμόσταση:

- πρωτογενής, η οποία καταλήγει στον σχηματισμό του ασταθούς αιμοπεταλιακού θρόμβου (λευκός θρόμβος)
- δευτερογενής αιμόσταση ή πήξη, κατά την οποία γίνεται σταθεροποίηση του θρόμβου με τη δημιουργία πλέγματος ινώδους, με τη μεσολάβηση των παραγόντων πήξης, κυττάρων και αναστολέων πήξης.



Εικ.1.Αιμόσταση- Βασικά βήματα της διαδικασίας επούλωσης τραύματος

<https://www.shutterstock.com/search/hemostasis>

- Ινωδολυση, διαδικασία που εμποδίζει την υπερβολική αύξηση του θρόμβου και συντελεί στην διάλυσή του.

Από τότε που ο Πλάτων παρατήρησε ότι το αίμα σχηματίζει ίνες, όταν βρεθεί εκτός σώματος, το φαινόμενο της πήξης του αίματος, έως και σήμερα έχει αποτελέσει και εξακολουθεί να είναι αντικείμενο έρευνας πολλών μελετητών .

Στον 20αι. ανακαλύφθηκαν πολλά από τα κομβικά στοιχεία του μηχανισμού της αιμόστασης. Το 1905 ο Morawitz πρότεινε το πρώτο μοντέλο πήξης σύμφωνα με το οποίο η θρομβοπλασίνη, γνωστή σήμερα σαν ιστικός παράγων (TF- tissue factor), απελευθερωνόταν από τα αγγεία που είχαν υποστεί βλάβη για την μετατροπή της προ-θρομβίνης σε θρομβίνη, παρουσία ασβεστίου. Η μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες με τη μεσολάβηση της θρομβίνης οδηγούσε στον σχηματισμό του θρόμβου. [3, 4]



Το 1964 δύο ανεξάρτητες ομάδες ερευνητών, πρότειναν το μοντέλο του "καταρράκτη" της πήξης [5, 6] το οποίο αν και χρόνια αποτελεί ένα πολύ χρήσιμο μοντέλο για την πήξη, και χρησιμοποιείται και σήμερα για διδακτικούς κυρίως λόγους και για την ερμηνεία εργαστηριακών εξετάσεων της πήξης (PT-prothrombin time, APTT –activated partial thromboplastin time), ωστόσο δεν αντανακλά πλήρως τις in vivo διεργασίες του αιμοστατικού μηχανισμού.

Σήμερα το αναθεωρημένο και ευρέως αποδεκτό μοντέλο για την πήξη, το οποίο προτάθηκε από τους Hoffman and Monroe το 2001 είναι το κυτταρικό μοντέλο. [7] Η διαδικασία της πήξης συμβαίνει σε συγκεκριμένες κυτταρικές επιφάνειες αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων, που καθορίζουν την ρύθμιση του μηχανισμού, ο οποίος πραγματοποιείται σε αλληλένδετες φάσεις: έναρξη, ενεργοποίηση, ενίσχυση, τερματισμός .

## 1.2. Πρωτογενής αιμόσταση

Όταν ένα αγγείο υποστεί βλάβη ενεργοποιείται μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα ο μηχανισμός της πρωτογενούς αιμόστασης, που συνίσταται σε σύσπαση του τραυματισμένου αγγείου και σχηματισμό αιμοπεταλιακού θρόμβου μέσα σε 3-7 λεπτά. Στον σχηματισμό του πρωτογενούς αιμοπεταλιακού θρόμβου μετέχουν:

1. το αγγειακό τοίχωμα
2. τα αιμοπετάλια τα οποία έρχονται σε επαφή με το υπενδοθηλιακό κολλαγόνο και ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί :
  1. της προσκόλλησης (adhesion) των αιμοπεταλίων
  2. της απελευθέρωσης κοκκίων από τα αιμοπετάλια (release reaction) και
  3. της συσσώρευσής τους για το σχηματισμό του ασταθούς «λευκού θρόμβου».

Η διαδικασία της αιμόστασης αρχίζει μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα από την πρόκληση της κάκωσης στο αγγείο και ολοκληρώνεται σε μερικά λεπτά έως περίπου 1 ώρα.

Το ενδοθήλιο, το οποίο επενδύει εσωτερικά το τοίχωμα όλων των αγγείων, είναι όργανο που συμμετέχει σε πολλαπλές φυσιολογικές λειτουργίες, μεταξύ των οποίων είναι ο έλεγχος του αγγειοκινητικού τόνου, και όλα τα στάδια του μηχανισμού της αιμόστασης: ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων, πήξη και ινωδόλυση. Η αγγειοκινητική δράση του ενδοθηλίου σε φυσικά, χημικά ή μηχανικά ερεθίσματα επιτυγχάνεται με την σύνθεση και απελευθέρωση από τα ενδοθηλιακά κύτταρα αγγειοδραστικών ουσιών με αγγειοδιασταλτικές (NO-μονοξειδίο του αζώτου, προατακυκλίνη PGI<sub>2</sub>), ή αγγειοσυσπαστικές ιδιότητες με κυριότερη την ενδοθηλίνη. [8] Η ενδοθηλίνη δρα μέσω υποδοχέων στο ενδοθήλιο και στις λείες μυϊκές ίνες και πέραν της αγγειοσύσπασης προκαλεί και αύξηση του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών ινών. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, στο ενδοθήλιο επικρατεί η χάλαση έναντι της συστολής. [9]

Το ενδοθήλιο έχει αντιθρομβωτικές και αντιπηκτικές ιδιότητες αλλά συμμετέχει συγχρόνως σε όλα τα στάδια της αιμόστασης, καθώς παράγει και εκκρίνει ουσίες είτε προπηκτικές είτε αντιπηκτικές ιδιότητες. [10, 11]

**Παράγοντες με αντιπηκτικές ιδιότητες:**

- Αναστολέας της εξωγενούς οδού της πήξης ( Extrinsic pathway inhibitor-EPI ή Tissue Factor pathway Inhibitor-TFPI)- εξουδετερώνει τα συμπλέγματα της εξωγενούς τενάσης FVIIa-TF και έχει την δυνατότητα αναστολής των FVIIa και FXa.
- NO (Μονοξειδίο του αζώτου) - αγγειοδιασταλτικός παράγων που επιπλέον αναστέλλει την προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων [12]
- Η προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>)- αγγειοδιασταλτικός παράγων, αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων
- Θρομβομοντουλίνη- στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C (αναστολέα της πήξης) μαζί με τη θρομβίνη
- Οι μιμητές της ηπαρίνης-προσδίδουν αρνητικό φορτίο στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, εμποδίζουν την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και μαζί με την αντιθρομβίνη αναστέλλουν την ενδογενή οδό της πήξης
- Ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (t-PA)- το πλασμινογόνο ενεργοποιεί την αποδόμηση του ινώδους

**Ουσίες που παράγονται στο ενδοθήλιο με προπηκτική δράση:**

-Ιστικός παράγων (TF)

-Παράγων von Willebrand (vWF): Γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και εκκρίνεται κατά το μεγαλύτερο ποσοστό στο πλάσμα, ενώ ένα μικρό ποσοστό αποθηκεύεται στα σωματίδια Weibel-Palade του κυτταροπλάσματος. Επίσης παράγεται από τα μεγακαρυοκύτταρα και αποθηκεύεται στα α-κοκκία των αιμοπεταλίων.

Οι κύριες δράσεις του είναι:

1. η συμμετοχή του στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων δημιουργώντας γέφυρα ανάμεσα στο τραυματισμένο αγγειακό τοίχωμα και τον υποδοχέα GPIb των αιμοπεταλίων και
2. η σταθεροποίηση του παράγοντα FVIII. Μετά την παραγωγή του στο ήπαρ ο παράγων VIII συνδέεται με το von Willebrand και προστατεύεται από την

πρωτεόλυση από την δράση της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C, έτσι αυξάνεται ο χρόνος ημιζωής του στο πλάσμα. [13]

-Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1): αναστέλλει την μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη, μειώνοντας την ινωδόλυση

-Παράγων ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) : έχει αγγειοσυσπαστική δράση και προάγει και την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο καθώς και τη διαπερατότητά του.

Το φυσιολογικό, άθικτο ενδοθήλιο προλαμβάνει την αιμορραγία και τη θρόμβωση με την παραγωγή και εκκρίση ρυθμιστικών παραγόντων, που αναστέλλουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και των λευκών αιμοσφαιρίων και συντηρεί την αγγειοδιαστολή. Άποτρέπει την επαφή του ιστικού παράγοντα με τους παράγοντες πήξης και του κολλαγόνου με τα αιμοπετάλια.[14]

Όταν υπάρξει βλάβη στο αγγειακό τοίχωμα, συντελείται τοπικά αντανακλαστικός μυογενής σπασμός, που παράλληλα με τη δράση του αυτόνομου νευρικού συστήματος στο μυϊκό ιστό των αγγείων και μέσω διαβιβαστών, όπως η σεροτονίνη, επινεφρίνη νορεπινεφρίνη προκαλεί άμεσα συστολή του αγγείου, ώστε να περιοριστεί η απώλεια αίματος και ενεργοποιείται τάχιστα η πρωτογενής αιμόσταση.

Η σύσπασση του αγγείου γίνεται πολύ γρήγορα και αν το αγγείο είναι πολύ μικρό μπορεί να είναι αρκετή για την επίσχεση της αιμορραγίας, αλλά δεν επαρκεί για τους σοβαρούς τραυματισμούς στα μεγαλύτερα αγγεία. Η σύγχρονη προσέγγιση της πήξης αναδεικνύει την δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ αγγειακών παραγόντων, αιμοπεταλίων και πρωτεϊνικών παραγόντων της πήξης. [15]

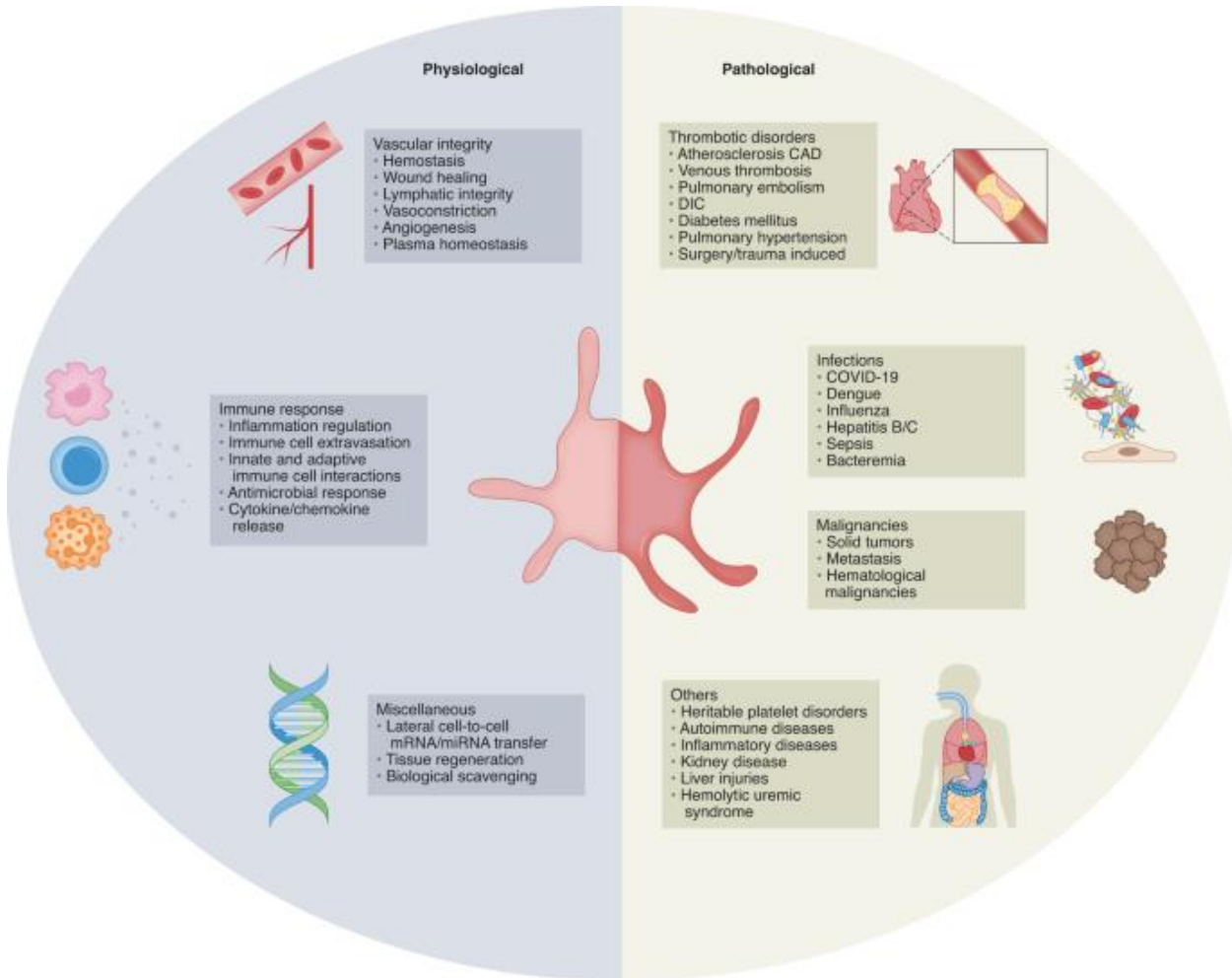
## **Αιμοπετάλια**

Τα αιμοπετάλια ή θρομβοκύτταρα είναι τα μικρότερα από τα έμμορφα συστατικά του αίματος. Είναι απύρρηνα, με διάμετρο 2-4μm και σχήμα δισκοειδές σε ηρεμία. Παράγονται στο μυελό των οστών και τους πνεύμονες, και αποτελούν θραύσματα του κυτταροπλάσματος των διαφοροποιημένων μεγακαρυοκυττάρων.[16] Η θρομβοποιητίνη είναι η

κύρια ουσία που ρυθμίζει την μεγακαρυοποίηση και θρομβοποίηση. Τα επίπεδά της αυξάνουν ή μειώνονται, αντιστρόφως ανάλογα με τον αριθμό των αιμοπεταλίων. Ο αριθμός τους στο περιφερικό αίμα υγιούς ατόμου είναι 150.000-450.000/μl, ενώ στο σπλήνα εγκλωβίζεται και 1/3 περίπου των διαθέσιμων αιμοπεταλίων. Επί υπερσπληνισμού το ποσοστό αυτό μπορεί να φτάσει έως και 90%. Η διάρκεια ζωής τους είναι 9-11 ημέρες και αν δεν ενεργοποιηθούν, καταστρέφονται στον σπλήνα ή το ήπαρ. [17] Η ενεργοποίηση τους συμβαίνει όταν υπάρξει τραύμα σε κάποιο αγγείο και με την μεσολάβηση κυτταρικών και χυμικών παραγόντων, αποκτούν ακανόνιστο σχήμα, προσεκβάλλουν ψευδοπόδια, προσκολλώνται στο σημείο της βλάβης και συσσωρεύονται μεταξύ τους.[2]

Πρωταρχική τους λειτουργία είναι η διατήρηση της βατότητας των αγγείων και η συμμετοχή τους στον αιμοστατικό μηχανισμό, ρυθμιστές της αιμόστασης αλλά και της θρόμβωσης. Αν και τόσο μικρά, χωρίς πυρήνα κύτταρα με σύντομο χρόνο ζωής, παρουσιάζουν ασυνήθιστη συμμετοχή σε πολλαπλές φυσιολογικές και παθολογικές λειτουργίες. Ενέχονται στη διατήρηση της ακεραιότητας των αγγείων και την επούλωση των πληγών, με την αλληλεπίδραση με το αγγειακό τοίχωμα και το ρόλο τους στην αγγειογένεση, ενώ μέσω αποθήκευσης και απελευθέρωσης κυτταροκινών ασκούν ανοσολογική δράση.[18, 19]

Έχει μελετηθεί ο ρόλος τους στην παθολογία της θρόμβωσης, στα καρδιαγγειακά νοσήματα και τον σακχαρώδη διαβήτη, στην παθογένεια των λοιμώξεων (σηψαιμία και ιογενείς λοιμώξεις, συμπεριλαμβανομένης της νόσου COVID-19 [20] [6], στην ογκογένεση και τον μεταστατικό καρκίνο, σε χρόνια και φλεγμονώδη νοσήματα.[18, 19, 21] [22-24]



Εικ.2. [24] Σχηματική αναπαράσταση των φυσιολογικών και παθολογικών λειτουργιών των αιμοπεταλίων  
([www.nature.com/articles/s44161-022-00021-z](http://www.nature.com/articles/s44161-022-00021-z))

### Δομή αιμοπεταλίων

Από την τρισδιάστατη δισκοειδή μορφή, σε ηρεμία, με την οποία κυκλοφορούν στο αίμα, υπό φυσιολογικές συνθήκες, με την ενεργοποίησή τους γίνονται αρχικά σφαιρικά και εμφανίζουν προσεκβολές στην επιφάνειά τους (δενδριτική μορφή). Όταν έρθουν σε επαφή με αντικειμενοφόρο πλάκα, χάνουν τις προσεκβολές τους, απλώνουν σαν μια λεπτή μεμβράνη με τα σωματίδια να εμφανίζονται συγκεντρωμένα στο κέντρο, όπου

φαίνεται αυξημένη η πυκνότητά τους (απλωμένη μορφή). [25]

Αποτελούνται από το γλυκοκάλυκα, τη μεμβράνη, τον κυτταρικό σκελετό και το κυτταρόπλασμα.

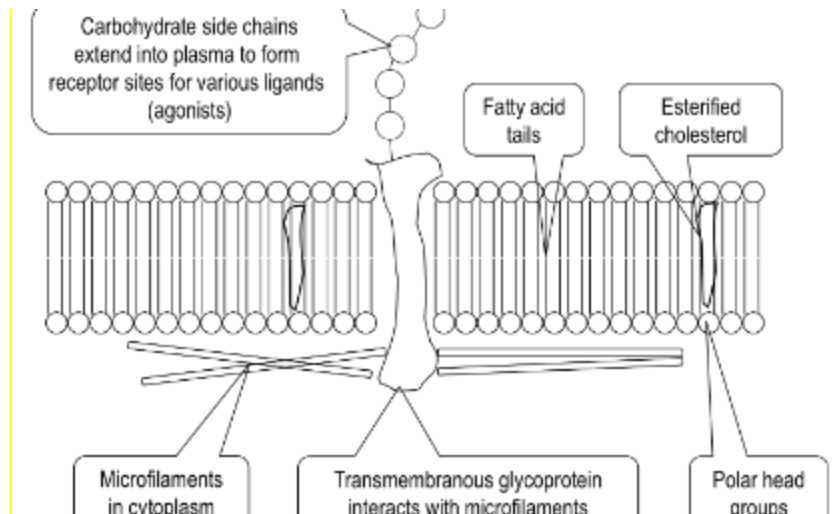
Ο γλυκοκάλυκας περιβάλλει εξωτερικά την μεμβράνη, έχει πάχος 10-20 nm, αποτελείται από γλυκοπρωτεΐνες, βλεννοπολυσακχαρίτες και σιαλικό οξύ, μόρια που παίζουν ρόλο στην προσκόλληση και συγκόλληση των αιμοπεταλίων.

Η μεμβράνη των αιμοπεταλίων, πάχους 7-9nm, αποτελείται από δύο φωσφολιπιδικές στιβάδες ανάμεσα στις οποίες παρεμβάλλεται μια πρωτεϊνική και στην επιφάνειά της φέρει πλήθος υποδοχέων.

Εξωτερικά, η λιπιδική στιβάδα, αποτελείται κυρίως από φωσφατιδυλχολίνη και σφιγγομυελίνη, με ουδέτερο φορτίο και εσωτερικά από αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια, τα οποία όταν το κύτταρο είναι σε ηρεμία αποτρέπουν μια ανεξέλεγκτη και μη επιθυμητή ενεργοποίηση της διαδικασίας της πήξης. Κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων η εσωτερική στιβάδα, αναδιπλώνεται προς τα έξω και έτσι αποκαλύπτονται οι υποδοχείς που συμβάλλουν στην αιμοστατική διαδικασία (flip-flop).

Τα ανιονικά φωσφολιπίδια φωσφατιδυλινοσιτόλη και φωσφατιδυλσερίνη κυριαρχούν στην εσωτερική επιφάνεια που πρόσκειται στο κυτταρόπλασμα. Αυτά τα φωσφολιπίδια, κυρίως η φωσφατιδυλινοσιτόλη, συμμετέχουν στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω του αραχιδονικού οξέως που μετατρέπεται σε προσταγλανδίνη και θρομβοξάνη A<sub>2</sub> κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

Η φωσφατιδυλσερίνη προβάλλει στην εξωτερική επιφάνεια με την ενεργοποίηση και σ' αυτή τη φορτισμένη φωσφολιπιδική επιφάνεια, τα ένζυμα της πήξης, κυρίως τα συμπλέγματα των παραγόντων VIII- IX και X - V εφαρμόζουν. [26] (Εικ.3)



Εικ. 3 [27] Σχηματική απεικόνιση μεμβράνης αιμοπεταλίων

Οι γλυκοπρωτεϊνικοί υποδοχείς της μεμβράνης είναι απαραίτητοι για την προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων και έχουν ειδικότητα για συγκεκριμένες ουσίες. Οι κύριες λειτουργίες των γλυκοπρωτεϊνικών μορίων της μεμβράνης είναι :

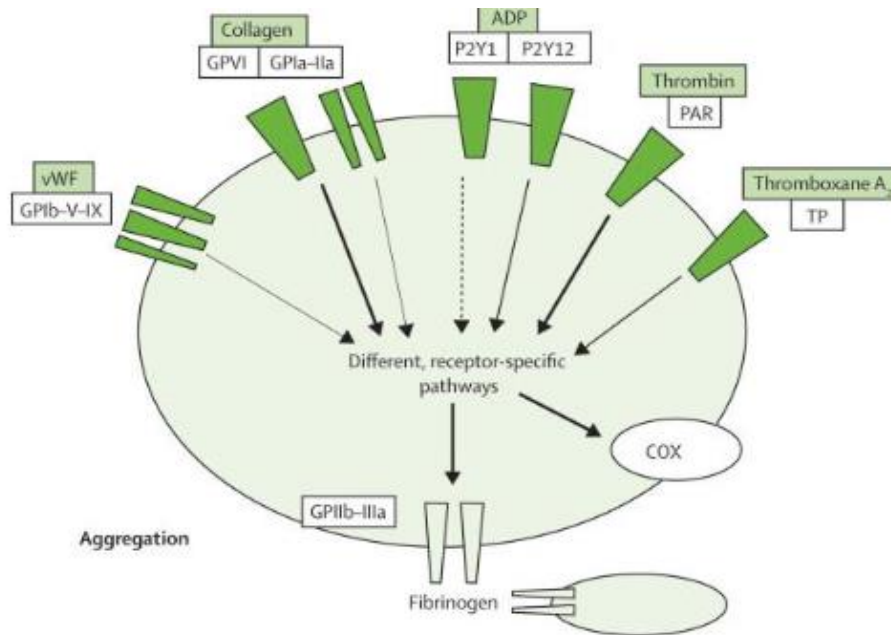
- συμβολή στην σταθεροποίηση της μεμβράνης
- λειτουργούν ως υποδοχείς μορίων κυτταρικής πρόσφυσης και ενεργοποιητών ή ανταγωνιστών των αιμοπεταλίων,
- μετάδοση σημάτων –διεγέρσεων από έξω προς τα έσω
- αλληλεπίδραση με άλλα κύτταρα (ενδοθηλιακά, ουδετερόφιλα, καρκινικά, μικρόβια).

Έχουν ταυτοποιηθεί περί τους 50 υποδοχείς· ανάλογα με την μοριακή τους δομή διακρίνονται σε: ιντεγκρίνες, πρωτεϊνικούς πλούσιους σε λευκίνη, σελεκτίνες, υποδοχείς της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών. Από τους σημαντικότερους για τη λειτουργία της μεμβράνης στην πήξη είναι :

- GPIb/IX/V, ειδικός για τον παράγοντα von Willebrand (vWF)
- GPIa/IIa για το κολλαγόνο
- GPIIb/IIIa υποδοχέας ινωδογόνου. [28] Υποδοχείς εκτός από τα αιμοπετάλια



βρίσκονται και στο τοίχωμα του αγγείου που έχει υποστεί βλάβη και συνδέουν τις προσκολλητικές ουσίες με τα αιμοπετάλια είτε με την υπενδοθηλιακή στοιβάδα.



Εικ. 4. Σχηματική απεικόνιση μερικών υποδοχέων αιμοπεταλίων [29]

*vWF*: vonWillebrand factor, *GPIIb-V-IX*: Glycoprotein IIb-V-IX, *GPIIb-IIIa*: Glycoprotein IIb-IIIa, *ADP*: Adenosine diphosphate, *P2Y1, P2Y12*: platelet receptors *PAR*: Platelet protease activated receptor, *COX*: Cyclooxygenase, *TP*: Thromboxane receptor

Στο αιμοπετάλιο υπάρχουν σχηματισμοί σωληναρίων:

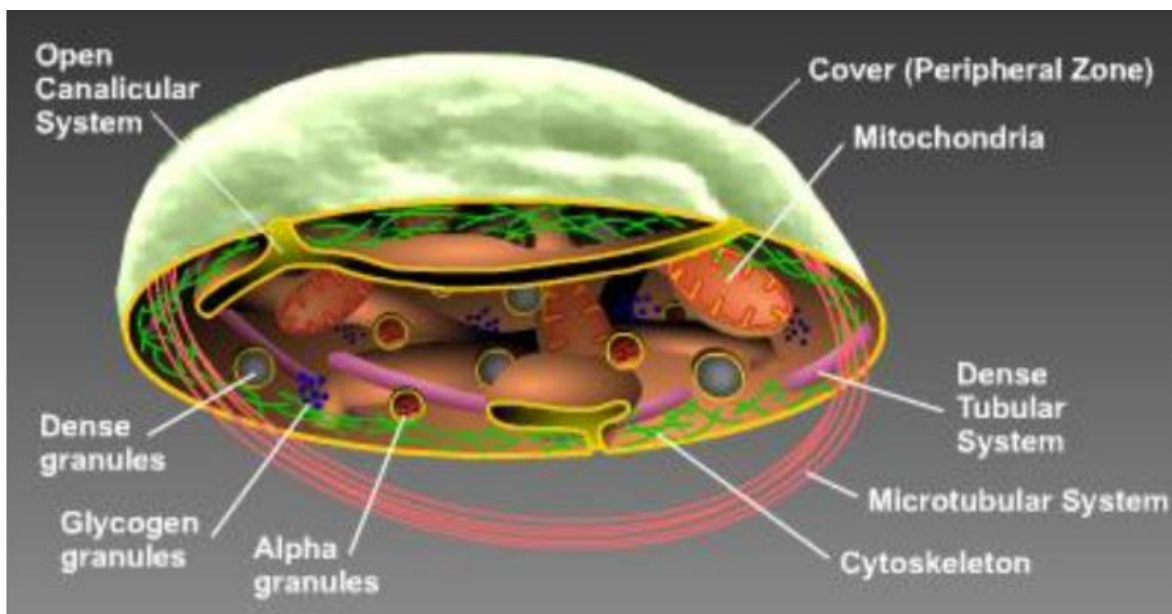
-*Το ανοικτό σύστημα καναλίσκων (Open canalicular system)*: σχηματίζεται με την διείσδυση της μεμβράνης στο κυτταρόπλασμα και αποτελεί δίαυλο επικοινωνίας με την εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου, εξυπηρετώντας στην μεταφορά ουσιών από και προς το κύτταρο, στην απελευθέρωση του περιεχομένου των κοκκίων, στην αποθήκευση γλυκοπρωτεϊνών που απελευθερώνονται όταν ενεργοποιηθεί το αιμοπετάλιο.[30]

-*Το σύστημα των μικροσωληναρίων (microtubules)*: κάτω από την κυτταρική μεμβράνη σχηματίζουν ένα κυκλο και μετέχουν στην διατήρηση του δισκοειδούς σχήματος των αιμοπεταλίων.[31]

-*Το σύστημα των πυκνών σωληναρίων (dense tubules)*: ακριβώς κάτω από τα

μικροσωληνάρια, προέρχεται από το ενδοπλασματικό δίκτυο των μεγακαρυοκυττάρων και είναι αποθήκη ελεύθερων ιόντων  $Ca^{++}$ , και άλλων ουσιών απαραίτητων για την ρύθμιση του μεταβολισμού και της λειτουργίας των αιμοπεταλίων.[32]

Ο κυτταρικός σκελετός εκτός από τα μικροσωληνάρια και τα πυκνά σωληνάρια περιλαμβάνει και τις συσταλτές πρωτεΐνες, με σπουδαιότερη την ακτινομουσίνη, σαν σύμπλεγμα της ακτίνης και της μυοσίνης. Η ακτίνη και η μυοσίνη υπάρχουν σε μονομερή μορφή στα ήρεμα αιμοπετάλια και ως πολυμερή στα ενεργοποιημένα. Η σύσπαση των ινιδίων της ακτομυοσίνης προκαλεί την αλλαγή του σχήματος του αιμοπεταλίου από αμφίκυρτο σε στρογγυλό με ψευδοπόδια, κατά την ενεργοποίησή του. Επίσης προκαλεί σύσπαση των κοκκίων και αποβολή του περιεχομένου τους και συντελεί στην συστολή του θρόμβου.[17]



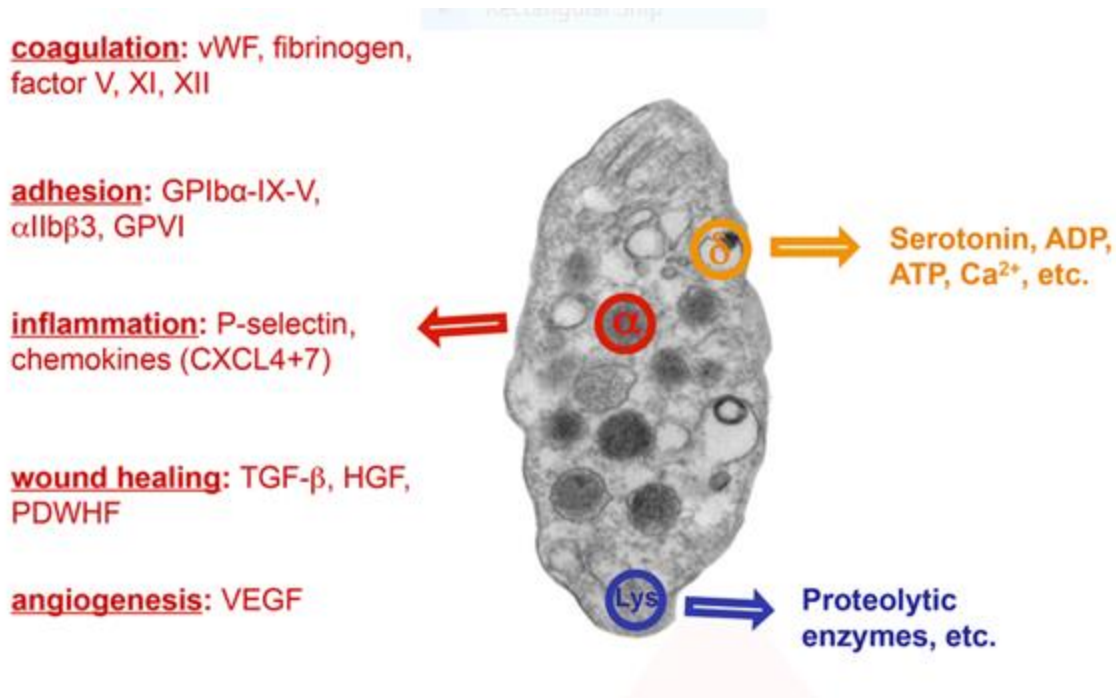
Εικ.5 Σχηματική απεικόνιση δομής αιμοπεταλίου. (<http://www.platelet-research.org/>.)

Στο κυτταρόπλασμα των αιμοπεταλίων περιέχονται σωματίδια πρωταρχικής σημασίας για την λειτουργία τους: *μιτοχόνδρια και γλυκογόνο*, από τα οποία αντλούν ενέργεια και 3 κύρια είδη κοκκίων:

*τα α-κοκκία, τα πυκνά κοκκία (δ-κοκκία), και τα λ- κοκκία (λυσσώματα)*, ενώ έχουν αναφερθεί και άλλα είδη. Τα πυκνά κοκκία περιέχουν κυρίως ADP, ATP και  $Ca^{++}$  και τα

λυσσώματα πρωτεολυτικά ένζυμα, απαραίτητες ουσίες για την πραγματοποίηση της αιμόστασης. Τα α-κοκκία που είναι και τα περισσότερα (50-80/ αιμοπετάλιο) περιέχουν περισσότερες από 300 πρωτείνες, που παίζουν σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων και την πήξη του αίματος, αλλά και στην φλεγμονή, την επούλωση των πληγών και την αγγειογένεση.[33]

Μερικές από τις ουσίες που αποθηκεύονται στα α-κοκκία καθοριστικές για την λειτουργία του πηκτικού μηχανισμού, είναι το ινωδογόνο, ο παράγων vWillebrand, οι παράγοντες VIII, XI, XIII, η θρομβίνη, η φιβρονεκτίνη. Πέρα από την αποθηκευτική τους ικανότητα, στο κυτταρόπλασμα των αιμοπεταλίων παράγονται και ουσίες όπως ο αιμοπεταλιακός παράγοντας 4 (PF4), η πρωτεΐνη S, αγγειογόνοι παράγοντες.[34, 35] (Εικ.6)



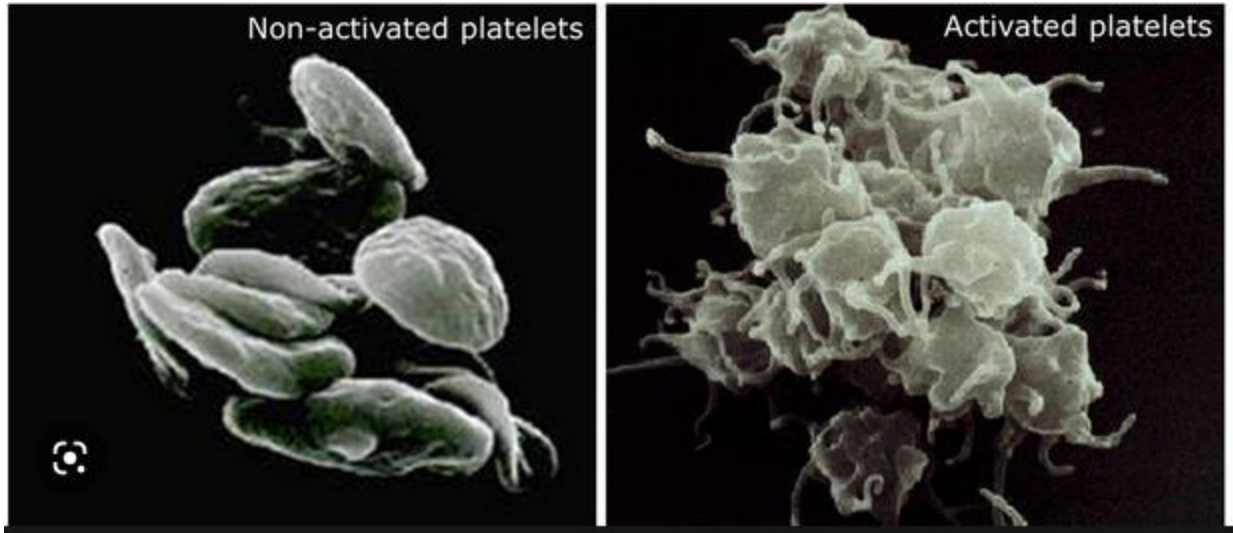
Εικ.6. [33] Κοκκία αιμοπεταλίων:Λειτουργίες περιεχομένων ουσιών. Τα κοκκία α περιέχουν πάνω από 300 διαφορετικές πρωτείνες που ενέχονται σε λειτουργίες όπως προσκόλληση αιμοπεταλίων, πήξη, επούλωση τραυμάτων, φλεγμονώδης διεργασία, αγγειογένεση. vWF: vonWillebrandfactor, GPIbIXV: Platelet glucoprotein Ib-IX-V, αIIβ3: platelet integrin αIIbβ3, GPVI: platelet glucoprotein VI, CXCL4: chemokines platelet factor 4, TGF-β: transforming growth factor-β, HGF: hepatocyte growth factor, PDWHF: Platelet derived wound healing factors, VEGF: Vascular endothelial growth factor, ADP: Adenosine diphosphate, ATP: Adenosine triphosphate

Τα αιμοπετάλια κυκλοφορούν σε ανενεργό μορφή, και υπό φυσιολογικές συνθήκες αποτρέπεται η ενεργοποίησή τους, μέσω ανασταλτικών ουσιών που παράγονται από το ενδοθήλιο των αγγείων (αναστολείς αιμοπεταλίων, αναστολείς πήξης και ενεργοποιητές ινωδόλυσης), όπως η προστακυκλίνη και το μονοξειδίο του αζώτου.[36]

Ενεργοποιούνται όταν το αίμα ερχεται σε επαφή με το κολλαγόνο, στο εκτεθειμένο υπενδοθήλιο, σε περίπτωση κάκωσης του αγγείου, από αλλαγή στη ροή του αίματος (αρτηριοσκληρυνση, διαμητική τάση), από χυμικούς διεγέρτες.[37]

Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο τραυματισμένο ενδοθήλιο γίνεται με την μεσολάβηση του παράγοντα vWillebrand. Ο vWF απελευθερώνεται από τα κυτταροπλασματικά σωματίδια Weibel-Palade των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώνεται με τις εκτεθειμένες ίνες κολλαγόνου και λειτουργεί ως γέφυρα για την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο σημείο της αγγειακής βλάβης, συνδεόμενος με τον υποδοχέα GPIIb/IX/V των αιμοπεταλίων. Άλλοι διαμεμβρανικοί υποδοχείς μέσω των οποίων συνδέονται τα αιμοπετάλια άμεσα με το κολλαγόνο είναι ο GPVI και η integrin  $\alpha 2\beta 1$ .

Η σύνδεση των αιμοπεταλίων με το κολλαγόνο οδηγεί στην εναρξη ενδοκυττάριας σηματοδότησης και την ενεργοποίησή τους. [38] Τα αιμοπετάλια αλλάζουν σχήμα, με τη συστολή της ακτινομοσίνης του κυτταροσκελετού, προσεκβάλλουν ψευδοπόδια εξωτερικεύεται η αρνητικά φορτισμένη φωσφατιδυλσερίνη στην επιφάνεια και από τα κοκκία του κυτταροπλάματος απελευθερώνονται σημαντικές για την αιμόσταση και πήξη ουσίες.



Εικ. 7. Αιμοπετάλια σε ηρεμία και μετά ενεργοποίηση με την προσεκβολή των ψευδοποδίων  
(Donor platelet activation varies by time of day-Hematology-labmedica.com  
(Photo courtesy of Canadian Blood Services)

Η απελευθέρωση της έκκρισης του περιεχομένου των κοκκίων προκαλεί την ενεργοποίηση των παρακείμενων αιμοπεταλίων, λειτουργία πολύ σημαντική για την επίτευξη της συσσώρευσης τους. Με την ενεργοποίηση, παράλληλα, στο κυτταρόπλασμα από το αραχιδονικό οξύ συντίθεται θρομβοξάνη με την μεσολάβηση της κυκλοοξυγενάσης - 1(COX-1).[39]

Τα  $\alpha$ -κοκκία απελευθερώνουν vWF, ο οποίος ενισχύει την περαιτέρω συσσώρευση αιμοπεταλίων και παράγοντες πήξης, όπως ινωδογόνο, FV, FVIII, P-selectin (εκφράζεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων μετά την ενεργοποίηση).

Από τα πυκνά κοκκία εκλύονται αγωνιστές των αιμοπεταλίων, όπως η σεροτονίνη και ADP. Η ADP με την θρομβοξάνη και την θρομβίνη ενισχύουν την ενεργοποίηση και συσσώρευση περισσότερων παρακείμενων αιμοπεταλίων.

Κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, οι ιντεγκρίνες, υποδοχείς που βρίσκονται σε ανενεργή μορφή στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, μεταπίπτουν σε ενεργή, με κύρια την  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ (GPIIb/IIIa). Η ενεργοποίησή της γίνεται μέσω της σύνδεσης ADP με τους υποδοχείς P2Y1 και P2Y12 στην μεμβράνη των αιμοπεταλίων. Η  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ (GPIIb/IIIa) ενώνεται με το ινωδογόνο, τον vWF, την φμπρονεκτίνη και βιτρονεκτίνη, δημιουργώντας σταθερή σύνδεση ανάμεσα στα αιμοπετάλια. Η  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  με την θρομβοξάνη, την ADP,

τη σεροτονίνη μεσολαβούν για την προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Η σημασία της αIIβ3 για την σταθερότητα της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης είναι προφανής στην θρομβασθένεια Glanzmann που χαρακτηρίζεται από διαταραχή στη λειτουργία της και προκαλεί αιμορραγικές εκδηλώσεις ποικίλης βαρύτητας.[37][40]

Το ινωδογόνο είναι η κύρια προσκολλητική ουσία των αιμοπεταλίων. Ο υποδοχέας του (GPIIb/IIIa), βρίσκεται σε αφθονία στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, και παίζει τον σπουδαιότερο ρόλο στην συσσώρευση.[17]

Η αγγειοσύσπαση, η προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων, οδηγούν στον σχηματισμό του πρωτογενούς αιμοπεταλιακού θρόμβου, με τον οποίο επιτυγχάνεται άμεσα η επίσχεση της αιμορραγίας και αν το τραύμα είναι μικρό, είναι επαρκής.

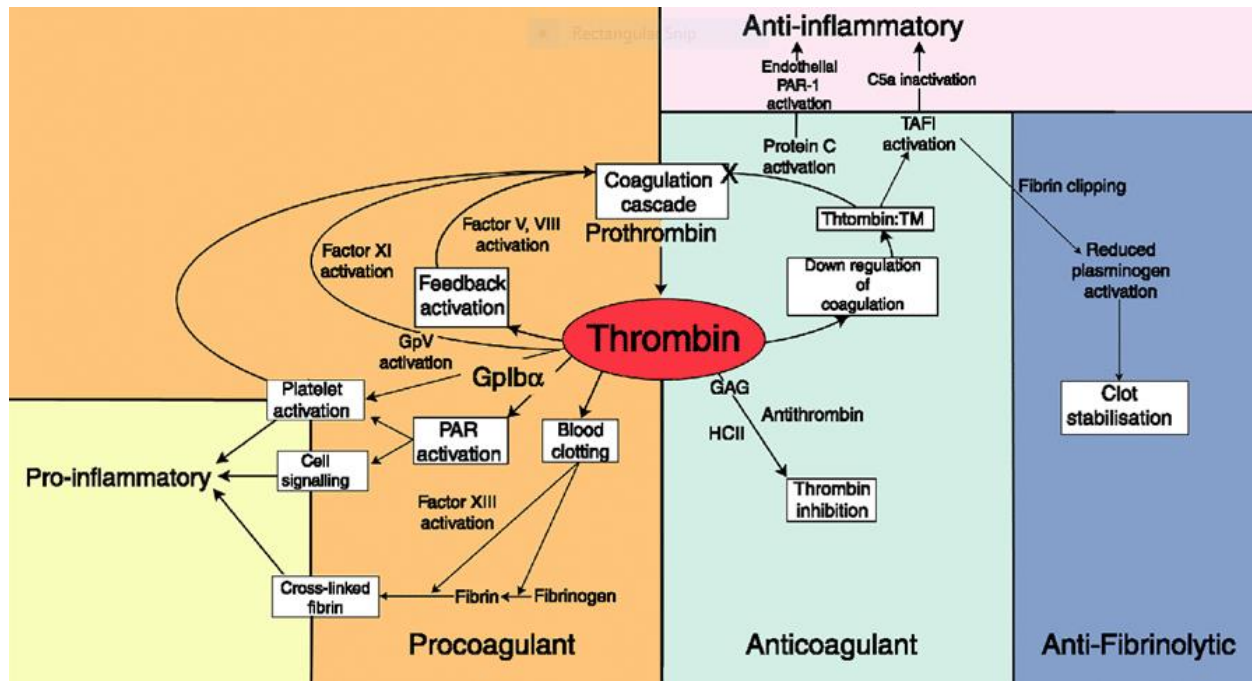
(Εικ.9 A). [41, 42]

Η ενίσχυση του ασταθούς αιμοπεταλιακού θρόμβου με πλέγμα ινικής και η μετατροπή σε σταθερό αιμοστατικό θρόμβο επιτυγχάνεται με την ολοκλήρωση της πήξης με την δευτερογενή αιμόσταση.(Εικ.9 B)

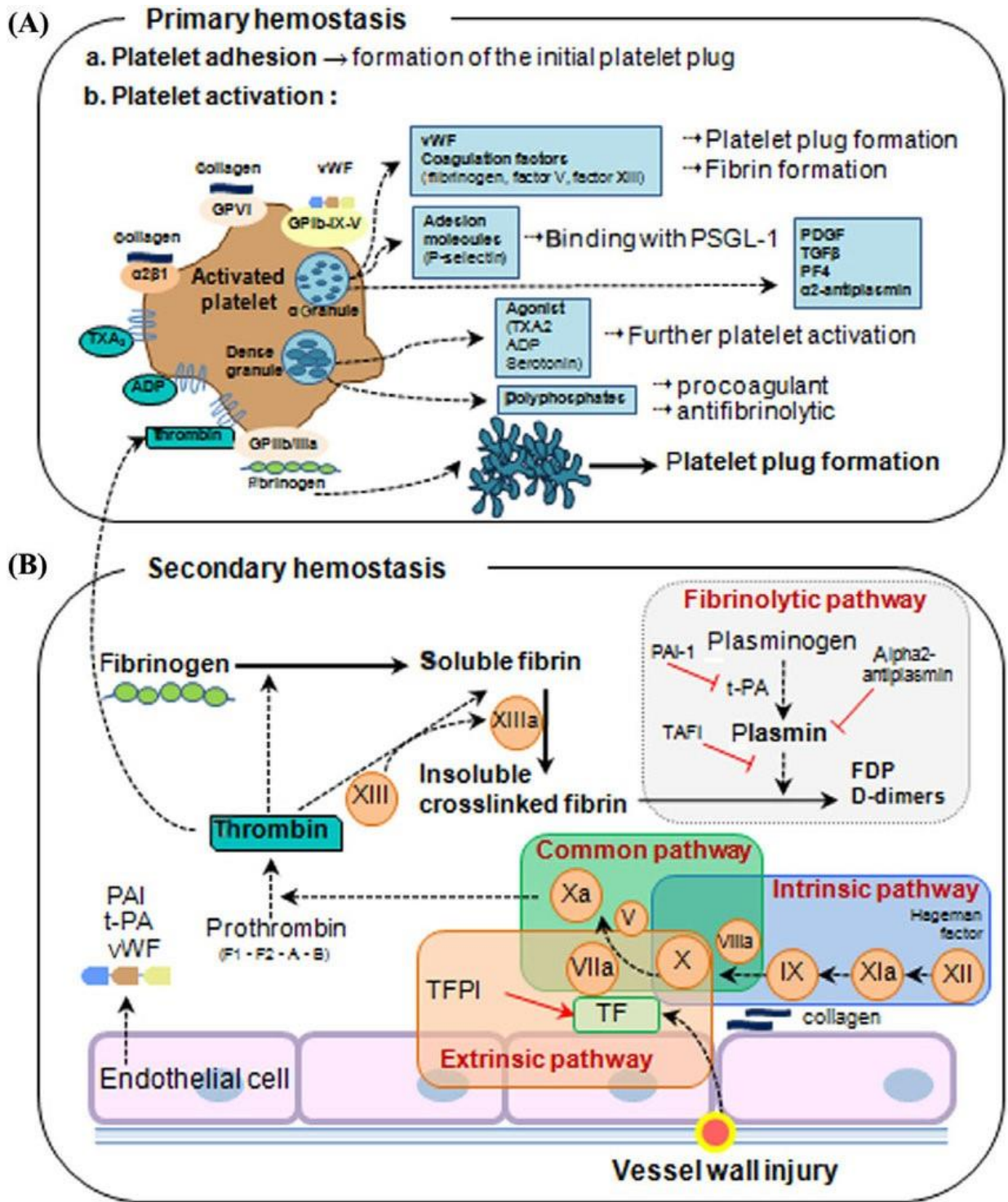
Ο δευτερογενής αυτός μηχανισμός της αιμόστασης που συμπληρώνει αποτελεσματικά την δράση των αιμοπεταλίων στην επίσχεση της αιμορραγίας, και είναι απαραίτητος στα μεγαλύτερης έκτασης τραύματα, πυροδοτείται παράλληλα με την αρχική αιμόσταση αποτελείται από ένα σύνολο διαδοχικών αντιδράσεων για τη δημιουργία θρομβίνης η οποία μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες και σχηματίζεται το πλέγμα ινικής.

Σύμφωνα με την τρέχουσα άποψη, με την πυροδότηση και του 2ου σταδίου της αιμόστασης, που ήδη είχε αρχίσει νωρίτερα με την δραστηριοποίηση του ιστικού παράγοντα (TF) και απελευθέρωση παραγόντων πήξης κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, ενισχύεται η παραγωγή θρομβίνης που αρχικά παράγεται σε μικρές ποσότητες τοπικά. Η θρομβίνη που είναι πολύ ισχυρός διεγέρτης των αιμοπεταλίων [37] αποτελεί το κεντρικό ένζυμο της πήξης με πολυεπίπεδη δράση, εμπλεκόμενη στην πυροδότηση και επέκταση της πηκτικής διαδικασίας, στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, στην μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες και σε επιπλέον διαδικασίες που επηρεάζουν την ινωδόλυση και φλεγμονή (Εικ.8). [14]

Τα συστήματα της πήξης και της ινωδόλυσης αλληλοεπιδρούν με μηχανισμούς που εξασφαλίζουν την αιμοστατική ισορροπία.



Εικ.8. [43] Ο σύνθετος ρόλος της θρομβίνης: προπηκτικός, αντιπηκτικός, αντινωδολυτικός και προ/αντι-φλεγμονώδης παράγων PAR:protease activated receptor, TAFI :Thrombin activated fibrinolysis inhibitor, HCII:Heparin cofactor II, GAG:Glycosaminoglycans, TM:Thrombomodulin, GpV:Glycoprotein V



Εικ. 9[44]: Σχηματική απεικόνιση μηχανισμών αιμόστασης (Α): Πρωτογενής αιμόσταση (Β): Δευτερογενής αιμόσταση, Ινωδύλωση (Α)- vWF: vonWillebrand factor, GPIb-IX-V: υποδοχέας VwF, GPVI: υποδοχέας σύνδεσης κολλαγόνου, TXA<sub>2</sub>: θρομβοξάνη Α<sub>2</sub>, PSGL-1: p-selectin glucoprotein ligand, PDGF: platelet derived growth factor, TGF-β: transforming growth factor β, PF4: platelet factor 4 (Β)- t-PA: tissue plasminogen activator, PAI-1: plasminogen activator inhibitor 1, TAFI: thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, FDP: fibrin degradation products, TFPI: tissue factor pathway inhibitor, TF: tissue factor



### 1.3. Δευτερογενής αιμόσταση-Πήξη

Η μόνιμη επίσχεση της αιμορραγίας με τον σχηματισμό του αιμοστατικού θρόμβου επιτυγχάνεται με την πηκτική διαδικασία που καταλήγει στην παραγωγή θρομβίνης και τελικά τον σχηματισμό αδιάλυτου ινώδους. Σύμφωνα με το κλασσικό μοντέλο ερμηνείας της πήξης, το μοντέλο του “καταρράκτη” [45] [5], η διαδικασία εξελίσσεται μέσω μιας αλληλοδιάδοξης ενεργοποίησης πρωτεϊνών του πλάσματος, των παραγόντων πήξης, όπου ο ένας ενεργοποιεί τον επόμενο εν είδει domino έως τον σχηματισμό του θρόμβου. [45]

Οι παράγοντες πήξης κυκλοφορούν στο αίμα σαν ανενεργά προένζυμα (ζυμογόνα), που γίνονται βιολογικά δραστικοί με τη δράση άλλων ενζύμων, παρουσία  $Ca^{++}$ , μιας φωσφολιπιδικής επιφάνειας και κάποιου συμπαραγόντα. Οι παράγοντες της πήξης είναι γενικά πρωτεάσες της σερίνης, εκτός των παραγόντων V, VIII και του ιστικού παράγοντα που είναι γλυκοπρωτεΐνες και του παράγοντα XIII που είναι τρανσγλουταμινάση [46, 47].

Factor	Chromosome	Molecular weight	Plasma concentration (μg/ml)	Half-life (hours)	Minimal hemostatic level	Replacement therapy
I	4q26-q28	330 000	3000	120	0.5-1.0 g/l	FFP/cryoprecipitate Fibrinogen concentrate
II	11p11-q12	72 000	100	72	0.15-0.40 U/ml	FFP/PCC
V	1q21-q25	330 000	10	12-36	0.10-0.25 U/ml	FFP
VII	13q34	50 000	0.5	4-6	0.05-0.10 U/ml	FVII concentrate PCC/FFP
VIII	Xq28	330 000	0.1	12-15	0.30-0.50 U/ml	FVIIIc
IX	Xq27	56 000	5	18-30	0.20-0.50 U/ml	FIX concentrate PCC
X	13q34	58 800	10	65	0.10-0.20 U/ml	PCC/FFP
XI	4q32-q35	160 000	5	65	0.10-0.30 U/ml	FXI concentrate FFP
XIII	(a) 6p24p25 (b) 1q31-q32	320 000	60	72-240	0.10-0.50 U/ml	FXIII concentrate Cryoprecipitate FFP
vWF	12pter-p12	309 000	5-10	12	0.30-0.50 U/ml	FVIII-vWF-concentrate Cryoprecipitate

Εικ. 10. [48] Παράγοντες πήξεως, Ιδιότητες. Θεραπευτικά υποκατάστατα. FFP: πρόσφατα κατεψυγμένο πλάσμα, PCC: προθρομβινικό σύμπλεγμα, cryoprecipitate: κρυσταλλώδες, concentrate: συμπύκνωμα g/L: gram/liter, U/ml: units/milliliter, μg/ml: micrograms/milliliter

Οι περισσότεροι παράγονται στο ήπαρ, με εξαίρεση τον ιστικό παράγοντα και τον vWfF, που συντίθενται στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Οι παράγοντες πήξεως ταξινομούνται επίσης στις κάτωθι ομάδες [36]

### ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΕΩΣ

<u>ΟΜΑΔΑ ΙΝΩΔΟΓΟΝΟΥ</u>	<u>ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΟΙ ΑΠΟ ΒΙΤ.Κ</u>	<u>ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΑΦΗΣ</u>
ΙΝΩΔΟΓΟΝΟ	FII	FXI
FV	FVII	FXII
FVIII	FIX	HMWK
FXIII	FX	Prekallikrein

*HMWK: High molecular weight kininogen*

Το μοντέλο του «καταρράκτη» περιλαμβάνει την εξωγενή και την ενδογενή οδό, δύο ξεχωριστά μονοπάτια αλληλουχιών ενεργοποίησης των παραγόντων πήξης, με κοινή κατάληξη την ενεργοποίηση του παράγοντα X(FXa), που δρα καταλυτικά στην παραγωγή της θρομβίνης από την προθρομβίνη. Η θρομβίνη υδρολύει το μόριο του ινωδογόνου σε διαλυτά μονομερή ινικής, τα οποία πολυμερίζονται και σχηματίζουν μια γέλη όπου παγιδεύονται κύτταρα του αίματος. Η θρομβίνη ενεργοποιεί επίσης τον παράγοντα XIII, ο οποίος με πλαγιοτελικούς δεσμούς με τα πολυμερή ινικής δημιουργεί το αδιάλυτο δίκτυο σταθερού ινώδους.[49] Η συμμετοχή των αιμοπεταλίων στον αιμοστατικό θρόμβο προσδίδει ακόμη σταθερότερη δομή.

Η θρομβίνη αποτελεί παράγοντα «κλειδί» για την αιμόσταση, ενισχύοντας και προάγοντας την πήξη με την δράση της στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, των παραγόντων πήξης V, VIII, XI, XIII στην υδρόλυση του ινωδογόνου και στην σταθεροποίηση του θρόμβου με την ενεργοποίηση του TAFI (αναστολέας ινωδολύσης ενεργοποιημένος από τη θρομβίνη).

Παράλληλα ασκεί και ανασταλτική δράση μέσω:

1. της συμμετοχής της στο σύμπλεγμα θρομβίνης–πρωτεΐνης C-θρομβομοδουλίνης, που καταστέλλει την πηκτική δράση της θρομβίνης και

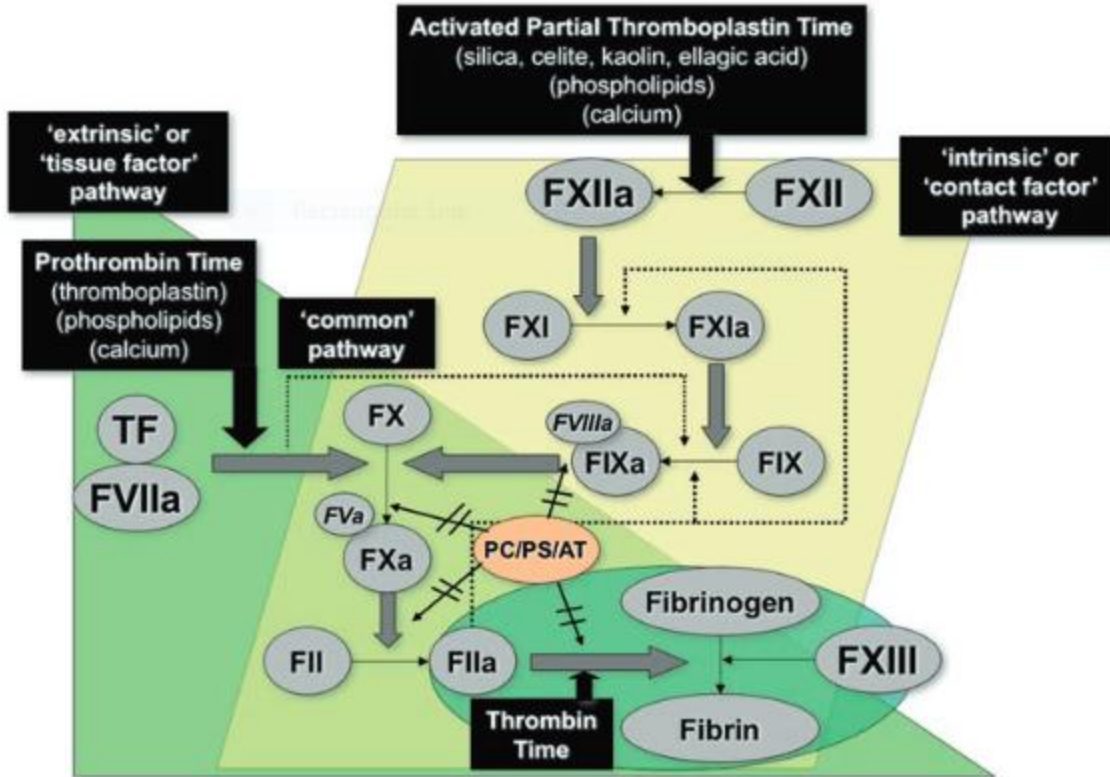
2. μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C, που διασπά με πρωτεόλυση τους παράγοντες πήξης VIIIa και Va.[50, 51]

Σύμφωνα με το μοντέλο του «καταρράκτη», η εξωγενής οδός ενεργοποιείται όταν ο ιστικός παράγων (TF -FIII ή ιστική θρομβοπλαστίνη), εκτίθεται στην κυκλοφορία, μετά από τραύμα στο αγγείο. Ο ιστικός παράγων δεν υπάρχει στο πλάσμα, αλλά εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τους ινοβλάστες και σε μικρή ποσότητα στα μονοκύτταρα. Εκτίθεται στο αίμα μετά από βλάβη στο ενδοθήλιο, όπως τραυματισμός στο αγγείο, έρχεται σε επαφή με τον παράγοντα VII και σχηματίζει ένα ενζυμικό σύμπλεγμα (TF/FVIIa), πυροδοτώντας την εκκίνηση του μηχανισμού της πήξης *in vivo*, και καταλήγοντας παρουσία  $Ca^{++}$  στην ενεργοποίηση του παράγοντα X. Η ενεργοποίηση μπορεί να συμβεί και μετά από διέγερση από διάφορους παράγοντες όπως η υποξία, φλεγμονώδης διεργασία, ενδοτοξίνες, κακοήθειες.[36]

Η ενδογενής οδός ενεργοποιείται με την επαφή του αίματος *in vivo* με μια αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια, όπως το υπενδοθηλιακό κολλαγόνο ή η μεμβράνη των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων ή *in vitro* με γυάλινη επιφάνεια. Η εκκίνηση γίνεται με ενεργοποίηση του FXII με συμπαραγοντες την προκαλλικρεΐνη, το κινινογόνο μεγάλου μοριακού βάρους (HMWK). Οι παράγοντες που συμμετέχουν στη συνέχεια είναι οι XI, IX, VII και ο X.

Στην κοινή οδό, όπου συγκλίνουν και τα δύο μονοπάτια, ενεργοποιείται ο παράγων X και με τον Va, φωσφολιπίδια και  $Ca^{++}$ , σχηματίζουν το σύμπλεγμα προθρομβινάσης που καταλύει την μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη, με τελικό σκοπό την σταθεροποίηση του ασταθούς ινώδους σε σταθερό θρόμβο.

Στην εικόνα κάτωθι απεικονίζεται η αλληλουχία των αντιδράσεων στον “καταρράκτη της πήξης” και η συσχέτισή τους με τις βασικές συμβατικές εργαστηριακές δοκιμασίες της αιμόστασης : Χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT), Χρόνος προθρομβίνης (PT/INR), Χρόνος θρομβίνης (TT) και η αντιστοίχισή τους με την εξωγενή, ενδογενή και κοινή οδό του “καταρράκτη” της πήξεως. [52]



Εικ. 11.[52]Καταρράκτης της πήξεως-TF:Tissue factor, PC:Protein C, PS:Protein S, AT:Antithrombin

Το μοντέλο του «καταρράκτη» της πήξης εξηγεί πώς ενεργοποιούνται και αντιδρούν βιοχημικά οι παράγοντες της πήξης, δεν ενσωματώνει ωστόσο τον κεντρικό ρόλο που διαδραματίζουν συγκεκριμένες κυτταρικές επιφάνειες στον μηχανισμό της αιμόστασης, έτσι ώστε δεν αντανακλά πλήρως τις αντιδράσεις της αιμόστασης in vivo. Επίσης δεν ερμηνεύει φαινόμενα όπως π.χ. οι σοβαρές αιμορραγίες που προκαλεί η έλλειψη των παραγόντων VIII και IX, παρά την ύπαρξη της εξωγενούς οδού, ή, γιατί η ανεπάρκεια των παραγόντων XII, HMWK δεν συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας παρά την παράταση του APTT, ούτε μπορεί να προβλέψει ποιοι ασθενείς είναι υψηλού κινδύνου για πρόκληση αιμορραγίας ή θρόμβωσης.[53]

Αν και το μοντέλο του «καταρράκτη» της πήξης, χρησιμοποιείται για διδακτικούς και πρακτικούς σκοπούς το μοντέλο εκείνο που σήμερα είναι ευρέως αποδεκτό είναι το κυτταρικό μοντέλο της πήξης.[7, 36]

Σύμφωνα με την αντίληψη αυτή του μηχανισμού της πήξης, η ενδογενής οδός δεν βαίνει παράλληλως και ανεξάρτητα με την εξωγενή, αλλά η διαδικασία της πήξης συντελείται σε 3 διαδοχικές αλληλοεπικαλυπτόμενες φάσεις: έναρξη, ενίσχυση, επέκταση.

Διαδραματίζεται πάνω σε ενεργοποιημένα αιμοπετάλια ή ενδοθηλιακά κύτταρα που έχουν υποστεί βλάβη και παίζουν ενεργό ρόλο στη ρύθμιση του μηχανισμού.

Η εκκίνηση της πήξης γίνεται στα κύτταρα που εκφράζουν τον ιστικό παράγοντα (TF) όταν προκαλείται έκθεσή του στην κυκλοφορία.

Όταν προκληθεί τραύμα ή βλάβη στο αγγειακό τοίχωμα, αποκαλύπτονται κύτταρα που φέρουν στην επιφάνεια τους τον ιστικό παράγοντα (ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες) ή όταν ενεργοποιηθούν μονοκύτταρα ή ενδοθηλιακά κύτταρα από τις κυτταροκίνες, όπως στη σήψη, εκλύεται ο ιστικός παράγων και γίνεται η εκκίνηση της πήξης .

Ο (TF) σχηματίζει σύμπλεγμα με τον FVII και ενεργοποιεί τους FIX και FX.

Ο ενεργοποιημένος Xa (FXa) παράγει ίχνη θρομβίνης.

Τα αιμοπετάλια προσφέρουν το υπόστρωμα για τις φάσεις της ενίσχυσης και της επέκτασης.

Κατά την ενίσχυση μικρή ποσότητα πηκτικών παραγόντων και αιμοπεταλίων ενεργοποιούνται, ενώ η επέκταση αποτελεί το τελικό στάδιο με την έκρηξη θρομβίνης στην φωσφολιπιδική επιφάνεια των πλήρως ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων

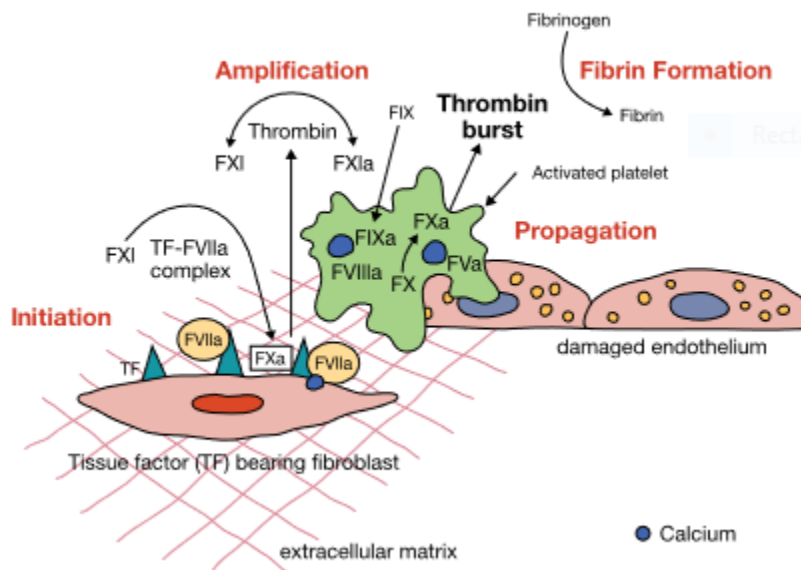
Οι μικρές ποσότητες της παραγόμενης θρομβίνης στην φάση της ενίσχυσης:

- 1) ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια μέσω των υποδοχέων platelet protease-activated receptors (κυρίως τους PAR 4) με αποτέλεσμα την έκφραση προπηκτικών φωσφολιπιδίων στην μεμβράνη των αιμοπεταλίων, αλλαγή του σχήματός τους και ενεργοποίηση των γλυκοπρωτεϊνικών υποδοχέων IIb/IIIa (προάγουν την συσσώρευση των αιμοπεταλίων μέσω γεφυρών ινωδογόνου), και απελευθέρωση του παράγοντα von Willebrand
- 2) προκαλούν έκλυση παράγοντα V από τα α-κοκκία των αιμοπεταλίων. Η θρομβίνη επίσης ενεργοποιεί τους παραγόντες VIII (αποσπώντας τον από τον vWF με τον οποίο κυκλοφορεί ως σύμπλεγμα), τον V και XI. Ο FXIa ενεργοποιεί τον FIX. Στη φάση αυτή ενισχύεται η παραγωγή θρομβίνης.

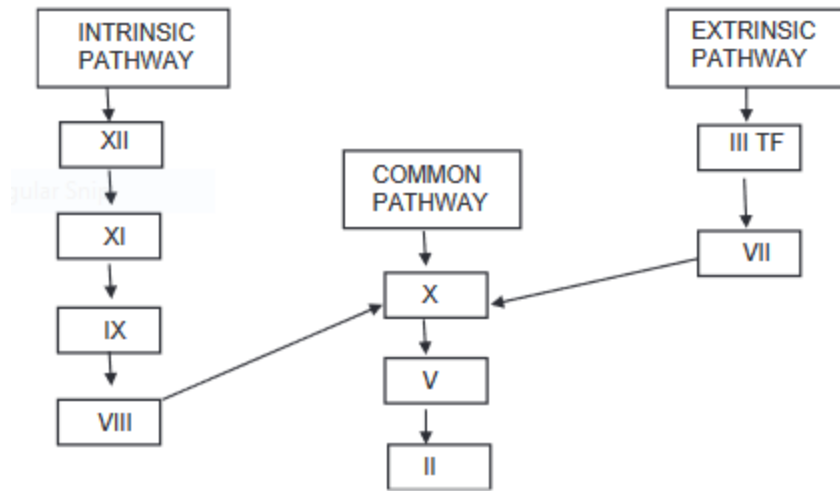
Στη φάση επέκτασης ο FVIIIa με τον FIXa σχηματίζουν σύμπλεγμα (ενδογενής τενάση) στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Το σύμπλεγμα αυτό (FVIIIa-FIXa) είναι ισχυρός ενεργοποιητής του FX (10 φορές ισχυρότερος από τον FIXa ). Ο FXa με τον συμπάραγοντα του FVa και ιόντα  $Ca^{++}$  σχηματίζουν το σύμπλεγμα προθρομβινάσης, που καταλύει την παραγωγή θρομβίνης από την προθρομβίνη και δημιουργεί μεγάλες ποσότητες θρομβίνης για την μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες.

Η θρομβίνη στη συνέχεια ενεργοποιεί περισσότερα αιμοπετάλια και τον παράγοντα XIII (παράγων σταθεροποίησης του ινώδους), ο οποίος συνδέει και σταθεροποιεί τα πολυμερή του ινώδους, και επιπλέον συγκρατεί ερυθρά αιμοσφαίρια σχηματίζοντας ένα σταθερό σύμπλεγμα με τον αιμοπεταλιακό θρόμβο, ινώδες και ερυθροκύτταρα.[46]

Στο κυτταρικό μοντέλο δεν περιλαμβάνονται οι παράγοντες του ενδογενούς συστήματος FXII, HMWK, Καλλικρεΐνη, οι οποίοι δεν φαίνεται να είναι απαραίτητοι στην αιμόσταση.



Εικ12 [46]Σχηματική απεικόνιση κυτταρικού μοντέλου πήξεως



A. Καταράκτης πήξεως

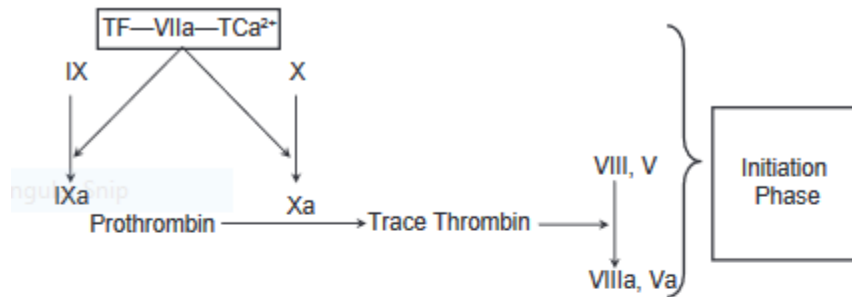
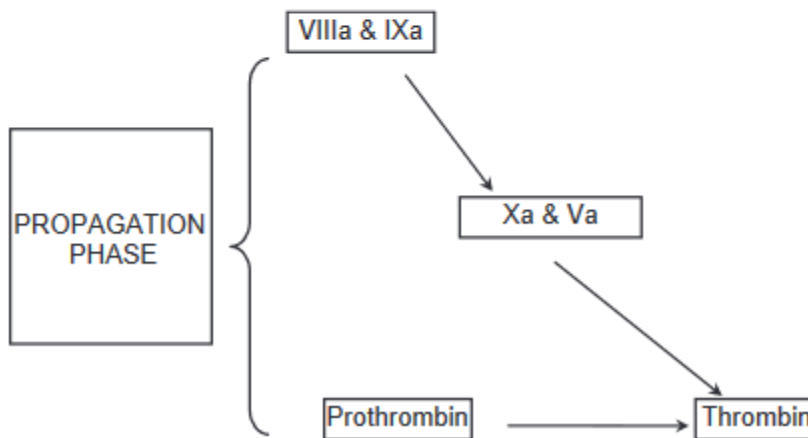
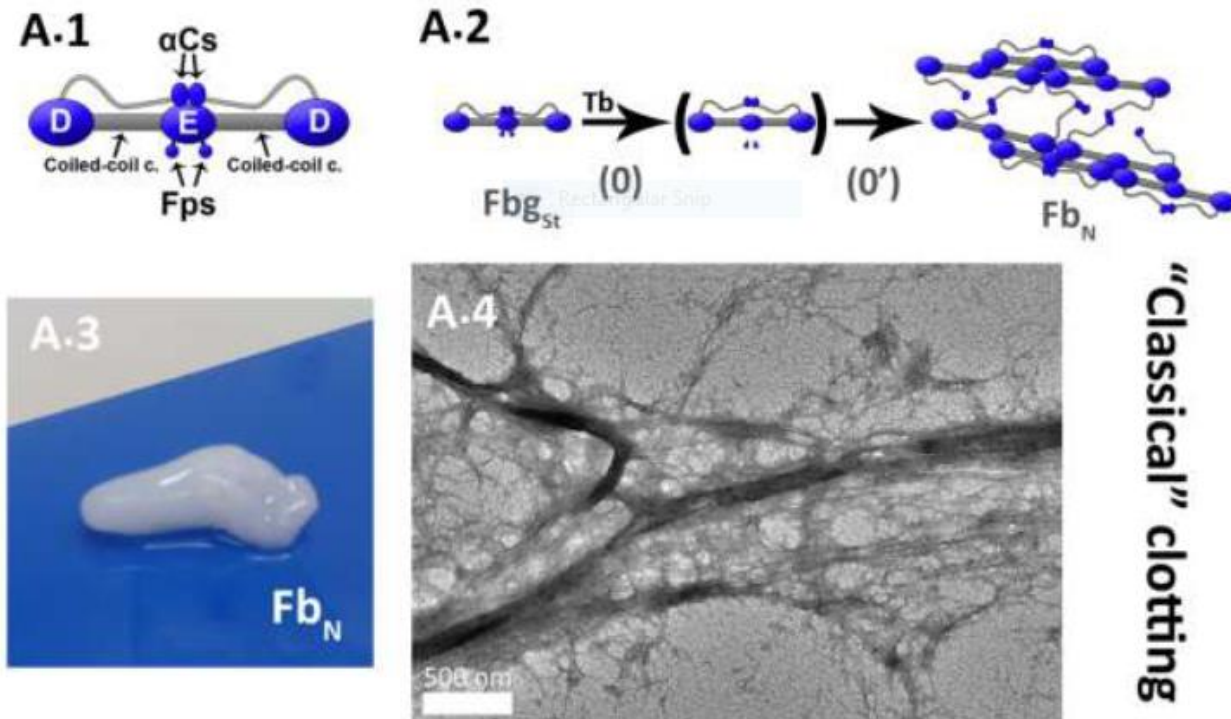


Figure 2: Current concept of coagulation (initiation phase)



B. Κυτταρικό μοντέλο πήξης

Εικ 13.[36].Μηχανισμός πήξης Σχηματική απεικόνιση των 2 μοντέλων



Εικ. 14.[54] A.1:Σχηματική δομή ινωδογόνου με τις Dπεριοχές στα άκρα και την E κεντρικά. Fps:Ινωδοπεπτιδία A, B A2: Tb:Θρομβίνη Fbg:Ινωδογόνο, δράση της θρομβίνης στο ινωδογόνο και απόσπαση των ινωδοπεπτιδίων, σχηματισμός μεμονωμένων κλώνων ινώδους και πολυμερή στον Fb<sub>N</sub>:θρόμβος ινώδους A3:θρόμβος ινώδους, A4:Θρόμβος ινώδους (Transmission electron microscopy)

### Αναστολείς της πήξης

Ο φυσιολογικός αιμοστατικός μηχανισμός περιλαμβάνει ανασταλτικούς παράγοντες που περιορίζουν το θρόμβο στο σημείο της βλάβης ώστε να αποτρέπεται η γενίκευση της διαδικασίας της πήξης. [55] [56]

Φυσικοί αναστολείς της πήξης είναι :

ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI), η αντιθρομβίνη (AT, ATIII) η πρωτεΐνη C (PC), η πρωτεΐνη S(PS), ο συμπαράγοντας II της ηπαρίνης(HCo FII), η θρομβομοδουλίνη. Οι φυσικοί ανασταλτές της πήξης αδρανοποιούν σε μεγάλο βαθμό τη θρομβίνη, ώστε να περιορίζεται ο σχηματισμός του ινώδους (θρόμβου).[57, 58]



Ο TFPI συντίθεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και αποθηκεύεται κυρίως στα αιμοπετάλια ενώ ένα μικρό ποσοστό κυκλοφορεί στο πλάσμα. Σχηματίζει τετραμερές σύμπλεγμα με τους ενεργοποιημένους παράγοντες FVIIa, FVa και TF και αναστέλλει την εξωγενή οδό.

Η AT μειώνει την δραστηριότητα και παραγωγή της θρομβίνης (αναστέλλει τους FIIa, FXa, FIXa, and FXIa).

Η δράση της AT ενισχύεται με την ηπαρίνη, και άλλες γλυκοζαμινογλυκάνες, γεγονός στο οποίο βασίζεται η θεραπευτική δράση της ηπαρίνης. Η σύνδεση ηπαρίνης-AT ενισχύει τη δράση της AT κατά 1000-10000 φορές. Ανεπάρκεια της AT συνεπάγεται αυξημένο κίνδυνο θρομβώσεων κυρίως του φλεβικού συστήματος.[59]. Δευτερογενής ανεπάρκεια παρατηρείται σε ηπατική ανεπάρκεια, νεφρωσικό σύνδρομο, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη.

Η πρωτεΐνη C και η S είναι γλυκοπρωτεΐνες που παράγονται στο ήπαρ παρουσία βιταμίνης K. Η ενεργοποίησή τους είναι σημαντική για την αναστολή των FVa και FVIIIa. Η πρωτεΐνη C ενεργοποιείται από τη θρομβίνη παρουσία θρομβομοδουλίνης, με συμπαράγοντα την πρωτεΐνη S που ενισχύει τη δράση της.

Η πρωτεΐνη S έχει και ανεξάρτητη δράση, αδρανοποιώντας το σύμπλεγμα της ενδογενούς οδού και της προθρομβινάσης.

Ανεπάρκεια των πρωτεϊνών C, S συνοδεύεται από θρομβοφιλική διάθεση.

Η θρομβομοδουλίνη είναι γλυκοπρωτεΐνη στην επιφανειακή στοιβάδα των ενδοθηλιακών κυττάρων στα περισσότερα φυσιολογικά αγγεία και συμμετέχει στην ρύθμιση της πήξης και της φλεγμονώδους αντίδρασης. Μία από τις κύριες λειτουργίες της είναι η σύνδεση της με τη θρομβίνη, η οποία χάνει την προπηκτική της ιδιότητα και αποκτά αντιπηκτική δράση. Το σύμπλεγμα θρομβίνη-θρομβομοδουλίνη ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C αδρανοποιεί τους FVa, FVIIIa και καταστέλλει την δημιουργία θρομβίνης, περιορίζοντας έτσι την ανεξέλεγκτη εξάπλωση της πήξης.[60]

Σχεδόν όλα τα αντιπηκτικά φάρμακα δρουν μέσω αναστολής του FXa ή της θρομβίνης.

## 1.4.Ινωδόλυση

Στην τελική φάση της αιμόστασης, ο θρόμβος που έχει σχηματιστεί για την επίσχεση της αιμορραγίας λύεται μέσω του ινωδολυτικού μηχανισμού και απομακρύνεται, ώστε να διατηρηθεί η βατότητα του αγγείου.

Το ινωδολυτικό σύστημα ενεργοποιείται παράλληλα με τον μηχανισμό της πήξης, αλλά ολοκληρώνεται αργότερα, σε 2-3 ημέρες. Η αποτελεσματικότητα της ινωδόλυσης επηρεάζεται από την δομή του θρόμβου, τις ισομορφές και τους πολυμορφισμούς του ινωδογόνου, τον ρυθμό παραγωγής της θρομβίνης και ρυθμίζεται από ένα σύνολο ενζυμικών αντιδράσεων με συμμετοχή πολλών ενεργοποιητών και αναστολέων, με τον κεντρικό ρόλο ωστόσο, να διαδραματίζουν το ινωδογόνο και το ένζυμο διάσπασης του ινώδους, η πλασμίνη.[58]

Η βαρύτητα της φυσιολογικής λειτουργίας της ινωδόλυσης αναδεικνύεται σε σπάνιες αιμορραγικές διαταραχές λόγω υπερινωδολυτικής δραστηριότητας, όπως η αιμοπεταλιακή διαταραχή Quebec, οι συγγενείς ανεπάρκειες της αντιπλασμίνης και του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου 1(PAI-1), ή σε επίκτητες υπερινωδολυτικές καταστάσεις όπως στην διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, στους πολυτραυματίες, σε μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις, στην ηπατοπάθεια. Εκτός της φυσιολογικής δράσης των παραγόντων του ινωδολυτικού συστήματος στην ενδαγγειακή λύση των θρόμβων, συμμετέχουν σε πολλές φυσιολογικές και παθολογικές διαδικασίες άσχετες με την ινωδολυτική δραστηριότητα. [61, 62]

Η ενεργοποίηση της ινωδόλυσης αρχίζει στην περιοχή της βλάβης στο αγγείο με την απελευθέρωση των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου από το ενδοθήλιο.[36]

Το πλασμινογόνο ( Pg ) είναι γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται στο ήπαρ και είναι ανενεργό, έως ότου με την επίδραση των ενεργοποιητών του μετατραπεί σε πλασμίνη. Κατά την διάρκεια της πήξης μεγάλες ποσότητες του ενσωματώνονται μέσα στο θρόμβο.

Κύριοι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου είναι ο ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου (t-PA) και η ουροκινάση (uPA).

Ο t-PA είναι πρωτεΐνωση της οικογένειας των σερινών που παράγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, και εκλύεται σε τραυματισμό του ενδοθηλίου.

Άλλοι εκλυτικοί παράγοντες για την παραγωγή του είναι το στρες, η υποξία, η άσκηση η θρομβίνη. Η δράση του εκδηλώνεται στην περιοχή του θρόμβου με την παρουσία του ινώδους, όπου με τη δημιουργία των συμπλεγμάτων t-PA- P<sub>g</sub>- fibrin, η δράστικότητα του αυξάνεται περίπου 1000 φορές.

Η uPA είναι πολυπεπτιδίο παραγόμενο στους νεφρούς, και σε άλλα κύτταρα όπως τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα. Η δράση της για την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου γίνεται ανεξάρτητα από την παρουσία του ινώδους και είναι ηπιώτερη.

Ο χρόνος ημιζωής και των δύο αυτών ενεργοποιητών στο πλάσμα είναι μικρός (3-8min), λόγω της παρουσίας ειδικών αναστολέων του ινωδολυτικού μηχανισμού, όπως ο plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1).

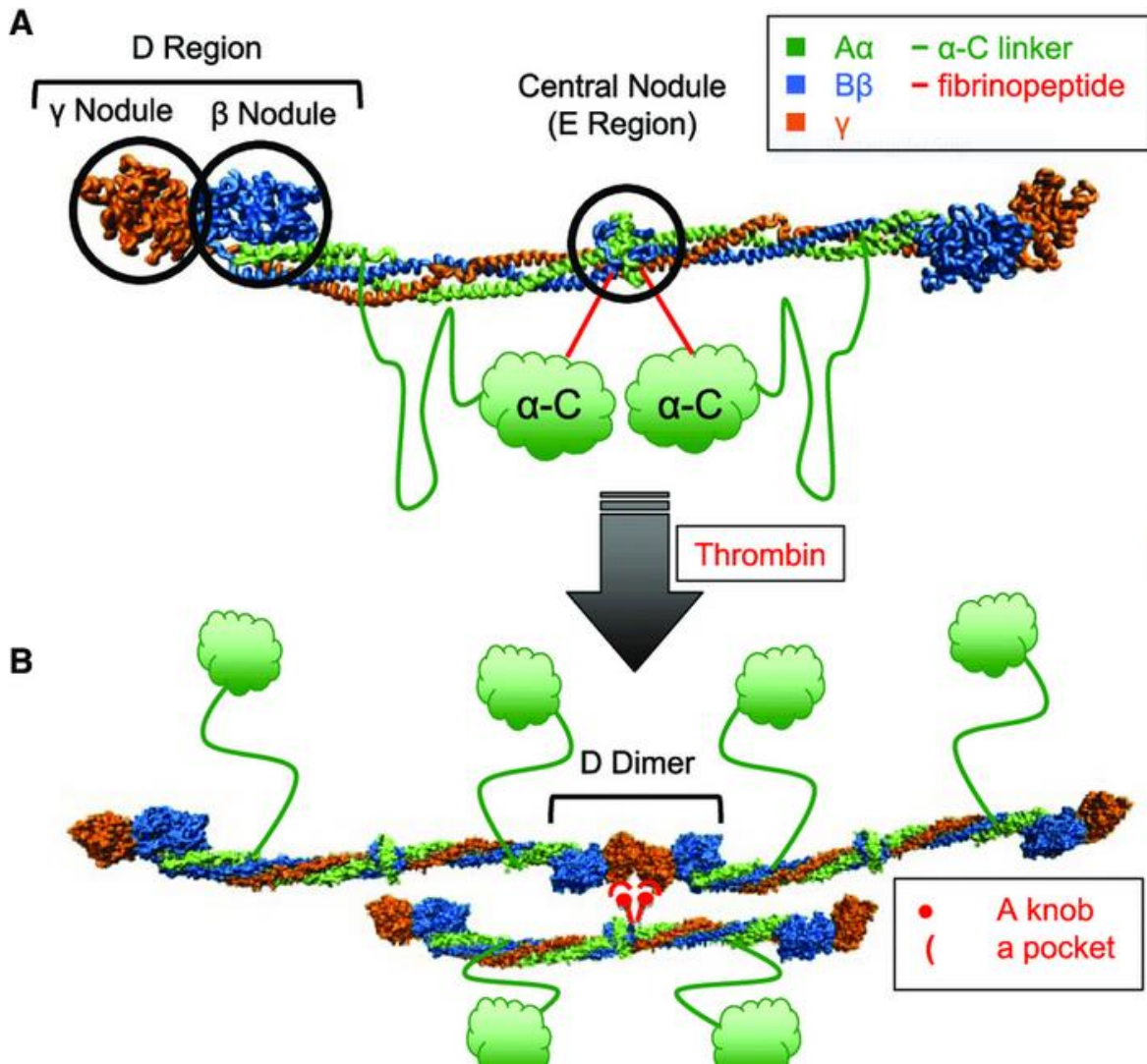
Άλλες κατηγορίες ενεργοποιητών είναι οι βακτηριακοί με κύριους εκπροσώπους την στρεπτοκινάση, και την σταφυλοκινάση και οι πλασματικοί όπως οι παράγοντες XI XII, HMWK, και η καλλικρεΐνη, που δρουν κυρίως με την ενεργοποίηση της ουροκινάσης.

Οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου χρησιμοποιούνται θεραπευτικά σε ασθενείς με θρόμβωση και θρομβωτικές επιπλοκές. [63]

Κεντρικό ένζυμο της ινωδολύσης είναι η πλασμίνη η οποία ενεργοποιείται από το πλασμινογόνο και αποδομεί το ινώδες αλλά και το ινωδογόνο σε προϊόντα διάσπασης, τα προϊόντα αποδομής ινώδους και ινωδογόνου (F/FDPs-fibrin/fibrinogen degradation products) .

*Το ινωδογόνο:* είναι μεγάλου μοριακού βάρους πρωτεΐνη που παράγεται στο ήπαρ. Αποτελείται από 3 ζεύγη πολυπεπτιδικών αλυσίδων (Α<sub>α</sub>, Β<sub>β</sub>, γ) που συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς. Τα αμινικά άκρα των α και β αλυσίδων καταλήγουν στα πεπτιδία Α και Β, τα οποία απελευθερώνει η θρομβίνη, και το εναπομένον μόριο πολυμερίζεται σε ινώδες.

Στο μόριο του ινωδογόνου υπάρχουν οι περιοχές E, D, C. Η E είναι κεντρική και εκατέρωθεν της στα άκρα του μορίου εντοπίζονται οι περιοχές D. Η πλασμίνη με τη διάσπαση του ινωδογόνου (ινωδογονόλυση) προκαλεί διάσπαση των δεσμών D-E-D δημιουργώντας μονομερή D, E.



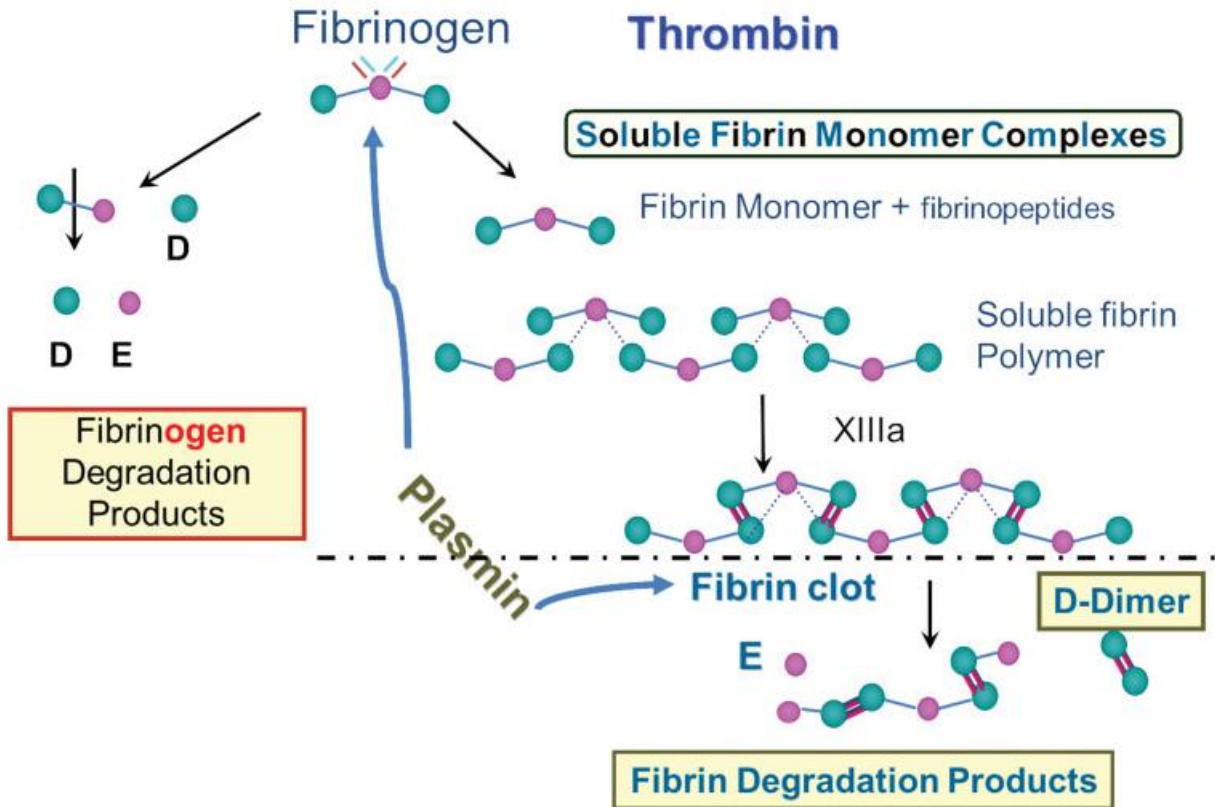
Εικ.15. [64].Μοριακή δομή Α.Ινωδογόνου Β.Ινώδους

Η αποδόμηση του ινώδους θρόμβου με τη δράση της πλασμίνης δημιουργεί τα διμερή θραύσματα, D- D-διμερή (D-dimers) και E μονομερή (Εικ.16).

Η ανίχνευση των D-dimers χρησιμοποιείται για την διαγνωστική προσέγγιση καταστάσεων σχετικών με την θρόμβωση αλλά και την θρομβόλυση.

Αυξημένες τιμές στο πλάσμα βρίσκονται στη Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, σε πνευμονική εμβολή, σε εν τω βάθει φλεβικές θρομβώσεις, έμφραγμα του μυοκαρδίου, μετά από χειρουργικές επεμβάσεις, στην προεκλαμψία, σε κακοήθειες κ.α.

Στην κλινική πράξη χρησιμοποιούνται στην διάγνωση της Δ.Ε.Π. και της πνευμονικής εμβολής και εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα. [65]



Εικ. 16 [66] Σχηματισμός προϊόντων αποδομής του ινωδογόνου και ινώδους.

### Αναστολείς του ινωδολυτικού μηχανισμού

Η ρύθμιση της δράσης του πλασμινογόνου και της πλασμίνης και η αποφυγή της ανεξέλεγκτης δραστηριοποίησής τους πραγματοποιείται μέσω των αναστολέων του ινωδολυτικού μηχανισμού.[67]

Ανάλογα με τον μηχανισμό δράσης τους διακρίνονται στους αναστολείς του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου και της ουροκινάσης (PAI-1, PAI-2), αναστολείς της πλασμίνης (αντιπλασμίνες και μακροσφαιρίνες) και στο επίπεδο του θρόμβου, ο TAFI.

Η θρομβίνη δεν συντελεί μόνο στη δημιουργία του θρόμβου, αλλά και στην σταθεροποίηση του μέσω του TAFI, ο οποίος γίνεται ο μοριακός σύνδεσμος ανάμεσα στην πήξη και την ινωδόλυση.

Ο TAFI ενεργοποιείται από την θρομβίνη και θρομβομοδουλίνη, αποκόπτει τα C τελικά τμήματα του ινώδους, που είναι απαραίτητα για την ένωσή του με το πλασμινογόνο.

Ο PAI-1 είναι ο σημαντικότερος αναστολέας του t-PA και της ουροκινάσης. Ανήκει στην οικογένεια των σερπινών (serine protease inhibitor). Παράγεται στα αιμοπετάλια, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ήπαρ, λιποκύτταρα. Όταν δημιουργείται θρόμβος τα αιμοπετάλια απελευθερώνουν τον PAI-1, έτσι ο θρόμβος αποκτά αντίσταση στη λύση. Αυξηση του PAI-1 παρατηρείται σε έμφραγμα, θρομβωτικές καταστάσεις, κακοήθη νοσήματα, σακχαρώδη διαβήτη.

Ο PAI-2 παράγεται κυρίως στον πλακούντα και αδρανοποιεί την ουροκινάση. Ανιχνεύεται στο πλάσμα μόνο κατά την περίοδο της κύησης, φθάνοντας την μέγιστη συγκέντρωση περί την 33<sup>η</sup> εβδομάδα. Ανιχνεύεται επίσης σε ασθενείς με μυελογενή λευχαιμία, και σε ασθενείς με σηψαιμία παράλληλα με αυξημένη συγκέντρωση και του PAI-1.

Κύριος αναστολέας της πλασμίνης είναι η α2 αντιπλασμίνη. Μείωση στην συγκέντρωση της αντιπλασμίνης παρατηρείται σε καταστάσεις που συνοδεύονται από υπερινωδόλυση, όπως το τραύμα, η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, η προμυελοκυτταρική λευχαιμία. Στις φυσικές αντιπλασμίνες ανήκουν και η α1 αντιθρυψίνη και η α2 μακροσφαιρίνη.[68]

## 2.ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ

Ο μηχανισμός της αιμόστασης είναι φυσιολογικός αμυντικός μηχανισμός του οργανισμού, που υπό φυσιολογικές συνθήκες επιτυγχάνει την αιμοστατική ισορροπία. [69] με την αλληλεπίδραση προπηκτικών, αντιπηκτικών, ινωδολυτικών παραγόντων και των αναστολέων τους. Οποιαδήποτε εκτροπή του μηχανισμού εκφράζεται με κλινικοεργαστηριακές διαταραχές. Η ανεπάρκεια των παραγόντων πήξης, ή η αυξημένη δραστηριότητα του ινωδολυτικού συστήματος συνεπάγονται αιμορραγικές εκδηλώσεις, ενώ αυξημένη δραστηριότητα του πηκτικού μηχανισμού, ή ανεπάρκεια των αναστολέων της αιμόστασης προκαλεί θρόμβωση. [70]

Ο εργαστηριακός έλεγχος της αιμόστασης έχει ιδιαιτερότητες, όπως η χρήση σωληναρίων με αντιπηκτικό για την τοποθέτηση του δείγματος (για τις δοκιμασίες ελέγχου των αιμοπεταλίων, πήξης ή ινωδόλυσης), ή η επίτευξη διαγνωστικού αποτελέσματος με συνδυαστική ερμηνεία διαφόρων δοκιμασιών. Επιπλέον τα δείγματα αίματος για τον αιμοστατικό έλεγχο είναι πολύ ευαίσθητα σε προαναλυτικές μεταβλητές και σφάλματα. [71]

Οι in vivo προαναλυτικές μεταβλητές αφορούν σε παράγοντες όπως η λήψη φαρμάκων, υποκείμενα νοσήματα, έντονο στρες, παραμονή σε έντονο ψύχος, κάπνισμα, υπερκατανάλωση αλκοόλ και άλλες παραμέτρους που μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου και πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν και να δίνονται οι απαραίτητες οδηγίες πριν την αιμοληψία.

Οι in vitro προαναλυτικές μεταβλητές σχετίζονται με παράγοντες όπως η αιμοληψία, τα χρησιμοποιούμενα σωληνάρια, ο ενδεικνυόμενος τρόπος επεξεργασίας του δείγματος.

Το μέγεθος και το είδος της χρησιμοποιούμενης βελόνας επίσης μπορεί να επηρεάσουν το αποτέλεσμα. Βελόνες μεγαλύτερου εύρους από 16G ή πολύ μικρού εύρους, ή ηπαρινισμένες όπως γίνεται για τη λήψη αερίων αίματος, πρέπει να αποφεύγονται. Η δυσκολία στη φλεβοκέντηση μπορεί να ενεργοποιήσει την εξωγενή οδό της πήξης. Η παρατεταμένη περιδίεση επίσης μπορεί να ενεργοποιήσει την αιμόσταση και πρέπει να αποφεύγεται .

Τα σωληνάρια συλλογής των δειγμάτων συνήθως περιέχουν ως αντιπηκτικό ρυθμιστικό

διάλυμα Sodium citrate 3, 2% και πρέπει να γεμίζονται αυστηρά με την ενδεικνυόμενη ποσότητα, ώστε να διασφαλίζεται η αναλογία αίματος/αντιπηκτικού 9:1. Ανεπαρκής ποσότητα δείγματος δίνει αναξιόπιστα αποτελέσματα με παράταση των PT, APTT. Η αναλογία στη σχέση αίματος ασθενούς/αντιπηκτικό διαταράσσεται επίσης εάν ο ασθενής έχει πολυκυτταραιμία. Η σχετική μείωση του πλάσματος στο αίμα του ασθενούς, και κατά συνέπεια η σχετική αύξηση του αντιπηκτικού στο σωληνάριο επηρεάζουν το αποτέλεσμα, δίνοντας παρατεταμένους τους PT, APTT.[2]

Δείγματα αίματος αιμολυμένα, ικτερικά, λιπιδαιμικά είναι ακατάλληλα, γιατί επηρεάζονται τα φωτοοπτικά συστήματα των αναλυτών.

Τα δείγματα πρέπει να αναδεύονται ήπια, να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 18°-24°C και οι μετρήσεις να γίνονται σε σύντομο διάστημα. [72]

Ο FVII μπορεί να ενεργοποιηθεί μετά από παρατεταμένη παραμονή σε χαμηλή θερμοκρασία, προκαλώντας βράχυνση του PT. [73]

Οι βασικές εξετάσεις για τον έλεγχο της πρωτογενούς αιμόστασης περιλαμβάνουν τον προσδιορισμό του αριθμού και της λειτουργίας των αιμοπεταλίων, την μέτρηση του παράγοντα vWillebrand.

Η διερεύνηση της δευτερογενούς αιμόστασης περιλαμβάνει την μέτρηση των χρόνων πήξης:

PT (χρόνος προθρομβίνης), APTT (χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης) TT (χρόνος θρομβίνης), μέτρηση ινωδογόνου, την μέτρηση μεμονωμένων παραγόντων όπως FVIII FIV, vWillebrand, FXIII κ.α [74]

Διερεύνηση του ινωδολυτικού μηχανισμού: μέτρηση DDs, FDPs.

## 2.1. Έλεγχος πρωτογενούς αιμόστασης

Η μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων γίνεται στους αυτόματους αναλυτές, όπου προσδιορίζεται και ο μέσος όγκος των αιμοπεταλίων (MPV), το εύρος κατανομής τους (PDW), ο αιμοπεταλιοκρίτης (PCT), και τα κλάσματα άωρων αιμοπεταλίων (IPF).

Ο MPV εκφράζει το μέσο μέγεθος των αιμοπεταλίων, αντανακλά τον βαθμό παραγωγής



τους από τον μυελό ή την καταστροφή τους στην περιφέρεια. (τιμές αναφοράς 7.5-11.5fl). Η μέτρηση του PDW εκφράζει το ποσό της ανισοκυττάρωσης των αιμοπεταλίων. Ο PCT αποτελεί δείκτη της εκατοστιαίας αναλογίας αιμοπεταλίων ανά μονάδα όγκου αίματος. Τα κλάσματα άωρων αιμοπεταλίων αντικατοπτρίζουν τα νεαρά αιμοπετάλια (εύρος ΦΤ 1, 1%-6.1%). Αυξημένες τιμές IPF παρατηρούνται σε οξεία απώλεια αίματος ή περιφερική καταστροφή, ενώ μείωση των τιμών υποδηλώνει μειωμένη παραγωγή.

Ακριβής εκτίμηση του αριθμού των αιμοπεταλίων γίνεται σε επίχρισμα περιφερικού αίματος μαζί με μελέτη του μεγέθους τους, της παρουσίας σωρών, και αξιολόγηση και των λοιπών κυτταρικών στοιχείων του αίματος. Έτσι γίνεται ακριβέστερη μέτρηση των αιμοπεταλίων και αξιολογούνται οι περιπτώσεις “ψευδοθρομβοπενίας”.

Ο φυσιολογικός αριθμός αιμοπεταλίων δεν συνεπάγεται απαραίτητα την άρτια λειτουργικότητά τους.

Διαταραχές της προσκόλλησης προκαλούνται από ελλείψεις γλυκοπρωτεϊνών στην επιφάνεια τους ή το πλάσμα (έλλειψη της GpIb-IX-V (GpIb complex) στη θρομβοπάθεια Bernard Soulier), διαταραχή στη συσσώρευση προκαλεί η έλλειψη της γλυκοπρωτεΐνης GpIIb/IIIa στη θρομβασθένεια Glanzmann).

Ο έλεγχος της συσσώρευσης γίνεται σε ειδικούς αναλυτές που εντοπίζουν τα συσσωρευμένα αιμοπετάλια φωτομετρικά.

Η λειτουργία της προσκόλλησης ελέγχεται με την προσθήκη ριστοσετίνης, ουσίας που συνδέει τα αιμοπετάλια μέσω του παράγοντα vWillebrand. Αν υπάρχει δυσλειτουργία του παράγοντα vWF ή των υποδοχέων του, δεν προκαλείται συσσώρευση των αιμοπεταλίων παρουσία ριστοσετίνης.

Η διερεύνηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων αρχικά γίνεται με δοκιμασίες που ελέγχουν συνολικά την λειτουργικότητα (χρόνος ροής, PAF 100).

**Ο χρόνος ροής** (μέθοδος Ivy) ελέγχει την προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων (φ.Τ 2-10min) .Αποτελεί φθηνή μέθοδο in vivo ελέγχου της αιμόστασης, που για πολλά χρόνια έως και τις αρχές του 1990 αποτελούσε την μόνη δοκιμασία ελέγχου της λειτουργίας των αιμοπεταλίων. Διενεργείται ως ακολούθως: ασκείται πίεση 40mmHg στον βραχίονα του ασθενούς και γίνονται 3 τομές με ειδικό σκαριφιστήρα

βάθους περίπου 1mm σε μικρά τριχοειδή στην εσωτερική επιφάνεια του βραχίονα. Το αίμα αναρροφάται έως ότου σταματήσει η αιμορραγία. Ο χρόνος ισούται με το μέσο όρο των 3 χρόνων (1 για κάθε τομή). Δεν είναι ειδική εξέταση, η αύξησή του παρατηρείται σε ποιοτικές και ποσοτικές διαταραχές των αιμοπεταλίων, σε διαταραχή των πρωτεϊνών του πλάσματος που μετέχουν στην πρωτογενή αιμόσταση (παράγων vWillebrand), σε παθολογικό αγγειακό ενδοθήλιο. Το αποτέλεσμα επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως η εμπειρία του εξεταστή, η συνεργασία του ασθενή, η ηλικία, η κατάσταση του δέρματος και η θερμοκρασία, δεν αντανakλά απαραίτητα τον κίνδυνο ή τη σοβαρότητα της αιμορραγίας σε χειρουργική επέμβαση, η δε αξιολόγηση του αποτελέσματος είναι υποκειμενική [75], έτσι ώστε σήμερα η εφαρμογή του στην κλινική πράξη είναι περιορισμένη.

**To PFA 100 (Platelet function assay)** θεωρείται ότι υπερέχει του χρόνου ροής για την ανίχνευση των διαταραχών των αιμοπεταλίων, δεν επηρεάζεται από τους παράγοντες πήξης και διαταραχές του αγγειακού τοιχώματος, δεν απαιτείται ιδιαίτερη εμπειρία για την διενέργεια του, δεν απαιτεί πολύ χρόνο (μέγιστος χρόνος σύγκλισης 300sec), ενώ η μικρή απαιτούμενη ποσότητα ολικού αίματος (0,8 ml) το καθιστά χρήσιμο για την αξιολόγηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων σε παιδιά.

Η συσκευή PFA 100 μετράει τον χρόνο (Closure time-χρόνος κλεισίματος, CT <165 sec), που απαιτείται, τα αιμοπετάλια να σχηματίσουν αιμοπεταλιακή πλάκα και να φράξουν μικρή οπή στην επιφάνεια μεμβράνης επικαλυμμένης με κολλαγόνο και επινεφρίνη, ή κολλαγόνο και ADP (η μεμβράνη αναπαριστά το τραυματισμένο ενδοθήλιο), σε συνθήκες υψηλής διαμητικής τάσης.

Υπάρχουν παράγοντες που επηρεάζουν το αποτέλεσμα όπως οι τιμές Ht και PLT, η ομάδα αίματος (άτομα ομάδας O παρουσιάζουν παράταση του CT, λόγω των χαμηλότερων επιπέδων vWF που έχουν και δεδομένου ότι ο CT είναι αντιστρόφως ανάλογος των επιπέδων του Vwf στο πλάσμα), η ηλικία (στα νεογνά ο υψηλός Hct και τα υψηλού μοριακού βάρους πολυμερή του παράγοντα vWF, συντελούν στο μικρό CT), τροφές, φάρμακα κ.α [76]

### **Θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία (TEG/ROTEM)**

Δυο παρόμοιες μέθοδοι με τις οποίες σε δείγμα ολικού αίματος μελετώνται οι μεταβολές στην γλοιότητα και ελαστικότητα του αίματος κατά την διάρκεια της πήξης και τη δημιουργία του θρόμβου. Με τις μεθόδους αυτές καταγράφονται όλες οι φάσεις της αιμόστασης από την ενεργοποίηση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων, την δημιουργία, την σταθεροποίηση, τη συστολή και τη λύση του θρόμβου καθώς και την ινωδόλυση, αναπαριστώντας την διαδικασία της in vivo αιμόστασης. Είναι μέθοδος εφαρμοζόμενη παρά την κλίνη του ασθενούς (Point of care-POC), αναγνωρίζοντας έγκαιρα τον αιμορραγικό κίνδυνο και κατευθύνοντας την μεταγγισιοθεραπεία με το ενδεικνυόμενο παράγωγο αίματος, όπως πλάσμα (FFP) ή αιμοπετάλια (PLT). Επίσης εφαρμόζεται και στην διερεύνηση θρομβωτικών καταστάσεων.[77]

### **Οπτική συσσωματομετρία (Light Transmission Aggregometry – LTA)**

Η συσσωματομετρία των αιμοπεταλίων μετράει την αύξηση στην ένταση του διερχόμενου φωτός από ένα οπτικά πυκνό δείγμα πλάσματος πλούσιου σε αιμοπετάλια, που συμβαίνει όταν προκληθεί ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων με την δράση αγωνιστών των αιμοπεταλίων. Θεωρείται gold standard για τον έλεγχο της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων.

Γίνεται με τη χρήση φωτόμετρου, του συσσωματόμετρου (aggregometer), και η μέθοδος στηρίζεται στο ότι τα συσσωρευμένα αιμοπετάλια απορροφούν λιγότερο φως από το πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα (PRP), έτσι η μετάδοσή του αυξάνει και ανιχνεύεται από το οπτικό σύστημα της συσκευής. Απαιτεί εξειδικευμένο εργαστήριο και υπάρχουν κατευθυντήριες οδηγίες για τυποποίηση της μεθόδου.

**Κυτταρομετρία ροής** :Δίνει τη δυνατότητα μελέτης διαφόρων αιμοπεταλιακών λειτουργιών σε απάντηση σε διάφορους αγωνιστές.Απαιτεί μικρό όγκο αίματος, οπότε μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε νεογνά, ενώ δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα και σε ασθενείς με θρομβοπενία. Εφαρμόζεται στην μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων, μελέτη της λειτουργίας και ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων με ταυτόχρονη αξιολόγηση μη ενεργοποιημένων και ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, στη μέτρηση ανοσοσφαιρινών που σχετίζονται με τα αιμοπετάλια, στη διάγνωση πρωτοπαθών θρομβοκυττοπαθειών. [78]

## 2.2. Έλεγχος εξωγενούς - ενδογενούς οδού πήξεως

### 2.2.α. Έλεγχος εξωγενούς - κοινής οδού πήξης

#### ΧΡΟΝΟΣ ΠΡΟΘΡΟΜΒΙΝΗΣ (PT-PROTHROMBIN TIME)

Ελέγχονται οι παράγοντες VII (εξωγενής οδός), II, V, X (κοινή οδός), IX (ενδογενής οδός) (φ.τ.12-13sec).

Εκφράζει τον χρόνο που χρειάζεται για να δημιουργηθεί πήγμα στο πλάσμα μετά την προσθήκη ιστικής θρομβοπλαστικής και ιόντων  $Ca^{++}$

Παράταση του PT οφείλεται σε :ανεπάρκεια του FVII, λήψη κουμαρινικών αντιπηκτικών, έλλειψη των παραγόντων II, V, X, έλλειψη βιταμίνης K (βιταμινοεξαρτώμενοι από την K οι παράγοντες II, VII, IX, X (πρώτα αναστέλλεται ο παράγων VII), ηπατοπάθεια, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη.

Η θρομβοπλαστική αποτελεί ιστικό εκχύλισμα εγκεφάλου κουνελιού, πνεύμονα ή πλακούντα και περιέχει ιστικό παράγοντα και φωσφολιπίδια. Η μεγάλη ανομοιογένεια στην δραστηριότητα των διαφόρων θρομβοπλαστινών που υπάρχουν στο εμπόριο, οδήγησε στην χρήση του INR (International Sensitivity Index) προκειμένου να εξαλείφονται οι ενδοεργαστηριακές διαφορές. Χρησιμοποιείται στον έλεγχο της θεραπευτικής δράσης των κουμαρινικών αντιπηκτικών.

### 2.2.β. Έλεγχος ενδογενούς-κοινής οδού πήξης

#### ΧΡΟΝΟΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΜΕΡΙΚΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΛΑΣΤΙΝΗΣ (a PTT )

Ελέγχονται οι παράγοντες VII, IX, XI, XII και οι II, V, X (της κοινής οδού) (Φ.Τ 24-34 sec)

Παρατείνεται σε: έλλειψη παραγόντων ενδογενούς οδού, έλλειψη FVIII (αιμορροφιλία A), έλλειψη IX (αιμορροφιλία B), έλλειψη παράγοντα XI (αιμορροφιλία C), έλλειψη παραγόντων της κοινής οδού (II, V, X) (π.χ. ΔΕΠ), ύπαρξη αυτοαντισωμάτων έναντι του παράγοντα VIII, λήψη κλασικής ηπαρίνης.

#### ΧΡΟΝΟΣ ΘΡΟΜΒΙΝΗΣ

Μετρά τον απαιτούμενο χρόνο για να σχηματισθεί θρόμβος σε δείγμα αίματος με την προσθήκη θρομβίνης στο δείγμα.

Ελέγχει την μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες, ανιχνεύει την ύπαρξη FDPs, και ηπαρίνης. Χρησιμοποιείται στην εκτίμηση διαταραχών όπως η ΔΕΠ, νοσήματα ήπατος, χορήγηση ινωδολυτικής θεραπείας.

### **Μέτρηση ινωδογόνου**

Μέτρηση του ινωδογόνου (κατά Clauss) γίνεται στο πλάσμα με την βοήθεια διαλύματος θρομβίνης, (Φ.Τ.200-400mg/dl). Αύξηση του ινωδογόνου παρατηρείται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, κακοήθειες προθρομβωτικές καταστάσεις, στην κύηση. Ελάττωση του ινωδογόνου στο πλάσμα συμβαίνει, στην πρωτοπαθή ινωδογονόλυση, όταν απελευθερώνονται ενεργοποιητές του πλασμινογόνου, όπως σε κακοήθειες, αιμαγγειώματα, χρήση θρομβολυτικών φαρμάκων.

Στις περιπτώσεις αυτές δεν σχηματίζεται ινώδες, οπότε δεν ανιχνεύονται προϊόντα διάσπασης του ινώδους.

Ελάττωση του ινωδογόνου παρατηρείται επίσης σε καταστάσεις ενεργοποίησης του ινωδολυτικού συστήματος μετά από υπερλειτουργία του πηκτικού μηχανισμού, όπως στη ΔΕΠ (δευτεροπαθής ινωδογονόλυση)

Αρχικά σχηματίζονται θρόμβοι και με την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου διασπώνται το ινωδογόνο και το ινώδες και ανιχνεύονται τα προϊόντα αποδομής του ινωδογόνου και τα D-dimers.

Τα D-dimers αντανakλούν την ενεργοποίηση του ινωδολυτικού συστήματος. Στην κλινική πράξη χρησιμοποιούνται στην διάγνωση της ΔΕΠ, της πνευμονικής εμβολής και των εν τω βάθει θρομβώσεων.

Οι χρόνοι πήξης, το ινωδογόνο, και τα D-dimers, αποτελούν screening εξετάσεις για την πήξη.

Απαιτούνται περαιτέρω ελέγχοι που με βάση τα κλινικοεργαστηριακά δεδομένα θέτουν τη διάγνωση πρωτοπαθούς ή επίκτητης διαταραχής της αιμόστασης.

Η διαγνωστική προσέγγιση των αιμορραγικών ή θρομβωτικών διαταραχών απαιτεί τη σύνοψη λεπτομερούς ιστορικού, κλινικών ευρημάτων και εργαστηριακών δεδομένων.

Το ιστορικό θέτει τη βάση για τη σωστή διάγνωση καθώς σε πολλές περιπτώσεις προσανατολίζει στο αν πρόκειται περί κληρονομικής ή επίκτητης διαταραχής.

Στο αιμορραγικό ιστορικό σημειώνεται επίσης εάν η αιμορραγική διάθεση είναι

αυτόματη, προκλητή ή εύκολη, η ασυνήθιστα παρατεταμένη αιμορραγία μετά από τραύμα ή χειρουργική επέμβαση ή κατά την εμμηνορυσία, ιστορικό αιμορραγίας από διάφορα συστήματα, ιστορικό εγκεφαλικής αιμορραγίας, ιστορικό μεταγγίσεων με αίμα και παράγωγα. [79]

Ειδικότερα για τα νεογνά αιμορραγική εκδήλωση σε υγιές νεογνό μπορεί να σχετίζεται με κληρονομική διαταραχή της πήξης ή ανεπάρκεια ποσοτική πηκτικών παραγόντων, ενώ σε ένα πάσχον νεογνό, τελειόμηνο ή πρόωρο μπορεί να προκαλείται από επίκτητη διαταραχή, όπως η ΔΕΠ.

Στο αιμορραγικό ιστορικό στα νεογνά, ενδιαφέρει το μαιευτικό ιστορικό, οι επιπλοκές κατά τον τοκετό που ενδέχεται να ενεργοποιήσουν τον αιμοστατικό μηχανισμό στο έμβρυο, η λήψη φαρμάκων από την μητέρα που ανταγωνίζονται την βιταμίνη Κ και προκαλούν αιμορραγικά επεισόδια στο νεογνό. Μαιευτικά και περιγεννητικά συμβάματα που προκαλούν αιμορραγικές εκδηλώσεις στο νεογνό είναι προβλήματα όπως αποκόλληση πλακούντα, προδρομικός πλακούς, τραυματική διατομή του ομφαλίου λώρου, ιστορικό χοριοαμνιονίτιδας στη μητέρα, σύνδρομο HELLP, εμρυοεμβρυική μετάγγιση, εγκεφαλικές αιμορραγίες στο νεογνό, συγγενείς ή επίκτητες λοιμώξεις. [80]

Παρόλο που από την κλινική εικόνα δεν διακρίνεται πάντα σαφώς αν πρόκειται περί διαταραχής του πρωτογενούς ή δευτερογενούς μηχανισμού ειδικά για κάποιες καταστάσεις όπως η νόσος vonWillebrand, οι διαταραχές της πρωτογενούς αιμόστασης εκδηλώνονται συνήθως με πιο επιφανειακές αιμορραγίες (εκχυμώσεις, πετέχειες, αιμορραγίες από τους βλεννογόνους, ενώ εκείνες της δευτερογενούς αιμόστασης συσχετίζονται με εν τω βάθει αιμορραγικές εκδηλώσεις (αίμαρθρα, αιματώματα, εγκεφαλική αιμορραγία, αιμορραγία εσωτερικών οργάνων).

Η εργαστηριακή διερεύνηση των διαταραχών της αιμόστασης, θα πρέπει να γίνεται μεθοδικά ακολουθώντας ιεραρχικά τα εξής στάδια:

αρχικά: screening έλεγχος με προσδιορισμό PT, APTT, INR, ινωδογόνου, D-dimers, αριθμού αιμοπεταλίων.

Οι εξετάσεις της 2<sup>ης</sup> γραμμής είναι διαγνωστικές για το είδος της διαταραχής: δραστηριότητα πηκτικών παραγόντων, αναστολέων, έλεγχος για νόσο vWillebrand, μελέτη συσσώρευσης αιμοπεταλίων δοκιμασίες ανάμειξης, ενώ

ο περαιτέρω έλεγχος περιλαμβάνει βιοχημική ή μοριακή ανάλυση της βλάβης (προσδιορισμός της συγκέντρωσης των παραγόντων, κυτταρομετρία ροής, μοριακή ανάλυση για να προσδιοριστούν πολυμορφισμοί ή μεταλλάξεις στους παράγοντες πήξεως, στους συντελεστές της ινωδόλυσης ή στους υποδοχείς των αιμοπεταλίων).[81]

Σε συνάρτηση με την ιεραρχημένη εργαστηριακή προσέγγιση των διαταραχών της αιμόστασης υπάρχουν διαγνωστικοί αλγόριθμοι που κατευθύνουν την διαγνωστική προσέγγιση.[82]

### 3.Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΜΒΡΥΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ

Η αιμοστατική διαδικασία, αποτελεί ένα σύνθετο ομοιοστατικό μηχανισμό που ρυθμίζει τον σχηματισμό και τη λύση του θρόμβου ινικής· με την αλληλεπίδραση πηκτικών, αντιπηκτικών και ινωδολυτικών παραγόντων, προορισμένο να προστατεύει από την μεγάλη απώλεια αίματος σε περίπτωση τραυματισμού, να περιορίζει την επέκταση του θρόμβου πέραν του σημείου της βλάβης και εν τέλει να εξασφαλίζει την ομαλοποίηση του ενδοθελίου και την αποκατάσταση της βατότητας του αγγείου.[15]

Το αιμοστατικό σύστημα αποτρέπει τόσο την αιμορραγία, όσο και την θρόμβωση, με σύνθετους, αλλά εξισορροπητικούς μηχανισμούς, που υφίστανται ήδη από την νεογνική περίοδο, παρουσιάζουν ωστόσο διαφοροποιήσεις εξαρτώμενες από την ηλικία σε σχέση με τον ώριμο αιμοστατικό μηχανισμό του ενήλικα.[83, 84]

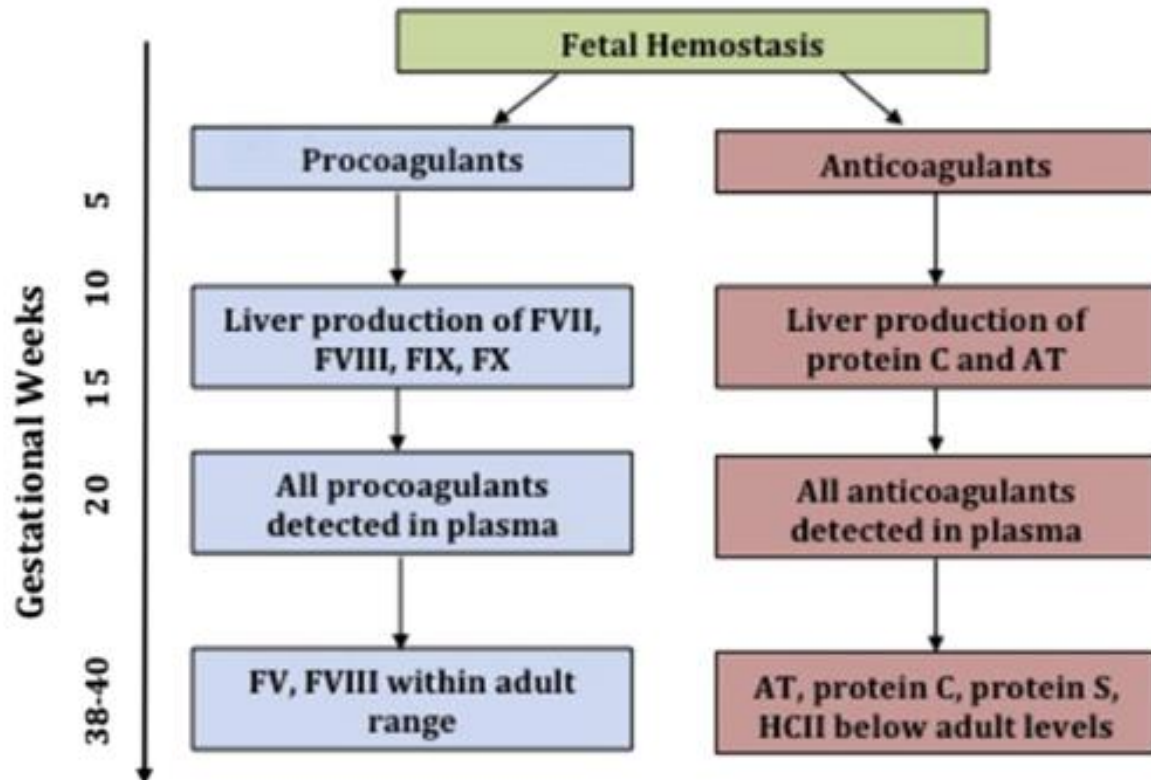
Το αιμοστατικό σύστημα παρουσιάζει διαφορές από το νεογνό στο παιδί και τον έφηβο έως τον ενήλικα, καθώς εξελίσσεται και ωριμάζει από την πρώιμη εμβρυική ζωή, ενδομήτρια, έως την ενηλικίωση, με επίκεντρο της εξέλιξης αυτής τους πρώτους μήνες της βρεφικής ηλικίας. Η Andrew M., την δεκαετία του 1980, καθιέρωσε τον όρο «developmental hemostasis» για την περιγραφή των αλλαγών στον πηκτικό μηχανισμό, καθώς εξελίσσεται προοδευτικά από την εμβρυική περίοδο έως την εφηβεία. [85] [86]

Οι παράγοντες πήξης της μητέρας δεν περνάνε τον πλακούντα [87] και η σύνθεση στο έμβρυο των πρωτεϊνών της πήξης αρχίζει στο ήπαρ από την 5<sup>η</sup> εμβρυική εβδομάδα [88], ενώ δυνατότητα πήξης του αίματός του παρατηρείται από την 11<sup>η</sup> εβδομάδα.[89] [90]

Στις 20 εβδομάδες κύησης οι παράγοντες πήξεως είναι μετρήσιμοι στο πλάσμα, αλλά σε πολύ χαμηλά επίπεδα. (Εικ.17)

Οι τιμές αναφοράς για τους παράγοντες πήξης μεταξύ 19-23 εβδομάδων, βρέθηκαν στο 10%-30% των τιμών αναφοράς του ενήλικα, ανάλογα με τον παράγοντα, με προοδευτική αύξηση έως 10%-50% των τιμών του ενήλικα στις 30-38 εβδομάδες κύησης, και με τα πρόωρα να έχουν ακόμη χαμηλότερα επίπεδα προπηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων από τα τελειόμηνα [91]





Εικ. 17 [92] Ανάπτυξη αιμοστατικού συστήματος κατά την εμβρυική περίοδο  
 AT: Antithrombin, HCII: Heparin cofactor II, F: Factor.

Στην γέννηση υπάρχουν όλα τα στοιχεία κλειδιά του αιμοστατικού μηχανισμού, ωστόσο υφίστανται σημαντικές ποσοτικές και ποιοτικές διαφορές μεταξύ νεογνών και ενηλίκων (Εικ18.). [93] Αναφορικά με τους προπηκτικούς παράγοντες, οι διαφορές είναι κυρίως ποσοτικές. Οι εξαρτώμενοι από την βιτ Κ παράγοντες (FII, FVII, FIX, και FX), όπως και οι FXII, FXI, HMWK και PK έχουν στη γέννηση επίπεδα περίπου στο 50% των τιμών των ενηλίκων, γεγονός που αντανακλάται στην παράταση των τιμών στις screening δοκιμασίες της πήξης PT και APTT. [85, 94]

<i>Component</i>	<i>Neonatal vs adult level</i>
Primary hemostasis	↔ platelet count ↑vWF
Coagulation factors	↓ FII, FVII, FIX, FX ↓ FXI, FXII ↓ to ↔ FV, FXIII ↔ fibrinogen ↑FVIII, vWF
Anticoagulant factors	↓ TFPI, AT, PC, PS ↑α2M
Fibrinolysis	↓ plasminogen ↔ to ↑ PAI

Εικ. 18. [93] Διαφορές αιμοστατικών παραγόντων μεταξύ νεογνών και ενηλίκων Vwf-παράγων von Willebrand, TFPI-αναστολέας οδού ιστικού παράγοντα AT-αντιθρομβίνη PCπρωτεΐνη C, PS -πρωτεΐνη S, a2M-a2-μακροσφαιρίνη, PAI-αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου.

Στα πρόωρα υπάρχει έτι περαιτέρω μείωση έως περίπου στο 30% στα νεογνά ηλικίας 24-29 εβδομάδων.

Αυτοί οι παράγοντες φτάνουν τα επίπεδα των τιμών των ενηλίκων στον 6<sup>ο</sup> μήνα ζωής, αν και οι μέσες τιμές των περισσότερων είναι κατά 20% χαμηλότερες από εκείνες των ενηλίκων μέχρι τα εφηβικά χρόνια. Τα επίπεδα του FIX στο πλάσμα των υγιών βρεφών είναι έως και στο 15% των επιπέδων των ενηλίκων, τα οποία μπορεί να φτάσουν περί τον 9<sup>ο</sup> μήνα ζωής. Η φυσιολογική αυτή μείωση της δραστηριότητας του παράγοντα IX συντελεί στην δυσκολία διάγνωσης της ήπιας ανεπάρκειας του FIX (αιμορροφιλία B) πριν τον 1<sup>ο</sup> χρόνο ζωής. Ο τελευταίος από τους παράγοντες που τα επίπεδα του προσομοιάζουν με των ενηλίκων περί την ηλικία των 16 ετών είναι ο FVII. [95]

Η προθρομβίνη, πρόδρομος της θρομβίνης, παραμένει κατά 20% ελαττωμένη καθόλη την παιδική ηλικία. [92]

Τα επίπεδα των FV και F XIII είναι αρχικά χαμηλά, αλλά πολύ γρήγορα έως την 5<sup>η</sup> μέρα ζωής αυξάνονται έως τα επίπεδα των ενηλίκων. [85, 96, 97] Ο παράγων FVIII έχει αυξημένα επίπεδα στην γέννηση όπως και ο παράγων vonWillebrand, ο οποίος παραμένει αυξημένος έως περίπου την ηλικία των 3 μηνών. [85, 86]

Σε μελέτες με υπερηχογραφικά καθοδηγούμενη λήψη δειγμάτων από ομφάλικη φλέβα, μεταξύ 19 και 30 εβδομάδων κύησης, οι τιμές των PT, APTT, και χρόνου θρομβίνης είναι όλες παρατεταμένες, λόγω των χαμηλών επιπέδων των εξαρτώμενων από την βιταμίνη Κ παραγόντων, των παραγόντων επαφής (FXII, FXI, HMWK, PK), του ινωδογόνου, των FV και FVII. Αυτοί οι παράγοντες άρχισαν να αυξάνονται μετά την 34<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης, όμως μόνον οι FV και FVIII έφτασαν τα επίπεδα των τιμών των ενηλίκων στη γέννηση. [91]

Το ινωδογόνο ανιχνεύεται σε επίπεδα παρόμοια με των ενηλίκων την 27<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης.

Στη γέννηση ο χρόνος θρομβίνης είναι ήπια παρατεταμένος, και φτάνει τις τιμές των ενηλίκων την 3<sup>η</sup> εβδομάδα ζωής.

Ωστόσο φαίνεται ότι το ινωδογόνο στο νεογνό είναι δυσλειτουργικό ποιοτικά και υφίσταται μια «εμβρυική» μορφή του έως τον πρώτο χρόνο ζωής περίπου. [95]

Η ιδέα ότι υπάρχει η «εμβρυική» μορφή ινωδογόνου βασίστηκε στην παρατήρηση ότι ο πολυμερισμός του ινώδους όταν το ινωδογόνο προέρχονταν από ομφάλιο λώρο ήταν πιο αργός συγκριτικά με εκείνον σε ινωδογόνο ενηλίκου. [98]

Βιοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι το νεογνικό ινωδογόνο είναι διαφορετικά φορτισμένο και περιέχει περισσότερο φώσφορο (συγκέντρωση έως και τετραπλάσια) και περισσότερο σιαλικό οξύ συγκριτικά με τα επίπεδα στο ινωδογόνο του ενήλικα [99].

Το σιαλικό οξύ συνδέεται άμεσα με τοCa<sup>++</sup>, προκαλώντας μείωση της απώθησης μεταξύ των αλυσίδων ινωδογόνου και διευκολύνοντας τον πολυμερισμό του σε ινώδες. Σε πιο πρόσφατες μελέτες με την χρήση της θρομβοελαστογραφίας (TEG) επιβεβαιώθηκαν οι λειτουργικές διαφορές ανάμεσα στο νεογνικό ινωδογόνο και εκείνο των ενηλίκων. [100]

Στους ενήλικες οι τιμές του ινωδογόνου δείχνουν άριστη συσχέτιση με το μέγιστο εύρος θρόμβου (maximum amplitude) στην TEG, μετά από τροποποίηση με αναστολέα του υποδοχέα IIb/IIIa, που απελευθερώνει την αλληλεπίδραση ινωδογόνου αιμοπεταλίων. Η συσχέτιση αυτή χάνεται στα βρέφη <1 έτους, γεγονός ενδεικτικό της δυσλειτουργίας του ινωδογόνου σ αυτή την ηλικία.

### Αναστολείς της πήξης στο νεογνό

Η αποφυγή της ανεξέλεγκτης επέκτασης της πήξης επιτυγχάνεται με αρκετούς φυσικούς αναστολείς των προπηκτικών παραγόντων (γνωστούς ως φυσικά αντιπηκτικά), στους οποίους περιλαμβάνονται η αντιθρομβίνη, (AT), α2 μακροσφαιρίνη, ο συμπαράγοντας II της Ηπαρίνης(HCII), η πρωτεΐνη C, η πρωτεΐνη S, ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI).

Η θρομβίνη αναστέλλεται από την αντιθρομβίνη, την α2-μακροσφαιρίνη, τον συμπαράγοντα II της ηπαρίνης. Τα επίπεδα της αντιθρομβίνης και του συμπαράγοντα II της ηπαρίνης, στη γέννηση είναι περίπου στο 50% των επιπέδων του ενήλικα, τα οποία προσεγγίζουν στον 3<sup>ο</sup> μήνα ζωής.

Η α2-μακροσφαιρίνη φαίνεται ότι στα νεογνά είναι ισχυρότερος αναστολέας της θρομβίνης απ' ό, τι για τους ενήλικες.[95] [101]

Τα επίπεδά της στα νεογνά είναι αυξημένα έως και διπλάσια εκείνων των ενηλίκων, αύξηση που θεωρείται αντισταθμιστική στα χαμηλά επίπεδα αντιθρομβίνης. Η σύγκριση, σε μελέτες, της σχετικής ισχύος της αντιθρομβίνης και της α2-μακροσφαιρίνης στην αναστολή ραδιοσημασμένης θρομβίνης επιβεβαίωσε ότι στα νεογνά και βρέφη η α2-μακροσφαιρίνη συνέβαλε περισσότερο στην αναστολή της θρομβίνης από, τι στο πλάσμα ενηλίκων. Ωστόσο παρά την εντονότερη δράση της α2-μακροσφαιρίνης, η αναστολή της θρομβίνης στα νεογνά παραμένει ηπιώτερη σε σχέση με τους ενήλικες. [102]

Σε συγκριτικές μελέτες των επιπέδων αντιθρομβίνης και α2-μακροσφαιρίνης στο πλάσμα υγιών και σοβαρά πασχόντων νεογνών, βρέθηκε στα δεύτερα ανεπάρκεια όχι μόνο της αντιθρομβίνης, αλλά και της α2-μακροσφαιρίνης, με συνέπεια διαταραχή στην αναστολή της θρομβίνης, που πιθανόν εξηγεί τις θρομβώσεις σε μεγάλα αγγεία σε σοβαρά πάσχοντα νεογνά που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση. [103, 104]

Το σύστημα της πρωτεΐνης C- πρωτεΐνη S και Z- στη γέννηση υπάρχει σε πολύ χαμηλά επίπεδα· η πρωτεΐνη C στο τελειόμηνο νεογνό είναι στο 25% της συγκέντρωσης της στο πλάσμα ενηλίκων, ενώ στα πρόωρα μπορεί τα επίπεδα της να είναι μειωμένα έως και στο 10% της αντίστοιχης συγκέντρωσης στους ενήλικες.

Τα επίπεδα της πρωτεΐνης C παραμένουν χαμηλά έως τον 6<sup>ο</sup> μήνα.

Τα επίπεδα της πρωτεΐνης C μειώνονται γρήγορα σε σηψαιμία, ΔΕΠ, αναπνευστική ανεπάρκεια. [105]

Τα χαμηλά επίπεδα της πρωτεΐνης S (η μέση τιμή των επιπέδων στο πλάσμα του τελειόμηνου νεογνού περίπου στο 40% των επιπέδων στο πλάσμα των ενηλίκων), αντισταθμίζονται από αύξηση της λειτουργικής δραστηριότητας της. Η ελεύθερη, μη συνδεδεμένη με την πρωτεΐνη C4bBindingprotein, μορφή της πρωτεΐνης S, είναι εκείνη που έχει αντιπηκτική δράση ως συμπαράγοντας της πρωτεΐνης C για την πρωτεόλυση των παραγόντων Va και VIIIa. Στα νεογνά όλη η πρωτεΐνη S κυκλοφορεί στην ελεύθερη μορφή της, η δράση της δε ως συμπαράγοντας της πρωτεΐνης C, ενισχύεται από τα αυξημένα επίπεδα της α2-μακροσφαιρίνης. [106]

Στη νεογνική και πρώιμη παιδική ηλικία, είναι αυξημένα τα επίπεδα της θρομβομοδουλίνης (υποδοχέας στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων που συνδέεται με την θρομβίνη και ως σύμπλεγμα ενεργοποιούν την πρωτεΐνη C). Τα επίπεδα της θρομβομοδουλίνης μειώνονται σταδιακά έως τα επίπεδα των τιμών των ενηλίκων έως τα τέλη της εφηβείας.

Τα επίπεδα του TFPi είναι χαμηλά στη γέννηση στα τελειόμηνα και πρόωρα νεογνά [85, 86] και παραμένουν χαμηλά κατά το μεγαλύτερο μέρος της παιδικής ηλικίας. [107]

### ***Ινωδολυτικός μηχανισμός στο νεογνό***

Ο μηχανισμός της ινωδόλυσης στο νεογνό είναι περίπλοκος. Το πλασμινογόνο παρουσιάζει ποσοτικές και ποιοτικές διαφορές σε σχέση με το πλασμινογόνο στους ενήλικες. Τα επίπεδα του στο πλάσμα του φυσιολογικού νεογνού είναι περίπου 50% των επιπέδων του πλάσματος ενηλίκων, επίπεδα στα οποία φθάνει περί τον 6<sup>ο</sup> μήνα ζωής.

Τα επίπεδα του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου είναι ελαττωμένα συγκριτικά με τους ενήλικες, αλλά δεν ισχύει το ίδιο για τον αναστολέα του (Plasminogen activator inhibitor-PAI), τον σημαντικότερο αναστολέα της ινωδόλυσης, του οποίου τα επίπεδα στην γέννηση είναι παρόμοια με των ενηλίκων.[108]

Η συγκέντρωση του φυσικού αναστολέα της πλασμίνης, α<sub>2</sub> αντιπλασμίνης σε δείγματα από ομφάλιο λώρο είναι στα επίπεδα του ενήλικα. Το πλασμινογόνο στο νεογνικό πλάσμα έχει περισσότερο σιαλικό οξύ και φώσφορο και ενεργοποιείται σε μικρότερο βαθμό και ρυθμό σε πλασμίνη σε σχέση με την μορφή του στο πλάσμα των ενηλίκων. Η πλασμίνη που προέρχεται από το πλασμινογόνο αυτό, είναι περισσότερο ανθεκτική στη δράση της αντιπλασμίνης.

Παραδόξως, παρόλο που τα επιμέρους στοιχεία του ινωδολυτικού μηχανισμού στα νεογνά υποδεικνύουν ελλειμματική ινωδολυτική λειτουργία, η λύση του θρόμβου είναι απόλυτα επιτυχής. Ωστόσο, στα μικρά, άρρωστα νεογνά αυτή η επιτυχής δραστηριότητα απορρυθμίζεται εύκολα, η μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα μάλιστα αποτελεί κακό προγνωστικό δείκτη. [109]

### **Αιμοπετάλια**

Στα νεογνά ο αριθμός και ο μέσος όγκος των αιμοπεταλίων δεν διαφέρουν από το φυσιολογικό εύρος τιμών του ενήλικα. Στο έμβρυο ο αριθμός των αιμοπεταλίων αυξάνεται γραμμικά με την πρόοδο της κύησης, και τα πρόωρα έχουν χαμηλότερο αριθμό αιμοπεταλίων σε σχέση με τα τελειόμηνα ωστόσο εντός των φυσιολογικών ορίων (150.000-450.000/μL).

Η μεγαλύτερη έως τώρα μελέτη για τα νεογνικά αιμοπετάλια, συμπεριέλαβε 47000 νεογνά με ηλικία κύησης κατά τον τοκετό από 22 έως 42 εβδομάδες. [110]

Κατά την εμβρυϊκή ζωή φάνηκε ότι ο αριθμός των αιμοπεταλίων αυξανόταν κατά την κύηση κατά περίπου  $2 \times 10^9$ /εβδομάδα. Αν και ο μέσος αριθμός αιμοπεταλίων ήταν περί τις 200.000/μL ακόμη και στα πρόωρα, σε εκείνα με ηλικία κύησης <32 εβδομάδων η 5<sup>η</sup> εκατοστιαία θέση ήταν 104000/μL, και στα όψιμα πρόωρα και τελειόμηνα 123.000/μL [110]. Τιμές αιμοπεταλίων μεταξύ 100.000-150.000/ μL συναντώνται συχνότερα σε εξαιρετικά πρόωρα νεογνά παρά σε τελειόμηνα ή μεγαλύτερα βρέφη και παιδιά, γεγονός που ίσως θα δικαιολογούσε διαφορετικό ορισμό για τα όρια της θρομβοπενίας σε νεογνά στις διάφορες ηλικίες κύησης. Πάντως ακόμη και στα πιο πρόωρα νεογνά – όπως και στους ενήλικες- τιμές αιμοπεταλίων <100.000μL, θεωρούνται μη

φυσιολογικές.

Σοβαρή μεμονωμένη θρομβοπενία σε υγιές κατά τα άλλα νεογνό θέτει την υποψία νεογνικής αλλοάνοσης θρομβοπενίας (από διαπλακουντιακή μεταφορά μητρικών αντισωμάτων έναντι αντιγόνων στα εμβρυικά αιμοπετάλια). Στα συμπτωματικά νεογνά η επίπτωση εγκεφαλικής αιμορραγίας αναφέρεται σε ποσοστό 10%-20% .[111, 112]

Μεμονωμένη θρομβοπενία επίσης συναντάται σε νεογνά με ιστορικό ενδομήτριας καθυστέρησης της αύξησης ή με ιογενείς, βακτηριακές ή μυκητιασικές λοιμώξεις.

Στα σοβαρά πάσχοντα νεογνά με αιμορραγική διάθεση, στο έδαφος σηψαιμίας, νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (NEK), ή σοβαρής περιγεννητικής ασφυξίας, η θρομβοπενία είναι σύνηθες εύρημα, είτε μεμονωμένα είτε στο πλαίσιο Διάχυτης Ενδαγγειακής Πήξης.

Η χρήση του αριθμού των αιμοπεταλίων σε μη αιμορραγικά νεογνά, σαν προγνωστικού δείκτη του κινδύνου αιμορραγίας είναι αμφισβητούμενη, παρόλο που στην κλινική πράξη η θρομβοπενία έχει έως τώρα θεωρηθεί παράγων κινδύνου και οδηγός προφυλακτικών μεταγγίσεων κυρίως στα πρόωρα, προς αποφυγήν της εγκεφαλικής αιμορραγίας (IVH).

Σε μελέτη που συμπεριέλαβε 972 Πολύ χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά

(VLBW, ΒΓ <1500 γραμ) βρήκαν αυξημένη συσχέτιση με IVH στα νεογνά που την πρώτη εβδομάδα ζωής είχαν αριθμό αιμοπεταλίων <150.000/μL. Ωστόσο δεν βρέθηκε συσχέτιση ανάμεσα στην βαρύτητα της θρομβοπενίας και του κινδύνου IVH[113], ενισχύοντας την αμφισβητούμενη αποτελεσματικότητα των μεταγγίσεων αιμοπεταλίων στην πρόληψη αιμορραγίας σε μη αιμορραγικά νεογνά με ήπια προς μέτρια θρομβοπενία.[114]

Τα αιμοπετάλια στα νεογνά παρουσιάζουν μειωμένη λειτουργικότητα τις πρώτες 2-4 εβδομάδες μετά την γέννηση. Όταν ελέγχονται *in vitro* τα αιμοπετάλια τόσο των πρόωρων όσο και των τελειομήνων δείχνουν ελαττωμένη απαντητικότητα σε αγωνιστές όπως το κολλαγόνο, η θρομβίνη, η επινεφρίνη, η ADP, που εκφράζεται ως μείωση της έκκρισης των κοκκίων, μείωση της έκφρασης των θέσεων σύνδεσης του ινωδογόνου στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, μείωση της συσσώρευσης τους. [115] [116]

Διάφοροι μηχανισμοί εμπλέκονται στην μειωμένη απαντητικότητα των αιμοπεταλίων στους διάφορους αγωνιστές:

- η υποαπαντητικότητα στην επινεφρίνη, θεωρείται ότι οφείλεται στον μειωμένο αριθμό των  $\alpha_2$  αδρενεργικών υποδοχέων, που αποτελούν τις θέσεις σύνδεσης της επινεφρίνης στην επιφάνεια των νεογνικών αιμοπεταλίων

-η μειωμένη απαντητικότητα στη θρομβίνη συσχετίζεται με την μειωμένη έκφραση των υποδοχέων θρομβίνης PAR -1 και PAR-4 στα νεογνικά αιμοπετάλια [117]

- η μειωμένη απάντηση στην θρομβοξάνη, προκύπτει από μείωση της μετάδοσης του σήματος από τον υποδοχέα [118]

-η υποαπαντητικότητα στο κολλαγόνο, συνδέεται με την μειωμένη έκφραση της γλυκοπρωτεΐνης της μεμβράνης των αιμοπεταλίων GPVI, παράλληλα με ανεπαρκή ενδοκυττάρια σηματοδότηση μετά την έναρξη της διέγερσης των αιμοπεταλίων. [119] Πρόσφατα αναπτυξιακές διαφορές έχουν επίσης περιγραφεί σε σχέση με τις ανασταλτικές οδούς των αιμοπεταλίων, αναδεικνύοντας μια υπερευαίσθησία των αιμοπεταλίων του νεογνού στην ανασταλτική δράση της προσταγλανδίνης E1(PGE1) κατά την συσσώρευση των αιμοπεταλίων την επαγόμενη από το κολλαγόνο και την ADP. [120]

Παρόλο που το *in vitro* υπολειπургικό προφίλ των αιμοπεταλίων προιδεάζει για την ύπαρξη αιμορραγικής διάθεσης και ανεπάρκειας της πρωτογενούς αιμόστασης, στα νεογνά οι χρόνοι ροής, η PFA-100, ο χρόνος πήξης (CT) στη θρομβοελαστομετρία είναι όλοι μικρότεροι σε σχέση με των ενηλίκων, υποδηλώνοντας ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες τα αιμοπετάλια είναι εξίσου αποτελεσματικά με των ενηλίκων στην λειτουργία της πρωτογενούς αιμόστασης.[121] [122] Αυτή η αντίφαση μπορεί να αποδοθεί στον ιδιαίτερο ρόλο του παράγοντα vonWillebrand( vWF) στην νεογνική αιμόσταση. [121]

Ο vWF είναι ένα μεγάλο πολυμερές που συνδράμει στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο τοίχωμα του αγγείου που έχει υποστεί βλάβη.

Τα νεογνά έχουν υψηλότερη συγκέντρωση του vWF, και μεγαλύτερο ποσοστό των μεγάλων πολυμερών [85] [123] [124], που είναι πολύ αποτελεσματικά στην προσκόλληση αιμοπεταλίων -αγγειακού τοιχώματος.Παράλληλα μαζί με τον υψηλό Ht και τον μεγαλύτερο MCV [125], γίνεται επιτυχής αντιρρόπηση της υπολειπургικότητας των αιμοπεταλίων, που αντικατοπτρίζεται στους χαμηλότερους χρόνους που έχουν τα νεογνά συγκριτικά με τους ενήλικες.



Η σημασία του Ht στην λειτουργία της πρωτογενούς αιμόστασης στα νεογνά καταδεικνύεται και από το γεγονός ότι τιμές Ht <28% σε πρόωρα συσχετίστηκαν με υψηλότερους χρόνους ροής, που βελτιώθηκαν με την μετάγγιση συμπυκνωμένων ερυθρών. [126]

Αυτοί οι αντιρροπιστικοί μηχανισμοί μάλλον είναι λιγότερο καλά ανεπτυγμένοι στα πρόωρα, των οποίων τα αιμοπετάλια είναι λιγότερο απαντητικά σε σχέση με τα τελειόμηνα, δυνητικά προκαλώντας μεγαλύτερη ανεπάρκεια της πρωτογενούς αιμόστασης.

Χρόνοι ροής (με τροποποιημένη συσκευή και τεχνική για μικρότερη τομή) που έγιναν την πρώτη ημέρα ζωής ήταν μεγαλύτεροι σε πρόωρα ηλικίας <33 εβδομάδων σε σχέση με τελειόμηνα. [126]

Επίσης ο CT στο PFA-100 σε μη θρομβοπενικά νεογνά είχε αρνητική συσχέτιση με την ηλικία τόσο στο αίμα ομφαλίου λώρου όσο και στο περιφερικό δείγμα την 1<sup>η</sup> μέρα ζωής. [127] Πάντως οι τιμές του CT στα πρόωρα πλησίαζαν ή ήταν μέσα στο φυσιολογικό εύρος των τιμών των ενηλίκων, υποδεικνύοντας ότι στα υγιή πρόωρα νεογνά η πρωτογενής αιμόσταση είναι επαρκής. Η λειτουργία των νεογνικών αιμοπεταλίων, όπως εκφράζεται με την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων σε μέτρηση με κυτταρομετρία ροής, βελτιώνεται στα τελειόμηνα και τα πρόωρα περί την 2<sup>η</sup> εβδομάδα. [116] [128] Επίσης οι χρόνοι ροής μετά την 10<sup>η</sup> μέρα ζωής ήταν βραχύτεροι σε σχέση με εκείνους που είχαν μετρηθεί στη γέννηση.[114]

Παρά το γεγονός ότι η υπολειτουργικότητα των αιμοπεταλίων θεωρείται ότι συμβάλλει στην επίπτωση των αιμορραγικών συμβαμάτων στα νεογνά και κυρίως τα πρόωρα, οι ενδείξεις δηλώνουν ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες, το σύστημα της πρωτογενούς αιμόστασης στα νεογνά είναι εξισορροπημένο. Οι διαφορές αυτές στην αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων εικάζεται ότι ίσως λειτουργούν ως προληπτικός μηχανισμός προστασίας από ανεπιθύμητη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και πρόκληση θρομβώσεων κατά τον τοκετό, διαδικασία που συχνά σχετίζεται με κάκωση ιστών και έκρηκτική έκλυση επινεφρίνης. Η ανατροπή της ισορροπίας του αιμοστατικού μηχανισμού ωστόσο κατά την εξέλιξη νόσησης και η πρόκληση αιμορραγίας κρύβουν αρκετά αναπάντητα ερωτήματα.

Τα υγιή νεογνά παρά τα χαμηλότερα επίπεδα πηκτικών και αντιπηκτικών πρωτεϊνών, σε σχέση με τους ενήλικες, δεν παρουσιάζουν διαταραχές στην αιμόσταση, όπως αυξημένη επίπτωση θρομβώσεων είτε αιμορραγιών.

Τα υγιή νεογνά δεν εμφανίζουν εύκολα εκχυμώσεις, ούτε μεγάλη αιμορραγία κατά την διάρκεια χειρουργικών επεμβάσεων, ενώ η επούλωση τραυμάτων γίνεται φυσιολογικά.

Οι διαφοροποιήσεις στους προπηκτικούς και αντιπηκτικούς παράγοντες λειτουργούν εξισορροπιστικά ώστε να επιτυγχάνεται αιμοστατική ισορροπία. Τα χαμηλά επίπεδα αντιθρομβίνης π.χ.αντισταθμίζουν το χαμηλό επίπεδο προθρομβίνης. Σε μελέτες με χρήση της θρομβοελαστογραφίας αυτό αποτυπώνεται στη βραχύτερη τιμή του χρόνου πήξης (CT -clotting time –έναρξη σχηματισμού θρόμβου ) και του χρόνου δημιουργίας θρόμβου (CFT) σε πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά, συγκριτικά με ενήλικες, παρά το χαμηλότερο επίπεδο προθρομβίνης.[93]

Επίσης τα νεογνά έχουν χαμηλότερα επίπεδα θρομβίνης από τους ενήλικες, ωστόσο μπορεί να παράγουν θρομβίνη γρηγορότερα, γιατί έχουν λιγότερο TFPI και αντιθρομβίνη.

Οι ιδιαιτερότητες της αναπτυξιακής αιμόστασης λειτουργούν και ως προστατευτικοί μηχανισμοί από τη γέννηση και κατά την βρεφική και παιδική ηλικία. Στην γέννηση τα επίπεδα αντιθρομβίνης και των πρωτεϊνών C και S είναι χαμηλά, ενώ η α2 μακροσφαιρίνη είναι αυξημένη .Η α2 μακροσφαιρίνη ασκεί μεγαλύτερη ανασταλτική δράση στη θρομβίνη από τα άλλα αντιπηκτικά, και αυτό λειτουργεί ως προστατευτικός μηχανισμός στα παιδιά με ανεπάρκεια της αντιθρομβίνης, στα οποία τα θρομβωτικά συμπτώματα δεν εμφανίζονται μέχρι τα επίπεδα της α2 μακροσφαιρίνης να μειωθούν στα επίπεδα του ενήλικα.[114]

Η ερμηνεία της αιμόστασης στα νεογνά έχει περιορισμούς που σχετίζονται με διάφορους παράγοντες, με κυριότερους την έλλειψη τιμών αναφοράς σχετιζόμενων με την ηλικία, την αναγκαιότητα πολλαπλών επιπέδων αναφοράς λόγω της συνεχιζόμενης ανάπτυξης των νεογνών και παιδιών, τις τεχνικές δυσκολίες τις σχετικές με την αιμοληψία, την ανάγκη για μικρομεθόδους προκειμένου να περιοριστεί η ποσότητα του δείγματος.

Η διαφοροποίηση που υπάρχει στα λειτουργικά επίπεδα των πρωτεϊνών πήξης

ανάλογα με την ηλικία, προκαλεί δυσκολία στον καθορισμό των αντίστοιχων τιμών αναφοράς και η γνώση της αναπτυξιακής αιμόστασης είναι απαραίτητη για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των δοκιμασιών της αιμόστασης στα νεογνά και παιδιά προκειμένου να αποφευχθούν λανθασμένες διαγνώσεις και μη αναγκαίες εξετάσεις, ή, και οι χωρίς πραγματική ένδειξη παραπομπές σε αιματολόγους.[129]

Η χρήση του International Normalized Ratio (INR) εξομαλύνει τις διακυμάνσεις στις τιμές του PT, ωστόσο δεν συμβαίνει το ίδιο με τον APTT.

Υπάρχουν διαγνωστικές δοκιμασίες ελέγχου της αιμόστασης, όπως η θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία που αντικατοπτρίζουν καλύτερα τον μηχανισμό της πήξης ανάλογα με τις αναπτυξιακές ιδιαιτερότητες της ηλικίας.[130]

Η "Perinatal and paediatric hemostasis subcommittee " της" International Society of Thrombosis and Haemostasis "(ISTH)" έχει συστήσει τα εργαστήρια να καθορίζουν τιμές αναφοράς με όρια αντίστοιχα με την ηλικία και τις τεχνικές συνθήκες του κάθε εργαστηρίου.[131]

Μελέτη των επιπέδων των πρωτεϊνών πήξεως περιλαμβάνοντας ηλικίες από προωρότητα έως εφηβεία, καθώς και τιμές αναφοράς για PT, APTT, INR και Thrombin clotting time έκαναν οι Andrew και συν.[83, 86] αρχικά και Monagle και συν.[132] αργότερα, συμπεριλαμβάνοντας και τα επίπεδα D-dimers, και τα ευρήματα συλλογικά, παρουσιάζονται στον πίνακα αναλογικά με τις τιμές των ενηλίκων

Coagulation Tests	Age					
	Birth	1 mo	6 mo	1-5 y	11-16 y	Adults
PT	1.15	0.95	0.99	0.97	0.99	1.0
aPTT	1.2	1.27	1.11	1.10	1.14	1.0
INR	1.2	0.95	0.95	0.96	0.97	1.0
TCT	1.12	1.17	1.22	0.84	0.81	1.0
D-dimer	8.17	1.22	1.22	1.39	1.50	1.0

Εικ. 19.[92] Σύγκριση των δοκιμασιών πήξης μεταξύ νεογνών –παιδιών και ενηλίκων

Οι τιμές εκφράζουν την σχέση μεταξύ μέσων τιμών των τεστ πηκτικότητας νεογνών παιδιών συγκριτικά με τις μέσες τιμές ενηλίκων. Σχέση μεγαλύτερη του 1 εκφράζει μέση τιμή μεγαλύτερη στα νεογνά/παιδιά συγκριτικά με την μέση τιμή ενηλίκων

PT: Prothrombin time, aPTT: activated partial thromboplastin time, INR: International Normalized Ratio, TCT: Thrombin clotting time

Ο Christensen και συν.επικεντρώνοντας σε περισσότερο πρόωρα νεογνά, ανακοίνωσαν τιμές αναφοράς σε νεογνά <34 εβδομάδων ηλικίας κύησης από μετρήσεις σε δείγματα ομφαλίου λώρου [133], ενώ ο Neary και συν. ανέφεραν τιμές αναφοράς για ινωδογόνο, PT, APTT σε μετρήσεις σε περιφερικό αίμα την 1<sup>η</sup> μέρα ζωής σε νεογνά <27 εβδομάδων κύησης, που αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου για κλινικά σημαντική αιμορραγία. [134] Σ' αυτό τον υψηλού κινδύνου πληθυσμό η μέση τιμή για τον PT ήταν 20,2s, τον APTT 67,4s το ινωδογόνο 1.4g/L. Οι τιμές αυτές ήταν υψηλότερες από εκείνες των μετρήσεων του Christensen και συν. πιθανόν λόγω της διαφορετικής προέλευσης των δειγμάτων (ομφάλιος λώρος, περιφερικό αίμα), καθώς και της χρήσης διαφορετικών αντιδραστηρίων και συστημάτων μέτρησης. Από την συνολική μελέτη των μετρήσεων αυτών, φαίνεται ότι τα ανώτερα όρια των PT, APTT είναι υψηλότερα για τα υγιή πολύ πρόωρα νεογνά σε σχέση με τα ωριμότερα πρόωρα και τα τελειόμηνα. Ωστόσο, τις πρώτες μέρες ζωής μειώνονται τα επίπεδα των τιμών σε σύγκριση με την 1<sup>η</sup> μέρα στα εξαιρετικά πρόωρα.

Οι τιμές πάντως των διαφόρων δοκιμασιών, πέραν της ηλικίας, διαφέρουν ανάλογα με τα αντιδραστήρια και τους αναλυτές μέτρησης, έτσι τα εργαστήρια χρειάζεται να σταθμίσουν τιμές αναφοράς ανά ηλικία, σύμφωνα με τα συστήματα μέτρησης που εφαρμόζουν, ώστε να επιτελείται σωστή αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. [132]

Η παράταση των PT, APTT στα νεογνά και ιδιαίτερα στα εξαιρετικά πρόωρα, με τον υψηλότερο κίνδυνο σοβαρής αιμορραγίας, έχει συχνά εκτιμηθεί ως αιμοστατική ανεπάρκεια και έχει οδηγήσει σε μονάδες εντατικής νοσηλείας νεογνών να χορηγείται προφυλακτικά FFP βάσει των «παθολογικών» τιμών των δοκιμασιών πήξης, σε μη αιμορραγούντα νεογνά, με στόχο την αποφυγή κυρίως της εγκεφαλικής αιμορραγίας (IVH). [135] Παραδόξως, η δημιουργία θρομβίνης είναι επαρκής και ταχύτερη στα νεογνά συγκριτικά με τους ενήλικες, και σε δείγματα από ομφάλιο λώρο, παρόμοια, ανάμεσα σε πολύ πρόωρα και τελειόμηνα. Η παράταση των PT, APTT, πιστεύεται, ότι σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά δεν πρέπει να αξιολογείται ως αιμορραγική προδιάθεση ή ανεπάρκεια του συστήματος αιμόστασης, αλλά μάλλον σαν περιορισμός αυτών των δοκιμασιών να εκφράσουν την πολύπλοκη, αναπτυξιακά μοναδική και καλά

ισορροπημένη λειτουργία του αιμοστατικού συστήματος των νεογνών. [114]

Η αντίφαση ανάμεσα στην ύπαρξη ενός αποτελεσματικού αιμοστατικού μηχανισμού στο φυσιολογικό νεογνό και των παρατεταμένων χρόνων PT, APTT, πιθανόν μπορεί να ερμηνευτεί καλύτερα, χρησιμοποιώντας το κυτταρικό μοντέλο αιμόστασης, σύμφωνα με το οποίο συνυπολογίζονται η αλληλεπίδραση ενδοθηλιακών κυττάρων, αιμοπεταλίων και των πρωτεϊνών του συστήματος πήξης. [7] Κατά το κυτταρικό μοντέλο, η ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού γίνεται με την απελευθέρωση του ιστικού παράγοντα (TF), από τα κύτταρα στα οποία εκφράζεται, συνήθως τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Στα νεογνά τα επίπεδα του TF είναι υψηλότερα σε σχέση με τα επίπεδα στον ενήλικα, ενώ τα επίπεδα των Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) και της αντιθρομβίνης III (AT III) είναι ελαττωμένα. [136] Τα υψηλότερα επίπεδα του TF ενδέχεται να αντιρροπούν τα σχετικά μειωμένα επίπεδα των προπηκτικών παραγόντων, ενώ υπάρχει αντιρροπιστική δράση και για την υπολειτουργικότητα των αιμοπεταλίων. Η δημιουργία της θρομβίνης στο νεογνό, εκτιμώμενη υπό κατάλληλες εργαστηριακές συνθήκες, ισοδυναμεί με το 90% περίπου της παραγόμενης στους ενήλικες, ποσό επαρκές για σχηματισμό θρόμβου αποτελεσματικού για την επίτευξη της αιμόστασης. [137]

Στα νεογνά το κυτταρικό αιμοστατικό μοντέλο, μπορεί να δώσει μια εξήγηση για το πώς, παρά τα χαμηλά επίπεδα των παραγόντων πήξης, που θα δικαιολογούσαν μειωμένη παραγωγή θρομβίνης κατά το μοντέλο του καταρράκτη, τελικά επιτυγχάνεται η δημιουργία αποτελεσματικού αιμοστατικού θρόμβου. [138]

Οι διαφορές στο αιμοστατικό σύστημα των νεογνών με τους ενήλικες, έχουν σημασία όχι μόνο για την λειτουργία της αιμόστασης. Πρωτείνες όπως ο ιστικός παράγων, η θρομβομοδουλίνη, και η αντιθρομβίνη συμμετέχουν στην διαδικασία της φλεγμονής, αγγειογένεσης και επούλωσης των πληγών, πιθανόν, κατά μερικούς, αποτελώντας και τους παράγοντες που καθορίζουν τις αναπτυξιακές διαφοροποιήσεις στο αιμοστατικό σύστημα. [139]

Η αντιθρομβίνη εκτός από την αντιπηκτική της δράση έχει και ισχυρή ανασταλτική δράση στην αγγειογένεση. Η περίοδος της εμβρυικής και νεογνικής ηλικίας είναι περίοδοι έντονης αγγειογενετικής δραστηριότητας, και τα μειωμένα επίπεδα της αντιθρομβίνης στην γέννηση που αυξάνονται σταδιακά τους πρώτους μήνες ζωής,

ενδεχομένως εξυπηρετούν την σκοπιμότητα να μπορούν να επιτρέπουν την γόνιμη αγγειογενετική δραστηριότητα που είναι έντονη σ αυτή την περίοδο και συμβάλλει στην φυσιολογική ανάπτυξη.[129]

## 4.ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΣΤΟ ΝΕΟΓΝΟ

Κατά την διάρκεια του πρώτου μήνα ζωής στα νεογνά μπορεί να εκδηλωθούν διαταραχές της λειτουργίας της αιμόστασης, οφειλόμενες σε ποικίλα αίτια, όπως κληρονομικές αιμοστατικές διαταραχές, επίκτητες θρομβωτικές ή αιμορραγικές καταστάσεις, δευτερογενείς διαταραχές συσχετιζόμενες με άλλη πρωτοπαθή νόσο ή ιατρογενή αίτια.

Η συνολική επίπτωση αυτών των προβλημάτων είναι χαμηλή στον γενικό πληθυσμό όμως στις Μονάδες Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών δεν αποτελούν σπάνιο πρόβλημα και μάλιστα δυνητικά απειλητικό για την ζωή .

Σε πολυκεντρική μελέτη της συχνότητας των αιμορραγικών συμβαμάτων σε 146 νεογνά σε 8 διαφορετικές μονάδες νεογνών, με την χρήση σταθμισμένου εργαλείου εκτίμησης της αιμορραγίας (NeoBat), 25% των νεογνών παρουσίασαν τουλάχιστον ένα επεισόδιο αιμορραγίας, με 11% των επεισοδίων να είναι σοβαρά, 1% μέτριας βαρύτητας και 13% ήσσονα. Τα πρόωρα που γεννήθηκαν σε ηλικία κύησης <28 εβδομάδων είχαν υψηλότερη επίπτωση αιμορραγίας σε σχέση με τα μεγαλύτερα.[140]

Η διάγνωση και θεραπεία των διαταραχών της αιμόστασης, αιμορραγικών είτε θρομβωτικών, στα νοσηλευόμενα νεογνά στις μονάδες, περιπλέκεται από την ξεχωριστή ισορροπία του αιμοστατικού συστήματος σ αυτή την ηλικία και τις ιδιαιτερότητες που καθορίζει η “αναπτυξιακή”, σχετιζόμενη με τις καθοριζόμενες από την ηλικία διαφορές, αιμόσταση.

### 4.1.Αιμορραγικές διαταραχές στο νεογνό

Τα νεογνά και ιδιαίτερα τα πρόωρα έχουν αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας. Η εμφάνιση αιμορραγίας σε υγιές κατά τα άλλα νεογνό, είναι πιθανότερο να αποτελεί εκδήλωση κληρονομικής διαταραχής της πήξης, ή ανοσολογικού τύπου θρομβοπενίας, ενώ σε ένα πάσχον νεογνό πιθανότατα συνδέεται με κατανάλωση των πηκτικών παραγόντων στα πλαίσια διάχυτης ενδαγγειακής πήξης. Στη διερεύνηση της αιμορραγίας στο νεογνό η ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού, ή αδελφού πάσχοντος από αιμορραγική διαταραχή, προσανατολίζουν στα κληρονομικά αίτια. Το ιστορικό της μητέρας κατά την κύηση (χο-

ριοαμνιονίτιδα, σ. HELLP, ενδομήτρια λοίμωξη), η ύπαρξη μαιευτικών επιπλοκών (απόκλιση πλακούντα, προδρομικός πλακούντας, κα) αποτελούν αιτίες απώλειας αίματος κατά τον τοκετό αλλά και ενεργοποίησης του πηκτικού μηχανισμού προκαλώντας ενεργοποίηση της πήξης και ΔΕΠ. Η λήψη φαρμάκων από τη μητέρα ή το νεογνό, ιδιαίτερα αν υπεισέρχονται στον μεταβολισμό της βιταμίνης Κ, χρήζει ιδιαίτερης προσοχής.[141]

Η αναγνώριση της κλινικής κατάστασης που συσχετίζεται με την αιμορραγία, έχει ιδιαίτερη σημασία για την διάγνωση της υποκείμενης διαταραχής.

Οι χρόνοι PT και APTT, τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα τεστ για την αξιολόγηση της πήξης, προορισμένα να ανιχνεύουν την ανεπάρκεια των παραγόντων πήξεως είναι παρατεταμένοι στα υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά, συγκριτικά με τους ενήλικες, εκφράζοντας την χαμηλότερη δραστηριότητα των περισσοτέρων πηκτικών παραγόντων σε αυτούς τους πληθυσμούς.

Είναι αναγκαίο για την ορθή αξιολόγηση των μετρήσεων αυτών, να λαμβάνονται υπόψη οι ιδιαιτερότητες της αναπνευστικής αιμόστασης και η ηλικία.[85, 86, 132]

Ιδανικά, τα εργαστήρια που εκτελούν μετρήσεις των δοκιμασιών πήξης σε νεογνά, θα έπρεπε να έχουν τις δικές τους τιμές αναφοράς, καθώς οι μετρήσεις επηρεάζονται από τα αντιδραστήρια και τον εξοπλισμό που χρησιμοποιείται. [132] Ωστόσο, συνήθως είναι δύσκολο να γίνουν μετρήσεις σε επαρκή αριθμό φυσιολογικών νεογνικών δειγμάτων ώστε να θεσπιστούν τιμές αναφοράς σε κάθε κέντρο· σε μεγάλο βαθμό λοιπόν η αξιολόγηση των μετρήσεων στα νεογνά, βασίζεται στη χρήση των δημοσιευμένων τιμών αναφοράς.

Στα υγιή νεογνά που δεν αιμορραγούν, η ερμηνεία αυτών των χρόνων δεν είναι απλή, έχει οδηγήσει δε σε μη αναγκαίες θεραπευτικές παρεμβάσεις, ενώ σε μελέτες δεν έχει αποδειχθεί συσχέτιση των αποτελεσμάτων αυτών των δοκιμασιών με τα ποσοστά εγκεφαλικής αιμορραγίας σε πρόωρα νεογνά. [114, 133]

Εν τούτοις, στην περίπτωση νεογνού με αιμορραγία της οποίας η αιτία διερευνάται, οι PT και APTT μπορούν να δώσουν πληροφορίες για ανεπάρκεια συγκεκριμένων παραγόντων πήξης, που προκαλεί κλινικά αιμορραγία και παράταση των PT, APTT πέραν των τιμών που συναντώνται στα υγιή νεογνά, όπως φαίνεται κάτωθι:[114]



Χρόνοι πήξης σε αιμορραγικές διαταραχές που μπορεί να προβάλλουν κατά την νεογνική περίοδο

	PT	PTT	Platelets
Νόσος			
Αιμορροφιλία A	Normal	↑↑↑	Normal
Αιμορροφιλία B	Normal	↑↑↑	Normal
F XIII ανεπάρκεια	Normal	Normal	Normal
Ανεπ/εια βιτ.Κ	↑↑	Normal	Normal
Vwd τύπος 3	Normal	↑↑↑	Normal
ΔΕΠ	↑↑	↑↑	↓↓↓

#### 4.1.1. Κληρονομικές και συγγενείς αιμορραγικές διαταραχές

##### Αιμορροφιλίες A και B

Οι αιμορροφιλίες A ( συγγενής ανεπάρκεια FVIII) και B (συγγενής ανεπάρκεια FIX) είναι οι πιο συχνές κληρονομικές διαταραχές της πηκτικότητας που προκαλούν αιμορραγίες κατά την νεογνική περίοδο. Κληρονομούνται με φυλοσύνδετο υπολειπόμενο χαρακτήρα, με το 1/3 των περιπτώσεων να αποτελούν νέες μεταλλάξεις, χωρίς θετικό οικογενειακό ιστορικό, περισσότερες δε από τις μισές περιπτώσεις διαγιγνώσκονται κατά τη νεογνική περίοδο, με 15-30% περίπου να παρουσιάζουν αιμορραγικές εκδηλώσεις. [142] Άλλες αιτίες παραπομπής για διαγνωστικό έλεγχο για θρομβοφιλία στην νεογνική ηλικία, πέραν του αιμορραγικού συμβάματος, αποτελούν η γνωστή φορεία της μητέρας και το θετικό οικογενειακό ιστορικό.

Αν και στα μεγαλύτερα παιδιά συνήθης αιμορραγική εκδήλωση αποτελούν τα αίμαρθρα, στα νεογνά παρατηρούνται συνήθως αιματώματα μετά την ενδομυϊκή χορήγηση της βιταμίνης Κ, παράταση της αιμόρροιας στους νυγμούς ή τις φλεβοκεντήσεις, παρατεταμένη αιμορραγία μετά περιτομή ή ενδοκράνια ή εξωκρανιακή αιμορραγία. Σε μία σειρά 102 νεογνών με αιμορροφιλία και αιμορραγίες κρανίου η μέση ηλικία διάγνωσης ήταν 4.5 ημέρες, και οι ενδοκρανιακές αιμορραγίες με συχνότερη την υποσκληρίδιο πιο συνήθεις από τις εξωκρανιακές. [143]

Λιγότερο συχνά εκδηλώνονται αιμορραγίες στο ομφαλικό κολόβωμα ή το πεπτικό.[144]

Η κλινική υποψία για αιμορροφιλία υποστηρίζεται από την εύρεση παρατεταμένου μόνο του APTT, εύρημα που επίσης, σε ασυπτωματικό, υγιές κατά τα άλλα, άρρεν νεογνό αποτελεί ισχυρό ενδεικτικό στοιχείο για ύπαρξη της νόσου.

Η επιβεβαίωση της διάγνωσης γίνεται με προσδιορισμό των επιπέδων των παραγόντων VIII ή IX. Τα επίπεδα του FVIII είναι στο εύρος των επιπέδων των ενηλίκων, και στα πρόωρα και στα τελειόμηνα νεογνά, καθιστώντας δυνατή την διάγνωση της αιμορροφιλίας Α οποιασδήποτε βαρύτητας ήδη από την νεογνική περίοδο.

Αναφορικά με την αιμορροφιλία Β, τα επίπεδα του FIX στην γέννηση είναι ελαττωμένα στα δε πρόωρα ακόμη περισσότερο, έτσι ώστε η διάγνωση στην νεογνική ηλικία να είναι εφικτή για την σοβαρή αιμορροφιλία Β, αλλά για τις ηπιότερες μορφές η επιβεβαίωση της διάγνωσης απαιτεί επανάληψη του προσδιορισμού του FIX στους 6 μήνες, ή γενετική ανάλυση.

Όσον αφορά στον τοκετό εμβρύου με γνωστή ή πιθανή αιμορροφιλία, οι τρέχουσες συστάσεις δεν θεωρούν απόλυτη αντένδειξη τον φυσιολογικό τοκετό, όμως η χρήση υποβοηθητικών εργαλείων κατά τον τοκετό, όπως αναρροφητήρα, ή η τοποθέτηση ηλεκτροδίων στο κρανίο του εμβρύου αντενδείκνυνται, συστήνεται δε η διενέργεια καισαρικής με τις πρώτες ενδείξεις μη ομαλής εξέλιξης του τοκετού.[145, 146]

Η διάγνωση των διαταραχών αυτών συνεπάγεται την έναρξη θεραπείας υποκατάστασης με συμπυκνώμενο ή ανασυνδυσμένο τον παράγοντα που έχει έλλειψη.

Είναι σημαντικό σε νεογνά που παρουσιάζουν ασυνήθεις αιμορραγικές εκδηλώσεις να γίνεται διερεύνηση για αιμορροφιλία και άλλες κληρονομικές διαταραχές της πήξης του αίματος. Δεν είναι σπάνια η καθυστέρηση της διάγνωσης, είτε σαν αποτέλεσμα ανεπιτυχούς αξιολόγησης της αιμορραγικής εκδήλωσης ως παθολογικής, είτε λόγω των δυσκολιών στην αξιολόγηση των εργαστηριακών εξετάσεων.[147]

Η φυσιολογική παράταση του APTT χρειάζεται προσεκτική αξιολόγηση, ενώ σημειώνεται ότι ήπια μείωση των επιπέδων του FVIII, δεν είναι ασύμβατη με φυσιολογική τιμή APTT.

## Νόσος von Willebrand

Η νόσος von Willebrand είναι η πιο συχνή κληρονομική αιμορραγική διαταραχή με επίπτωση στο 1% του πληθυσμού. Ανάλογα με τα ποσοτικά επίπεδα του vWF, ή την λειτουργία του διακρίνονται 3 τύποι: τύπος I, ποσοτική ανεπάρκεια του vWF, που προκαλεί ήπια νόσηση με αιμορραγίες των βλεννογόνων, τύπος II που χαρακτηρίζεται από ποιοτική βλάβη στον vWF με σοβαρότερες κλινικές εκδηλώσεις από τον τύπο I. Στην νεογνική ηλικία συναντάται ο τύπος III, που αποτελεί την σοβαρότερη μορφή, λόγω σχεδόν πλήρους ανεπάρκειας του vWF, με φαινότυπο που προσομοιάζει με την σοβαρή αιμορροφιλία A. [148]

Οι ανεπάρκειες άλλων παραγόντων μπορεί να εκδηλώσουν συμπτώματα στη νεογνική περίοδο, όμως είναι σπάνιες και η διάγνωση απαιτεί υψηλή κλινική υποψία. Η ανεπάρκεια του FXIII, συνήθως προβάλλει στην νεογνική ηλικία με όψιμη αιμορραγία από τον ομφάλιο λώρο και σπανιότερα με ενδοκράνια αιμορραγία. Οι χρόνοι PT, APTT είναι φυσιολογικοί, και απαιτείται υψηλή ευαισθητοποίηση για προσδιορισμό των επιπέδων του FXIII που θα οδηγήσει στη διάγνωση.

Η α2 αντιπλασμίνη και ο αναστολέας 1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου μειώνουν την δραστηριότητα της πλασμίνης και η ανεπάρκεια τους είναι πολύ σπάνια, ωστόσο σε νεογνό με ανεξήγητη αιμορραγία με φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων και φυσιολογικούς τους χρόνους PT και APTT, θα πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στις πιθανές διαγνώσεις. [148]

Η ανεπάρκεια του ινωδογόνου και των FII, FV, FX προκαλούν παράταση στους χρόνους PT και APTT. [149]

Η ανεπάρκεια του FVII είναι σπάνια διαταραχή με ποικίλες εκδηλώσεις και πάνω από 250 μεταλλάξεις. [150]

Τα νεογνά παρουσιάζουν αυτόματες αιμορραγίες, από τις πρώτες μέρες ζωής, κυμαινόμενες από επίσταξη και αιμορραγία των ούλων έως αιματώματα, αίμαρθρα, και απειλητικές για τη ζωή εγκεφαλικές αιμορραγίες ή αιμορραγίες από το πεπτικό σύστημα. [151] Προκαλείται παράταση του PT και η διάγνωση τίθεται με τα χαμηλά επίπεδα του FVII. [152]

Οι ενδοκράνιες αιμορραγίες αποτελούν εκδήλωση των ανεπαρκειών των παραγόντων

πήξης, έτσι ώστε σε κάθε νεογνό, στο οποίο συμβαίνει ανεξήγητη ενδοκράνια αιμορραγία, ενδείκνυται να γίνει έλεγχος για κληρονομική διαταραχή της πήξης.

Ο σοβαρός κίνδυνος για εκδήλωση εγκεφαλικής αιμορραγίας επιβάλλει την άμεση έναρξη προφυλακτικής θεραπείας, μόλις τεθεί η διάγνωση της ανεπάρκειας του FXIII όπως και των σοβαρών ανεπαρκειών των FVII και FX.[141, 153]

### **Συγγενείς αγγειακές δυσπλασίες**

Τα αιμαγγειώματα και οι αγγειακές δυσπλασίες αποτελούν αιτία αυξημένου κινδύνου αιμορραγίας για τα νεογνά, είτε σαν αποτέλεσμα ιστικής βλάβης και ρήξης, είτε σαν συνέπεια εγκλωβισμού αιμοπεταλίων, γεγονός που οδηγεί σε διαταραχή της αιμοστατικής ισορροπίας και θρόμβωση μέσα στην δυσπλασία είτε σε δευτερογενείς αιμορραγίες. Το σύνδρομο Kasabach– Merritt, το οποίο σχετίζεται με το 70% των αιμαγγειοενδοθηλιωμάτων τύπου Kaposi, είναι μια σπάνια διαταραχή της πηκτικότητας, αποτέλεσμα της κατανάλωσης αιμοπεταλίων και ινωδογόνου, που προκαλείται από τον εγκλωβισμό αιμοπεταλίων και την κατανάλωση ινωδογόνου τοπικά μέσα στον σώμα ενός αγγειακού όγκου. Οι μεταγγίσεις αιμοπεταλίων βοηθούν στην αντιμετώπιση αιμορραγίας σχετιζόμενης με χειρουργική επέμβαση, διαφορετικά ενέχουν τον κίνδυνο περαιτέρω εγκλωβισμού αιμοπεταλίων και αύξησης του μεγέθους του όγκου και ενδείκνυται να αποφεύγονται. Η χορήγηση ηπαρίνης πρέπει να αποφεύγεται λόγω του κινδύνου ανευρυσμάτων και αιμορραγίας στον όγκο.[154]

#### **4.1.2. Επίκτητες αιμορραγικές διαταραχές**

##### **Ανεπάρκεια βιταμίνης K**

Η προφυλακτική χορήγηση βιταμίνης K μετά τον τοκετό έχει οδηγήσει σε σχεδόν εξάλειψη της επίπτωσης της αιμορραγικής νόσου του νεογνού, δυνητικά θανατηφόρου διαταραχής, που σήμερα είναι σπάνια.

Η ανεπάρκεια της βιταμίνης K στο νεογνό προκαλεί την αιμορραγική νόσο του νεογνού,

η οποία οφείλεται στην ανεπάρκεια των εξαρτώμενων από την βιταμίνη Κ παραγόντων πήξεως II, VII, IX, X και των πρωτεϊνών C, S . Εκδηλώνεται με αιμορραγίες από την μύτη, τον ομφαλό, το δέρμα, το ουροποιητικό, το πεπτικό και τα σημεία φλεβοκεντήσεων. Σημαντικότερες εκδηλώσεις είναι οι ενδοκράνιες αιμορραγίες καθώς και οι πνευμονικές και μαζικές αιμορραγίες του πεπτικού. [155] Διακρίνεται σε πρώιμη, κλασσική και όψιμη μορφή.

Η πρώιμη εκδηλώνεται το πρώτο 24ωρο σε νεογνά μητέρων που κατά την εγκυμοσύνη έπαιρναν φάρμακα ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ, όπως βαρφαρίνη, φαινυτοΐνη, ισονιαζΐδη, ριφαμπικΐνη.

Τα αποθέματα της βιταμίνης Κ στο νεογνό είναι χαμηλά στην γέννηση και η περιεκτικότητα του μητρικού γάλακτος σε Κ είναι μικρή, έτσι η επιτυχής εφαρμογή του μητρικού θηλασμού είναι σημαντική για την επάρκεια της βιταμίνης Κ. [156]

Η κλασσική μορφή εκδηλώνεται μεταξύ 2 ης και 7ης μέρας ζωής και η όψιμη μεταξύ 8 ημερών και 6 μηνών, αφορούν σε θηλάζοντα βρέφη κυρίως, ενώ η όψιμη συσχετίζεται και με δυσαπορρόφηση. Πολλές φορές η πρώτη εκδήλωση είναι εγκεφαλική αιμορραγία με σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα. [157]

Η σχεδόν καθολικά εφαρμοζόμενη ενδομυϊκή χορήγηση βιταμίνης Κ μετά την γέννηση έχει σχεδόν εξαφανίσει την νόσο, ωστόσο ο αυξανόμενος αριθμός των γονέων που δεν συγκατατίθενται στην προφυλακτική χορήγηση, έχει οδηγήσει στην εμφάνιση σποραδικών περιστατικών. Εναλλακτικά στην ενδομυϊκή χορήγηση, εφαρμόζεται η από του στόματος χορήγηση σε σχήμα πολλαπλών δόσεων, με υφιστάμενες αμφιβολίες ωστόσο για την αποτελεσματικότητα της απορρόφησης και την συμμόρφωση.

Νεογνό με ανεξήγητη αιμορραγία και σημαντικά παρατεταμένο τον χρόνο PT, φυσιολογικό ινωδογόνο και αιμοπετάλια είναι ύποπτο για ανεπάρκεια βιτ Κ. Διόρθωση της έλλειψης γίνεται με ενδοφλέβια χορήγηση βιτ. Κ, αλλά εάν υπάρχει αιμορραγία, πρέπει να χορηγηθεί και FFP άμεσα, προκειμένου να αποφευχθεί η εκδήλωση εγκεφαλικής αιμορραγίας, δεδομένου ότι η δράση της βιταμίνης Κ γίνεται εμφανής μετά από λίγες ώρες.[156]

## Ενδοκοιλιακή αιμορραγία (IVH)

Οι ενδοκοιλιακές αιμορραγίες είναι από τις σοβαρότερες επιπλοκές της προωρότητας στην κρίσιμη περίοδο της ανάπτυξης του εγκεφάλου, επηρεάζουν τη νεογνική θνησιμότητα και νοσηρότητα και συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο νευροαναπτυξιακών προβλημάτων. Η επίπτωσή τους στα πολύ πρόωρα και εξαιρετικά πρόωρα νεογνά παραμένει υψηλή, με συχνότητα αντιστρόφως ανάλογη με την ηλικία κύησης και το βάρος γέννησης. Πλήττουν 15%-25% των προώρων ηλικίας κύησης <32 και <28 εβδομάδων αντίστοιχα, στην πρώτη εβδομάδα ζωής. [158]

Η πρωτοπαθής βλάβη εντοπίζεται στην ανώριμη, αγγειοβριθή περιοχή της βλαστικής στοιβάδας στο πλάγιο κοιλιακό τοίχωμα και επηρεάζεται από αγγειακούς, ενδαγγειακούς και εξωαγγειακούς παράγοντες, προγεννητικούς και περιγεννητικούς που επηρεάζουν την εγκεφαλική αιματική ροή στο πρόωρο νεογνό και προκαλούν αιμορραγία. Η μικρή αιμορραγία παραμένει υποεπενδυματικά, μετά από ρήξη του επενδύματος όμως στην πλάγια κοιλία, μπορεί να επεκταθεί ενδοκοιλιακά. Σε 15% περίπου των ενδοκοιλιακών αιμορραγιών παρατηρείται και παρεγχυματική βλάβη, που παλαιότερα αποδιδόταν σε επέκταση της αιμορραγίας στο παρέγχυμα, σήμερα συσχετίζεται περισσότερο με την ύπαρξη φλεβικού εμφράκτου. [159]

Από αιματολογική σκοπιά, σε μελέτη σε 116 πρόωρα με μέση ηλικία κύησης 27 εβδομάδες, με παρατεταμένους συμβατούς με την προωρότητα, τους χρόνους PT και APTT, σε σχέση με τελειόμηνα, η παράταση αυτή δεν αποδείχτηκε να έχει συσχέτιση με αύξηση της IVH. [134]

Η προφυλακτική χορήγηση πλάσματος για πρόληψη της IVH δεν έχει αποδειχτεί ότι προσφέρει και δεν προτείνεται. [160]

Αναφορικά με τα αιμοπετάλια, υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση στις πρακτικές μετάγγισης αιμοπεταλίων, μεταξύ των διαφόρων κέντρων, πάντως η προφυλακτική χορήγηση τους σε πρόωρα για πρόληψη της IVH, δεν έχει αποδειχτεί ότι ωφελεί και δεν προτείνεται. [161, 162] [113]

Οι τρέχουσες ενδείξεις συνηγορούν υπέρ αυξημένου κινδύνου θνητότητας και σοβαρής αιμορραγίας μετά από προφυλακτική χορήγηση αιμοπεταλίων σε πρόωρα νεογνά με αριθμό αιμοπεταλίων 50.000/μL συγκριτικά με μετάγγιση με όριο τα 25.000/μL,

αναδεικνύοντας την σημασία επαναπροσδιορισμού της αναγκαιότητας και των πρακτικών προφυλακτικής χορήγησης αιμοπεταλίων. [163]

### **Πνευμονική αιμορραγία**

Η πνευμονική αιμορραγία συμβαίνει σε 3-5% των πρόωρων νεογνών σε μηχανικό αερισμό και σε έως 8.6% των εξαιρετικά πρόωρων (23-24 εβδομάδες κύησης). Παράγοντες κινδύνου είναι: ενδομήτρια ανάπτυξη κάτω από την 10η Ε.Θ, περιγεννητικό stress, σηψαιμία, ανοικτός βοτάλλειος, σοβαρό σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας του νεογνού (RDS). Συμβαίνει συνήθως τις πρώτες 2 ημέρες και έχει αυξημένη θνητότητα.[164] Συχνά στα νεογνά με πνευμονική αιμορραγία χορηγούνται μεταγγίσεις πλάσματος ή και αιμοπεταλίων είτε εμπειρικά, στο πλαίσιο ενεργού αιμορραγίας, είτε βάσει των εργαστηριακών ευρημάτων θρομβοπενίας, ή των παρατεταμένων χρόνων πήξης, χωρίς ωστόσο να είναι βέβαιη η υπαιτιότητα αυτών των παραγόντων στην πρόκληση της αιμορραγίας.

### **Διάχυτη Ενδαγγειακή Πήξη**

Η Διάχυτη Ενδαγγειακή Πήξη (ΔΕΠ) αποτελεί σχετικά συχνό πρόβλημα στα πάσχοντα νεογνά. Συσχετίζεται με διάφορους παράγοντες:

-προγεννητικούς, όπως αποκόλληση πλακούντα, προεκλαμψία  
-σχετικούς με το νεογνό όπως λοίμωξη, σηψαιμία, περιγεννητική ασφυξία, οξέωση, RDS, νεκρωτική εντεροκολίτιδα, εισρόφηση μηκωνίου, υποθερμία, ομόζυγη ανεπάρκεια πρωτεϊνών C και S, θρόμβωση, γιγαντιαίο αιμαγγείωμα, κακοήθεια. [165] Αν και αντιμετωπίζεται σαν διαταραχή της αιμόστασης, είναι μια σύνθετη διαδικασία που περιλαμβάνει ενεργοποίηση και απορρύθμιση τόσο του αιμοστατικού συστήματος όσο και των μηχανισμών φλεγμονής.[166]

Η ΔΕΠ χαρακτηρίζεται από εκσεσημασμένη ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού, που καταλήγει σε πρόκληση αιμορραγίας και θρομβώσεων και μπορεί να καταλήξει γρήγορα σε απειλητική για τη ζωή πολυοργανική ανεπάρκεια. Η ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού γίνεται διάχυτα και καταλήγει σε κατανάλωση των παραγόντων

πήξεως και των αιμοπεταλίων, και αν δεν αντιμετωπιστεί, μαζική παραγωγή θρομβίνης και ευρεία εναπόθεση ινώδους στην μικροκυκλοφορία, προκαλώντας αιμορραγική διάθεση και θρομβώσεις στα μικρά αιμοφόρα αγγεία και συχνά ανεπάρκεια ή δυσλειτουργία οργάνων. Η έγκαιρη διάγνωση, η ανίχνευση και αντιμετώπιση της υποκείμενης αιτίας είναι κριτικής σημασίας για την έκβαση. Η θνητότητα είναι μεγάλη. Η εργαστηριακή διάγνωση βασίζεται στον συνδυασμό θρομβοπενίας, παρατεταμένων χρόνων PT, APTT, ελαττωμένου ινωδογόνου και αυξημένων D-dimers.

Όταν ο αιμοστατικός μηχανισμός λειτουργεί υπό φυσιολογικές συνθήκες, ο σχηματισμός και η διάλυση του θρόμβου έχουν απόλυτα εξισορροπημένη αλληλεπίδραση. Στη ΔΕΠ, η ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης συμβαίνει δευτεροπαθώς σε κάποια υποκείμενη αιτία, η οποία μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο ενδοθήλιο και έκθεση στους προπηκτικούς παράγοντες με παραγωγή θρομβίνης και δευτεροπαθή ενεργοποίηση του μηχανισμού της ινωδολύσης. [167]

Η παθογένεση της ΔΕΠ συνοψίζεται ως εξής:

*-Ενδαγγειακή ενεργοποίηση της πήξης* –Η ιστική βλάβη από την επίδραση της υποκείμενης αιτίας απελευθερώνει προπηκτικούς παράγοντες στην κυκλοφορία και γίνεται ενδαγγειακή ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού. Στους παράγοντες με προπηκτική δράση περιλαμβάνονται λιποπολυσακχαρίδες των βακτηρίων, φωσφολιπίδια από βλάβη στο αγγειακό ενδοθήλιο, ουδετεροφιλικά δίκτυα χρωματίνης (NET), τα οποία εκφράζουν λειτουργικό ιστικό παράγοντα.

*-Σχηματισμός ινώδους στην κυκλοφορία*–Η ενεργοποίηση της αιμόστασης γίνεται κυρίως μέσω της αλληλεπίδρασης του ιστικού παράγοντα και του FVII, παράγεται θρομβίνη και τελικά ινώδες που εναποτίθεται στην μικροκυκλοφορία.

*-Ινωδολύση* –ο σχηματισμός ινώδους ενεργοποιεί τον ινωδολυτικό μηχανισμό, ώστε η πλασμίνη διασπά το ινωδογόνο και το ινώδες σχηματίζοντας προϊόντα αποδόμησης (FDPs, D-dimers). Τα FDPs παρεμβαίνουν στον πολυμερισμό του ινώδους και στην σύνδεση του ινωδογόνου στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων εμποδίζοντας την συσσώρευση τους.



*-Κατανάλωση των παραγόντων πήξης και αιμοπεταλίων-* η ευρεία ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης και η εναπόθεση του ινώδους προκαλούν κατανάλωση των παραγόντων πήξης και των αιμοπεταλίων.

*-Αιμόλυση-* ο σχηματισμός ινώδους ενδαγγειακά προκαλεί μηχανική διάτμηση στα ερυθρά και μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία.

*-Βλάβη οργάνων-* η εναπόθεση ινώδους στην μικροκυκλοφορία και ο σχηματισμός μικροθρόμβων προκαλούν ιστική ισχαιμία, δυσλειτουργία και βλάβη οργάνων.[168]

Η κλινική εικόνα εξαρτάται από την βαρύτητα της ΔΕΠ. Στις ήπιες περιπτώσεις αιμορραγία μπορεί να συμβαίνει στα σημεία φλεβοκέντησης, ενώ στις σοβαρότερες μορφές μπορεί να συμβαίνει εκτεταμένη αιμορραγία και θρομβώσεις με βλάβη των τελικών οργάνων, όπως οι νεφροί, το ήπαρ, οι πνεύμονες, τα άκρα και το Κ.Ν.Σ.

Η αιμορραγία είναι η συνηθέστερη εκδήλωση, ακολουθούμενη από την πορφύρα στο δέρμα και την γάγγραινα στα άκρα.

Στα νεογνά οι συνηθέστερες εστίες αιμορραγίας είναι τα σημεία φλεβοκέντησης και το γαστρεντερικό σύστημα.

ΔΕΠ μπορεί επίσης να προκληθεί από συνεχή έκθεση σε μικρές ποσότητες προπηκτικών παραγόντων σε χρόνια μορφή, όπως συμβαίνει με τις κακοήθειες. Σ'αυτή την χρόνια μορφή ΔΕΠ αντιρροπείται η κατανάλωση των παραγόντων και προέχει κλινικά η θρόμβωση της αιμορραγίας.

### **ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ**

Η κατανάλωση αιμοπεταλίων και παραγόντων πήξης, η αυξημένη παραγωγή ινώδους, η αυξημένη ινωδολύση είναι οι παθολογικές διαδικασίες που καθορίζουν τα εργαστηριακά ευρήματα στην ΔΕΠ. Η εργαστηριακή διάγνωση βασίζεται στον συνδυασμό θρομβοπενίας, παρατεταμένων χρόνων ΡΤ, ΑΡΤΤ, ελαττωμένου ινωδογόνου και αυξημένων D-dimers.

**-Στην γενική αίματος :** θρομβοπενία (αριθμός αιμοπεταλίων  $<100000/\mu\text{L}$ ) σύνηθες εύρημα στην ΔΕΠ. Καθοδική τάση σε διαδοχικές μετρήσεις είναι ευαίσθητος αλλά όχι ειδικός δείκτης υπέρ της ΔΕΠ.[169] Η θρομβοπενία μπορεί να είναι πρόωμη εκδήλωση της ΔΕΠ, αποτελεί όμως συχνό αιματολογικό εύρημα στη νεογνική περίοδο, και ανεξάρτητα από την ύπαρξη ΔΕΠ. Εμφανίζεται σε έως 22%-35% των νοσηλευόμενων στις μονάδες νεογνών και είναι σοβαρού βαθμού στο 20% περίπου. [170]

**-Στο περιφερικό επίχρισμα αίματος** μπορεί να υπάρχουν ευρήματα μικροαγγειοπαθητικής αιμολυτικής αναιμίας με σχιστοκύτταρα και μεγάλα αιμοπετάλια ενδεικτικά καταστροφικής διαδικασίας.

**-Παρατεταμένοι χρόνοι πήξης** PT, APTT και ελάττωση των επιπέδων των FV, FVIII Μερικοί ασθενείς με ΔΕΠ μπορεί να έχουν φυσιολογικούς PT, APTT γεγονός που συσχετίζεται με επαρκή ακόμη αντιρρόπιση, ή κυκλοφορούντες ενεργοποιημένους παράγοντες όπως η θρομβίνη και ο FXa.

**-Μειωση ινωδογόνου:** Τα χαμηλά επίπεδα ινωδογόνου, είναι συμβατά με την διάγνωση της ΔΕΠ, λόγω της κατανάλωσης του στον σχηματισμό του ινώδους. Ωστόσο το ινωδογόνο ως πρωτεΐνη οξείας φάσης, δεν είναι ευαίσθητος δείκτης για τη ΔΕΠ, δεδομένου ότι, μπορεί, και με τιμές εντός φυσιολογικών ορίων, να είναι στην πραγματικότητα μειωμένο εφόσον η υποκείμενη νόσος προκαλεί αύξηση των επιπέδων του, τα οποία θα όφειλαν να είναι υψηλότερα.

**-Χρόνος θρομβίνης:** Παράτασή του επί χαμηλής συγκέντρωσης ινωδογόνου. Τα FDPs επίσης παρεμβαίνουν στον σχηματισμό του ινώδους, παρατείνοντας τον χρόνο θρομβίνης.

### **-Ινωδόλυση**

Η ινωδόλυση είναι χαρακτηριστικό εύρημα που υποστηρίζει τη διάγνωση της ΔΕΠ. Καθορίζεται από την αύξηση των D-dimers που προκύπτουν από την διάσπαση του ινώδους από την πλασμίνη και αποτελούν από τις πλέον αξιόπιστες δοκιμασίες.[171] Η αύξηση των FDPs οφείλεται στην δράση της πλασμίνης στο ινώδες και το ινωδογόνο. Υπάρχουν στο 85% των ασθενών με ΔΕΠ, αλλά δεν είναι ειδικά καθώς βρίσκονται και σε ασθενείς με νεκρωτική εντεροκολίτιδα ή άλλες θρομβωτικές καταστάσεις πέραν της ΔΕΠ. Η ΔΕΠ επίσης χαρακτηρίζεται από μείωση της αντιθρομβίνης και των πρωτεϊνών

C και S. Στα νεογνά με σήψη τα χαμηλά επίπεδα πρωτεΐνης C είναι δείκτης κακής πρόγνωσης.[172] Άλλες εξετάσεις ενδεικτικές ΔΕΠ περιλαμβάνουν δείκτες ενεργοποίησης προπηκτικών παραγόντων όπως η μέτρηση του τμήματος προθρομβίνης 1 και 2, του συμπλέγματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης, ή δεικτών ινωδόλυσης όπως των επιπέδων πλασμίνης και των συμπλεγμάτων πλασμίνης-αντιπλασμίνης, αλλά οι μετρήσεις αυτές δεν γίνονται στα συνήθη εργαστήρια και δεν έχουν ευρεία εφαρμογή στην κλινική πράξη.

Τα D-dimers ως δείκτες ινωδόλυσης είναι τα πλέον χρησιμοποιούμενα. Ωστόσο τα πρόωρα έχουν χαμηλή συγκέντρωση ινωδογόνου και αυξημένα D-dimers, χωρίς την ύπαρξη ΔΕΠ, έτσι είναι περιορισμένη η αξία τους για την διάγνωση της ΔΕΠ σαυτό τον πληθυσμό. Τα επίπεδα των FV, FVIII είναι χρήσιμα στην διάκριση της ΔΕΠ από την διαταραχή της πηκτικότητας που οφείλεται σε ηπατοπάθεια, αφού τα ενδοθηλιακά κύτταρα του ήπατος είναι η κύρια εστία παραγωγής του FVIII παρά τα ηπατοκύτταρα [173], ώστε είναι χαμηλός στην ΔΕΠ και φυσιολογικός ή αυξημένος σε νόσο του ήπατος.[174]

Η διάγνωση της ΔΕΠ ιδίως στα αρχικά στάδια συχνά δεν είναι εύκολη. Οι ασθενείς πιθανόν να μην έχουν παθολογικές όλες τις εργαστηριακές εξετάσεις, ενώ δεν υπάρχει κάποια δοκιμασία με τέτοια ευαισθησία και ειδικότητα παθογνωμονική για την διάγνωση. Οι ιδιαιτερότητες και περιορισμοί αναφορικά με τον έλεγχο πήξης στα νεογνά, επιβάλλουν η αξιολόγηση του πηκτικού ελέγχου, να γίνεται αναφορικά με την ηλικία. Η ύπαρξη παθολογικής κατάστασης ως προδιαθεσικού παράγοντα σε συνδυασμό με κλινικά χαρακτηριστικά όπως αιμορραγίες ή/και μικροθρομβώσεις και παθολογικές δοκιμασίες πήξης, θετικός έλεγχος ινωδόλυσης, στοιχειοθετούν την διάγνωση. Είναι σημαντικό να εντοπιστεί η παθολογική κατάσταση που πυροδότησε την ΔΕΠ, ώστε με την θεραπευτική παρέμβαση, να λυθεί ο εκλυτικός παράγων, και να βελτιωθεί η εικόνα της, όταν δεν είναι ακόμη στο στάδιο της πλήρους αποδιοργάνωσης. [141]

## 4.2. Θρομβωτικές διαταραχές στο νεογνό

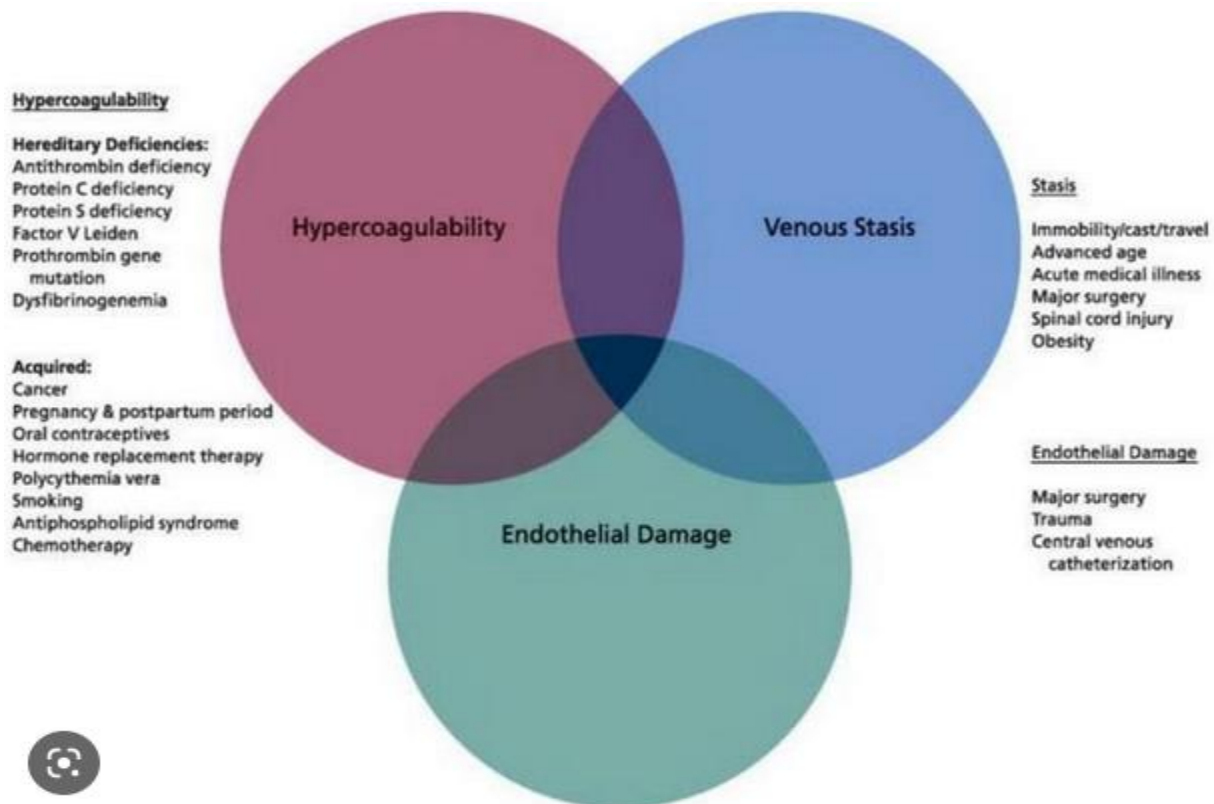
Η πρόοδος στην φροντίδα των πρόωρων νεογνών έχει συντελέσει στην δυνατότητα νοσηλείας στις μονάδες εντατικής νοσηλείας νεογνών, πρόωρων εξαιρετικά μικρών, ηλικίας κύησης από 22-23 εβδομάδων. Οι ανάγκες νοσηλείας των μικρών και άρρωστων νεογνών, καθορίζουν και την αύξηση της χρήσης κεντρικών καθετήρων, φλεβικών και αρτηριακών. Με το 15% των εισαγόμενων νεογνών στις μονάδες και το 50% εκείνων με Β.Γ.<1000γρ να χρειάζονται ομφαλικούς φλεβικούς καθετήρες (6) και με την αυξανόμενη ανάγκη για αρτηριακούς ομφαλικούς καθετήρες και άλλες αρτηριακές γραμμές, δεν αποτελεί έκπληξη ότι αυξάνεται η επίπτωση των φλεβικών και αρτηριακών θρομβωτικών επεισοδίων στον νεογνικό πληθυσμό. Παρά την αύξηση αυτή τα θρομβωτικά επεισόδια στα νεογνά δεν είναι κοινά, αλλά ούτε και αποτελούν πλέον σπάνια εκδήλωση, και συνιστούν μάλιστα σημαντικό παράγοντα νοσηρότητας και θνησιμότητας για τον νοσηλευόμενο νεογνικό πληθυσμό. Περίπου 2%-4% των νεογνών με θρόμβωση πεθαίνουν εξαιτίας του θρομβωτικού συμβάματος, ενώ η θνησιμότητα στα νεογνά με θρόμβωση σε μελέτες ανέρχεται σε έως και 33%. [175]

Η συνολική επίπτωση της θρόμβωσης στα νοσηλευόμενα νεογνά στις μονάδες εντατικής νοσηλείας, σε διάφορες μελέτες αναφέρεται από 3 έως 24/10000 εισαγωγές. Συσχετίζεται με την πρώιμη προωρότητα, τους επεμβατικούς χειρισμούς, συγγενείς καρδιοπάθειες, εξάρτηση από τον αναπνευστήρα, τοποθέτηση κεντρικών καθετήρων με τα μικρότερα και περισσότερο πάσχοντα νεογνά, να έχουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο. Τα νεογνά σε σχέση με τον υπόλοιπο παιδιατρικό πληθυσμό, έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο για θρόμβωση μετά από επεμβατικές διαδικασίες, όπως ο καθετηριασμός καρδιάς καθώς και μετά από μεταμόσχευση ήπατος. [176]

Βλάβες σε όργανα και κίνδυνος για την ακεραιότητα των άκρων συσχετίζονται με πνευμονική εμβολή, θρόμβωση μηριαίας αρτηρίας, θρόμβωση της πυλαίας, θρόμβωση της νεφρικής φλέβας, θρόμβωση της ηπατικής αρτηρίας, και θρομβώσεις στους κόλπους.[177] Η θρόμβωση η σχετιζόμενη με κεντρικούς καθετήρες αποτελεί την πλειονότητα των θρομβωτικών επεισοδίων στην νεογνική περίοδο, με αναφερόμενα ποσοστά επίπτωσης σε διάφορες μελέτες από 1% έως και 65%. [178]. Η συνεχής

έγχυση διαλύματος ηπαρίνης για την διατήρηση της βατότητας των κεντρικών γραμμών αποτελεί καθιερωμένη πρακτική, αλλά τα αποτελέσματα της στην θρομβωτική δυναμική παραμένουν ασαφή. [179] Πάντως η επιμελής φροντίδα των κεντρικών γραμμών και τα επικαιροποιημένα πρωτόκολλα τοποθέτησης, έχουν συμβάλει στην μείωση της επίπτωσης των θρομβώσεων των σχετικών με τις κεντρικές γραμμές. [180]

Οι ιδιαιτερότητες του αιμοστατικού συστήματος στα νεογνά, που αφορούν στην αιμοπεταλιακή λειτουργία, τις συγκεντρώσεις προ-και αντιπηκτικών πρωτεϊνών, καθώς και των παραγόντων του ινωδολυτικού συστήματος, επιτυγχάνουν μια μοναδική για την νεογνική περίοδο αιμοστατική ισορροπία. Η κλινική εικόνα του σοβαρά πάσχοντος νεογνού σε συνδυασμό με τις φυσιολογικές διαφορές στον αιμοστατικό μηχανισμό πληρούν εύκολα τα κριτήρια της τριάδας του Virchow, με την φλεβική στάση, την υπερπηκτικότητα και την βλάβη στο ενδοθήλιο να διαμορφώνουν τον αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη θρομβώσεων στον νεογνικό πληθυσμό.



Εικ.20. Virchow' τριάδα (<https://pin.it/KhUnKk5> Etiopatogenia: Trombosis Venosa Profunda).

Οι κεντρικές γραμμές και οι χειρουργικές επεμβάσεις αποτελούν παράγοντες κινδύνου πιθανόν μέσω της ενεργοποίησης του ενδοθηλίου από την βλάβη στο αγγείο και τους ιστούς, την αλλαγή στην αιματική ροή, την εισαγωγή ξένου σώματος. Επιπλέον τα βακτήρια διεισδύουν, εάν σχηματιστεί μία μεμβράνη ινώδους γύρω από τον καθετήρα, προκαλώντας επέκταση της φλεγμονώδους απάντησης και της αύξησης του θρόμβου.[181] Το μεγάλο εύρος των ομφαλικών φλεβικών καθετήρων, η έγχυση υπερωσμωτικών διαλυμάτων κυρίως της παρεντερικής διατροφής, το υλικό polyurethane/polyvinylchloride (PVC), η παρατεταμένη διατήρηση του καθετήρα, είναι παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο δημιουργίας θρόμβων. Για τους ομφαλικούς αρτηριακούς καθετήρες, το μικρό εύρος η έγχυση υπέρτονων διαλυμάτων και η παρουσία ασβεστίου στα υγρά έγχυσης, η χαμηλή τοποθέτηση και το υλικό PVC, όπως και η παρατεταμένη διατήρηση, είναι επίσης παράγοντες κινδύνου για θρόμβωση. Η λοίμωξη, η αφυδάτωση, η πολυκυτταραιμία, η υποξία, οι διαταραχές της αρτηριακής πίεσης, η προεκλαμψία, ο σακχαρώδης διαβήτης, η χοριοαμνιονίτιδα της μητέρας, συγκαταλέγονται στους παράγοντες κινδύνου. Επίσης γενετικοί πολυμορφισμοί γονιδίων της αιμόστασης (factor XIII- Val34Leu polymorphism, PAI-1 mutation gene 4G/5G polymorphism) έχουν συσχετιστεί με αύξημένο κίνδυνο σηψαιμίας και παράταση της νοσηλείας, προδιαθέτοντας έτσι έμμεσα στην θρομβογένεση των πασχόντων πρόωρων νεογνών. [182]

Η δυναμική των θρομβοφιλικών διαταραχών στην πρόκληση θρομβώσεων στα νεογνά έχει αποτελέσει πεδίο αντιγνωμιών. Μερικοί προτείνουν εκτεταμένο έλεγχο των νεογνών με θρόμβωση με διενέργεια εξετάσεων σύμφωνα με αλγοριθμικό πρωτόκολλο [183], ενώ κατά άλλους έλεγχος συνιστάται στις περιπτώσεις κλινικά σημαντικών θρομβωτικών επεισοδίων, ιδιαίτερος αν συμβούν αυτόματα ή είναι εκτεταμένα, ή επί θετικού οικογενειακού ιστορικού νεογνικής κεραυνοβόλου πορφύρας. [138]

Η παρουσία ισχαιμικών δερματικών βλαβών ωστόσο, ή εκτεταμένης θρόμβωσης χωρίς προδιαθεσικούς παράγοντες, αποτελεί για όλους ένδειξη άμεσου ελέγχου για ομόζυγη ή διπλή ετεροζυγωτία ανεπάρκειας PC η σπανιότερα PS. Σε αυτές τις περιπτώσεις θρομβοεμβολικά επεισόδια εμφανίζονται αμέσως μετά την γέννηση, με θρομβώσεις της

πυλαίας, της μεσεντερίου, των νεφρικών φλεβών, των εγκεφαλικών φλεβών και της οφθαλμικής φλέβας. Η κεραυνοβόλος νεογνική πορφύρα είναι οξύ, δυνητικά θανατηφόρο σύνδρομο, που εκδηλώνεται στους ομοζυγώτες έλλειψης των PC, PS, με ταχέως εξελισσόμενες δερματικές αγγειακές θρομβώσεις που προκαλούν δερματικές νεκρώσεις σε διάφορα σημεία όπως η κοιλιά, οι γλουτοί, το όσχεο, το τριχωτό της κεφαλής, και διάχυτη ενδαγγειακή πήξη. Απαιτείται επείγουσα θεραπευτική αντιμετώπιση με FFP ή συμπυκνώματα PC και αντιπηκτική αγωγή με ηπαρίνη και ακολούθως συντηρητική αγωγή με ανταγωνιστές της βιταμίνης K και υποκατάστατα της πρωτεΐνης C. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι θρόμβωση του αμφιβληστροειδούς και αιμορραγία, μπορεί να συμβούν ενδομήτρια, οδηγώντας σε τύφλωση το νεογνό. Το γεγονός ότι η θρόμβωση συμβαίνει προς το τέλος της κύησης έχει συσχετισθεί με την πιθανότητα διαπλακουντιακής μεταφοράς πρωτεΐνης C, που είναι μια σχετικά μικρή πρωτεΐνη, από την μητέρα στο έμβρυο και είναι ενδεικτικό της ιδιαίτερης σημασίας της προγεννητικής αντιμετώπισης της εγκύου που κυοφορεί έμβρυο με υψηλή πιθανότητα ομοζυγωτίας της ανεπάρκειας της πρωτεΐνης C. [184]

Άλλοι παράγοντες θρομβοφιλίας όπως η ανεπάρκεια της αντιθρομβίνης III, η μετάλλαξη της προθρομβίνης G20210A, εκδηλώνονται σπάνια στην νεογνική περίοδο. Η ανεπάρκεια του παράγοντα V (Leiden), αποτελεί την πιο κοινή αιτία κληρονομικής θρομβοφιλίας, συσχετίζεται με εν τω βάθει θρομβοφλεβίτιδες, θρομβώσεις των εγκεφαλικών αγγείων και επιπλοκές της κύησης με καθ' ἑξιν αποβολές. Αν και δεν εκδηλώνεται συχνά στην νεογνική περίοδο συσχετίζεται με την εμφάνιση εγκεφαλικών εμφράκτων στα νεογνά. [185]

Όσον αφορά στην θρόμβωση της νεφρικής φλέβας, που είναι η πιο κοινή αιτία ιδιοπαθούς φλεβικής θρόμβωσης στο νεογνό, σε μελέτες η ύπαρξη θρομβοφιλικής διαταραχής αναφέρεται σε ποσοστό 53% έως και 63%. [186, 187] Αν και η αιτιολογική συσχέτιση των θρομβοφιλικών διαταραχών με την εκδήλωση θρομβωτικών επεισοδίων στο νεογνό παραμένει ασαφής, η εύρεση αυτών των διαταραχών σε αρκετά νεογνά με θρόμβωση, είναι ενδεικτική της πιθανότητας, η ύπαρξη κληρονομικής θρομβοφιλίας να διευκολύνει την ανατροπή της αιμοστατικής ισορροπίας στα πάσχοντα νεογνά προς

όφελος της θρομβογένεσης. Η διάγνωση τυχόν συνυπάρχουσας θρομβοφιλικής διαταραχής μπορεί να προσφέρει στην επιλογή και την διάρκεια της αντιθρομβωτικής αγωγής, στην πρόβλεψη της πρόγνωσης, την πιθανότητα επανεμφάνισης θρομβωτικών επεισοδίων μελλοντικά και την εκτίμηση της πιθανότητας χορήγησης θρομβοπροφυλακτικής αγωγής, στις περιόδους αυξημένου κινδύνου, καθώς και στην ενημέρωση των γονέων για πιθανό κίνδυνο επανεμφάνισης σε μελλοντική κύηση.

### **Αρτηριακό ισχαιμικό έμφρακτο**

Από τις θρομβωτικές διαταραχές αυξημένο κίνδυνο νευρολογικών ελλειμάτων ενέχει το αρτηριακό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Το αρτηριακό ισχαιμικό έμφρακτο καλύπτει περίπου το 80% των περιγεννητικών εγκεφαλικών συμβαμάτων, με το υπόλοιπο να καλύπτουν η θρόμβωση του φλεβώδους κόλπου και τα αιμορραγικά επεισόδια. Η αναφερόμενη επίπτωση των περιγεννητικών ισχαιμικών επεισοδίων στα νεογνά είναι περίπου 1 ανά 3500 γεννήσεις.[188] Η τυπική κατανομή αφορά στην μέση εγκεφαλική αρτηρία, συχνότερα στην αριστερή. Στους παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνονται οι καρδιοπάθειες οι διαταραχές της πήξης, η λοίμωξη, το τραύμα η ασφυξία, η θρομβοφιλία καθώς και μητρικοί παράγοντες όπως η προεκλαμψία, το ιστορικό θεραπείας υπογονιμότητας, η χοριοαμνιονίτιδα, οι διαταραχές της πηκτικότητας, ο επιπλεγμένος τοκετός. Συνήθως εκδηλώνεται με σπασμούς και πάρεση άκρου. [189] Μερικές φορές το αρτηριακό ισχαιμικό έμφρακτο προβάλλει με εικόνα εγκεφαλοπάθειας, πιθανόν επί υποξαιμικής ισχαιμικής βλάβης. [188] Νεογνά με προσβολή της πρόσθιας ή οπίσθιας εγκεφαλικής αρτηρίας μπορεί να είναι ασυμπτωματικά στην γέννηση, αλλά αργότερα παρουσιάζουν αναπτυξιακή καθυστέρηση, επιληψία, διαταραχές κινητικότητας. Η πλειοψηφία των νεογνών με αρτηριακό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο παρουσιάζουν νευρολογικές επιπλοκές, με ποσοστά εγκεφαλικής παράλυσης από μελέτες να αναφέρονται σε ποσοστά από 39% [190] έως 68%. [188] Ο έλεγχος για θρομβοφιλία στην νεογνική ηλικία έχει μικρή κλινική αξία, λόγω των χαμηλών επιπέδων των πρωτεϊνών C και S, της αντιθρομβίνης και του παράγοντα IX στα νεογνά. Η Μαγνητική απεικόνιση διάχυσης τις πρώτες ημέρες και η μαγνητική τομογραφία ενδείκνυνται για



την διάγνωση. Θρομβολυτικά σπάνια έχουν ένδειξη στα νεογνά ενώ η ενδοσκοπική θρομβεκτομή έχει τεχνικούς περιορισμούς. Η αντιπηκτική αγωγή με χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη ή μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη σπάνια ενδείκνυνται λόγω του μικρού κινδύνου υποτροπής, ωστόσο σε νεογνά με θρομβοφιλία ή συγγενή καρδιοπάθεια συστήνεται η χορήγηση.[188]

Η θρόμβωση των φλεβωδών κόλπων έχει αναφερόμενη επίπτωση στα παιδιά 0,6 ανά 100000 ανά έτος, με το 30%-50% των περιπτώσεων να αφορούν στα νεογνά. [191] Εκδηλώνεται με εικόνα εγκεφαλοπάθειας, λήθαργο, ευερεθιστότητα, σπασμούς.[192] Στους παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνονται επιπλοκές της κύησης και του τοκετού, αφυδάτωση, σηψαιμία, μηνιγγίτιδα, καρδιακές ανωμαλίες και διαταραχές της πήξης. Η χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής ποικίλλει στα διάφορα κέντρα. [193] [194, 195] Η έκβαση ποικίλλει· τα νεογνά με μεγάλα έμφρακτα και σπασμούς κατά τη διάγνωση έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο για σοβαρότερα νευρολογικά κατάλοιπα.[196]

Σε μελέτη του Moharir και συν. [197] σε 83 νεογνά με θρόμβωση φλεβωδών κόλπων, 35% των νεογνών έλαβαν αγωγή αντιπηκτική με ηπαρίνη ή χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη ή βαρφαρίνη. Σε 14% των νεογνών αυτών με προϋπάρχουσα ενδοκράνια αιμορραγία συνέβη επιδείνωση της αιμορραγίας, ενώ δεν κατεγράφη αιμορραγία σε κανένα από τα νεογνά στα οποία δεν προυπήρχε. Με την συνεχιζόμενη απεικονιστική παρακολούθηση σε 28% των νεογνών που δεν είχαν λάβει αγωγή και στο 4% όσων είχαν λάβει παρατηρήθηκε επέκταση της θρόμβωσης. Σε 10% των νεογνών με επέκταση της θρόμβωσης κατεγράφη νέο φλεβικό έμφρακτο και επιβάρυνση της έκβασης.[197] Τα κέντρα στα οποία δεν εφαρμόζεται συστηματικά η χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής με την διάγνωση, ένδειξη θεραπείας αποτελεί η επέκταση της θρόμβωσης ή η κλινική επιδείνωση. Η αντιμετώπιση των άμεσων, απειλητικών για την ζωή επιπλοκών, η πρόληψη των υποτροπών και των μακροπρόθεσμων επιπλοκών συνιστούν τους θεραπευτικούς στόχους, ωστόσο απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την εκτίμηση του κινδύνου εγκεφαλικής αιμορραγίας ιδιαίτερα στα εξαιρετικά πρόωρα νεογνά.[198]

## 5. ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ/ ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΜΕΤΡΙΑ

### 5.1. Η τεχνική της θρομβοελαστομετρίας

Η τρέχουσα επικρατούσα θεωρία για τον πηκτικό μηχανισμό, το κυτταρικό μοντέλο πήξης, που αντανακλά καλύτερα την in vivo εξέλιξη της αιμόστασης, περιλαμβάνει σημαντικές αντιδράσεις ανάμεσα στα κύτταρα που εμπλέκονται στον αιμοστατικό μηχανισμό και τους πηκτικούς πλασματικούς παράγοντες.[7] Οι κλασσικοί χρόνοι ελέγχου της πήξης, έχουν κάποιους περιορισμούς, όπως η αδυναμία πρόβλεψης του κινδύνου αιμορραγίας σε ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση, δεν παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την συμμετοχή των αιμοπεταλίων, του FXIII, και της πλασμίνης κατά τον σχηματισμό και την λύση του θρόμβου, ούτε για την υπερπηκτικότητα, ενώ ο απαιτούμενος χρόνος για την εκτέλεση τους δεν επιτρέπει μια γρήγορη αξιολόγηση του αιμοστατικού προφίλ του ασθενούς.[199-201]

Οι ιξωδοελαστικές μέθοδοι θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία (TEG/TEM), είναι σφαιρικές δοκιμασίες, που προσφέρουν ποσοτικές και ποιοτικές ενδείξεις της λειτουργίας του αιμοστατικού μηχανισμού παρά την κλίνη του ασθενούς. Παρέχουν δεδομένα αναφορικά με την δυναμική της ανάπτυξης και της λύσης του θρόμβου, συμπεριλαμβάνοντας τόσο τα συστατικά του πλάσματος όσο και τα κυτταρικά στοιχεία, που εμπλέκονται στην αιμόσταση.[199, 202, 203]

Η θρομβοελαστογραφία (TEG), περιεγράφη για πρώτη φορά το 1948 στο Πανεπιστήμιο της Χαιδελβέργης από τον Dr. Helmut Hartert. Δεν εφαρμόστηκε ωστόσο, έως τα μέσα της δεκαετίας του 1980, οπότε ο Dr. Kang και συν. την έφεραν στο προσκήνιο για ρύθμιση της πηκτικότητας σε μεταμοσχεύσεις ήπατος [204] και αργότερα εφαρμόστηκε και στην καρδιοχειρουργική. [205] Έκτοτε έχει αναδειχθεί η χρησιμότητά της σε αρκετά πεδία, όπως η αναισθησιολογία, η αντιμετώπιση στο χειρουργείο πολυτραυματιών ασθενών, η μαιευτική, η μεταγγισιοθεραπεία σε ασθενείς με σοβαρή αιμορραγία και διαταραχές της πηκτικότητας.[199, 206, 207]

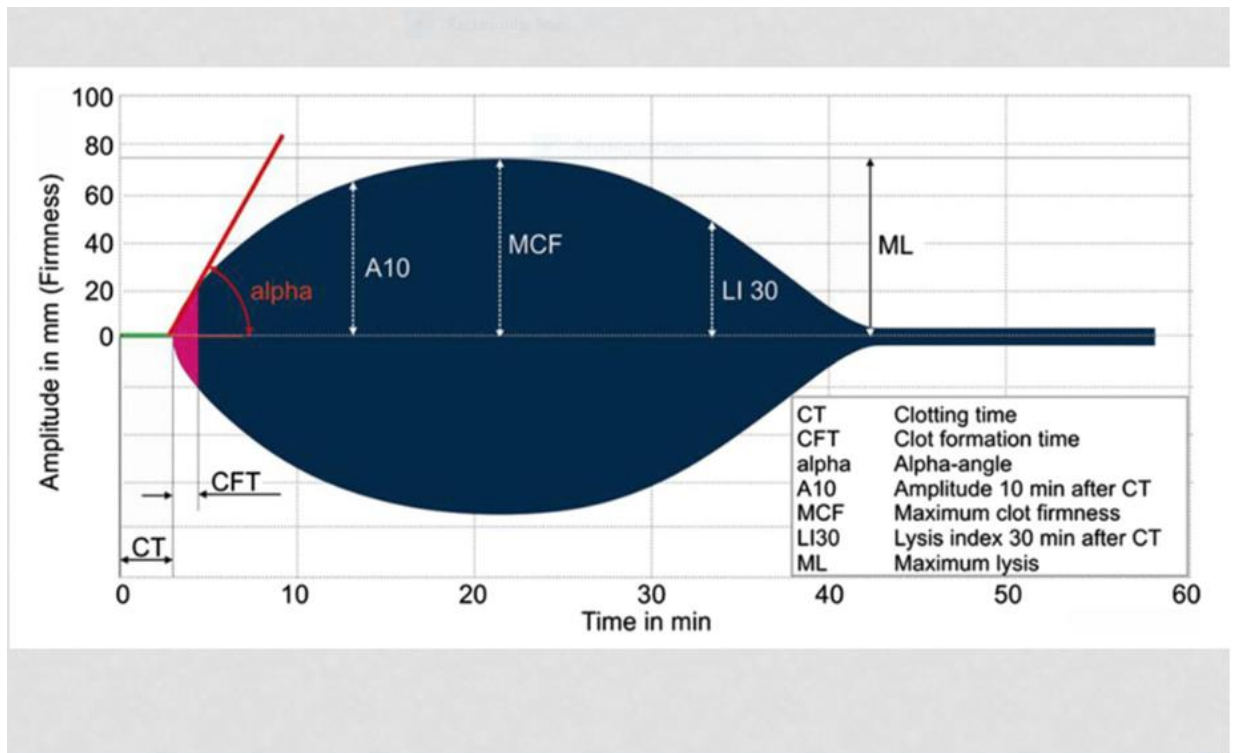
Η περιστροφική θρομβοελαστομετρία (ROTEM/TEM) (ROTEM® delta, Pentapharm GmbH, Munich, Germany) αποτελεί μετεξέλιξη της τεχνολογίας TEG. Επιτρέπει τη

δυναμική αξιολόγηση των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων του θρόμβου μέσω γραφικής αναπαράστασης σχηματισμού του θρόμβου, δημιουργίας θρομβίνης, πολυμερισμού του ινώδους και λύσης του θρόμβου. [208] Η ROTEM εκτελείται σε δείγμα ολικού αίματος, και εξυπηρετεί την διάγνωση και εκτίμηση της υποκείμενης διαταραχής της αιμόστασης στους ασθενείς με αιμορραγία, την ρύθμιση της στρατηγικής της μεταγγισιοθεραπείας, την εκτίμηση της υπερिनωδόλυσης και της υπερπηκτικότητας. Τα συστήματα θρομβοελαστομετρίας ROTEM® delta είναι σχεδιασμένα για διαγνωστική χρήση στο Σημείο Περίθαλψης [POC (Point of Care)], ή σε νοσοκομειακά εργαστήρια. Σήμερα η μέθοδος είναι αυτοματοποιημένη, και θεωρείται επαρκές όριο για την εκτίμηση του μηχανισμού της αιμόστασης, από την στιγμή της λήψης του δείγματος, η επεξεργασία να γίνει σε διάστημα 30-90 min, και η λειτουργία της μεθόδου να παραταθεί στα 60-90 min από το χρόνο πήξης. Εάν κριθεί απαραίτητο για την μελέτη της ινωδόλυσης μπορεί να παραταθεί η δοκιμασία έως και 24 ώρες.

Βασική αρχή της μεθόδου είναι η μέτρηση των ιξωδοελαστικών χαρακτηριστικών της πήξης του αίματος. Ο σχηματισμός του θρόμβου πραγματοποιείται μέσα σε μία ειδική κυψελίδα, με όγκο δείγματος 360  $\mu\text{L}$ , μέσα στην οποία εισχωρεί ένα έμβολο με μια ακίδα. Για τη μέτρηση, στην TEM, το αναλώσιμο έμβολο τοποθετείται σταθερά στο άκρο ενός ταλαντευόμενου άξονα, πάνω στον οποίο υπάρχει ένα κάτοπτρο· η κυψελίδα με το δείγμα αίματος τοποθετείται στο κανάλι μέτρησης. Έτσι το έμβολο εμβαπτίζεται στο δείγμα αίματος. Ο άξονας υποστηρίζεται από ένα ρουλεμάν μεγάλης ακρίβειας και ταλαντώνεται δεξιά και αριστερά κατά γωνία  $4.75^\circ$ , με περιοδικότητα 10 κύκλων ανά λεπτό. Για την περιστροφή του άξονα υπάρχει ένας κινητήρας συνδεδεμένος με τον άξονα με ένα ελατήριο. Η περιστροφή ανιχνεύεται οπτικά μέσω της κατοπτρικής πλάκας στο άνω άκρο του άξονα. (Εικ.23 ). Εφόσον το αίμα είναι σε υγρή κατάσταση η κίνηση δεν παρεμποδίζεται.

Όταν σχηματίζεται θρόμβος και προσκολλάται μεταξύ των επιφανειών εμβόλου και κυψελίδας, η κίνηση παρεμποδίζεται. Καθώς αυξάνεται η συνοχή του θρόμβου, αυξάνεται η αντίσταση και το εύρος περιστροφής του άξονα ελαττώνεται. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αναλύονται από ηλεκτρονικό υπολογιστή και παρουσιάζονται σε

γραφική απεικόνιση και σε αριθμητική μορφή των μετρήσεων σε προεπιλεγμένα χρονικά διαστήματα. Τα αποτελέσματα είναι διαθέσιμα σε περίπου 30'. Η ROTEM όπως και η TEG παρέχουν πολλές πληροφορίες· η θεραπευτική προσέγγιση που βασίζεται σ αυτές επικεντρώνεται στα βασικά ερωτήματα που αφορούν στο θρόμβο: *πόσο γρήγορα σχηματίζεται, πόσο ισχυρός είναι και πόσο διαρκεί.*



Εικ.21.. Γραφική αναπαράσταση φυσιολογικών μετρήσεων ROTEM([www.nmthoracic.org](http://www.nmthoracic.org))

**Η ταχύτητα έναρξης της δημιουργίας του θρόμβου** εκφράζεται με τον **χρόνο πήξης (CT)** στην παράμετρο ROTEM EXTEM (όπως φαίνεται στο αριστερό άκρο του διαγράμματος, και είναι ο χρόνος από την αρχή της εξέτασης μέχρι η κυματομορφή να φτάσει τα 2mm. Παράταση του χρόνου CT μπορεί να οφείλεται σε:

-ανεπάρκεια των παραγόντων πήξης

- υποινωδογοναιμία
- θρομβοπενία
- λήψη αντιπηκτικών

Ελάττωση του χρόνου πήξης συμβαίνει σε σύνδρομα υπερπηκτικότητας.

**Ο χρόνος δημιουργίας θρόμβου (CFT)** εκφράζει τον απαιτούμενο χρόνο για τη δημιουργία θρόμβου ικανής αντοχής και ισχύος. Ισοδυναμεί με τον χρόνο που απαιτείται για την αύξηση του πλατους της κυματομορφής του θρόμβου έως τα 20mm πάνω από τα αρχικά 2mm. Αυξάνεται σε περιπτώσεις:

- ανεπάρκειας των παραγόντων πήξης
- θρομβοπενίας
- υποινωδογοναιμίας
- διαταραχής της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων

ενώ μειώνεται σε καταστάσεις υπερπηκτικότητας.

Στο ερώτημα «πόσο ισχυρός είναι ο θρόμβος που σχηματίζεται», διερευνώνται τα δύο σκέλη που καθορίζουν την αντοχή του θρόμβου: το ινώδες και τα αιμοπετάλια. Ο λευκός «μαλακός» αιμοπεταλιακός θρόμβος ισχυροποιείται με το τρισδιάστατο πλέγμα ινώδους και μετατρέπεται στον σταθερό τελικό ερυθρό αιμοστατικό θρόμβο. Η εκτίμηση της ισχύος του θρόμβου και ως εκ τούτου της ποιότητας του εκφράζεται στη θρομβοελαστομετρία ROTEM με τη **μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (MCF, mm)**, στο μέσον του γραφήματος. Σχετίζεται κατά 80% με τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και κατά 20% με τη λειτουργικότητα του ινωδογόνου, αντανakλώντας τη μέγιστη αντοχή του τελικού αιμοστατικού θρόμβου, πριν να αρχίσει να διαλύεται με την διαδικασία της ινωδόλυσης.

Οι ιξωδοελαστικές μέθοδοι μπορούν να μετρήσουν την συμμετοχή του ινώδους άμεσα και την συνεισφορά των αιμοπεταλίων είτε έμμεσα, είτε με τις νεώτερες τεχνολογίες

TEG;s PLATELET MAPPING, ή ROTEM PLATELET, εκτιμάται άμεσα και η λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων (και όχι απλά ο αριθμός τους). Η συμμετοχή του ινώδους εκφράζεται στο FIBTEM MCF-αν είναι φυσιολογικό, αλλά η συνολική μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (MCF) είναι παθολογική-, συμπεραίνεται διαταραχή στην λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων.

Στις περιπτώσεις που τόσο το ινώδες, όσο και τα αιμοπετάλια ανεπαρκούν, εφόσον δεν διατίθεται η τεχνολογία άμεσης εκτίμησης της λειτουργίας αμφοτέρων, επαναλαμβάνεται η μέτρηση μετά την χορήγηση κρυσταλλοειδούς· αν έχει αποκατασταθεί το έλλειμμα του ινώδους, αλλά ο θρόμβος παραμένει αδύναμος, ενδείκνυται η χορήγηση αιμοπεταλίων για αποκατάσταση της διαταραχής. Οι παράμετροι A5, A10, A20, A30 αντιπροσωπεύουν τη σταθερότητα του θρόμβου στους αντίστοιχους χρόνους σε λεπτά μετά τη δημιουργία του CT και αποτελούν προμήνυμα για το μέγεθος του MCF.

Κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τις τιμές A είναι :

- το ινωδογόνο
- τα αιμοπετάλια
- ο FXIII.

Η παράμετρος MCE είναι αριθμητικό μέτρο της συνολικής ισχύος του θρόμβου, το οποίο εξάγεται από το πλάτος.

Η εκτίμηση της σταθερότητας του θρόμβου ή η πρώιμη λύση του αντικατοπτρίζει την ινωδόλυση. Αντιπροσωπεύεται στο γράφημα με την μείωση του εύρους και αντιστοιχεί στην διαδικασία μετατροπής του πλασμινογόνου σε πλασμίνη και της διάσπασης της ινικής. Η διαδικασία αυτή είναι το τελικό στάδιο της αιμόστασης, ωστόσο η υπερβολική αύξηση της δραστηριότητας της πλασμίνης καταλήγει σε υπερινωδόλυση, η οποία είναι θεραπεύσιμη μορφή διαταραχής της πηκτικότητας. **Ο δείκτης λύσης (Li 30, Li45, Li60)**, αντιπροσωπεύει την ινωδόλυση στους αντίστοιχους χρόνους, εκφράζοντας τη σχέση του πλάτους προς τη μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (% εναπομένουσα σταθερότητα θρόμβου) 30, 45 και 60 min αντίστοιχα μετά από το CT. Συνήθως στα υγιή

άτομα αναμένεται ελάχιστη ινωδόλυση στο Li30, ώστε παθολογικές τιμές Li30 είναι ενδεικτικές υπερिनωδόλυσης.

Η παράμετρος **ML(% μέγιστη λύση)** αντανakλά το βαθμό της ινωδόλυσης σε σχέση με το MCF που μετράται κατά την διάρκεια της δοκιμασίας. Μετρά το ποσοστό μείωσης του πλάτους του θρόμβου σε σχέση με το MCF. Αυξημένη τιμή ML σημαίνει υπερινωδόλυση.

**Η γωνία α** είναι μέτρο της ταχύτητας δημιουργίας- ενίσχυσης του θρόμβου. Εκφράζει το ποσοστό του σχηματισμένου θρόμβου σε συγκεκριμένο χρόνο, με εύρος τιμών 22°-38° (ολικό αίμα) και 53-67° (ολικό αίμα παρουσία καολίνης). Όσο πιο οξεία είναι η γωνία, τόσο πιο υποπηκτικό είναι το αιμοστατικό προφίλ του ασθενούς. Μεγαλύτερες τιμές της γωνίας α είναι ενδεικτικές αυξημένης ταχύτητας δημιουργίας του θρόμβου και παρατηρούνται σε καταστάσεις υπερπηκτικότητας, ενώ μειωμένες τιμές συσχετίζονται με θρομβοπενία, υποινωδογοναιμία.

Η ROTEM επιτελείται στο ολικό αίμα με την προσθήκη ειδικών αντιδραστηρίων και προσφέρει τις εξής διαγνωστικές δοκιμασίες, οι οποίες χρησιμοποιούνται συνδυαστικά:  
**NATEM:** αξιολογεί το σχηματισμό θρόμβου σε κιτρικό, φυσικό ολικό αίμα προσθέτοντας μόνο CaCl<sub>2</sub>

**EXTEM:** Ενεργοποίηση του σχηματισμού θρόμβου με θρομβοπλασίνη (ιστικός παράγοντας). Αξιολόγηση των παραγόντων VII, X, V, II, I, των αιμοπεταλίων και της ινωδόλυσης.

**INTEM:** Ενεργοποίηση του σχηματισμού θρόμβου μέσω του συστήματος επαφής. Αξιολογεί την ενδογενή οδό της πήξης των παραγόντων XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I, των αιμοπεταλίων και της ινωδόλυσης.

**APTEM:** Ενεργοποίηση όπως στο EXTEM με προσθήκη απροτινίνης, ενός αναστολέα της ινωδόλυσης. Ελέγχοντας το APTEM με το EXTEM μπορεί να αναγνωριστεί μαζική

υπερινωδύλωση μέσα σε 10-20 λεπτά.

**FIBTEM:** Ενεργοποίηση με ιστικό παράγοντα και αποκλεισμός της συμμετοχής των αιμοπεταλίων με προσθήκη κυτοχλασίνης D, ουσίας που αναστέλλει τα αιμοπετάλια. Στην δοκιμασία FIBTEM τα επίπεδα ινωδογόνου και πολυμερισμού της ινικής μπορούν να εκτιμηθούν με λειτουργικό τρόπο. Χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το EXTEM.

**HEPTEM:** Ενεργοποίηση όπως στο INTEM με την προσθήκη της ηπαρινάσης. Η ηπαρινάση αποικοδομεί την ηπαρίνη. Όταν τα αποτελέσματα HEPTEM συγκριθούν με του INTEM, μπορούν να ανιχνευθούν διαταραχές πήξης που συνδέονται με την ηπαρίνη.

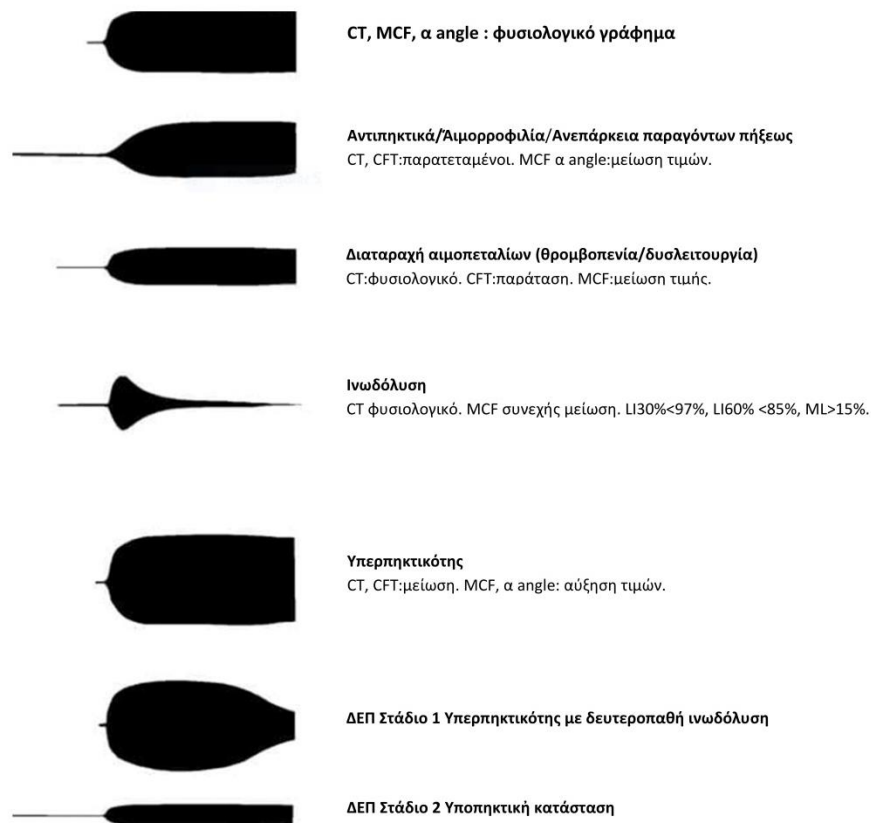
Η TEM προσφέρει την δυνατότητα εκτίμησης σφαιρικά της ινωδύλωσης. Η δοκιμασία FibTEM μπορεί επίσης να προσδιορίσει εάν υφίσταται υποϊνωδογοναιμία κατά την περιεγχειρητική περίοδο μετά καρδιοχειρουργική επέμβαση και τα αποτελέσματα έχουν συσχέτιση με την συγκέντρωση του ινωδογόνου στο πλάσμα.[209, 210] Η ισχύς του θρόμβου, η μέγιστη αντοχή και το εύρος, στην δοκιμασία FibTEM, μπορούν να συμβάλλουν στην ανίχνευση ασθενών με ΔΕΠ. [211]

Η TEM έχει φανεί πολλά υποσχόμενη στις αποφάσεις μεταγγισιοθεραπείας κατά την περιεγχειρητική περίοδο δίνοντας πληροφορίες για τις ανάγκες μαζικών μεταγγίσεων στην αιμορραγία την σχετιζόμενη με το τραύμα, καθώς και στην εκτίμηση της υπερπηκτικότητας στο τελευταίο τρίμηνο της κύησης. [212] [213, 214] Επίσης η υπερिनωδύλωση όπως μετρήθηκε με την χρήση της FibTEM, συσχετίστηκε με αυξημένη θνησιμότητα μετά από μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις.[210]

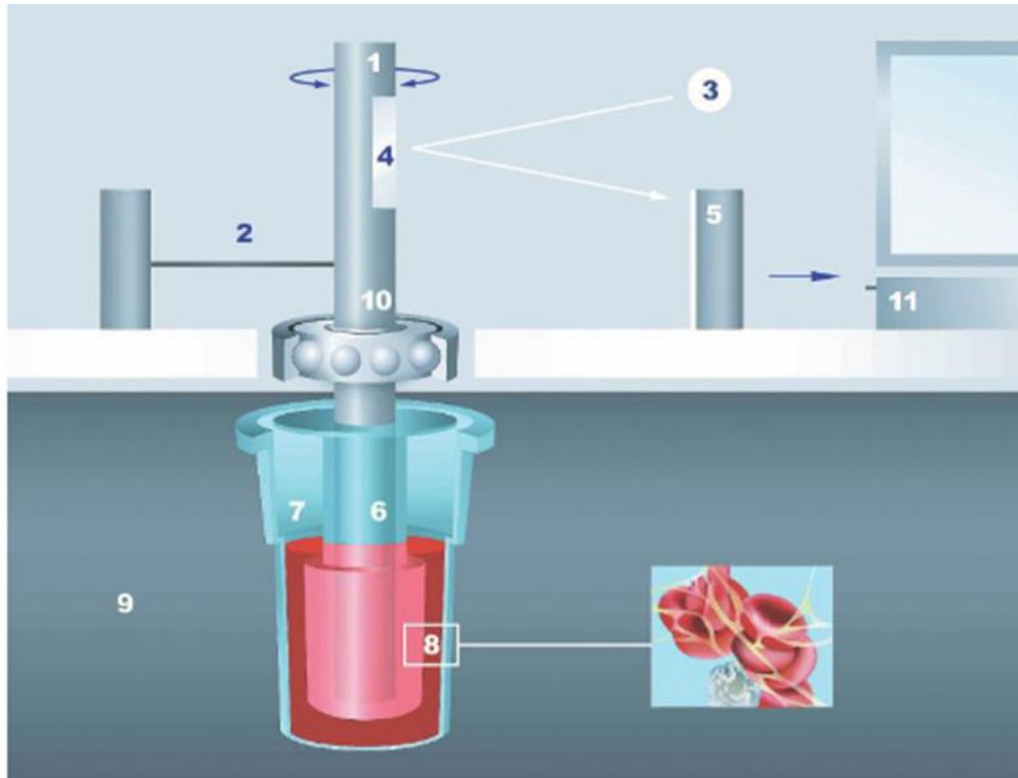
Η ROTEM επίσης φαίνεται ότι μπορεί να είναι χρήσιμη στον έλεγχο των νεώτερων θεραπευτικών παραγώντων στην αιμορροφιλία, καθώς υπάρχει αδυναμία μέτρησης του αιμοστατικού αποτελέσματος αυτών με ακρίβεια με ένα απλό τρόπο. Τα οξέα αιμορραγικά επεισόδια στους ασθενείς με αιμορροφιλία απαιτούν έγκαιρη εκτίμηση και άμεση θεραπεία. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η ROTEM έχει δυναμική στον έλεγχο της κλινικής απάντησης των νεώτερων θεραπευτικών παραγόντων παράκαμψης (bypassing factors) στην αντιμετώπιση των αιμορραγικών επεισοδίων. [215].[216] Η



ROTEM έχει επίσης χρησιμοποιηθεί σε πρωτόκολλο περιεγχειρητικής αντιμετώπισης αιμορροφιλικών ασθενών. Οι Furukawa και συν. έδειξαν ότι η ROTEM παρείχε ένα χρήσιμο οδηγό στον καθορισμό αποτελεσματικής δόσης των παραγόντων παράκαμψης σε ασθενείς με αιμορροφιλία και διευκόλυνε τον αιμοστατικό έλεγχο περιεγχειρητικά, προσφέροντας την πιθανότητα στρατηγικής χρήσης τους στην αντιμετώπιση των ασθενών αυτών.[217]



Εικ.22. [206] Διαγράμματα γραφικής αναπαράστασης ιξωδοελαστικών μετρήσεων σε διάφορες καταστάσεις



Αρχή της θρομβοελαστομετρίας με το ROTEM® delta

- |                                           |                            |
|-------------------------------------------|----------------------------|
| 1. Άξονας (+/- 4.75 °)                    | 7. Κυψελίδα πλήρης αίματος |
| 2. Ελατήριο<br>συσσωμάτωμα θρομβοκυττάρων | 8. Ινίδια ινώδους και      |
| 3. Πηγή φωτός/δίοδος<br>κυψελίδας         | 9. Θερμαινόμενο στήριγμα   |
| 4. Κάτοπτρο                               | 10. Ρουλεμάν               |
| 5. Συσκευή ανίχνευσης (ηλεκτρική κάμερα)  | 11. Επεξεργασία            |
| 6. Έμβολο αισθητήρα                       |                            |

Εικ.23. Σχηματική απεικόνιση του εμβόλου και της κυψελίδας του αναλυτή ROTEM

(Πηγή: [www.rottem.de](http://www.rottem.de))

## 5.2. Η χρήση της θρομβοελαστομετρίας στα νεογνά

Οι ιξωδοελαστικές μέθοδοι TEG/TEM, παρέχουν παρά την κλίνη του ασθενούς, μια δυναμική, σφαιρική και σε πραγματικό χρόνο εκτίμηση των ιδιοτήτων του συστήματος πήξης, ελέγχοντας τα κυτταρικά και πλασματικά στοιχεία που συντελούν στην έναρξη, την δημιουργία και την λύση των θρόμβων. Στους ενήλικες έχει φανεί ότι αποτελούν χρήσιμες τεχνικές, που μαζί με τους συμβατικούς χρόνους πήξης και την εφαρμογή θεραπευτικών αλγορίθμων, επιτρέπουν την στοχευμένη και ταχεία θεραπεία με παράγωγα αίματος, περιορίζοντας μάλιστα τις μη αναγκαίες μεταγγίσεις.

Στον παιδιατρικό πληθυσμό η χρήση τους έχει βρεί εφαρμογή στην καρδιοχειρουργική, νευροχειρουργική, αναισθησιολογία και ECMO (εξωσωματική οξυγόνωση με μεμβράνη). [218-221] Στα νεογνά οι μέθοδοι αυτές μπορεί να βοηθήσουν στον καθορισμό του προφίλ πηκτικότητας των ασθενών και να προσδιορίσουν τα υψηλού κινδύνου νεογνά για αιμορραγία σε χειρουργικές επεμβάσεις και σε άλλες υψηλού κινδύνου καταστάσεις, ωστόσο τα δεδομένα είναι περιορισμένα, με έλλειψη τιμών αναφοράς γι'αυτό τον πληθυσμό.

Κύρια πεδία εφαρμογής στα νεογνά έως τώρα είναι η χειρουργική, καρδιοχειρουργική, ECMO, θεραπευτική υποθερμία [222-225], ενώ ενδιαφέρον υπάρχει για την ενδοκοιλιακή αιμορραγία (IVH), την σηψαιμία, την υποξική-ισχαιμική εγκεφαλοπάθεια (HIE).[226] Η θρομβοελαστομετρική εκτίμηση στα νεογνά και παιδιά που υφίστανται καρδιοχειρουργική επέμβαση συσχετίζεται με μείωση στην μετεγχειρητική απώλεια αίματος, τις ανάγκες μεταγγίσεων και μείωση του χρόνου νοσηλείας.[218, 221] Τα νεογνά που υφίστανται καρδιοαναπνευστικό bypass (CPB) διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο αιμορραγικών επιπλοκών λόγω της ανωριμότητάς τους. Ο Scott και συν.σε μελέτη σε νεογνά από 44 MENN, τα οποία υπέστησαν CPB, συνεπέρανε ότι η ROTEM μπορεί να ανιχνεύσει έγκαιρα την υποινωδογοναιμία και θρομβοπενία και ως εκ τούτου μπορεί να συμβάλει στην λήψη μέτρων που θα βελτιώσουν περιεγχειρητικά την αιμόσταση, όπως η μετάγγιση αιμοπεταλίων ή κρουιζήματος . Έτσι θα μειωθούν οι αιμορραγικές εκδηλώσεις και οι ανάγκες για μεταγγίσεις και οι σχετικές επιπλοκές όπως

η φλεβική θρόμβωση και η TRALI (transfusion related lung injury).

Η παράμετρος EXTEM A10 μπορεί να προβλέψει την θρομβοπενία και η FIBTEM A10 μπορεί να προβλέψει την υποινωδογοναιμία. Η συγκέντρωση του ινωδογόνου και τα επίπεδα FIBTEM A10 μειώθηκαν σημαντικά κατά την διάρκεια της CPB και βελτιώθηκαν μετά την χορήγηση κρυσταλλοειδούς.[227] Στο χειρουργικό πεδίο η χορήγηση πλάσματος (FFP) αποτελεί μία συνήθη επιλογή για βελτίωση των διαταραχών της αιμόστασης.

Η θρομβοελαστομετρία θα μπορούσε να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο στην εκτίμηση των ασθενών με ποσοτικές διαταραχές του ινωδογόνου, που υπόκεινται σε χειρουργικές επεμβάσεις ώστε να γίνει διόρθωση του ελλείμματος, καθοδηγούμενη από τις τιμές της μεταβλητής MCF. [228-230]

Οι ιξωδοελαστικές μέθοδοι μπορεί να συμβάλουν στην ανίχνευση διαταραχών της αιμόστασης στα νεογνά με σήψη. Η Σώκου και συν. με την χρήση της ROTEM σε 91 σηπτικά νεογνά βρήκε ότι η υπερπηκτικότητα αλλά κυρίως η υποπηκτικότητα αποτελεί πρώιμο εύρημα στα σηπτικά νεογνά, ενώ ο βαθμός της υποπηκτικότητας θα μπορούσε να συσχετιστεί με την σοβαρότητα της σήψης. [231] Αναφορικά με την πρώιμη νεογνική σηψαιμία, ο ρόλος των ιξωδοελαστικών μεθόδων σαν δείκτης πρώιμης ανίχνευσης τους, αποτελεί ανοικτό πεδίο έρευνας.

Η Forman και συν. χρησιμοποίησαν την TEG για την εκτίμηση των διαταραχών της πηκτικότητας σε 24 νεογνά με εγκεφαλοπάθεια, που ετέθησαν σε συστηματική υποθερμία και βρήκαν παραμέτρους της TEG προγνωστικούς της κλινικής αιμορραγίας.[225] Ο Radicioni και συν. διεξήγαγαν δοκιμασίες TEG σε 49 πρόωρα νεογνά, εκ των οποίων 19 εκδήλωσαν IVH. Οι παράμετροι TEG στα δεύτερα ανέδειξαν υπερπηκτικό προφίλ και μέτρια θετική συσχέτιση μεταξύ χρόνου λύσης του θρόμβου και της ηλικίας κύησης.[232]

Οι μεταγγίσεις αίματος, πλάσματος και παραγώγων τους είναι αναγκαίες συχνά στις μονάδες νεογνών και πραγματοποιούνται σε διάφορες καταστάσεις, ωστόσο συσχετίζονται με επιπλοκές κάποιες φορές ακόμη και μοιραίες για την ζωή των νεογνών. [233] Η ταχεία αναγνώριση της υποκείμενης αιτίας της αιμοστατικής διαταραχής, η έγκαιρη μετάγγιση με το ενδεδειγμένο παράγωγο αίματος και η ελάττωση των μη αναγκαίων

μεταγγίσεων, μπορούν να ελαττώσουν τους δυνητικούς κινδύνους που συνδέονται με τις μεταγγίσεις.[234] Η δυνατότητα πρόβλεψης του κινδύνου αιμορραγίας στα πάσχοντα νεογνά, που θα μπορούσε έγκαιρα να βοηθήσει στην διάγνωση των διαταραχών της πήξης και στην λήψη αποφάσεων για στοχευμένη θεραπεία με το κατάλληλο παράγωγο αίματος, αποτελεί ανοικτό πεδίο στην Νεογνολογία.

Μοντέλα που έχουν χρησιμοποιηθεί, για τον κίνδυνο αιμορραγίας, βασίζονται κυρίως σε κλινικές παραμέτρους, χωρίς να συνυπολογίζεται το αιμοστατικό προφίλ των νεογνών.[235-237] Το NeoBRis (Neonatal Bleeding Risk), είναι ένα υποσχόμενο προγνωστικό εργαλείο των αιμορραγικών συμβαμάτων στα νεογνά, στο οποίο χρησιμοποιήθηκαν οι παράμετροι ROTEM, τα αιμοπετάλια, και η κρεατινίνη ορού στην εκτίμηση του κινδύνου αιμορραγίας, που πιθανόν θα μπορούσε να βοηθήσει στην πρόβλεψη του κινδύνου αιμορραγίας και στην οργάνωση των θεραπευτικών πρακτικών. [238]

Οι ιξωδοελαστικές μέθοδοι από τις υπάρχουσες μελέτες διαφαίνεται ότι έχουν πλεονεκτήματα στην εκτίμηση των νεογνών με διαταραχές της αιμόστασης, σε σχέση με τις συμβατικές δοκιμασίες πήξης και η χρήση τους στην μεταγγισιοθεραπεία, θα μπορούσε να συμβάλει σημαντικά στην μείωση των μεταγγίσεων. Η θέσπιση τιμών αναφοράς ανά ηλικία για τις παραμέτρους των ιξωδοελαστικών μεθόδων TEG/TEM, είναι απαραίτητη για την ενίσχυση των ερευνητικών δεδομένων και την εξέλιξη της έρευνας με ομογενοποίηση των ευρημάτων των διαφόρων μελετών. Διαφαίνεται ότι μπορούν να αποτελέσουν χρήσιμα εργαλεία στην διερεύνηση των νεογνών με κίνδυνο αιμορραγίας ή θρόμβωσης, και όπως και στους ενήλικες, να κατευθύνουν έγκαιρα και στοχευμένα τις θεραπευτικές επιλογές συμβάλλοντας στην βελτίωση της πρόγνωσης.[239, 240]

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1. ΣΚΟΠΟΣ

Στόχος της μελέτης είναι να καθοριστεί το εύρος των φυσιολογικών τιμών των παραμέτρων της ROTEM (TEM - θρομβοελαστομετρίας) σε υγιή νεογνά με τη χρήση της μεθόδου ROTEM, χρησιμοποιώντας τις δοκιμασίες ex-TEM, in-TEM, και fib-TEM.

Με τον προσδιορισμό του εύρους της διακύμανσης των τιμών της TEM θα μας επιτραπεί να προβλέψουμε και να κατευθύνουμε τη θεραπεία νεογνών με αιμορραγική διάθεση ή αυξημένη δραστηριότητα του πηκτικού τους μηχανισμού.

Η εύρεση του εύρους διακύμανσης των τιμών της TEM θα δώσει τη δυνατότητα στους Νεογνολόγους να χρησιμοποιήσουν συστηματικά τις παραμέτρους αυτές για διαγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς, με απώτερο στόχο τη μείωση των μεταγγίσεων, που θα μπορούσαν να αποφευχθούν, και των συναφών επιπλοκών τους.

## 2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

### 2.1. Υλικό

Στο χρονικό διάστημα Ιανουαρίου 2017 – Φεβρουαρίου 2020 μελετηθήκαν 295 υγιή νεογνά. Ελήφθη η ενημερωμένη συγκατάθεση των γονέων για όλα τα νεογνά που συμπεριελήφθηκαν στη μελέτη. Κατεγράφησαν η ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης, το φύλο και ο τρόπος τοκετού των νεογνών. Κατεγράφησαν επίσης δεδομένα σχετικά με ασθένειες της μητέρας, φάρμακα που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια ή πριν από την κύηση και επιπλοκές κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.

Στο δείγμα μελέτης συμπεριελήφθησαν:

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

Ως σοβαρό αιμορραγικό επεισόδιο ορίσθη: η κλινικά εμφανής αιμορραγία από οποιοδήποτε σύστημα, η οξεία αιμορραγική εκδήλωση σε οποιοδήποτε όργανο (εγκέφαλος,



πνεύμονες, στόμαχος, ήπαρ), η πτώση της αιμοσφαιρίνης κατά τουλάχιστον 2g/dl εντός 24 ωρών, η ανάγκη χορήγησης στο νεογνό συμπυκνωμένων ερυθρών (ΣΕ) ή άλλων παραγώγων αίματος –πλάσμα (FFP), αιμοπετάλια PLT, υποκατάστατα παραγόντων πήξεως, η αναγκαιότητα χειρουργικής επέμβασης για την επίτευξη της αιμόστασης.

Από τη μελέτη αποκλείστηκαν τα νεογνά με συγγενείς δυσπλασίες, γνωστή ή ύποπτη μείζονα χρωμοσωμική ανωμαλία, περιγεννητική ασφυξία, περιγεννητική απώλεια αίματος καθώς και εκείνα που κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους έλαβαν μετάγγιση με παράγωγα αίματος, η οποία προηγήθηκε της αιμοληψίας για τη διενέργεια της TEM. Επίσης, νεογέννητα που γεννήθηκαν μέσω επείγουσας ΚΤ, με ατομικό ή οικογενειακό ιστορικό αιμορραγικών διαταραχών, με αιμόλυση, με σηψαιμία, ενδείξεις περιγεννητικής λοίμωξης ή περιγεννητικό στρες (ορίζονται ως τα νεογνά που πάσχουν από μη καθησυχαστική εμβρυϊκή κατάσταση που δεν πληρούσαν τα κριτήρια της περιγεννητικής ασφυξίας) [241], αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

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

## 2.2. Μέθοδος

Σε όλα τα νεογνά που συμπεριελήφθησαν στην μελέτη έγινε καταγραφή πλήρους ιστορικού και δημογραφικών στοιχείων.

Αναφορικά με το ιστορικό, κατεγράφησαν στοιχεία από το - οικογενειακό ιστορικό: ύπαρξη κληρονομικών νοσημάτων, με επισήμανση των σχετικών με αιμορραγική διάθεση ή θρομβοφιλία

**-Μαιευτικό ιστορικό/περιγεννητικό ιστορικό:** προηγηθέντες τοκετοί και τρόπος τοκετού, προβλήματα της μητέρας κατά την κύηση (σακχαρώδης διαβήτης, θυροειδοπάθεια, ιστορικό θρομβοφιλίας), χορήγηση φαρμάκων κατά την κύηση (αντιπηκτικών / άλλων), κάπνισμα, επιπλοκές της κύησης (αποκόλληση, εκλαμψία, προεκλαμψία). Ρήξη υμένων,

χορήγηση φαρμάκων στην μητέρα, υποβοηθούμενος τοκετός με χρήση αναρροφητήρα Apgar score νεογνού, διενέργεια και είδος ανάνηψης εφόσον κρίθηκε αναγκαία.

Το οικογενειακό ιστορικό και οι πληροφορίες για την κύηση ελαμβάνοντο από τους γονείς, ενώ οι πληροφορίες για τον τοκετό από τους ιατρούς και την μαία.

Ιατρικά και δημογραφικά στοιχεία που κατεγράφησαν σε όλα τα συμπεριλαμβανόμενα στη μελέτη νεογνά είναι:

- ηλικία κύησης (ΗΚ) (προκύπτει βάση ΤΕΡ –τελευταίας εμμήνου ρήσης και U/S- υπερηχογραφήματος στην αρχή της εγκυμοσύνης και επιβεβαιώνεται με τη βαθμολογία Ballard). [242]
- βάρος γέννησης (ΒΓ)
- φύλο
- εθνικότητα

Σε όλα τα νοσηλεύόμενα πρόωρα νεογνά κατεγράφησαν οι εξής διαγνώσεις:

- SGA (μικρό για την ηλικία κύησης νεογνό)
- IUGR (νεογνό με ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση)
- ΣΑΔ (σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας του νεογνού)
- ΥΙΕ (υποξαιμική- ισχαιμική εγκεφαλοπάθεια)
- ΙVΗ (ενδοκοιλιακή αιμορραγία)
- ΝΕΚ (νεκρωτική εντεροκολίτιδα)
- Περιγεννητικό stress
- Συγγενείς δυσπλασίες-δυσμορφίες
- Γενετικά σύνδρομα
- Μεταβολικά νοσήματα

### **Κλινική εκτίμηση των νεογνών**

Τα τελειόμηνα νεογνά του Μαιευτηρίου εξετάζοντο καθημερινά με πλήρη κατά σύστημα εξέταση και καταγραφή του βάρους, της θερμοκρασίας, της σίτισης, διούρησης κενώσεων, ιατρικών χειρισμών και απαιτούμενων εργαστηριακών εξετάσεων. Στα

νοσηλεύόμενα στην μονάδα πρόωρα, πέραν της φυσικής εξέτασης, της χορηγούμενης αγωγής, της παρακολούθησης της σταθερότητας της οξεοβασικής ισορροπίας και της ευγλυκαιμίας, κατεγράφοντο ζωτικά σημεία, θερμοκρασία, δεδομένα των βασικών λειτουργιών, τρόπος σίτισης και χρόνος επίτευξης πλήρους εντερικής σίτισης, διούρηση, κενώσεις. Σύμφωνα με την καθιερωμένη φροντίδα των νεογνών της κλινικής, δίδεται ιδιαίτερη προσοχή σε σημεία ενδεικτικά αποσταθεροποίησης ή διαταραχής της αιμοστατικής ισορροπίας.

### **Διενέργεια δοκιμασιών TEM**

Το ROTEM (Rotational Thromboelastometry) είναι το μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε για τις μετρήσεις της θρομβοελαστομετρίας. Για την εξασφάλιση της αξιοπιστίας των μετρήσεων ελήφθησαν από όλα τα νεογνά αρτηριακά δείγματα αίματος, με πεταλούδα μεγέθους G23. Για την πρόληψη του πόνου έγινε χρήση *per os* σουκρόζης και πιπίλας. Αμέσως μετά τον τοκετό, 1 mg βιταμίνης K χορηγήιτο ενδομυϊκά σε όλα τα νεογνά, κατά το ισχύον πρωτόκολλο προφυλακτικής χορήγησης βιταμίνης K. Κατά τη διάρκεια της συμβατικής τριήμερης παραμονής στο νοσοκομείο, των τελειομήνων νεογνών, όλα τα νεογνά παρακολουθήθηκαν μέχρι το εξιτήριο.

Για τα τελειόμνηνα, τη δεύτερη έως την τρίτη ημέρα της ζωής, σε κάθε περίπτωση εξέτασης αίματος για διάφορες ιατρικές καταστάσεις (π.χ. υπερχολερυθριναιμία, έλεγχος για ασυμβατότητα ομάδας αίματος ABO, μητέρες με θετικά αντισώματα θυρεοειδούς ή ανεπαρκής ιατρική επίβλεψη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης), 900  $\mu$ L υπολειπόμενου περιφερικού αίματος χρησιμοποιήθηκαν στην μέτρηση των παραμέτρων TEM.

Για τα πρόωρα, που νοσηλεύονταν στην MENN, η αιμοληψία πραγματοποιείτο μετά την σταθεροποίησή τους και εφόσον δεν συνυπήρχε κάποια παθολογική κατάσταση την 2η -7η μέρα ζωής· στα νεογνά με ηλικία κύησης 32-36+6 εβδομάδες μετά την απεξάρτηση από το οξυγόνο, στα <32 εβδομάδων εφόσον ήταν σταθερά σε ρινικό CPAP με FIO<sub>2</sub> 21% και PEEP 5 cm H<sub>2</sub>O.

Το αίμα αναλύθηκε στον αναλυτή δέλτα ROTEM® (Tem Innovations GmbH, Μόναχο, Γερμανία). Πραγματοποιήθηκαν τρεις δοκιμές ROTEM σε απλό προσδιορισμό (S):

EXTEM S, INTEM S και FIBTEM S. Το πλήρες αίμα είχε αντιπηκτικό με 0, 109 mol/L (3, 2%) κιτρικό τρινάτριο (9:1, ο/ο αντιπηκτικό αίματος). Ολικό αίμα με κιτρικό (900 μL) επωάστηκε για 2-5 λεπτά στους 37 °C και ελέγχθηκε 30-60 λεπτά μετά τη συλλογή αίματος. Οι δοκιμές ROTEM πραγματοποιήθηκαν με έναν απλό προσδιορισμό με χρήση των αντίστοιχων αυτοματοποιημένων προγραμμάτων πιπέτας σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Συνεπώς, η σύνοψη των δοκιμασιών ROTEM οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν είναι η εξής:

**δοκιμασία ex-TEM:** αντιδραστήριο για την ανίχνευση της εξωγενούς οδού πήξης και της αλληλεπίδρασης της με τα αιμοπετάλια σε αίμα με κιτρικό,

**δοκιμασία in-TEM:** αντιδραστήριο για τον έλεγχο της ενδογενούς οδού πήξης και της αλληλεπίδρασης με τα αιμοπετάλια σε αίμα με κιτρικό,

**δοκιμασία fib-TEM:** αντιδραστήριο για την μεμονωμένη εκτίμηση των επιπέδων ινωδογόνου και της ποιότητας πολυμερισμού της ινικής σε αίμα με κιτρικό, με αναστολή των αιμοπεταλίων.

Τα δείγματα τα οποία επεξεργάζονταν μετά τα πρώτα 30 λεπτά της αιμοληψίας, εκαλύπτοντο, έτσι ώστε να αποφευχθεί η διαφυγή CO<sub>2</sub> και η μεταβολή του PH του δείγματος. Τέλος, όλα τα δείγματα διατηρούνταν σε θερμοκρασία 37ο C. Τα δείγματα αίματος αξιολογήθηκαν προσεκτικά για θρόμβους ινώδους και οποιοδήποτε ακατάλληλο δείγμα απορρίφθηκε στη συνέχεια.

Μετρήθηκαν διάφορες παράμετροι ROTEM:

**χρόνος πήξης (CT, δευτερόλεπτα):** ο χρόνος που μεσολάβησε από την έναρξη της μέτρησης μέχρι τον σχηματισμό θρόμβου πλάτους 2 mm

**χρόνος σχηματισμού θρόμβου (CFT, δευτερόλεπτα):** ο χρόνος που μεσολάβησε από το τέλος του CT (πλάτος 2 mm) μέχρι να επιτευχθεί σταθερότητα θρόμβου 20 mm

**το μέγεθος του θρόμβου καταγράφηκε στα 5 και 10 λεπτά (A5, A10)**

**γωνία α (μετρημένη σε μοίρες):** η γωνία μεταξύ της κεντρικής γραμμής (άξονας x) και

της επαππομένης της ανίχνευσης ROTEM στο σημείο πλάτους των 2 mm, που περιγράφει την κινητική του σχηματισμού θρόμβου.

**η μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (MCF, mm)** αντιπροσωπεύει την τελική αντοχή του θρόμβου

**ο δείκτης λύσης στα 30, 45 και 60 λεπτά (LI30, LI45, LI60, %):** το ποσοστό του εναπομένοντος πλάτους του θρόμβου σε σχέση με το MCF μετά την περίοδο παρατήρησης 30, 45 και 60 λεπτών μετά το CT, το οποίο υποδεικνύει την ταχύτητα της ινωδόλυσης.

Παράλληλα με τις αναλύσεις ROTEM, πραγματοποιήθηκαν πρόσθετες εξετάσεις αίματος στον πληθυσμό της μελέτης, οι οποίες περιελάμβαναν γενική αίματος, επίχρισμα περιφερικού αίματος και χολερυθρίνη. Πραγματοποιήθηκε η γενική αίματος σε αναλυτή Sysmex XE-2100 (Roche, Lincolnshire, Illinois, USA). Η χολερυθρίνη μετρήθηκε με EXL DIMENSION Analyzer (SIEMENS, Healthcare Diagnostics, Newark, DE, USA). Η ομάδα αίματος ABO και Rhesus τεκμηριώθηκαν για όλα τα υπό μελέτη νεογνά.

### 3.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση για τον καθορισμό των τιμών αναφοράς των παραμέτρων TEM στο δείγμα μελέτης (δηλαδή σε υγιή πρόωρα και σε υγιή τελειόμηνα νεογνά) έγινε με τη χρήση του λογισμικού SAS 9.4 για Windows (SAS Institute Inc. Cary, NC, ΗΠΑ). Για όλες τις μετρήσεις των παραμέτρων ROTEM (EXTEM, INTEM, FIBTEM) υπολογίστηκαν και καθορίστηκαν ως τιμές αναφοράς, οι διάμεσες τιμές με τα αντίστοιχα όρια αναφοράς (2, 5% και 97, 5% εκατοστημόρια) σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του NCCLS (Jones & Barker, 2008). Ο έλεγχος της κατανομής των δεδομένων για όλες τις παραμέτρους ROTEM αξιολογήθηκε με τη χρήση του γραφήματος Q-Q Plot και του Shapiro-Wilk test. Καθώς όλες οι μεταβλητές που ελέχθησαν είχαν μη κανονική κατανομή, για τη στατιστική τους ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές μέθοδοι, ήτοι το Mann-Whitney test για σύγκριση μεταξύ δύο ομάδων και ο συντελεστής συσχέτισης Spearman(r), και το Kruskal-Wallis για σύγκριση σε περισσότερες των δύο ομάδων. Πραγματοποιήθηκε έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των παραμέτρων ROTEM και των χαρακτηριστικών των νεογνών με την εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης. Έγινε μη-κατευθυνόμενος έλεγχος υποθέσεων και ορίστηκε σαν στατιστικώς σημαντική, οριακή τιμή  $p\text{-value} \leq 0.05$ , άρα με τιμές  $p\text{-value} \leq 0.05$  η μηδενική υπόθεση θα ήταν απορριφθείσα.

### 3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τον πληθυσμό της μελέτης αποτέλεσαν 226 τελειόμηνα και 69 πρόωρα νεογνά με ηλικία κύησης  $>36^{+6}$  και  $<37$  εβδομάδες αντίστοιχα. Τα κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά των νεογνών που συμπεριελήφθησαν στη μελέτη παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Βασικά Χαρακτηριστικά δείγματος μελέτης

	Μεταβλητή	Τιμή για Τελειόμηνα	Τιμή για Πρόωρα
Δεδομένα Νεογέννητων	Ηλικία κύησης (εβδομάδες) Διάμεσος (Q1-Q3)	39 (38-40)	34 (32-35)
	Βάρος γέννησης (g) Μέσος όρος (Q1-Q3)	3297, 25 (3050-3500)	2051, 74 (1820-2300)
	Φύλο (αγόρια) N (%)	103 (45, 75%)	38 (55, 072%)
Εργαστηριακά Δεδομένα Νεογέννητων	Ομάδα Αίματος	A (85/37, 61%)	A (13/318, 84%)
		B (28/12, 39%)	B (20/28, 99%)
		AB (5/2, 12%)	AB (10/14, 49%)
		O (108/47, 79%)	O (26/37, 68%)
	Rhesus	+ 195 (86, 28%)	+62 (89, 86%)
		- 31 (13, 72%)	-7 (10, 14%)
	Αιματοκρίτης (%) Διάμεσος (Q1-Q3)	47, 65 (45-51)	39, 3 (35, 7-43, 95)
	Αριθμός Αιμοπεταλίων (K/μL) Διάμεσος (Q1-Q3)	285 (240-325)	280, 5 (232-375)
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dL) Διάμεσος (Q1-Q3)	8 (6-10)	10 (8, 2-12, 4)	
Δεδομένα Νοσηρότητας Νεογνού	Ιστορικό θρομβοφιλίας	Κανένα Νεογνό	Κανένα Νεογνό
	Ιστορικό IVH (ΙΕνδοκοιλιακή αιμορραγία 1 <sup>ου</sup> βαθμού IVH-I)	Κανένα Νεογνό	18(26, 08%)
	Σύνδρομο Αναπνευστικής Δυσχέρειας	0 (0%)	43(62%)



Συνέχεια Πίνακας 1. Βασικά Χαρακτηριστικά δείγματος μελέτης

Εγκυμοσύνη και τρόπος τοκετού	Φαρμακευτική αγωγή	Καμία (195/86.28%)	Καμία (65/94, 21%)
		Ινσουλίνη (1/0.44%)	Ινσουλίνη(1/1, 45%)
		T4 (27/11, 95%)	Καμία Μητέρα
		Ινσουλίνη & T4 (1/0, 44%)	Καμία Μητέρα
		Ηπαρίνη ΧΜΒ (0/0, 00%)	Ηπαρίνη ΧΜΒ (1/1, 45%)
		Innohep (0/0, 00%)	Καμία Μητέρα
		Norvasc (0/0, 00%)	Norvasc (1/1, 45%)
		ΣΔ/ΔΙΑΙΤΑ (0, 00%)	ΣΔ/ΔΙΑΙΤΑ (1/1,45%)
		Salospir (1/0, 44%)	Καμία Μητέρα
		Prothuril (1/0, 44%)	Καμία Μητέρα
	Προβλήματα εγκυμοσύνης της μητέρας N (%)	Διαβήτης Κύησης (9/4, 1%)	Διαβήτης Κύησης (7/10, 1%)
		Αυτοαν. Θυρεοειδής (2/0, 88%)	Καμία Μητέρα
		Υποθυρ. Κύησης (24/10, 62%)	Καμία Μητέρα
		Υποθυρ. Κύησης + Διαβήτης (3/1, 33%)	Καμία Μητέρα
		Υποθυρ. (7/3, 10%)	Καμία Μητέρα
		Graves (1/0, 44%)	Καμία Μητέρα
		Άλλο πρόβλημα (1/0, 44%)	Άλλο πρόβλημα (4/5, 80%)
		Κανένα Πρόβλημα (141/62, 39%)	Κανένα Πρόβλημα (58/84, 1%)
		Κανένας Έλεγχος (38/17%)	Κανένας Έλεγχος (0/0, 00%)
	ΤΡΟΠΟΣ ΤΟΚΕΤΟΥ (Καισαρική Τομή) N (%)	78 (34, 52%)	63 (91, 30%)
Πολλαπλές κυήσεις N (%)	0 (0, 00%)	28 (40, 58%)	
Κάπνισμα N (%)	20 (8, 85%)	0(0%)	

### 3.2 ΕΥΡΟΣ ΤΙΜΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ ROTEM

Όλες οι παράμετροι των δοκιμασιών (EXTEM, INTEM και FIBTEM) ROTEM παρουσιάζονται ως διάμεσες τιμές, μέσοι όροι, τυπικές αποκλίσεις, ελάχιστα, μέγιστα και εύρη αναφοράς (2, 50 και 97, 50 εκατοστημόριο) στον Πίνακα 2, 3, 4 για τα τελειόμηνα και στους Πίνακες 5, 6, 7 για τα πρόωρα από το δείγμα της μελέτης

Πίνακας 2. Εύρος τιμών αναφοράς των παραμέτρων EXTEM ROTEM (N = 226 τελειόμηνα νεογνά).

Μεταβλητή	Mean	SD	Min	Max	Median	2.5 Pctl	97.5 Pctl
EXTEM_A05	42, 5	6, 1	28	58	43	30	56
EXTEM_A10	52	6	36	67	52	40	65
EXTEM_CFT	89, 4	24, 8	44	173	86	49	148
EXTEM_CT	53, 2	10, 4	31	93	52	38	78
EXTEM_LI30	99, 8	0, 7	95	100	100	98	100
EXTEM_LI45	97, 6	2, 4	80	100	98	93	100
EXTEM_LI60	94, 2	4, 2	72	100	95	83	98
EXTEM_MCF	58, 9	5, 3	43	72	59	47	69
EXTEM_alpha	72, 9	4, 6	58	84	73	64	81

Πίνακας 3. Εύρος τιμών αναφοράς των παραμέτρων FIBTEM ROTEM (N = 226 τελειόμηνα νεογνά).

Μεταβλητή	Mean	SD	Min	Max	Median	2.5 Pctl	97.5 Pctl
FIBTEM_A05	13, 9	3, 9	6	28	13	8	22
FIBTEM_A10	15, 1	4, 2	7	32	15	9	25
FIBTEM_CT	50, 7	14, 4	27	164	48	36	85
FIBTEM_LI30	99, 8	0, 9	94	100	100	97	100
FIBTEM_LI45	99, 7	1, 4	89	100	100	94	100
FIBTEM_LI60	99, 4	2, 6	78	100	100	92	100
FIBTEM_MCF	17	4, 7	7	36	17	10	26
FIBTEM_alpha	72, 2	6, 7	51	84	74	58	82

Πίνακας 4. Εύρος τιμών αναφοράς των παραμέτρων INTEM ROTEM (N = 226 τελειόμηνα νεογνά).

Μεταβλητή	Mean	SD	Min	Max	Median	2.5 Pctl	97.5 Pctl
INTEM_A05	44	5, 7	26	57	44	31	55
INTEM_A10	53, 5	5, 4	35	67	54	41	63
INTEM_CFT	80, 7	24, 2	42	197	76	50	142
INTEM_CT	193, 3	33, 8	60	332	191	134	270
INTEM_LI30	99, 4	1, 2	90	100	100	97	100
INTEM_LI45	96, 3	2, 7	80	100	97	92	99
INTEM_LI60	93, 2	3, 4	75	99	94	85	97
INTEM_MCF	59, 1	4, 8	42	72	59	48	67
INTEM_alpha	74, 2	4	56	81	75	63	80

Πίνακας 5 Εύρος τιμών αναφοράς των παραμέτρων EXTEM ROTEM (N = 69 σε πρόωρα νεογνά).

Μεταβλητή	Mean	SD	Min	Max	Median	2.5 Pctl	97.5 Pctl
EXTEM_A05	46, 4	7	31	61	48	32	59
EXTEM_A10	55, 2	6, 8	40	68	56	42	67
EXTEM_CFT	75, 6	22, 5	40	143	69, 5	44	137
EXTEM_CT	48	6, 8	33	67	47	37	61
EXTEM_LI30	99, 1	1	95	100	99	97	100
EXTEM_LI45	95, 8	1, 8	89	99	96	92	99
EXTEM_LI60	92, 7	2, 6	83	96	93	84	96
EXTEM_MCF	59, 7	6, 1	45	71	60	48	70
EXTEM_alpha	75, 3	4, 2	64	82	77	65	81

Πίνακας 6. Εύρος τιμών αναφοράς των παραμέτρων FIBTEM ROTEM (N = 69 σε πρόωρα νεογνά).

Μεταβλητή	Mean	SD	Min	Max	Median	2.5 Pctl	97.5 Pctl
FIBTEM_A05	15, 5	4, 3	7	30	16	7	23
FIBTEM_A10	16, 6	4, 5	7	31	17	7	25
FIBTEM_CT	45, 3	6, 2	25	58	45	33	57
FIBTEM_LI30	99, 8	0, 8	94	100	100	97	100
FIBTEM_LI45	99, 7	1, 2	92	100	100	96	100
FIBTEM_LI60	99, 7	1	94	100	100	97	100
FIBTEM_MCF	18, 3	4, 9	8	33	19	9	29
FIBTEM_alpha	74, 9	6, 1	57	86	76	57	84

Πίνακας 7 Εύρος αναφοράς των παραμέτρων INTEM ROTEM (N = 69 σε πρόωρα νεογνά).

Μεταβλητή	Mean	SD	Min	Max	Median	2.5 Pctl	97.5 Pctl
INTEM_A05	48,1	7	34	61	50	35	61
INTEM_A10	56,5	6,5	43	69	58	44	69
INTEM_CFT	68,1	21	40	126	61	42	119
INTEM_CT	200,5	35,4	133	344	198	141	288
INTEM_LI30	98,4	1,2	95	100	99	96	100
INTEM_LI45	95	2,1	90	99	95	90	99
INTEM_LI60	91,9	3	81	99	92	87	96
INTEM_MCF	59,7	6	47	72	61	47	70
INTEM_alpha	76,4	3,8	66	82	78	68	81

### 3.3 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ROTEM ΜΕ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ

#### 3.3.1. Συσχετίσεις παραμέτρων ROTEM σε τελειόμηνα νεογνά

Διενεργήθηκαν τεστ συσχετίσεων μεταξύ των παραμέτρων ROTEM (INTEM, EXTEM, FIBTEM) και των δημογραφικών και αιματολογικών χαρακτηριστικών των τελειομήνων του δείγματος. Τα αποτελέσματα φαίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 8. Πίνακας συσχετίσεων παραμέτρων INTEM και αιματολογικών και δημογραφικών χαρακτηριστικών τελειομήνων

	INTEM_ CT	INTEM_ A05	INTEM_ A10	INTEM_ CFT	INTEM_ MCF	INTEM_ alpha	INTEM_ LI30	INTEM_ LI45	INTEM_ LI60
<b>H.K.</b>	0, 01	0, 01	0, 03	0, 07	0, 09	-0, 07	0, 14	0, 16	0, 17
	0, 88	0, 92	0, 68	0, 32	0, 20	0, 30	<b>0, 04</b>	<b>0, 02</b>	<b>0, 02</b>
<b>B.Γ.</b>	0, 07	0, 04	0, 04	-0, 01	0, 08	-0, 01	0, 08	0, 13	0, 16
	0, 33	0, 59	0, 55	0, 92	0, 28	0, 90	0, 27	0, 06	<b>0, 02</b>
<b>Ht</b>	0, 20	-0, 17	-0, 15	0, 24	-0, 09	-0, 25	0, 14	0, 19	0, 15
	<b>0, 01</b>	<b>0, 02</b>	<b>0, 04</b>	<b>0, 00</b>	0, 19	<b>0, 00</b>	0, 06	<b>0, 01</b>	<b>0, 04</b>
<b>Hb</b>	0, 22	-0, 25	-0, 23	0, 29	-0, 16	-0, 29	0, 16	0, 22	0, 18
	<b>0, 00</b>	<b>0, 00</b>	<b>0, 00</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0, 02</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0, 02</b>	<b>0, 00</b>	<b>0, 01</b>
<b>PLT</b>	-0, 01	0, 41	0, 39	-0, 37	0, 36	0, 34	-0, 08	-0, 12	-0, 11
	0, 87	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	0, 25	0, 09	0, 13
<b>TotalBIL</b>	0, 03	0, 05	0, 04	-0, 05	0, 01	0, 04	0, 02	-0, 06	-0, 07
	0, 72	0, 51	0, 60	0, 45	0, 85	0, 54	0, 79	0, 41	0, 34

Συντμήσεις: H.K. ηλικία κύησης, B.Γ. βάρος γέννησης, Ht αιματοκρίτης, Hb αιμοσφαιρίνη ,PLT αιμοπετάλια,Bil χολερυθρίνη

Πίνακας 9. Πίνακας συσχετίσεων παραμέτρων EXTEM και αιματολογικών και δημογραφικών χαρακτηριστικών τελειομήνων

	EXTEM_ CT	EXTEM_ A05	EXTEM_ A10	EXTEM_ CFT	EXTEM_ MCF	EXTEM_ alpha	EXTEM_ LI30	EXTEM_ LI45	EXTEM_ LI60
H.K.	0, 05	-0, 02	0, 00	0, 10	0, 02	-0, 08	0, 19	0, 14	0, 15
	0, 45	0, 79	1, 00	0, 16	0, 82	0, 27	<b>0, 00</b>	<b>0, 03</b>	<b>0, 03</b>
B.Γ.	0, 09	0, 04	0, 04	0, 00	0, 04	0, 02	0, 03	0, 11	0, 10
	0, 20	0, 55	0, 53	0, 95	0, 55	0, 82	0, 63	0, 10	0, 14
Ht	0, 23	-0, 14	-0, 12	0, 19	-0, 08	-0, 21	0, 10	0, 10	0, 10
	<b>0, 00</b>	0, 06	0, 10	<b>0, 01</b>	0, 26	<b>0, 00</b>	0, 16	0, 18	0, 18
Hb	0, 25	-0, 23	-0, 22	0, 25	-0, 18	-0, 26	0, 07	0, 11	0, 12
	<b>0, 00</b>	<b>0, 00</b>	<b>0, 00</b>	<b>0, 00</b>	<b>0, 01</b>	<b>0, 00</b>	0, 29	0, 12	0, 10
PLT	-0, 13	0, 33	0, 33	-0, 34	0, 30	0, 28	-0, 17	-0, 10	-0, 10
	<b>0, 05</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0, 01</b>	0, 16	0, 14
TotalBIL	-0, 10	-0, 03	-0, 05	-0, 02	-0, 09	0, 01	-0, 08	-0, 12	-0, 07
	0, 16	0, 71	0, 45	0, 80	0, 20	0, 93	0, 24	0, 09	0, 34

Συντμήσεις: H.K. ηλικία κύησης;B.Γ. βάρος γέννησης, Ht αιματοκρίτης, Hb αιμοσφαιρίνη,PLT αιμοπετάλια, Bil χολερυθρίνη

Πίνακας 10. Πίνακας συσχετίσεων παραμέτρων FIBTEM και αιματολογικών και δημογραφικών χαρακτηριστικών τελειομήνων

	FIBTEM_ CT	FIBTEM_ A05	FIBTEM_ A10	FIBTEM_ CFT	FIBTEM_ MCF	FIBTEM_ alpha	FIBTEM_ LI30	FIBTEM_ LI45	FIBTEM_ LI60
H.K.	0, 07	0, 05	0, 06	NA	0, 11	0, 00	0, 02	0, 05	-0, 09
	0, 32	0, 48	0, 39	NA	0, 12	0, 96	0, 79	0, 50	0, 22
B.Γ.	0, 10	0, 03	0, 04	NA	0, 04	-0, 01	0, 03	0, 03	0, 11
	0, 15	0, 66	0, 55	NA	0, 54	0, 92	0, 72	0, 64	0, 13
Ht	0, 23	-0, 15	-0, 11	NA	-0, 05	-0, 18	0, 06	0, 13	-0, 03
	<b>0, 00</b>	<b>0, 04</b>	0, 13	NA	0, 45	<b>0, 01</b>	0, 39	0, 06	0, 66
Hb	0, 25	-0, 17	-0, 14	NA	-0, 08	-0, 19	0, 02	0, 11	-0, 04
	<b>0, 00</b>	<b>0, 01</b>	0, 05	NA	0, 25	<b>0, 01</b>	0, 81	0, 11	0, 55
PLT	-0, 06	0, 18	0, 17	NA	0, 14	0, 15	-0, 08	-0, 03	-0, 02
	0, 40	<b>0, 01</b>	<b>0, 02</b>	NA	0, 06	<b>0, 04</b>	0, 25	0, 68	0, 79
Total BIL	-0, 07	-0, 02	-0, 06	NA	-0, 08	0, 15	0, 08	0, 09	0, 06
	0, 33	0, 83	0, 45	NA	0, 25	<b>0, 04</b>	0, 27	0, 22	0, 39

Συντμήσεις: H.K.ηλικία κύησης, B.Γ. βάρος γέννησης, Ht αιματοκρίτης, Hb αιμοσφαιρίνη ,PLT αιμοπετάλια, Bil χολερυθρίνη

### **Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης-Σχόλια**

Έγινε συσχέτιση της ηλικίας κύησης με τις παραμέτρους ROTEM και βρέθηκε να σχετίζεται θετικά σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με το δείκτη λύσης θρόμβου (Li 30, Li45, Li60) των δοκιμασιών EXTEM και INTEM. Από την στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι το Β.Γ. σχετίζεται θετικά με το δείκτη λύσης θρόμβου στη δοκιμασία INTEM (LI 60)( $p=0,02$ )

Οι τιμές Ht σχετίζονται αρνητικά σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με το μέγεθος του θρόμβου, όπως αυτό εκφράζεται από τις μεταβλητές INTEM A5, A10 και FIBTEM A5, καθώς και με την ταχύτητα δημιουργίας θρόμβου (γωνία  $\alpha$  INTEM, EXTEM, FIBTEM). Στατιστικά σημαντική θετική σχέση είχαν οι τιμές Ht με τον χρόνο πήξης (CT) στις δοκιμασίες INTEM, EXTEM, FIBTEM και με τον χρόνο δημιουργίας θρόμβου (CFT) στις δοκιμασίες INTEM, EXTEM.

Αναφορικά με τις τιμές της αιμοσφαιρίνης (Hb), σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε με τις παραμέτρους των δοκιμασιών ROTEM, όπως φαίνεται στους πίνακες 4, 5, 6. Η αιμοσφαιρίνη είχε θετική συσχέτιση με τους EXTEM CT, CFT και στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με τις παραμέτρους EXTEM A5, A10, MCF γωνία  $\alpha$ . Αναφορικά με την δοκιμασία FIBTEM, βρέθηκε θετική συσχέτιση με το FIBTEM CT, ενώ αρνητικές συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ των τιμών της Hb και των FIBTEM A5 και γωνίας  $\alpha$ .

Ο αριθμός των αιμοπεταλίων σχετίζεται θετικά σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με το μέγεθος του θρόμβου, όπως αυτό εκφράζεται στις παραμέτρους A5, A10 των δοκιμασιών ROTEM, EXTEM, INTEM, FIBTEM το μέγιστο μέγεθος αυτού (EXTEM, INTEM) και την ταχύτητα δημιουργίας του θρόμβου (γωνία  $\alpha$  EXTEM, INTEM, FIBTEM).

Οι τιμές ολικής χολερυθρίνης δεν βρέθηκαν να συσχετίζονται με τις παραμέτρους ROTEM σε καμία άλλη δοκιμασία, πλην της γωνίας  $\alpha$  στην FIBTEM.

Το είδος τοκετού και το ιστορικό διαβήτη κατά την κύηση δεν φάνηκε να έχουν κάποια συσχέτιση με τις τιμές των παραμέτρων ROTEM, όπως φαίνεται στους πίνακες κάτωθι:

**Πίνακας 11.** Τελειόμηνα νεογνά - Είδος τοκετού και παράμετροι ROTEM

Μεταβλητή	Φυσιολογικός τοκετός (N=148)					Καισαρική τομή (N=78)					P (Kr-Wal)
	Mean	SD	Median	p25	p75	Mean	SD	Median	p25	p75	
EXTEM_A05	42, 4	6, 0	43	38	46	42, 7	6, 5	42	40	46	0, 67
EXTEM_A10	52, 0	5, 8	52	48	56	52, 1	6, 5	52	49	56	0, 88
EXTEM_CFT	89, 4	24, 3	85	73	104	88, 7	26, 6	83	72	99	0, 67
EXTEM_CT	53, 5	11, 0	51	46	59	52, 1	9, 6	51	46	57	0, 43
EXTEM_LI30	99, 9	0, 6	100	100	100	99, 7	0, 8	100	100	100	0, 09
EXTEM_LI45	97, 6	2, 3	98	97	99	97, 3	2, 7	98	96	99	0, 43
EXTEM_LI60	94, 4	4, 0	95	93	97	93, 6	4, 6	95	92	97	0, 15
EXTEM_MCF	58, 8	5, 2	59	55	62	58, 9	5, 8	59	56	63	0, 75
EXTEM_alpha	73, 0	4, 8	74	70	76	73, 0	4, 5	73	70	77	0, 95
FIBTEM_A05	14, 0	4, 1	14	11	16	14, 0	3, 6	13	12	15	0, 87
FIBTEM_A10	15, 3	4, 4	15	12	17, 5	15, 1	4, 2	14	12	17	0, 71
FIBTEM_CT	50, 4	12, 1	48	42, 5	55, 5	50, 0	17, 2	47	40	53	0, 37
FIBTEM_LI30	99, 8	0, 9	100	100	100	99, 8	1, 0	100	100	100	0, 95
FIBTEM_LI45	99, 7	1, 2	100	100	100	99, 6	1, 7	100	100	100	0, 71
FIBTEM_LI60	99, 5	2, 0	100	100	100	99, 1	3, 5	100	100	100	0, 53
FIBTEM_MCF	17, 4	4, 7	17	14	20	16, 7	4, 9	16	13	19	0, 19
FIBTEM_alpha	72, 0	7, 4	74	68	78	72, 9	5, 5	73	68	77	0, 91
INTEM_A05	44, 1	5, 8	44	41	48	43, 9	5, 8	44	40	48	0, 88
INTEM_A10	53, 7	5, 4	54	51	57	53, 2	5, 6	53	49	57	0, 43
INTEM_CFT	81, 8	25, 4	76	64	92	78, 5	23, 0	75	63	83	0, 29
INTEM_CT	195, 0	35, 6	193	176	219	190, 8	32, 5	189	173	201	0, 18
INTEM_LI30	99, 4	1, 3	100	99	100	99, 4	0, 9	100	99	100	0, 73
INTEM_LI45	96, 4	2, 7	97	95	98	96, 1	2, 8	97	95	98	0, 57
INTEM_LI60	93, 3	3, 3	94	92	95	92, 8	3, 8	93	91	95	0, 33
INTEM_MCF	59, 4	4, 8	60	57	62	58, 5	4, 9	59	55	61	0, 13
INTEM_alpha	74, 0	4, 1	75	71	77	74, 6	3, 9	75	73	77	0, 18



**Πίνακας 12.** Τελειόμηνα νεογνά - Διαβήτη κύησης και παράμετροι ROTEM

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	Διαβήτη κύησης (N=9)					Χωρίς Διαβήτη κύησης (N=217)					p (Kr-Wal)
	Mean	SD	Median	p25	p75	Mean	SD	Median	p25	p75	
EXTEM_A05	41, 8	3, 3	42	41	44	42, 5	6, 2	43	39	46	0, 68
EXTEM_A10	51, 7	3, 4	52	50	54	52, 0	6, 1	52	48	56	0, 85
EXTEM_CFT	93, 1	10, 9	96	87	100	89, 3	25, 2	84, 5	72	102	0, 26
EXTEM_CT	57, 9	9, 9	57	50	68	53, 0	10, 4	51, 5	46	58	0, 14
EXTEM_LI30	99, 3	1, 7	100	100	100	99, 8	0, 6	100	100	100	0, 20
EXTEM_LI45	96, 6	3, 3	98	95	99	97, 6	2, 4	98	97	99	0, 40
EXTEM_LI60	93, 3	4, 5	96	91	97	94, 2	4, 2	95	93	97	0, 59
EXTEM_MCF	58, 3	3, 7	59	55	60	58, 9	5, 4	59	56	62	0, 66
EXTEM_alpha	71, 6	2, 2	72	70	74	73, 0	4, 7	73, 5	70	76	0, 17
FIBTEM_A05	13, 4	1, 9	14	12	15	13, 9	4, 0	13	11	16	0, 96
FIBTEM_A10	14, 3	2, 4	14	13	16	15, 2	4, 3	15	12	17	0, 75
FIBTEM_CT	46, 4	6, 9	46	43	48	50, 9	14, 6	48	42	55	0, 40
FIBTEM_LI30	100, 0	0, 0	100	100	100	99, 8	0, 9	100	100	100	0, 46
FIBTEM_LI45	99, 3	2, 0	100	100	100	99, 7	1, 3	100	100	100	0, 86
FIBTEM_LI60	99, 7	1, 0	100	100	100	99, 4	2, 6	100	100	100	0, 97
FIBTEM_MCF	16, 2	3, 3	15	14	19	17, 0	4, 7	17	14	20	0, 77
FIBTEM_alpha	71, 9	5, 9	72	68	76	72, 2	6, 8	74	68	77	0, 75
INTEM_A05	46, 1	3, 1	46	43	48	43, 9	5, 8	44	41	48	0, 24
INTEM_A10	55, 7	3, 0	56	53	57	53, 4	5, 5	54	50	57	0, 17
INTEM_CFT	72, 8	8, 9	75	71	77	81, 0	24, 6	76	64	92	0, 48
INTEM_CT	190, 1	21, 3	191	188	202	193, 4	34, 3	191	175	216	0, 94
INTEM_LI30	99, 6	0, 7	100	99	100	99, 4	1, 2	100	99	100	0, 92
INTEM_LI45	96, 4	1, 9	97	95	98	96, 3	2, 7	97	95	98	0, 98
INTEM_LI60	93, 4	2, 7	95	91	95	93, 2	3, 4	94	92	95	0, 89
INTEM_MCF	61, 2	3, 2	62	59	63	59, 0	4, 8	59	56	62	0, 13
INTEM_alpha	75, 3	1, 7	75	74	75	74, 1	4, 1	75	72	77	0, 55

Πίνακας 13. Κάπνισμα μητέρας και παράμετροι ROTEM

Μεταβλητή	Μητέρα Καπνίστρια(N=20)					Μητέρα μη καπνίστρια(N=206)					p (Kr-Wal)
	Mean	SD	Median	p25	p75	Mean	SD	Median	p25	p75	
EXTEM_A05	43,67	6,73	44,00	40,00	47,00	42,40	6,05	42,00	39,00	46	0,20
EXTEM_A10	53,11	6,39	54,00	49,00	57,00	51,90	5,94	52,00	48,00	56	0,23
EXTEM_CFT	85,33	30,13	78,00	74,00	87,00	89,80	24,27	87,00	73,00	102	0,17
EXTEM_CT	51,17	10,44	49,00	45,00	56,00	53,38	10,36	52,00	46,00	59	0,28
EXTEM_LI30	99,94	0,24	100,00	100,00	100,00	99,81	0,69	100,00	100,00	100	0,48
EXTEM_LI45	98,47	1,37	99,00	98,00	99,00	97,50	2,48	98,00	97,00	99	<b>0,04</b>
EXTEM_LI60	96,24	2,02	97,00	95,00	98,00	94,02	4,29	95,00	93,00	97	<b>0,00</b>
EXTEM_MCF	60,22	5,32	61,00	58,00	64,00	58,76	5,33	59,00	55,00	62	0,11
EXTEM_alpha	73,72	5,83	75,00	72,00	78,00	72,87	4,52	73,00	70,00	76	0,21
FIBTEM_A05	12,94	3,75	13,00	10,00	15,00	13,95	3,90	13,00	11,00	16	0,43
FIBTEM_A10	14,29	4,00	14,00	11,00	17,00	15,22	4,27	15,00	12,00	17	0,51
FIBTEM_CT	47,35	8,18	45,00	41,00	52,00	51,03	14,78	48,00	43,00	55	0,31
FIBTEM_LI30	99,82	0,73	100,00	100,00	100,00	99,81	0,93	100,00	100,00	100	0,93
FIBTEM_LI45	99,69	0,87	100,00	100,00	100,00	99,65	1,40	100,00	100,00	100	0,72
FIBTEM_LI60	100,00	0,00	100,00	100,00	100,00	99,36	2,68	100,00	100,00	100	0,16
FIBTEM_MCF	16,53	4,35	17,00	13,00	19,00	17,05	4,73	16,50	14,00	20	0,90
FIBTEM_alpha	73,13	6,57	75,00	67,50	78,00	72,09	6,75	73,00	68,00	77	0,59
INTEM_A05	43,89	5,97	44,50	40,00	48,00	44,01	5,73	44,00	41,00	48	0,98
INTEM_A10	53,39	5,73	54,50	51,00	57,00	53,49	5,42	54,00	51,00	57	1,00
INTEM_CFT	82,06	24,06	78,50	63,00	101,00	80,56	24,28	76,00	65,00	90	0,75
INTEM_CT	193,67	27,83	190,00	183,00	202,00	193,21	34,37	191,00	175,00	212	0,84
INTEM_LI30	98,72	2,76	100,00	99,00	100,00	99,49	0,85	100,00	99,00	100	0,74
INTEM_LI45	95,47	5,62	98,00	96,00	99,00	96,41	2,28	97,00	95,00	98	0,30
INTEM_LI60	93,44	4,68	95,00	92,00	96,50	93,22	3,29	94,00	92,00	95	0,21
INTEM_MCF	59,50	4,50	60,50	58,00	62,00	59,08	4,79	59,00	56,00	62	0,49
INTEM_alpha	74,00	3,71	74,50	70,00	77,00	74,19	4,05	75,00	72,00	77	0,66

Στα νεογνά των καπνιστριών μητέρων φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με τα νεογνά των μη καπνιστριών στο δείκτη λύσης θρόμβου (Li45, Li 60) στη δοκιμασία EXTEM, με τα πρώτα να έχουν μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα.

### 3.3.2. Συσχετίσεις παραμέτρων ROTEM σε πρόωρα νεογνά

Διενεργήθηκαν τεστ συσχέτισεων μεταξύ των παραμέτρων ROTEM (INTEM, EXTEM, FIBTEM) και των δημογραφικών και αιματολογικών χαρακτηριστικών των προώρων νεογνών του δείγματος. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 14. Πίνακας συσχέτισεων παραμέτρων INTEM και αιματολογικών και δημογραφικών χαρακτηριστικών προώρων νεογνών

	INTE M_CT	INTEM _A05	INTEM _A10	INTEM _CFT	INTEM _MCF	INTEM_ alpha	INTEM _LI30	INTEM _LI45	INTEM _LI60
H.K.	0,04 0,74	-0,14 0,27	-0,13 0,30	0,10 0,44	-0,11 0,37	-0,10 0,43	-0,27 <b>0,02</b>	-0,39 <b>0,00</b>	-0,59 <b>&lt;.0001</b>
B.Γ.	0,05 0,70	-0,11 0,36	-0,11 0,37	0,07 0,56	-0,08 0,52	-0,07 0,58	-0,21 0,09	-0,31 <b>0,01</b>	-0,44 <b>0,00</b>
Ht	0,07 0,59	-0,55 <b>&lt;.0001</b>	-0,53 <b>&lt;.0001</b>	0,52 <b>&lt;.0001</b>	-0,51 <b>&lt;.0001</b>	-0,50 <b>&lt;.0001</b>	0,13 0,30	0,09 0,47	0,05 0,69
Hb	0,16 0,20	-0,52 <b>&lt;.0001</b>	-0,50 <b>&lt;.0001</b>	0,51 <b>&lt;.0001</b>	-0,48 <b>&lt;.0001</b>	-0,50 <b>&lt;.0001</b>	0,12 0,36	0,05 0,69	0,05 0,73
PLT	-0,19 0,12	0,56 <b>&lt;.0001</b>	0,57 <b>&lt;.0001</b>	-0,54 <b>&lt;.0001</b>	0,58 <b>&lt;.0001</b>	0,51 <b>&lt;.0001</b>	-0,31 <b>0,01</b>	-0,28 <b>0,02</b>	-0,24 0,07
Total BIL	-0,01 0,92	0,17 0,17	0,15 0,22	-0,17 0,17	0,13 0,30	0,15 0,23	-0,10 0,42	-0,10 0,44	0,13 0,33

Συντμήσεις: H.K. ηλικία κύησης, B.Γ. βάρος γέννησης, Ht αιματοκρίτης, Hb αιμοσφαιρίνη, PLT αιμοπετάλια, Bil χολερυθρίνη

Πίνακας 15. Πίνακας συσχετίσεων παραμέτρων EXTEM και αιματολογικών και δημογραφικών χαρακτηριστικών προώρων νεογνών

	EXTEM _CT	EXTEM_ A05	EXTEM_ A10	EXTEM_ CFT	EXTEM_ MCF	EXTEM_a Ipha	EXTEM_ LI30	EXTEM_ LI45	EXTEM_ LI60
H.K.	0, 21	-0, 07	-0, 08	0, 00	-0, 05	-0, 08	-0, 17	-0, 24	-0, 42
	0, 09	0, 57	0, 51	0, 99	0, 67	0, 50	0, 18	<b>0, 05</b>	<b>0, 00</b>
B.Γ.	0, 12	-0, 09	-0, 10	0, 05	-0, 07	-0, 09	-0, 02	-0, 08	-0, 23
	0, 32	0, 46	0, 45	0, 71	0, 60	0, 45	0, 89	0, 52	0, 08
Ht	0, 53	-0, 52	-0, 49	0, 59	-0, 48	-0, 65	0, 13	0, 09	-0, 03
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	0, 30	0, 46	0, 80
Hb	0, 44	-0, 49	-0, 48	0, 51	-0, 47	-0, 55	0, 06	0, 06	-0, 04
	<b>0, 00</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	0, 63	0, 66	0, 76
PLT	-0, 39	0, 57	0, 52	-0, 59	0, 52	0, 46	-0, 27	-0, 22	-0, 14
	<b>0, 00</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0, 03</b>	0, 08	0, 29
Total BIL	-0, 14	0, 19	0, 20	-0, 16	0, 15	0, 17	-0, 17	-0, 04	0, 08
	0, 29	0, 13	0, 11	0, 19	0, 23	0, 19	0, 18	0, 75	0, 53

Συντμήσεις: H.K. ηλικία κύησης, B.Γ. βάρος γέννησης, Ht αιματοκρίτης, Hb αιμοσφαιρίνη, PLT αιμοπετάλια, Bil χολερυθρίνη

Πίνακας 16. Πίνακας συσχετίσεων παραμέτρων FIBTEM και αιματολογικών και δημογραφικών χαρακτηριστικών προώρων νεογνών

	FIBTEM _CT	FIBTEM_ A05	FIBTEM_ A10	FIBTEM_ CFT	FIBTEM_ MCF	FIBTEM_ alpha	FIBTEM_ LI30	FIBTEM_ LI45	FIBTEM_ LI60
H.K.	0, 22	-0, 10	-0, 15	NA	-0, 15	-0, 11	-0, 23	-0, 12	-0, 26
	0, 08	0, 42	0, 22	NA	0, 24	0, 40	0, 07	0, 36	<b>0, 05</b>
B.Γ.	0, 12	-0, 11	-0, 16	NA	-0, 15	-0, 08	-0, 14	-0, 08	-0, 16
	0, 34	0, 36	0, 21	NA	0, 24	0, 53	0, 25	0, 53	0, 21
Ht	0, 50	-0, 38	-0, 36	NA	-0, 36	-0, 48	0, 07	0, 03	-0, 05
	<b>&lt;.0001</b>	<b>0, 00</b>	<b>0, 00</b>	NA	<b>0, 00</b>	<b>&lt;.0001</b>	0, 60	0, 80	0, 72
Hb	0, 44	-0, 35	-0, 33	NA	-0, 34	-0, 46	0, 10	0, 01	-0, 07
	<b>0, 00</b>	<b>0, 00</b>	<b>0, 01</b>	NA	<b>0, 01</b>	<b>0, 00</b>	0, 43	0, 93	0, 60
PLT	-0, 26	0, 32	0, 30	NA	0, 29	0, 30	-0, 11	-0, 14	-0, 22
	<b>0, 04</b>	<b>0, 01</b>	<b>0, 01</b>	NA	<b>0, 02</b>	<b>0, 02</b>	0, 37	0, 28	0, 09
Total BIL	-0, 10	0, 25	0, 26	NA	0, 24	0, 18	0, 29	0, 05	0, 10
	0, 45	<b>0, 04</b>	<b>0, 04</b>	NA	0, 06	0, 17	<b>0, 02</b>	0, 70	0, 46

Συντμήσεις: H.K. ηλικία κύησης, B.Γ. βάρος γέννησης, Ht αιματοκρίτης, Hb αιμοσφαιρίνη, PLT αιμοπετάλια, Bil χολερυθρίνη

Από την στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι η ηλικία κύησης είχε αρνητική συσχέτιση σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με το δείκτη λύσης του θρόμβου. Το Β.Γ. βρέθηκε να έχει στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με το δείκτη λύσης του θρόμβου ( INTEM Li 45, Li 60).

Οι τιμές του Ht συσχετίζονται αρνητικά σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με το μέγεθος του θρόμβου στα 5' και 10' (A5, A10), με το μέγιστο μέγεθος του θρόμβου (MCF), και την ταχύτητα δημιουργίας του και στις τρεις δοκιμασίες. Οι τιμές Ht βρέθηκαν να έχουν στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με το CT στις δοκιμασίες EXTEM και FIBTEM καθώς και με τον χρόνο δημιουργίας θρόμβου (CFT) στις δοκιμασίες EXTEM, INTEM.

Ο αριθμός αιμοπεταλίων φάνηκε να έχει θετική στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το μέγεθος του θρόμβου και την ταχύτητα δημιουργίας του, όπως εκφράζεται στις παραμέτρους A5, A10, MCF, και γωνία α για όλες τις δοκιμασίες ROTEM.

Το είδος τοκετού και ο διαβήτης κύησης της μητέρας δεν φάνηκε να έχουν κάποια συσχέτιση με τις τιμές των παραμέτρων ROTEM. (πίνακες 13, 14).

Πίνακας 17. Πρόωρα νεογνά- Είδος τοκετού και παραμέτροι ROTEM

Μεταβλητές	Φυσιολογικός τοκετός (N=6)					Καισαρική τομή (N=63)					p (Kr-Wal)
	Mean	SD	Median	p25	p75	Mean	SD	Median	p25	p75	
EXTEM_A05	42, 5	8, 6	40	35	52	46, 8	6, 8	48	42, 5	52	0, 21
EXTEM_A10	51, 2	8, 1	50	44	60	55, 6	6, 6	56, 5	51, 5	60, 5	0, 20
EXTEM_CFT	93, 3	27, 3	105, 5	60	111	73, 9	21, 4	69	61	85	0, 13
EXTEM_CT	50, 3	5, 8	50	45	54	47, 7	6, 9	47	43	52, 5	0, 31
EXTEM_LI30	99, 2	1, 2	99, 5	99	100	99, 1	1, 0	99	98, 5	100	0, 69
EXTEM_LI45	96, 3	1, 8	97	96	97	95, 8	1, 8	96	94, 5	97	0, 37
EXTEM_LI60	93, 5	2, 1	93, 5	93	95	92, 6	2, 6	93	91	94	0, 39
EXTEM_MCF	55, 7	7, 0	55	49	63	60, 1	5, 9	60, 5	56, 5	65	0, 14
EXTEM_alpha	71, 5	5, 1	69	68	78	75, 7	3, 9	77	73	78	0, 07
FIBTEM_A05	13, 3	5, 4	13	9	16	15, 7	4, 2	16	13	17	0, 18
FIBTEM_A10	14, 5	5, 9	14, 5	10	17	16, 8	4, 4	17	14	19	0, 21
FIBTEM_CT	48, 7	5, 2	48, 5	43	54	45, 0	6, 2	45	41	48	0, 19
FIBTEM_LI30	100, 0	0, 0	100	100	100	99, 8	0, 9	100	100	100	0, 58
FIBTEM_LI45	100, 0	0, 0	100	100	100	99, 6	1, 2	100	100	100	0, 28
FIBTEM_LI60	100, 0	0, 0	100	100	100	99, 6	1, 0	100	100	100	0, 26
FIBTEM_MCF	16, 3	7, 2	15	12	19	18, 5	4, 7	19	15	20, 5	0, 21
FIBTEM_alpha	74, 0	5, 8	76	69	77	75, 0	6, 1	76, 5	72	79	0, 66
INTEM_A05	43, 5	6, 4	42	40	47	48, 6	6, 9	50	43	54	0, 10
INTEM_A10	52, 2	5, 9	51, 5	48	56	56, 9	6, 4	58	53	62	0, 08
INTEM_CFT	77, 5	17, 4	77, 5	66	91	67, 2	21, 3	60	51	78	0, 14
INTEM_CT	181, 7	15, 0	184	175	192	202, 4	36, 4	202	183	221	0, 06
INTEM_LI30	98, 7	1, 5	99	98	100	98, 4	1, 2	99	98	99	0, 46
INTEM_LI45	95, 5	2, 3	96	94	97	95, 0	2, 2	95	93, 5	96, 5	0, 52
INTEM_LI60	92, 8	3, 1	93, 5	91	95	91, 7	3, 0	92	90	94	0, 35
INTEM_MCF	55, 7	5, 8	56	51	61	60, 1	5, 9	61	56	64	0, 09
INTEM_alpha	74, 8	2, 6	75	72	76	76, 6	3, 9	78	74	79	0, 17

Πίνακας 18. Πρόωρα νεογνά- Διαβήτη κύησης και παράμετροι ROTEM

Μεταβλητή	Διαβήτη κύησης (N=7)					Χωρίς διαβήτη κύησης (N=62)					p (Kr-Wal)
	Mean	SD	Median	p25	p75	Mean	SD	Median	p25	p75	
EXTEM_A05	46, 5	8, 0	47, 5	46	50	46, 4	7, 0	48	40, 5	52	0, 86
EXTEM_A10	56, 0	7, 7	57, 5	55	59	55, 1	6, 7	56	49, 5	60, 5	0, 74
EXTEM_CFT	78, 8	30, 0	71	66	78	75, 3	21, 9	69, 5	60, 5	88	0, 82
EXTEM_CT	50, 8	6, 7	50	44	57	47, 7	6, 8	47	43	52, 5	0, 30
EXTEM_LI30	99, 3	0, 8	99, 5	99	100	99, 1	1, 0	99	98, 5	100	0, 56
EXTEM_LI45	96, 5	1, 8	97	95	97	95, 8	1, 8	96	94, 5	97	0, 37
EXTEM_LI60	93, 8	1, 9	94, 5	92	95	92, 5	2, 6	93	91	94	0, 21
EXTEM_MCF	60, 5	6, 5	61	60	63	59, 6	6, 1	60	56	64, 5	0, 74
EXTEM_alpha	74, 5	5, 1	75, 5	74	77	75, 4	4, 1	77	73	78	0, 55
FIBTEM_A05	16, 1	3, 5	16	13	17	15, 4	4, 4	16	13	17	0, 73
FIBTEM_A10	17, 6	3, 5	17	14	19	16, 5	4, 7	17	13	19	0, 59
FIBTEM_CT	44, 0	4, 3	45	40	48	45, 5	6, 4	45	41	49	0, 58
FIBTEM_LI30	100, 0	0, 0	100	100	100	99, 8	0, 9	100	100	100	0, 54
FIBTEM_LI45	100, 0	0, 0	100	100	100	99, 6	1, 2	100	100	100	0, 24
FIBTEM_LI60	100, 0	0, 0	100	100	100	99, 6	1, 0	100	100	100	0, 22
FIBTEM_MCF	19, 6	3, 3	20	17	22	18, 1	5, 1	19	15	20	0, 41
FIBTEM_alpha	74, 7	5, 3	76	72	78	74, 9	6, 2	76, 5	71, 5	79	0, 80
INTEM_A05	49, 4	7, 3	51	47	53	48, 0	7, 0	48, 5	41, 5	54	0, 57
INTEM_A10	57, 6	6, 7	59	56	61	56, 4	6, 5	57, 5	50	62	0, 59
INTEM_CFT	64, 0	25, 7	58	46	68	68, 6	20, 6	62, 5	52	80	0, 44
INTEM_CT	195, 3	25, 6	202	177	218	201, 2	36, 5	197	182	221	0, 93
INTEM_LI30	98, 4	1, 1	99	97	99	98, 4	1, 3	99	98	99	0, 93
INTEM_LI45	95, 3	2, 1	96	93	97	95, 0	2, 2	95	94	97	0, 68
INTEM_LI60	92, 6	2, 0	93	90	94	91, 8	3, 1	92	89	94	0, 52
INTEM_MCF	60, 9	5, 2	61	59	63	59, 6	6, 1	61	54, 5	64	0, 64
INTEM_alpha	77, 1	4, 3	78	76	80	76, 3	3, 8	77	74	79	0, 50

Πίνακας 19. Πρόωρα νεογνά- RDS και παράμετροι ROTEM

Μεταβλητή	RDS (N=26)					no RDS (N=43)					p (Kr-Wal)
	Mean	SD	Median	p25	p75	Mean	SD	Median	p25	p75	
EXTEM_A05	48, 7	6, 7	50	44	54	44, 98	6, 9	46	40	49	<b>0, 03</b>
EXTEM_A10	57, 3	6, 3	59	52	62	53, 85	6, 8	55	49	59	<b>0, 03</b>
EXTEM_CFT	68, 2	18, 2	62	56	78	80, 20	23, 8	73	64	97	<b>0, 03</b>
EXTEM_CT	44, 6	5, 8	44	41	47	50, 05	6, 5	49	45	55	<b>0, 00</b>
EXTEM_LI30	99, 1	1, 0	99	99	100	99, 07	1, 1	99	99	100	0, 92
EXTEM_LI45	95, 9	1, 6	96	95	97	95, 80	2, 0	96	94	97	0, 87
EXTEM_LI60	93, 2	1, 9	93	92	95	92, 34	2, 9	93	91	94	0, 36
EXTEM_MCF	61, 5	5, 6	63	57	66	58, 56	6, 2	59	54	63	0, 06
EXTEM_alpha	77, 0	3, 6	78	77	79	74, 34	4, 2	76	72	77	<b>0, 00</b>
FIBTEM_A05	17, 0	4, 6	17	15	20	14, 59	3, 9	15	13	17	<b>0, 04</b>
FIBTEM_A10	18, 4	4, 5	18	16	21	15, 54	4, 3	16	13	18	<b>0, 01</b>
FIBTEM_A30	20, 0	4, 6	19	18	22	17, 32	4, 5	18	15	20	<b>0, 03</b>
FIBTEM_CT	43, 6	5, 6	44	39	47	46, 41	6, 4	46	43	50	<b>0, 04</b>
FIBTEM_LI30	100, 0	0, 0	100	100	100	99, 76	1, 0	100	100	100	0, 17
FIBTEM_LI45	99, 9	0, 3	100	100	100	99, 54	1, 5	100	100	100	0, 52
FIBTEM_LI60	99, 9	0, 3	100	100	100	99, 53	1, 2	100	100	100	0, 18
FIBTEM_MCF	20, 0	4, 7	19	18	22	17, 17	4, 8	18	14	20	<b>0, 03</b>
FIBTEM_alpha	77, 0	5, 8	78	75	81	73, 47	5, 9	74, 5	70	79	<b>0, 01</b>
INTEM_A05	49, 8	6, 8	51, 5	46	54	47, 02	6, 9	47	41	52	0, 07
INTEM_A10	58, 2	6, 0	60	55	63	55, 41	6, 6	56	50	60	<b>0, 05</b>
INTEM_CFT	64, 9	21, 6	58, 5	50	71	70, 12	20, 7	66	54	81	0, 20
INTEM_CT	203, 2	43, 6	198	183	222	198, 88	29, 6	197	182	218	0, 89
INTEM_LI30	98, 5	1, 4	99	98	99	98, 37	1, 2	99	98	99	0, 50
INTEM_LI45	95, 3	2, 2	96	94	97	94, 83	2, 1	95	93	96	0, 32
INTEM_LI60	92, 7	2, 8	93	91	94	91, 32	3, 1	92	89	93	0, 08
INTEM_MCF	61, 1	5, 5	62, 5	58	65	58, 80	6, 2	60	54	63	0, 07
INTEM_alpha	76, 9	4, 0	78, 5	75	80	76, 10	3, 7	77	74	79	0, 24



Τα πρόωρα νεογνά με ιστορικό RDS, συγκριτικά με εκείνα που δεν είχαν, φάνηκε να έχουν υπερπηκτική διάθεση όπως αυτό αποτυπώνεται με το αυξημένο μέγεθος θρόμβου A5, A10, MCF στις δοκιμασίες EXTEM, FIBTEM, A10 INTEM και τους μειωμένους χρόνους CT, CFT στις δοκιμασίες EXTEM, FIBTEM. Επίσης, από την ανάλυση των δεδομένων, αναφορικά με το ιστορικό IVH-I, δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά των παραμέτρων ROTEM, μεταξύ των νεογνών με και χωρίς IVH-I.

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα των νοσηλευομένων στις μονάδες νεογνών αποτελούν οι διαταραχές της αιμόστασης. Συχνά είναι σοβαρές και απειλητικές για τη ζωή καθιστώντας την διάγνωση και την αντιμετώπιση τους εξαιρετικά σημαντικές για τους Νεογνολόγους. Τα νεογνά έχουν ιδιαίτερα αιμοστατικά χαρακτηριστικά, εξαρτώμενα από την ηλικία κύησης, τα επίπεδα της βιταμίνης Κ, τον βαθμό της ηπατικής ωριμότητας. Υπάρχουν διαφορές στους παράγοντες πήξης και ινωδόλυσης ανάμεσα στα νεογνά, τα παιδιά και τους ενήλικες. [83-86, 139, 243]

Τα χαμηλότερα επίπεδα των πηκτικών παραγόντων στα νεογνά αντισταθμίζονται λειτουργικά από τα χαμηλότερα επίπεδα των φυσικών ανασταλτών της αιμόστασης και τις ανεπάρκειες των συντελεστών της ινωδόλυσης. [226] Η αιμοστατική ισορροπία που επιτυγχάνεται συντελεί στην έλλειψη αιμορραγικής ή θρομβωτικής διάθεσης στο υγιές τελειόμηνο ή πρόωρο νεογνό, υπό φυσιολογικές συνθήκες. [83, 123, 244-248] Ωστόσο αυτή η δυναμική ισορροπία σε παθολογικές καταστάσεις όπως η σηψαιμία, η περιγεννητική ασφυξία, το τραύμα ανατρέπεται εύκολα. [249, 250] Οι αιμορραγικές εκδηλώσεις στο νεογνό μπορεί να προβάλλουν ήπια ως παράταση της ροής κατά την φλεβοκέντηση, είτε και ως σοβαρά αιμορραγικά συμβάματα ακόμη και απειλητικά για την ζωή. Ο περιορισμένος όγκος αίματος στα νεογνά, η δυσκολία αντιρρόπησης της υποογκαιμίας, κυρίως στα μικρά πρόωρα, καθιστούν τις αιμορραγικές εκδηλώσεις όποιουδήποτε βαθμού, κριτικής σημασίας για τον ευαίσθητο αυτό πληθυσμό. Η σοβαρή αιμορραγία που απαιτεί μεταγγίσεις με παράγωγα αίματος ενηλίκων, συσχετίζεται με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα. [251] Επιπροσθέτως μεγάλη σημασία έχει το γεγονός αυξημένου κινδύνου εγκεφαλικής αιμορραγίας στα πρόωρα [252, 253], που οδηγεί συχνά τους Νεογνολόγους σε μεταγγίσεις παραγώγων αίματος σε μη αιμορραγικά νεογνά, με στόχο την προφύλαξή τους από την εκδήλωση της αιμορραγίας. [254] Στη βιβλιογραφία έχει διαπιστωθεί πως αν και σωτήρια σε περιπτώσεις ενεργού μείζονος αιμορραγίας, η χορήγηση αιμοπεταλίων και/ή FFP σε μη αιμορραγικά νεογνά με βάση εργαστηριακές εξετάσεις, όχι μόνο απέτυχε να μειώσει την αιμορραγία, αλλά έχει συσχετιστεί με αυξημένη νεογνική νοσηρότητα και θνησιμότητα στην περίπτωση

των αιμοπεταλίων. [255, 256] Η χρήση των συμβατικών δοκιμασιών ελέγχου της πήξης συμπεριλαμβανομένων των PT, APTT, αριθμού αιμοπεταλίων και εκτίμησης ινωδογόνου, με τους περιορισμούς που έχουν στην πρόβλεψη της αιμορραγίας και στην καθοδήγηση μεταγγισιοθεραπείας καθώς και οι ξεχωριστές ιδιότητες του αιμοστατικού μηχανισμού στα νεογνά, έχουν στρέψει το ενδιαφέρον στην χρήση των νεώτερων μεθόδων, όπως η TEG/TEM, για την πρόβλεψη και ρύθμιση της θεραπείας νεογνών με αιμορραγία, ή θρομβωτική προδιάθεση. Αυτές οι μέθοδοι περιλαμβάνουν τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε κυτταρικά και πλασματικά στοιχεία του αιμοστατικού μηχανισμού, σε μικρό όγκο αίματος, δίνουν τα πρώτα αποτελέσματα μέσα σε 5 -10 min, επιτρέποντας την άμεση αναγνώριση της υποκείμενης διαταραχής της αιμόστασης και την κατεύθυνση για επιλογή του κατάλληλου παραγώγου αίματος προς μετάγγιση. Αν και στους ενήλικες οι μέθοδοι αυτές έχουν εδραιωθεί και ακολουθούνται διαγνωστικά και θεραπευτικά πρωτόκολλα επείγουσας μεταγγισιοθεραπείας με βελτίωση στην έκβαση [77, 257], στα παιδιά και κυρίως στα νεογνά, η χρήση των ιξωδοελαστικών μεθόδων είναι περιορισμένη, καθώς η έλλειψη καθορισμένων τιμών αναφοράς αποτελεί σημαντικό ανασταλτικό παράγοντα.

Η παρούσα μελέτη παρέχει τιμές αναφοράς για τις παραμέτρους των δοκιμασιών ROTEM, EXTEM, INTEM, FIBTEM σε σημαντικό αριθμό υγιών τελειομήνων και σε μικρότερο δείγμα πρόωρων νεογνών. Οι μελέτες στις οποίες έχουν αναφερθεί τιμές αναφοράς για τις παράμετρους της ROTEM στα νεογνά είναι λίγες, άλλες με μικρό αριθμό υγιών νεογνών και άλλες με λήψη του δείγματος από τον ομφάλιο λώρο. [258-263] Σε αυτή την μελέτη η λήψη των δειγμάτων αφορά σε περιφερικά δείγματα και δεν έγινε κατά την διάρκεια ή αμέσως μετά τον τοκετό, προς αποφυγή ενδεχομένων επιδράσεων στο ευαίσθητο σύστημα αιμόστασης των νεογνών. Επιπλέον οι τιμές αναφοράς που έχουν αναφερθεί σε άλλες μελέτες, περιορίζονται σε κάποιες από τις δοκιμασίες ROTEM . [258-262, 264] Στην μελέτη της Σώκου και συν. παρουσιάζονται τιμές αναφοράς για την δοκιμασία EXTEM σε τελειόμηνα και πρόωρα.[262] Οι τιμές αναφοράς της παρούσας μελέτης για την EXTEM συνάδουν με εκείνες της ανωτέρω μελέτης.

Ο Cviriη και συν. κατέγραψαν τιμές σε δείγματα αίματος ομφαλίου λώρου από 20

τελειόμηνα νεογνά, για τα EXTEM CT, CFT, MCF και FIBTEM CT, MCF, γωνία  $\alpha$ . [259] Οι μέσες τιμές των παραμέτρων ROTEM της ανωτέρω μελέτης βρίσκονται εντός του εύρους των τιμών των αντίστοιχων μετρήσεων της μελέτης μας. Ο Strauss και συν. κατέγραψαν τιμές σε δείγματα από ομφάλιο λώρο από 184 τελειόμηνα νεογνά χρησιμοποιώντας τροποποιημένο αντιδραστήριο EXTEM με μικρότερη δόση ιστικού παράγοντα. [26] Οι τιμές CT που ανέφεραν ήταν μεγαλύτερες από αυτές της παρούσης μελέτης. Το εύρημα θα μπορούσε να αποδοθεί στην μειωμένη ποσότητα του ιστικού παράγοντα. Ο Ravn και συν [261] κατέγραψαν τιμές για CT EXTEM, INTEM σε ολικό αίμα σε 30 τελειόμηνα νεογνά με αντίστοιχες τιμές με της παρούσης μελέτης.

Ο Oswald και συν. προσδιόρισαν τιμές αναφοράς για τις δοκιμασίες EXTEM, FIBTEM, INTEM σε διάφορες ηλικιακές ομάδες παιδιών. Σε μία ηλικιακή ομάδα περιελήφθησαν 51 βρέφη ηλικίας 0-3 μηνών, στα οποία φάνηκε επιτάχυνση της πήξης και ισχυρός θρόμβος συγκριτικά με τις άλλες ομάδες. [265]

Ο Kim και συν. ανέφεραν τιμές αναφοράς για τις ίδιες δοκιμασίες ROTEM (EXTEM, FIBTEM, INTEM), σε παιδιά 0-16 ετών με συγγενείς καρδιοπάθειες. [266] Σε αυτή τη μελέτη το αιμοστατικό προφίλ των νεογνών ήταν παρόμοιο με των υγιών νεογνών της μελέτης του Oswald. Στην μελέτη μας οι περισσότερες προσδιορισθείσες τιμές αναφοράς είναι αντίστοιχες με τις ανωτέρω, εκτός των τιμών της μεταβλητής CFT, οι οποίες στην μελέτη μας είναι συγκριτικά παρατεταμένες στις δοκιμασίες INTEM, EXTEM.

Στην μελέτη μας παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση της ηλικίας κύησης με τους δείκτες Li30, Li45, Li60 στις δοκιμασίες EXTEM, INTEM. Η συσχέτιση αυτή αντανάκλα την αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα που παρατηρείται κυρίως στα πρόωρα νεογνά, η οποία έχει αναφερθεί και σε άλλες μελέτες. [267] [268] Τα δεδομένα συμβαδίζουν με τις αναφορές της διεθνούς βιβλιογραφίας, που υποδεικνύουν διαφορετική ινωδολυτική δραστηριότητα στα νεογνά συγκριτικά με τους ενήλικες. [258, 269] Η αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα στα νεογνά και κυρίως στα πρόωρα, πιθανόν συσχετίζεται με τα αυξημένα επίπεδα ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου και τα μειωμένα επίπεδα αναστολέων της ινωδόλυσης στις μικρότερες ηλικιακές ομάδες. [270] [271]

Ένα ενδιαφέρον στοιχείο στην μελέτη μας, αποτελεί το υποπηκτικό προφίλ που παρουσιάζεται στα νεογνά με υψηλότερο αιματοκρίτη (Ht), και εκφράζεται με την

παράταση των CT, CFT στα INTEM /EXTEM και το μειωμένο A5 στα INTEM/FIBTEM, εύρημα που έχει παρατηρηθεί και σε προηγούμενες μελέτες. [272]. Η αυξημένη σχετική συγκέντρωση των ερυθρών και η αντίστοιχη αραιώση του ινωδογόνου στο ολικό αίμα, αντανακλάται στη μείωση της έκφρασης της δραστηριότητας του ινωδογόνου. Έχει επισημανθεί επίσης από άλλους ερευνητές, ότι οι χαμηλές τιμές Ht στους ασθενείς με αναιμία, θα μπορούσαν να θεωρηθούν η αιτία του υπερπηκτικού προφίλ αυτών των ασθενών στις δοκιμασίες ROTEM. [273] [274]

Στη μελέτη μας ο αριθμός αιμοπεταλίων στα τελειόμηνα και στα πρόωρα, ως αναμένεται, έχει θετική συσχέτιση με το μέγεθος και την ταχύτητα δημιουργίας θρόμβου και αρνητική με τον χρόνο πήξης και τον χρόνο σταθεροποίησης του θρόμβου, στις δοκιμασίες ROTEM, γεγονός το οποίο ισχυροποιεί τον ρόλο των αιμοπεταλίων στην νεογνική αιμόσταση. Τα ευρήματα είναι σε συμφωνία με αντίστοιχες αναφορές στην βιβλιογραφία. [275] [276]

Στην μελέτη μας δεν παρατηρήθηκε επίδραση του ιστορικού της μητέρας με διαβήτη κατά την κύηση στις παραμέτρους των δοκιμασιών ROTEM στο νεογνό, τόσο στα τελειόμηνα όσο και στα πρόωρα νεογνά. Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με προηγούμενη αναφορά της Σώκου και συν. [262]

Στα τελειόμηνα νεογνά των οποίων οι μητέρες κάπνιζαν κατά την κύηση, από τις δοκιμασίες ROTEM, φάνηκε να επηρεάζεται ο δείκτης λύσης του θρόμβου στην δοκιμασία EXTEM, υποδηλώνοντας μειωμένη ινωδόλυση με προθρομβωτική διάθεση, εύρημα σε συμφωνία με προηγούμενη μελέτη της Σώκου και συν. [262].

Όσον αφορά στο είδος τοκετού, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές ως προς τις παραμέτρους ROTEM μεταξύ των νεογνών που γεννήθηκαν κολπικά και εκείνων με καισαρική τομή. Ανάλογα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από τους Schott και συν. σε δείγματα ληφθέντα από ομφάλιο λώρο, [277] και από την Raffaelli και συν. που μελέτησαν τους δείκτες TEG σε δείγματα ολικού αίματος σε 153 VLBW νεογνά.[278] Αντίθετα, ο Liu και συν. βρήκε παρατεταμένο χρόνο πήξης στην δοκιμασία TEG, στα νεογνά που γεννήθηκαν με Κ.Τ. και στα θήλα, σε σχέση με τα γεννηθέντα κολπικά και τα άρρενα.[279]

Δεν υπήρξαν διαφορές στις δοκιμασίες ROTEM, στην παρούσα μελέτη, συσχετιζόμενες με το φύλο, εκτός από τους Li45 και Li60 που βρέθηκαν χαμηλότερα στην δοκιμασία

INTEM, στα άρρενα τελειόμηνα νεογνά. Ο Oswald και συν. ανέφερε αποτελέσματα που δεν παρουσίασαν διαφορά σε σχέση με το φύλο [265] όπως και η Rafaelli και συν.[278] Συσχέτιση μεταξύ IVH και των παραμέτρων ROTEM δεν βρέθηκε στην μελέτη μας. Στην μελέτη συμπεριελήφθησαν μόνο νεογνά με IVH-I, τα οποία δεν ήταν σοβαρά άρρωστα με διαταραχές της πήξης, οι οποίες μπορούν να επιδεινώσουν την εγκεφαλική αιμορραγία. Επιπλέον παράγοντες που σχετίζονται με την εγκεφαλική αιμορραγία στα πρόωρα είναι η ανωριμότητα της αγγείωσης του εγκεφάλου, οι μεταβολές στην εγκεφαλική αιματική ροή και η διαταραχή της αυτορρύθμισης στα πάσχοντα νεογνά.[280]

Αναφορικά με το σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (RDS) στα πρόωρα, στη μελέτη μας φάνηκε υπερπηκτικό προφίλ στα νεογνά στα οποία κατεγράφη θετικό ιστορικό RDS. Η ενδοαγγειακή και εξωαγγειακή εναπόθεση ινώδους και η ενεργοποίηση του πηκτικού και ινωδολυτικού μηχανισμού κατά την οξεία φάση του συνδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας σε μικρά πρόωρα έχουν αναφερθεί σε μελέτες. [281] [282] Η περαιτέρω εξέλιξη της παθολογικής κατάστασης της αιμόστασης που παρατηρείται κατά την οξεία φάση του RDS, έχει επίσης αναφερθεί σε μελέτη νεογνών με ιστορικό RDS, 1 και 6 μήνες μετά την οξεία φάση. [283] Στα νεογνά που είχαν προηγούμενα σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας, σε σχέση με εκείνα που δεν είχαν φάνηκε μια υψηλότερη τάση για σχηματισμό θρομβίνης, γεγονός που μπορεί να συσχετιστεί με την διαταραχή της πηκτικότητας που εμφανίζεται κατά την οξεία φάση του RDS με υπερκατανάλωση των πηκτικών παραγόντων και συνεχίζεται σε χαμηλό βαθμό με μερική μόνον λύση στο επόμενο διάστημα.

Περιορισμό για την μελέτη μας, αποτελεί η έλλειψη ταυτόχρονης διενέργειας με τις δοκιμασίες ROTEM, συμβατικών τέστ πήξης, λόγω του σημαντικού απαιτούμενου όγκου αίματος και του περιορισμένου υπολειπόμενου όγκου που χρησιμοποιήθηκε. Τιμές αναφοράς για τις ιξωδοελαστικές μεθόδους TEG/TEM για νεογνά έχουν αναφερθεί σε 10 μελέτες για την TEG και 7 για την TEM. Οι τιμές που κατεγράφησαν στην μελέτη μας είναι συγκρίσιμες με τις περισσότερες αντίστοιχες τιμές άλλων μελετών. Ωστόσο επισημαίνουμε το γεγονός της επίδρασης προαναλυτικών παραγόντων που μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα, όπως το διαφορετικό μέγεθος των δειγμάτων, ο διαφορετικός χρόνος αιμοληψίας, το διαφορετικό είδος των δειγμάτων αίματος, οι

συνθήκες δειγματοληψίας, τα τροποποιημένα αντιδραστήρια. Οι παράγοντες αυτοί συντελούν στις τυχόν αποκλίσεις ευρημάτων μεταξύ των διαφόρων μελετών. Η Perinatal and Pediatric Hemostasis Subcommittee (SCC) of the International Society on Thrombosis and Hemostasis (ISTH) έχει εκδώσει συστάσεις για τα εργαστήρια που διενεργούν εξετάσεις αιμόστασης σε νεογνά και παιδιά, προτείνοντας όλα τα εργαστήρια που επεξεργάζονται δείγματα αίματος που αφορούν σ' αυτό τον πληθυσμό να καθορίσουν τιμές αναφοράς προσαρμοσμένες στην ηλικία, τους αναλυτές και τα χρησιμοποιούμενα αντιδραστήρια. [131] Κατ' αυτό τον τρόπο, θα είναι δυνατή σε ικανοποιητικό βαθμό η σύγκριση των αποτελεσμάτων των ιξωδοελαστικών δοκιμασιών της αιμόστασης μεταξύ εργαστηρίων με πληθυσμό ανάλογων ηλικιακών ομάδων και πανομοιότυπο τεχνολογικό εξοπλισμό.

Η TEG και TEM πέρα από τις συμβατικές εξετάσεις ελέγχου των διαταραχών της αιμόστασης, που χρησιμοποιούνται στην τρέχουσα κλινική πράξη για την διάγνωση των διαταραχών αυτών στον παιδιατρικό πληθυσμό, παρέχουν μια γρήγορη και συνολική εκτίμηση της πήξης, της αιμοπεταλιακής λειτουργίας και της ινωδολύσης. Η χρήση τους παράλληλα με τα κλασσικά τεστ πήξης, επιτρέπει στοχευμένες θεραπευτικές επιλογές σε σύντομο χρόνο. Αποτελούν χρήσιμα εργαλεία στην διερεύνηση του αιμοστατικού προφίλ των νεογνών και στην ανίχνευση και έγκαιρη αντιμετώπιση αιμορραγικών συμβαμάτων σε χειρουργικές επεμβάσεις, ενώ μπορούν να προσφέρουν στην διερεύνηση των διαταραχών της πήξης σε σηπτικά νεογνά και σε άλλα βαρέως πάσχοντα ή μη νεογνά, που ωστόσο διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για αιμορραγικά ή θρομβωτικά επεισόδια, καθώς και στην μεταγγισιοθεραπεία με το ενδεικνυόμενο παράγωγο αίματος, περιορίζοντας τον αριθμό των μη απαραίτητων μεταγγίσεων καθώς και των παρενεργειών των σχετιζόμενων με αυτές. [226]

Διαγνωστικοί και θεραπευτικοί αλγόριθμοι στον νεογνικό πληθυσμό με την ενσωμάτωση των ιξωδοελαστικών μεθόδων, σε διάφορες κλινικές καταστάσεις θα μπορούσαν να δημιουργηθούν και να συμβάλουν στην βελτίωση της έκβασης. Οι ευρέως αποδεκτές τιμές αναφοράς των παραμέτρων των ιξωδοελαστικών μεθόδων από μεγάλες ομογενοποιημένες μελέτες θα ενισχύσουν την καθιέρωση των μεθόδων αυτών στην καθημερινή κλινική πρακτική. Δεδομένου ότι η συνδυαστική αξιολόγηση των δοκιμασιών

TEM, αυξάνει τη διαγνωστική της ακρίβεια, ο προσδιορισμός για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία ταυτόχρονα, του εύρους κατανομής των τιμών των παραμέτρων τριών δοκιμασιών TEM σε ολικό αίμα στα νεογνά της μελέτης μας, συμβάλλει στην επέκταση της χρήσης της και στον νεογνικό πληθυσμό.



## 5.ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή:** Η θρομβοελαστομετρία (ROTEM/TEM) αποτελεί ιξωδοελαστική μέθοδο εκτίμησης του αιμοστατικού μηχανισμού, αντικατοπτρίζοντας το κυτταρικό μοντέλο της αιμόστασης. Η TEM, ως δοκιμασία παρά την κλίνη του ασθενούς αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για σφαιρική εκτίμηση της αιμόστασης. Στους ενήλικες οι ιξωδοελαστικές δοκιμασίες αποτελούν εδραιωμένο διαγνωστικό και θεραπευτικό οδηγό μεταγγίσεων. Οι διαταραχές της αιμόστασης είναι σύνηθες πρόβλημα στα νοσηλευόμενα νεογνά στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας Νεογνών (MENN) και οι μεταγγίσεις αίματος και παραγώγων του είναι συχνές στον πληθυσμό αυτό, ιδιαίτερος στα πρόωρα νεογνά.

Το αιμοστατικό σύστημα των νεογνών ωριμάζει σταδιακά από την εμβρυική ζωή έως την ενηλικίωση, έτσι ώστε στο νεογνό οι περισσότεροι συντελεστές της πήξης παρουσιάζουν ανωριμότητα που αντανακλάται σε παράταση των κλασσικών χρόνων ελέγχου της πήξεως. Ωστόσο υπάρχει λειτουργική εξισορρόπηση της ανωριμότητας αυτής, που εκφράζεται ως αιμοστατική ισορροπία στο υγιές νεογνό. Στα πάσχοντα νεογνά, η ανατροπή της ισορροπίας αυτής προδιαθέτει σε αιμορραγικές ή θρομβωτικές εκδηλώσεις.

Οι συμβατικές δοκιμασίες πήξης, όπως ο χρόνος προθρομβίνης και ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης δεν παρέχουν πληροφορίες για την ινωδόλυση και την λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, ενώ παρουσιάζουν περιορισμούς στην πρόβλεψη αιμορραγίας και στις αποφάσεις μεταγγισιοθεραπείας στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς.

Η αξιοπιστία της TEM, η αμεσότητα των αποτελεσμάτων και ο μικρός απαιτούμενος όγκος αίματος την καθιστούν ελκυστικό εργαλείο για διάγνωση και θεραπεία διαταραχών της πήξης στα νεογνά. Τιμές αναφοράς των παραμέτρων της TEM για το σύνολο των δοκιμασιών της δεν υπάρχουν επί του παρόντος για νεογνά.

**Σκοπός:** Ο προσδιορισμός του εύρους κατανομής των τιμών των παραμέτρων TEM (EXTEM,INTEM,FIBTEM) σε δείγμα περιφερικού αίματος σε υγιή νεογνά, τελειόμηνα και πρόωρα και η συσχέτιση με δημογραφικά χαρακτηριστικά, αιματοκρίτη (Ht) και αιμοπετάλια( PLT).

**Υλικό-μέθοδος:** 226 υγιή τελειόμηνα νεογνά που γεννήθηκαν στην τριετία 2017-2020 στο Μαιευτήριο του Νοσοκομείου Νίκαιας Πειραιά "ΑΓ. ΠΑΝΤΕΛΕΗΜΩΝ" και 69 πρόωρα χωρίς παθολογία που νοσηλεύτηκαν στην ΜΕΝΝ του Νοσοκομείου την ίδια χρονική περίοδο, απετέλεσαν το υλικό της μελέτης. Κατεγράφησαν τα δημογραφικά στοιχεία τους και διενεργήθηκαν γενική αίματος και οι δοκιμασίες TEM: EXTEM (εκτίμηση εξωγενούς οδού και αλληλεπίδρασης με PLT), INTEM (ενδογενής οδός- PLT), FIBTEM (εκτίμηση λειτουργίας ινωδογόνου μετά προσθήκη αναστολέα της λειτουργίας των αιμοπεταλίων). Στα τελειόμηνα νεογνά η λήψη αίματος έγινε την 2η-3η ημέρα ζωής και στα πρόωρα την 2η-7η μετά την σταθεροποίησή τους, παράλληλα με προγραμματισμένο αναγκαίο εργαστηριακό έλεγχο. Για την κάθε δοκιμασία TEM αξιολογήθηκαν οι κάτωθι παράμετροι: CT, CFT, γωνία  $\alpha$ , A10, MCF και Li 30,45,60.

**Αποτελέσματα:** Το εύρος των τιμών των παραμέτρων TEM για την κάθε δοκιμασία παρουσιάζεται στα 2.5% και 97.5% εκατοστημόρια μαζί με τις διάμεσες τιμές. Το είδος τοκετού και το φύλο δεν παρουσίασαν συσχέτιση με τις τιμές των παραμέτρων TEM, εκτός από χαμηλότερη τιμή των παραμέτρων INTEM Li 45, Li60 στα άρρενα τελειόμηνα νεογνά. Οι τιμές Ht είχαν θετική συσχέτιση με τις CT, CFT (EXTEM, INTEM, FIBTEM) στα τελειόμηνα νεογνά, CT EXTEM, FIBTEM στα πρόωρα νεογνά και αρνητική με τις τιμές A10, MCF. Ο αριθμός PLT είχε ισχυρή συσχέτιση με τις τιμές των παραμέτρων TEM στις δοκιμασίες EXTEM και INTEM.

**Συμπεράσματα:** Δεδομένου ότι η συνδυαστική αξιολόγηση των δοκιμασιών TEM αυξάνει τη διαγνωστική της ακρίβεια, ο προσδιορισμός για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία του εύρους κατανομής των τιμών των παραμέτρων και των τριών δοκιμασιών TEM σε ολικό περιφερικό αίμα σε ικανό αριθμό τελειόμηνων νεογνών στη μελέτη μας, συμβάλλει στην επέκταση της χρήσης της και στον νεογνικό πληθυσμό και θα μπορούσε να υποστηρίξει την ανάπτυξη αλγορίθμων μεταγγισιοθεραπείας και στα νεογνά.

## 6. Abstract

**Introduction:** Rotational Thromboelastometry (ROTEM /TEM) is a viscoelastic method evaluating the coagulation process according to the cell-based model of hemostasis. TEM as a point of care test is an attractive tool for rapid global evaluation of hemostasis. In adults, viscoelastic assays are a diagnostic tool and guide for transfusion therapy. Hemostatic disorders are a common problem of the neonates in Neonatal Intensive Care Unit (NICU). Neonates and especially preterms are the most frequently transfused population in the NICU.

According to the concept of developmental hemostasis, the coagulation system matures gradually from fetal life to adulthood. The levels of most of the coagulation factors are lower in the newborn and they are related to gestational and postnatal age. The “hemostatic immaturity” of the neonates reflected in prolonged standard coagulation tests is functionally counterbalanced and therefore, hemorrhage or thrombosis are rare in the healthy neonate. In case of illness this “hemostatic balance” is deranged, predisposing the sick infant in hemorrhage or thrombosis. Conventional tests of coagulation such as prothrombin time (PT)-partial thromboplastin time (PTT), with a long turnaround time, inability to diagnose hyperfibrinolysis and functional status of platelets, are of limited utility in predicting hemorrhage and guiding transfusion therapy in critically ill patients. Viscoelastic assays such as TEM, providing a rapid assessment of clot formation, clot stabilization and clot lysis in a short time, in a small amount of whole blood are particularly attractive for use in critically ill newborns. Currently, no reference ranges exist for all ROTEM assays in neonates, limiting its use in this vulnerable population.

**Aim:** The establishment of reference ranges for standard extrinsically activated (EXTEM), intrinsically activated (INTEM) and fibrinogen polymerization (FIBTEM) ROTEM assays, in whole blood samples in a relatively large sample of healthy term neonates and in a smaller sample of healthy preterm newborns and the determination of the impact of delivery mode, gender, hematocrit and platelet values on neonatal ROTEM parameters.

## Material and methods

This single centre observational study included 226 full term neonates with gestational age >36+6 weeks and appropriate birth weight for gestational age (AGA), born in the maternity ward of the General Hospital of Nikaia, "Aghios Panteleimon", Piraeus, over a 3 year period (2017-2020).

69 healthy preterm infants (<37 weeks gestational age), AGA, hospitalized in the Neonatal Intensive Care Unit of the above mentioned Hospital during the same 3- year period, were also subjects of the study.

EXTEM, INTEM and FIBTEM assays simultaneously with complete blood count were performed in healthy term neonates on the 2nd-3rd day of life and on the 2nd -7th day of life, after their stabilization in the preterm neonates.

**Results:** Median values and reference ranges (2.5th and 97.5th percentiles) were obtained for clotting time (CT), clot formation time (CFT),  $\alpha$  -angle, clot firmness at 10 min (A10), maximum clot firmness (MCF) and lysis index at 30,45,60 min (Li30, Li45, Li60).

ROTEM parameters were not influenced by the delivery mode. Maternal problems during pregnancy (gestational diabetes, thyroid disease) had no impact on the ROTEM neonatal variables.

There were no gender related differences in the ROTEM variables in our population, except for INTEMLi 45 , Li60 being lower in male term neonates.

Hematocrit (Ht) values were positively correlated with CT, CFT (EXTEM, INTEM, FIBTEM) for the term neonates, CT (EXTEM, FIBTEM) for the preterms. Ht values were negatively correlated with A10, MCF values. PLT values were positively correlated with ROTEM, EXTEM, INTEM variables.

**Conclusions:** This is the first study to concurrently evaluate three ROTEM assays in whole blood samples in a neonatal population, with a relatively large sample of term neonates, according to the reference bibliography data.

Considering that the combined evaluation of ROTEM tests increases its diagnostic and therapeutic value, our study results could contribute to the expansion of ROTEM use in the neonatal population. The established reference

ranges for the term newborns could possibly support the development of ROTEM– guided transfusion algorithms in neonates.

### III. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Pryzdial, E.L.G., et al., *Blood coagulation dissected*. Transfus Apher Sci, 2018. **57**(4): p. 449-457.
2. Winter, W.E., S.D. Flax, and N.S. Harris, *Coagulation Testing in the Core Laboratory*. Laboratory Medicine, 2017. **48**(4): p. 295-313.
3. Boulton, F., *A hundred years of cascading - started by Paul Morawitz (1879-1936), a pioneer of haemostasis and of transfusion*. Transfus Med, 2006. **16**(1): p. 1-10.
4. Riddel, J.P., Jr., et al., *Theories of blood coagulation*. J Pediatr Oncol Nurs, 2007. **24**(3): p. 123-31.
5. Davie, E.W. and O.D. Ratnoff, *WATERFALL SEQUENCE FOR INTRINSIC BLOOD CLOTTING*. Science, 1964. **145**(3638): p. 1310-2.
6. Macfarlane, R.G., *AN ENZYME CASCADE IN THE BLOOD CLOTTING MECHANISM, AND ITS FUNCTION AS A BIOCHEMICAL AMPLIFIER*. Nature, 1964. **202**: p. 498-9.
7. Hoffman, M. and D.M. Monroe, 3rd, *A cell-based model of hemostasis*. Thromb Haemost, 2001. **85**(6): p. 958-65.
8. Λουκόπουλος, Δ.Μ., Πολίτη, *Μαθήματα αιματολογίας* 2015 Κάλλιπος Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις.
9. Michiels, C., *Endothelial cell functions*. Journal of Cellular Physiology, 2003. **196**(3): p. 430-443.
10. Cines, D.B., et al., *Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders*. Blood, 1998. **91**(10): p. 3527-61.
11. Lasne, D., B. Jude, and S. Susen, *From normal to pathological hemostasis*. Can J Anaesth, 2006. **53**(6 Suppl): p. S2-11.
12. Ignarro, L.J., et al., *Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(24): p. 9265-9.
13. Fay, P.J., *Factor VIII Structure and Function*. International Journal of Hematology, 2006. **83**(2): p. 103-108.
14. Aird, W.C., *Spatial and temporal dynamics of the endothelium*. J Thromb Haemost, 2005. **3**(7): p. 1392-406.
15. Versteeg, H.H., et al., *New fundamentals in hemostasis*. Physiol Rev, 2013. **93**(1): p. 327-58.
16. van der Meijden, P.E.J. and J.W.M. Heemskerk, *Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives*. Nat Rev Cardiol, 2019. **16**(3): p. 166-179.
17. Fritsma, G.A., *Platelet Structure and Function*. American Society for Clinical Laboratory Science, 2015. **28**(2): p. 125.
18. Agbani, E.O. and A.W. Poole, *Procoagulant platelets: generation, function, and therapeutic targeting in thrombosis*. Blood, 2017. **130**(20): p. 2171-2179.
19. Harper, M.T., *Platelets, fourth edition (Ed. Michelson, Cattaneo, Frelinger & Newman)*. Platelets, 2019. **30**(7): p. 935-935.
20. Gu, S.X., et al., *Thrombocytopeny and endotheliopathy: crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation*. Nat Rev Cardiol, 2021. **18**(3): p. 194-209.
21. Best, M.G., et al., *RNA-Seq of Tumor-Educated Platelets Enables Blood-Based Pan-Cancer, Multiclass, and Molecular Pathway Cancer Diagnostics*. Cancer Cell, 2015. **28**(5): p. 666-676.
22. Middleton, E.A., et al., *Sepsis alters the transcriptional and translational landscape of human and murine platelets*. Blood, 2019. **134**(12): p. 911-923.
23. Plé, H., et al., *Alteration of the platelet transcriptome in chronic kidney disease*. Thromb Haemost, 2012. **108**(4): p. 605-15.

24. Tyagi, T., et al., *A guide to molecular and functional investigations of platelets to bridge basic and clinical sciences*. Nature Cardiovascular Research, 2022. **1**(3): p. 223-237.
25. Moskalensky, A.E. and A.L. Litvinenko, *The platelet shape change: biophysical basis and physiological consequences*. Platelets, 2019. **30**(5): p. 543-548.
26. Zieseniss, S., et al., *Modified phosphatidylethanolamine as the active component of oxidized low density lipoprotein promoting platelet prothrombinase activity*. J Biol Chem, 2001. **276**(23): p. 19828-35.
27. Fritsma, G., *Platelet Structure and Function*. American Society for Clinical Laboratory Science, 2015. **28**: p. 125-131.
28. Saboor, M., et al., *Platelet receptors; an instrumental of platelet physiology*. Pakistan journal of medical sciences, 2013. **29**(3): p. 891-896.
29. Krötz, F., H.-Y. Sohn, and V. Klaus, *Antiplatelet drugs in cardiological practice: Established strategies and new developments*. Vascular health and risk management, 2008. **4**: p. 637-45.
30. Selvadurai, M.V. and J.R. Hamilton, *Structure and function of the open canalicular system - the platelet's specialized internal membrane network*. Platelets, 2018. **29**(4): p. 319-325.
31. Patel-Hett, S., et al., *Visualization of microtubule growth in living platelets reveals a dynamic marginal band with multiple microtubules*. Blood, 2008. **111**(9): p. 4605-4616.
32. Heijnen, H. and S. Korporaal, *Platelet Morphology and Ultrastructure*. 2017. p. 21-37.
33. Deppermann, C., *The role of platelet granules in thrombosis, hemostasis, stroke and inflammation*. 2015.
34. Blair, P. and R. Flaumenhaft, *Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates*. Blood Rev, 2009. **23**(4): p. 177-89.
35. Frojmovic, M.M. and J.G. Milton, *Human platelet size, shape, and related functions in health and disease*. Physiol Rev, 1982. **62**(1): p. 185-261.
36. Palta, S., R. Saroa, and A. Palta, *Overview of the coagulation system*. Indian J Anaesth, 2014. **58**(5): p. 515-23.
37. Rana, A., et al., *Shear-Dependent Platelet Aggregation: Mechanisms and Therapeutic Opportunities*. Front Cardiovasc Med, 2019. **6**: p. 141.
38. Stegner, D. and B. Nieswandt, *Platelet receptor signaling in thrombus formation*. J Mol Med (Berl), 2011. **89**(2): p. 109-21.
39. Triplett, D.A., *Coagulation and bleeding disorders: review and update*. Clin Chem, 2000. **46**(8 Pt 2): p. 1260-9.
40. Juliana Perez, B., et al., *Glanzmann thrombasthenia: genetic basis and clinical correlates*. Haematologica, 2020. **105**(4): p. 888-894.
41. Twomey, L., et al., *Platelets- From Formation to Function*. 2018.
42. Clemetson, K.J., *Platelets and primary haemostasis*. Thromb Res, 2012. **129**(3): p. 220-4.
43. CRAWLEY, J.T.B., et al., *The central role of thrombin in hemostasis*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2007. **5**(s1): p. 95-101.
44. Repetto, O. and V. De Re, *Coagulation and fibrinolysis in gastric cancer*. Ann N Y Acad Sci, 2017. **1404**(1): p. 27-48.
45. Macfarlane, R.G., *An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and its Function as a Biochemical Amplifier*. Nature, 1964. **202**(4931): p. 498-499.
46. Ho, K.M. and W. Pavey, *Applying the cell-based coagulation model in the management of critical bleeding*. Anaesth Intensive Care, 2017. **45**(2): p. 166-176.
47. C. J. Pallister, M.S.W., *Haematology, second edition 2nd Edition* 2nd edition ed. 2010: Scion Publishing Ltd.; . 400.
48. Albisetti, M. and P. Monagle, *Bleeding disorders*, in *Neonatal Hematology: Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Hematologic Problems*, E. Werner, P.d. Alarcón, and R.D. Christensen, Editors. 2013, Cambridge University Press: Cambridge. p. 286-302.

49. Chaudhry, R., S.M. Usama, and H.M. Babiker, *Physiology, Coagulation Pathways*, in *StatPearls*. 2022, StatPearls Publishing

Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).

50. Narayanan, S., *Multifunctional roles of thrombin*. *Ann Clin Lab Sci*, 1999. **29**(4): p. 275-80.
51. Al-Amer, O.M., *The role of thrombin in haemostasis*. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2022. **33**(3): p. 145-148.
52. Bonar, R.A., G. Lippi, and E.J. Favaloro, *Overview of Hemostasis and Thrombosis and Contribution of Laboratory Testing to Diagnosis and Management of Hemostasis and Thrombosis Disorders*. *Methods Mol Biol*, 2017. **1646**: p. 3-27.
53. Ho, K.M. and O.C. Duff, *Predictors of an increased in vitro thrombotic and bleeding tendency in critically ill trauma and non-trauma patients*. *Anaesth Intensive Care*, 2015. **43**(3): p. 317-22.
54. Rieu, C., et al., *Thrombin-free polymerization leads to pure fibrin(ogen) materials with extended processing capacity*. *bioRxiv*, 2020: p. 2020.05.12.091793.
55. van Boven, H.H. and D.A. Lane, *Antithrombin and its inherited deficiency states*. *Semin Hematol*, 1997. **34**(3): p. 188-204.
56. Rezende, S.M., R.E. Simmonds, and D.A. Lane, *Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex*. *Blood*, 2004. **103**(4): p. 1192-201.
57. Zaidi, A. and L. Green, *Physiology of haemostasis*. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 2022. **23**(2): p. 111-117.
58. Laffan, M. and R. Manning, *Investigation of Haemostasis*. 2016. p. 366-409.
59. Ef, M., *Clinical relevance of antithrombin deficiencies*. *Seminars in Hematology*, 1995. **32**: p. 2-7.
60. Fuentes-Prior, P., et al., *Structural basis for the anticoagulant activity of the thrombin-thrombomodulin complex*. *Nature*, 2000. **404**(6777): p. 518-25.
61. Draxler, D.F. and R.L. Medcalf, *The fibrinolytic system-more than fibrinolysis?* *Transfus Med Rev*, 2015. **29**(2): p. 102-9.
62. Kwaan, H., T. Lisman, and R. Medcalf, *Fibrinolysis: Biochemistry, Clinical Aspects, and Therapeutic Potential*. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 2017. **43**: p. 113-114.
63. Katz, J.M. and P. Tadi, *Physiology, Plasminogen Activation*, in *StatPearls*. 2022, StatPearls Publishing

Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).

64. Guthold, M. and S. Cho, *Fibrinogen Unfolding Mechanisms Are Not Too Much of a Stretch*. *Structure* (London, England : 1993), 2011. **19**: p. 1536-8.
65. Moresco, R.N., et al., *D-dimer and its relationship to fibrinogen/fibrin degradation products (FDPs) in disorders associated with activation of coagulation or fibrinolytic systems*. *J Clin Lab Anal*, 2003. **17**(3): p. 77-9.
66. Refaai, M.A., et al., *The Clinical Significance of Fibrin Monomers*. *Thromb Haemost*, 2018. **118**(11): p. 1856-1866.
67. Cesarman-Maus, G. and K.A. Hajjar, *Molecular mechanisms of fibrinolysis*. *Br J Haematol*, 2005. **129**(3): p. 307-21.
68. Ezihe-Ejiofor, J.A. and N. Hutchinson, *Anticlotting mechanisms 1: physiology and pathology*. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*, 2013. **13**: p. 87-92.
69. Astrup, T., *The haemostatic balance*. *Thromb Diath Haemorrh*, 1958. **2**(3-4): p. 347-57.
70. Girolami, A., et al., *Thrombotic and Hemorrhagic Conditions Due to a Gain of Function of Coagulation Proteins: A Special Type of Clotting Disorders*. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2017. **24**(4): p. 560-565.
71. Favaloro, E.J., G. Lippi, and D.M. Adcock, *Preeanalytical and postanalytical variables: the*



- leading causes of diagnostic error in hemostasis?* Semin Thromb Hemost, 2008. **34**(7): p. 612-34.
72. Harrison, P., et al., *Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function*. Br J Haematol, 2011. **155**(1): p. 30-44.
73. Marin, M.J., et al., *A Rational Approach to Coagulation Testing*. Lab Med, 2022. **53**(4): p. 349-359.
74. Favaloro, E.J. and G. Lippi, *Understanding the extent of the diagnostic potential of coagulation factors*. Expert Review of Molecular Diagnostics, 2020. **20**(3): p. 273-276.
75. Rodgers, R.P. and J. Levin, *A critical reappraisal of the bleeding time*. Semin Thromb Hemost, 1990. **16**(1): p. 1-20.
76. Harrison, P., *Platelet function analysis*. Blood Rev, 2005. **19**(2): p. 111-23.
77. Wikkelsø, A., et al., *Thromboelastography (TEG) or rotational thromboelastometry (ROTEM) to monitor haemostatic treatment in bleeding patients: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis*. Anaesthesia, 2017. **72**(4): p. 519-531.
78. Paniccia, R., et al., *Platelet function tests: a comparative review*. Vascular health and risk management, 2015. **11**: p. 133-148.
79. Lee, A., *Emergency management of patients with bleeding disorders: Practical points for the emergency physician*. Transfus Apher Sci, 2019. **58**(5): p. 553-562.
80. Manco-Johnson, M.J., *Bleeding Disorders in the Neonate*. NeoReviews, 2008. **9**(4): p. e162-e169.
81. Lippi, G. and E.J. Favaloro, *Hemostasis practice: state-of-the-art*. Journal of Laboratory and Precision Medicine, 2018. **3**.
82. Kruse-Jarres, R., T.C. Singleton, and C.A. Leissinger, *Identification and Basic Management of Bleeding Disorders in Adults*. The Journal of the American Board of Family Medicine, 2014. **27**(4): p. 549.
83. Andrew, M., et al., *Maturation of the hemostatic system during childhood*. Blood, 1992. **80**(8): p. 1998-2005.
84. Attard, C., et al., *Developmental hemostasis: age-specific differences in the levels of hemostatic proteins*. J Thromb Haemost, 2013. **11**(10): p. 1850-4.
85. Andrew, M., et al., *Development of the human coagulation system in the full-term infant*. Blood, 1987. **70**(1): p. 165-72.
86. Andrew, M., et al., *Development of the human coagulation system in the healthy premature infant*. Blood, 1988. **72**(5): p. 1651-7.
87. Cade, J., J. Hirsh, and M. Martin, *Placental barrier to coagulation factors: its relevance to the coagulation defect at birth and to haemorrhage in the newborn*. Br Med J, 1969. **2**(5652): p. 281-283.
88. Gitlin, D. and A. Biasucci, *Development of  $\gamma$ G,  $\gamma$ A,  $\gamma$ M,  $\beta$  1C/ $\beta$  1A, C' 1 esterase inhibitor, ceruloplasmin, transferrin, hemopexin, haptoglobin, fibrinogen, plasminogen,  $\alpha$  1-antitrypsin, orosomucoid,  $\beta$ -lipoprotein,  $\alpha$  2-macroglobulin, and prealbumin in the human conceptus*. The Journal of clinical investigation, 1969. **48**(8): p. 1433-1446.
89. Zilliacus, H., A.M. Ottelin, and T. Mattsson, *Blood Clotting and Fibrinolysis in Human Foetuses*. Neonatology, 1966. **10**(1-2): p. 108-112.
90. Manco-Johnson, M.J., *Development of hemostasis in the fetus*. Thromb Res, 2005. **115** Suppl 1: p. 55-63.
91. Reverdiau-Moalic, P., et al., *Evolution of blood coagulation activators and inhibitors in the healthy human fetus*. Blood, 1996. **88**(3): p. 900-6.
92. Jaffray, J. and G. Young, *Developmental hemostasis: clinical implications from the fetus to the adolescent*. Pediatr Clin North Am, 2013. **60**(6): p. 1407-17.
93. Guzzetta, N.A. and B.E. Miller, *Principles of hemostasis in children: models and maturation*. Paediatr Anaesth, 2011. **21**(1): p. 3-9.

94. Pal, S., A. Curley, and S.J. Stanworth, *Interpretation of clotting tests in the neonate*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2015. **100**(3): p. F270-4.
95. Andrew, M., B. Paes, and M. Johnston, *Development of the hemostatic system in the neonate and young infant*. Am J Pediatr Hematol Oncol, 1990. **12**(1): p. 95-104.
96. Widdershoven, J., et al., *Biochemical vitamin K deficiency in early infancy: diagnostic limitation of conventional coagulation tests*. Helv Paediatr Acta, 1986. **41**(3): p. 195-201.
97. Sell, E.J. and J.J. Corrigan, Jr., *Platelet counts, fibrinogen concentrations, and factor V and factor VIII levels in healthy infants according to gestational age*. J Pediatr, 1973. **82**(6): p. 1028-32.
98. Hamulyák, K., et al., *Reevaluation of some properties of fibrinogen, purified from cord blood of normal newborns*. Thrombosis Research, 1983. **32**(3): p. 301-310.
99. Bleyer, W.A., N. Hakami, and T.H. Shepard, *The development of hemostasis in the human fetus and newborn infant*. J Pediatr, 1971. **79**(5): p. 838-53.
100. Miller, B.E., et al., *Fibrinogen in children undergoing cardiac surgery: is it effective?* Anesth Analg, 2004. **99**(5): p. 1341-1346.
101. Ling, X., et al., *alpha 2-Macroglobulin remains as important as antithrombin III for thrombin regulation in cord plasma in the presence of endothelial cell surfaces*. Pediatr Res, 1995. **37**(3): p. 373-8.
102. Monagle, P. and P. Massicotte, *Developmental haemostasis: secondary haemostasis*. Semin Fetal Neonatal Med, 2011. **16**(6): p. 294-300.
103. Shah, J.K., et al., *Thrombin inhibition is impaired in plasma of sick neonates*. Pediatr Res, 1992. **31**(4 Pt 1): p. 391-5.
104. Guzzetta, N.A., et al., *Clinical measures of heparin's effect and thrombin inhibitor levels in pediatric patients with congenital heart disease*. Anesth Analg, 2006. **103**(5): p. 1131-8.
105. Christiaans, S.C., et al., *Protein C and acute inflammation: a clinical and biological perspective*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2013. **305**(7): p. L455-66.
106. Mousa, S.O., *Evolution of Hemostasis in Neonates and Children*. Annals of Neonatology Journal, 2021. **3**(2): p. 9-22.
107. Kuhle, S., C. Male, and L. Mitchell, *Developmental hemostasis: pro- and anticoagulant systems during childhood*. Semin Thromb Hemost, 2003. **29**(4): p. 329-38.
108. Suarez, C.R., et al., *Neonatal and maternal hemostasis: value of molecular markers in the assessment of hemostatic status*. Semin Thromb Hemost, 1984. **10**(4): p. 280-4.
109. Manco-Johnson, M. and R. Nuss, *Hemostasis in the Neonate*. Neoreviews, 2000. **1**(10): p. e191-e195.
110. Wiedmeier, S.E., et al., *Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47,000 patients in a multihospital healthcare system*. J Perinatol, 2009. **29**(2): p. 130-6.
111. Blanchette, V.S., et al., *Alloimmunization to the PIA1 platelet antigen: results of a prospective study*. Br J Haematol, 1990. **74**(2): p. 209-15.
112. Johnson, J.A., et al., *Prenatal diagnosis and management of neonatal alloimmune thrombocytopenia*. Semin Perinatol, 1997. **21**(1): p. 45-52.
113. Sparger, K.A., et al., *Platelet Transfusion Practices Among Very-Low-Birth-Weight Infants*. JAMA Pediatr, 2016. **170**(7): p. 687-94.
114. Davenport, P. and M. Sola-Visner, *Hemostatic Challenges in Neonates*. Front Pediatr, 2021. **9**: p. 627715.
115. Israels, S.J., et al., *Impaired signal transduction in neonatal platelets*. Pediatr Res, 1999. **45**(5 Pt 1): p. 687-91.
116. Sitaru, A.G., et al., *Neonatal platelets from cord blood and peripheral blood*. Platelets, 2005. **16**(3-4): p. 203-10.
117. Schlagenhauf, A., et al., *Comparative evaluation of PAR1, GPIb-IX-V, and integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3*

- levels in cord and adult platelets. *Hamostaseologie*, 2010. **30 Suppl 1**: p. S164-7.
118. Israels, S.J., et al., *Deficient thromboxane synthesis and response in platelets from premature infants*. *Pediatr Res*, 1997. **41**(2): p. 218-23.
  119. Hardy, A.T., 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): p. 1009-1020.
  120. Palma-Barqueros, V., et al., *Developmental Differences in Platelet Inhibition Response to Prostaglandin E1*. *Neonatology*, 2020. **117**(1): p. 15-23.
  121. Roschitz, B., et al., *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): p. 664-70.
  122. Cvirn, G., et al., *Collagen/endogenous thrombin-induced platelet aggregation in cord versus adult whole blood*. *Neonatology*, 2009. **95**(2): p. 187-92.
  123. Katz, J.A., et al., *Relationship between human development and disappearance of unusually large von Willebrand factor multimers from plasma*. *Blood*, 1989. **73**(7): p. 1851-8.
  124. Weinstein, M.J., et al., *Fetal and neonatal von Willebrand factor (vWF) is unusually large and similar to the vWF in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura*. *Br J Haematol*, 1989. **72**(1): p. 68-72.
  125. Gerrard, J.M., 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): p. 165-71.
  126. Sola, M.C., et al., *The relationship between hematocrit and bleeding time in very low birth weight infants during the first week of life*. *J Perinatol*, 2001. **21**(6): p. 368-71.
  127. Saxonhouse, M.A., 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): p. 242-9.
  128. Bednarek, F.J., et al., *The platelet hyporeactivity of extremely low birth weight neonates is age-dependent*. *Thromb Res*, 2009. **124**(1): p. 42-5.
  129. Mousa, S., *Evolution of Hemostasis in Neonates and Children*. *Annals of Neonatology Journal*, 2021. **3**: p. 9-22.
  130. Chan, K.L., et al., *Reference values for kaolin-activated thromboelastography in healthy children*. *Anesth Analg*, 2007. **105**(6): p. 1610-3, table of contents.
  131. Ignjatovic, V., G. Kenet, and P. Monagle, *Developmental hemostasis: recommendations for laboratories reporting pediatric samples*. *J Thromb Haemost*, 2012. **10**(2): p. 298-300.
  132. Monagle, P., et al., *Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories*. *Thromb Haemost*, 2006. **95**(2): p. 362-72.
  133. Christensen, R.D., et al., *Reference intervals for common coagulation tests of preterm infants (CME)*. *Transfusion*, 2014. **54**(3): p. 627-32:quiz 626.
  134. Neary, E., et al., *Coagulation indices in very preterm infants from cord blood and postnatal samples*. *J Thromb Haemost*, 2015. **13**(11): p. 2021-30.
  135. Catford, K., et al., *Routine neonatal coagulation testing increases use of fresh-frozen plasma*. *Transfusion*, 2014. **54**(5): p. 1444-5.
  136. Tay, S.P., S.K. Cheong, and N.Y. Boo, *Circulating tissue factor, tissue factor pathway inhibitor and D-dimer in umbilical cord blood of normal term neonates and adult plasma*. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2003. **14**(2): p. 125-9.
  137. Cvirn, G., et al., *Low tissue factor pathway inhibitor (TFPI) together with low antithrombin allows sufficient thrombin generation in neonates*. *J Thromb Haemost*, 2003. **1**(2): p. 263-8.
  138. Williams, M.D., E.A. Chalmers, and B.E. Gibson, *The investigation and management of*

- neonatal haemostasis and thrombosis*. Br J Haematol, 2002. **119**(2): p. 295-309.
139. Monagle, P., V. Ignjatovic, and H. Savoia, *Hemostasis in neonates and children: pitfalls and dilemmas*. Blood Rev, 2010. **24**(2): p. 63-8.
  140. Venkatesh, V., et al., *A novel approach to standardised recording of bleeding in a high risk neonatal population*. Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition, 2013. **98**(3): p. F260.
  141. Chalmers, E.A., *Neonatal coagulation problems*. Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition, 2004. **89**(6): p. F475.
  142. Kenet, G., et al., *Bleeding disorders in neonates*. Haemophilia, 2010. **16 Suppl 5**: p. 168-75.
  143. Kulkarni, R. and J.M. Lusher, *Intracranial and extracranial hemorrhages in newborns with hemophilia: a review of the literature*. J Pediatr Hematol Oncol, 1999. **21**(4): p. 289-95.
  144. Chalmers, E.A., *Haemophilia and the newborn*. Blood Rev, 2004. **18**(2): p. 85-92.
  145. MADAN, B. and A.M. STREET, *What is the optimal mode of delivery for the haemophilia carrier expecting an affected infant-vaginal delivery or caesarean delivery?* Haemophilia, 2010. **16**(3): p. 425-426.
  146. Kulkarni, R., et al., *Current practices regarding newborn intracranial haemorrhage and obstetrical care and mode of delivery of pregnant haemophilia carriers: a survey of obstetricians, neonatologists and haematologists in the United States, on behalf of the National Hemophilia Foundation's Medical and Scientific Advisory Council*. Haemophilia, 1999. **5**(6): p. 410-5.
  147. Myles, L.M., P. Massicotte, and J. Drake, *Intracranial hemorrhage in neonates with unrecognized hemophilia A: a persisting problem*. Pediatr Neurosurg, 2001. **34**(2): p. 94-7.
  148. Khair, K. and R. Liesner, *Bruising and bleeding in infants and children--a practical approach*. Br J Haematol, 2006. **133**(3): p. 221-31.
  149. Palla, R., F. Peyvandi, and A.D. Shapiro, *Rare bleeding disorders: diagnosis and treatment*. Blood, 2015. **125**(13): p. 2052-61.
  150. Herrmann, F.H., et al., *Factor VII deficiency: clinical manifestation of 717 subjects from Europe and Latin America with mutations in the factor 7 gene*. Haemophilia, 2009. **15**(1): p. 267-80.
  151. Di Minno, M.N., A. Dolce, and G. Mariani, *Bleeding symptoms at disease presentation and prediction of ensuing bleeding in inherited FVII deficiency*. Thromb Haemost, 2013. **109**(6): p. 1051-9.
  152. Cattivelli, K., et al., *Recurrent Bleedings in Newborn: A Factor VII Deficiency Case Report*. Transfus Med Hemother, 2018. **45**(2): p. 104-106.
  153. Keeling, D., C. Tait, and M. Makris, *Guideline on the selection and use of therapeutic products to treat haemophilia and other hereditary bleeding disorders: A UNITED KINGDOM HAEMOPHILIA CENTER DOCTORS' ORGANISATION (UKHCDO) GUIDELINE APPROVED BY THE BRITISH COMMITTEE FOR STANDARDS IN HAEMATOLOGY*. Haemophilia, 2008. **14**(4): p. 671-684.
  154. Mahajan, P., J. Margolin, and I. Iacobas, *Kasabach-Merritt Phenomenon: Classic Presentation and Management Options*. Clin Med Insights Blood Disord, 2017. **10**: p. 1179545x17699849.
  155. Sutor, A.H., *Vitamin K deficiency bleeding in infants and children*. Semin Thromb Hemost, 1995. **21**(3): p. 317-29.
  156. Shearer, M.J., *Vitamin K deficiency bleeding (VKDB) in early infancy*. Blood Rev, 2009. **23**(2): p. 49-59.
  157. Loughnan, P.M. and P.N. McDougall, *Epidemiology of late onset haemorrhagic disease: a pooled data analysis*. J Paediatr Child Health, 1993. **29**(3): p. 177-81.
  158. Venkatesh, V., 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): p. F260-3.
159. Ballabh, P., *Intraventricular hemorrhage in premature infants: mechanism of disease*. Pediatr Res, 2010. **67**(1): p. 1-8.
160. Keir, A.K. and S.J. Stanworth, *Neonatal Plasma Transfusion: An Evidence-Based Review*. Transfusion Medicine Reviews, 2016. **30**(4): p. 174-182.
161. Josephson, C.D., et al., *Platelet transfusion practices among neonatologists in the United States and Canada: results of a survey*. Pediatrics, 2009. **123**(1): p. 278-85.
162. Moore, C.M. and A.E. Curley, *Neonatal Platelet Transfusions: Starting Again*. Transfusion Medicine Reviews, 2021. **35**(3): p. 29-35.
163. Curley, A., et al., *Randomized Trial of Platelet-Transfusion Thresholds in Neonates*. N Engl J Med, 2019. **380**(3): p. 242-251.
164. Ahmad, K., et al., *Morbidity and mortality with early pulmonary haemorrhage in preterm neonates*. Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition, 2018. **104**: p. fetalneonatal-2017.
165. Veldman, A., et al., *Disseminated intravascular coagulation in term and preterm neonates*. Semin Thromb Hemost, 2010. **36**(4): p. 419-28.
166. VanVooren, D.M., W.T. Bradshaw, and S.M. Blake, *Disseminated Intravascular Coagulation in the Neonate*. Neonatal Netw, 2018. **37**(4): p. 205-211.
167. Levi, M., *Disseminated intravascular coagulation*. Crit Care Med, 2007. **35**(9): p. 2191-5.
168. Papageorgiou, C., et al., *Disseminated Intravascular Coagulation: An Update on Pathogenesis, Diagnosis, and Therapeutic Strategies*. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis, 2018. **24**(9\_suppl): p. 8S-28S.
169. Akca, S., et al., *Time course of platelet counts in critically ill patients*. Crit Care Med, 2002. **30**(4): p. 753-6.
170. Roberts, I. and N.A. Murray, *Neonatal thrombocytopenia: causes and management*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2003. **88**(5): p. F359-64.
171. Bick, R.L., *Disseminated intravascular coagulation current concepts of etiology, pathophysiology, diagnosis, and treatment*. Hematol Oncol Clin North Am, 2003. **17**(1): p. 149-76.
172. Eliwan, H., et al., *Protein C Pathway in Paediatric and Neonatal Sepsis*. Front Pediatr, 2021. **9**: p. 562495.
173. Bos, M.H.A., C. van 't Veer, and P.H. Reitsma, *Molecular Biology and Biochemistry of the Coagulation Factors and Pathways of Hemostasis*, in *Williams Hematology, 9e*, K. Kaushansky, et al., Editors. 2015, McGraw-Hill Education: New York, NY.
174. Tripodi, A., et al., *Changing Concepts of Cirrhotic Coagulopathy*. Am J Gastroenterol, 2017. **112**(2): p. 274-281.
175. Schmidt, B. and M. Andrew, *Neonatal thrombosis: report of a prospective Canadian and international registry*. Pediatrics, 1995. **96**(5 Pt 1): p. 939-43.
176. Kamyszek, R., et al., *Routine postprocedure ultrasound increases rate of detection of femoral arterial thrombosis in infants after cardiac catheterization*. Catheterization and Cardiovascular Interventions, 2018. **93**.
177. Sirachainan, N., et al., *Incidences, risk factors and outcomes of neonatal thromboembolism*. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2018. **31**(3): p. 347-351.
178. Revel-Vilk, S. and Z. Ergaz, *Diagnosis and management of central-line-associated thrombosis in newborns and infants*. Semin Fetal Neonatal Med, 2011. **16**(6): p. 340-4.
179. Park, C.K., et al., *Neonatal central venous catheter thrombosis: diagnosis, management and outcome*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2014. **25**(2): p. 97-106.
180. Monagle, P., et al., *Antithrombotic therapy in neonates and children: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians*

- Evidence-Based Clinical Practice Guidelines*. Chest, 2012. **141**(2 Suppl): p. e737S-e801S.
181. Hanmod, S.S., et al., *Neonatal Hemostatic Disorders: Issues and Challenges*. Semin Thromb Hemost, 2016. **42**(7): p. 741-751.
  182. Bhat, R. and P. Monagle, *The preterm infant with thrombosis*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2012. **97**(6): p. F423-8.
  183. Nowak-Göttl, U., R. von Kries, and U. Göbel, *Neonatal symptomatic thromboembolism in Germany: two year survey*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 1997. **76**(3): p. F163-7.
  184. Knoebl, P.N., *Severe congenital protein C deficiency: the use of protein C concentrates (human) as replacement therapy for life-threatening blood-clotting complications*. Biologics, 2008. **2**(2): p. 285-96.
  185. Mercuri, E., et al., *Prothrombotic disorders and abnormal neurodevelopmental outcome in infants with neonatal cerebral infarction*. Pediatrics, 2001. **107**(6): p. 1400-4.
  186. Lau, K.K., et al., *Neonatal renal vein thrombosis: review of the English-language literature between 1992 and 2006*. Pediatrics, 2007. **120**(5): p. e1278-84.
  187. Kosch, A., et al., *Renal venous thrombosis in neonates: prothrombotic risk factors and long-term follow-up*. Blood, 2004. **104**(5): p. 1356-60.
  188. Ferriero, D.M., et al., *Management of Stroke in Neonates and Children: A Scientific Statement From the American Heart Association/American Stroke Association*. Stroke, 2019. **50**(3): p. e51-e96.
  189. deVeber, G.A., et al., *Epidemiology and Outcomes of Arterial Ischemic Stroke in Children: The Canadian Pediatric Ischemic Stroke Registry*. Pediatr Neurol, 2017. **69**: p. 58-70.
  190. Grunt, S., et al., *Incidence and outcomes of symptomatic neonatal arterial ischemic stroke*. Pediatrics, 2015. **135**(5): p. e1220-8.
  191. Ichord, R., *Cerebral Sinovenous Thrombosis*. Front Pediatr, 2017. **5**: p. 163.
  192. Fitzgerald, K.C., et al., *Cerebral sinovenous thrombosis in the neonate*. Arch Neurol, 2006. **63**(3): p. 405-9.
  193. Hart, A.R., V. Ganesan, and K.S. Pysden, *Variations in the management of children with cerebral venous sinus thrombosis in the UK and Ireland*. Dev Med Child Neurol, 2012. **54**(8): p. 770-1.
  194. Lebas, A., et al., *EPNS/SFNP guideline on the anticoagulant treatment of cerebral sinovenous thrombosis in children and neonates*. Eur J Paediatr Neurol, 2012. **16**(3): p. 219-28.
  195. Jordan, L.C., et al., *Antithrombotic treatment in neonatal cerebral sinovenous thrombosis: results of the International Pediatric Stroke Study*. J Pediatr, 2010. **156**(5): p. 704-10, 710.e1-710.e2.
  196. deVeber, G., et al., *Cerebral sinovenous thrombosis in children*. N Engl J Med, 2001. **345**(6): p. 417-23.
  197. Moharir, M.D., et al., *Anticoagulants in pediatric cerebral sinovenous thrombosis: a safety and outcome study*. Ann Neurol, 2010. **67**(5): p. 590-9.
  198. Robinson, V., et al., *Thrombosis in infants in the neonatal intensive care unit: Analysis of a large national database*. J Thromb Haemost, 2021. **19**(2): p. 400-407.
  199. Lier, H., et al., *Thromboelastometry guided therapy of severe bleeding. Essener Runde algorithm*. Hamostaseologie, 2013. **33**(1): p. 51-61.
  200. Haas, T., et al., *Usefulness of standard plasma coagulation tests in the management of perioperative coagulopathic bleeding: is there any evidence?* Br J Anaesth, 2015. **114**(2): p. 217-24.
  201. Park, M.S., et al., *Thromboelastography as a better indicator of hypercoagulable state after injury than prothrombin time or activated partial thromboplastin time*. J Trauma, 2009. **67**(2): p. 266-75; discussion 275-6.
  202. Akay, O.M., *The Double Hazard of Bleeding and Thrombosis in Hemostasis From a*

- Clinical Point of View: A Global Assessment by Rotational Thromboelastometry (ROTEM).* Clin Appl Thromb Hemost, 2018. **24**(6): p. 850-858.
203. Shen, L., S. Tabaie, and N. Ivascu, *Viscoelastic testing inside and beyond the operating room.* J Thorac Dis, 2017. **9**(Suppl 4): p. S299-s308.
204. Kang, Y.G., et al., *Intraoperative changes in blood coagulation and thrombelastographic monitoring in liver transplantation.* Anesth Analg, 1985. **64**(9): p. 888-96.
205. Spiess, B.D., et al., *Changes in transfusion therapy and reexploration rate after institution of a blood management program in cardiac surgical patients.* J Cardiothorac Vasc Anesth, 1995. **9**(2): p. 168-73.
206. Whiting, P., et al., *Viscoelastic point-of-care testing to assist with the diagnosis, management and monitoring of haemostasis: a systematic review and cost-effectiveness analysis.* Health Technol Assess, 2015. **19**(58): p. 1-228, v-vi.
207. Wikkelsø, A., et al., *Thromboelastography (TEG) or thromboelastometry (ROTEM) to monitor haemostatic treatment versus usual care in adults or children with bleeding.* Cochrane Database Syst Rev, 2016. **2016**(8): p. Cd007871.
208. Benes, J., J. Zatloukal, and J. Kletecka, *Viscoelastic Methods of Blood Clotting Assessment - A Multidisciplinary Review.* Front Med (Lausanne), 2015. **2**: p. 62.
209. Ogawa, S., et al., *A comparative evaluation of rotation thromboelastometry and standard coagulation tests in hemodilution-induced coagulation changes after cardiac surgery.* Transfusion, 2012. **52**(1): p. 14-22.
210. Schöch, H., et al., *Hyperfibrinolysis after major trauma: differential diagnosis of lysis patterns and prognostic value of thrombelastometry.* J Trauma, 2009. **67**(1): p. 125-31.
211. Sivula, M., et al., *Thromboelastometry in patients with severe sepsis and disseminated intravascular coagulation.* Blood Coagul Fibrinolysis, 2009. **20**(6): p. 419-26.
212. Brazzel, C., *Thromboelastography-guided transfusion Therapy in the trauma patient.* Aana j, 2013. **81**(2): p. 127-32.
213. Huissoud, C., et al., *Coagulation assessment by rotation thrombelastometry in normal pregnancy.* Thromb Haemost, 2009. **101**(4): p. 755-61.
214. Stanciakova, L., et al. *How Can Rotational Thromboelastometry as a Point-of-Care Method Be Useful for the Management of Secondary Thromboprophylaxis in High-Risk Pregnant Patients?* Diagnostics, 2021. **11**, DOI: 10.3390/diagnostics11050828.
215. Astermark, J., et al., *A randomized comparison of bypassing agents in hemophilia complicated by an inhibitor: the FEIBA NovoSeven Comparative (FENOC) Study.* Blood, 2007. **109**(2): p. 546-51.
216. Yada, K., et al., *Enhanced global hemostatic potentials with a bispecific antibody to factors IXa and X (ACE910) in the whole blood by rotation thromboelastometry (ROTEM).* Blood, 2015. **126**(23): p. 3503.
217. Furukawa, S., et al., *Systematic monitoring of hemostatic management in hemophilia A patients with inhibitor in the perioperative period using rotational thromboelastometry.* J Thromb Haemost, 2015. **13**(7): p. 1279-84.
218. Nakayama, Y., et al., *Thromboelastometry-guided intraoperative haemostatic management reduces bleeding and red cell transfusion after paediatric cardiac surgery.* Br J Anaesth, 2015. **114**(1): p. 91-102.
219. Haas, T., et al., *Fibrinogen in Craniostomosis Surgery.* Anesthesia & Analgesia, 2008. **106**(3).
220. Tirotta, C.F., et al., *Interval changes in ROTEM values during cardiopulmonary bypass in pediatric cardiac surgery patients.* Journal of Cardiothoracic Surgery, 2019. **14**(1): p. 139.
221. Faraoni, D., et al., *Development of a specific algorithm to guide haemostatic therapy in children undergoing cardiac surgery: a single-centre retrospective study.* Eur J Anaesthesiol, 2015. **32**(5): p. 320-9.

222. Phillips, R.C., et al., *Thromboelastography-guided management of coagulopathy in neonates with congenital diaphragmatic hernia supported by extracorporeal membrane oxygenation*. *Pediatr Surg Int*, 2020. **36**(9): p. 1027-1033.
223. Henderson, N., et al., *Use of Thromboelastography to Predict Thrombotic Complications in Pediatric and Neonatal Extracorporeal Membranous Oxygenation*. *J Extra Corpor Technol*, 2018. **50**(3): p. 149-154.
224. Snyder, C.W., et al., *A perioperative bivalirudin anticoagulation protocol for neonates with congenital diaphragmatic hernia on extracorporeal membrane oxygenation*. *Thromb Res*, 2020. **193**: p. 198-203.
225. Forman, K.R., et al., *Effect of temperature on thromboelastography and implications for clinical use in newborns undergoing therapeutic hypothermia*. *Pediatr Res*, 2014. **75**(5): p. 663-9.
226. Cannata, G., et al., *TEG® and ROTEM® Traces: Clinical Applications of Viscoelastic Coagulation Monitoring in Neonatal Intensive Care Unit*. *Diagnostics (Basel)*, 2021. **11**(9).
227. Scott, J.P., et al., *Rotational Thromboelastometry Rapidly Predicts Thrombocytopenia and Hypofibrinogenemia During Neonatal Cardiopulmonary Bypass*. *World J Pediatr Congenit Heart Surg*, 2018. **9**(4): p. 424-433.
228. Casini, A., P. de Moerloose, and M. Neerman-Arbez, *Clinical Features and Management of Congenital Fibrinogen Deficiencies*. *Semin Thromb Hemost*, 2016. **42**(4): p. 366-74.
229. Rahe-Meyer, N., et al., *Thromboelastometry-guided administration of fibrinogen concentrate for the treatment of excessive intraoperative bleeding in thoracoabdominal aortic aneurysm surgery*. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2009. **138**(3): p. 694-702.
230. Lissitchkov, T., et al., *Efficacy and safety of a new human fibrinogen concentrate in patients with congenital fibrinogen deficiency: an interim analysis of a Phase III trial*. *Transfusion*, 2018. **58**(2): p. 413-422.
231. Sokou, R., et al., *Thromboelastometry for diagnosis of neonatal sepsis-associated coagulopathy: an observational study*. *Eur J Pediatr*, 2018. **177**(3): p. 355-362.
232. Radicioni, M., et al., *Thromboelastographic profiles of the premature infants with and without intracranial hemorrhage at birth: a pilot study*. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2015. **28**(15): p. 1779-83.
233. Clevenger, B. and A. Kelleher, *Hazards of blood transfusion in adults and children*. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*, 2013. **14**(3): p. 112-118.
234. Sokou, R., et al., *Fresh frozen plasma transfusion in the neonatal population: A systematic review*. *Blood Rev*, 2022. **55**: p. 100951.
235. Singh, R., et al., *A predictive model for SIVH risk in preterm infants and targeted indomethacin therapy for prevention*. *Sci Rep*, 2013. **3**: p. 2539.
236. Luque, M.J., et al., *A risk prediction model for severe intraventricular hemorrhage in very low birth weight infants and the effect of prophylactic indomethacin*. *J Perinatol*, 2014. **34**(1): p. 43-8.
237. Gleissner, M., G. Jorch, and S. Avenarius, *Risk factors for intraventricular hemorrhage in a birth cohort of 3721 premature infants*. *J Perinat Med*, 2000. **28**(2): p. 104-10.
238. Sokou, R., et al., *Prospective Temporal Validation of the Neonatal Bleeding Risk (NeoBRis) Index*. *Thromb Haemost*, 2021. **121**(9): p. 1263-1266.
239. Crochemore, T., et al., *A new era of thromboelastometry*. *Einstein (Sao Paulo)*, 2017. **15**(3): p. 380-385.
240. Cannata, G., et al., *TEG® and ROTEM® Traces: Clinical Applications of Viscoelastic Coagulation Monitoring in Neonatal Intensive Care Unit*. *Diagnostics*, 2021. **11**(9): p. 1642.
241. Parer, J.T. and E.G. Livingston, *What is fetal distress?* *Am J Obstet Gynecol*, 1990. **162**(6): p. 1421-5; discussion 1425-7.
242. Ballard, J.L., et al., *New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants*.



- J Pediatr, 1991. **119**(3): p. 417-23.
243. Ignjatovic, V., et al., *Differences in the mechanism of blood clot formation and nanostructure in infants and children compared with adults*. Thromb Res, 2015. **136**(6): p. 1303-9.
244. Summaria, L., *Comparison of human normal, full-term, fetal and adult plasminogen by physical and chemical analyses*. Haemostasis, 1989. **19**(5): p. 266-73.
245. Andrew, M., et al., *Thrombin generation in newborn plasma is critically dependent on the concentration of prothrombin*. Thromb Haemost, 1990. **63**(1): p. 27-30.
246. Cvirn, G., S. Gallistl, and W. Muntean, *Effects of antithrombin and protein C on thrombin generation in newborn and adult plasma*. Thromb Res, 1999. **93**(4): p. 183-90.
247. Del Vecchio, A., et al., *Template bleeding times of 240 neonates born at 24 to 41 weeks gestation*. J Perinatol, 2008. **28**(6): p. 427-31.
248. Sola-Visner, M., *Platelets in the neonatal period: developmental differences in platelet production, function, and hemostasis and the potential impact of therapies*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2012. **2012**: p. 506-11.
249. Revel-Vilk, S., *The conundrum of neonatal coagulopathy*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2012. **2012**: p. 450-4.
250. Bauman, M.E., P.Y. Cheung, and M.P. Massicotte, *Hemostasis and platelet dysfunction in asphyxiated neonates*. J Pediatr, 2011. **158**(2 Suppl): p. e35-9.
251. Vamvakas, E.C. and M.A. Blajchman, *Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention*. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 2009. **113**(15): p. 3406-3417.
252. Özek, E. and S.G. Kersin, *Intraventricular hemorrhage in preterm babies*. Turk Pediatri Ars, 2020. **55**(3): p. 215-221.
253. Hochart, A., et al., *Hemostatic profile of infants with spontaneous prematurity: can we predict intraventricular hemorrhage development?* Italian Journal of Pediatrics, 2019. **45**(1): p. 113.
254. Dogra, K., et al., *Fresh Frozen Plasma and Platelet Transfusion Practices in Neonatal Intensive Care Unit of a Tertiary Care Hospital*. Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion, 2020. **36**(1): p. 141-148.
255. Curley, A., et al., *Randomized Trial of Platelet-Transfusion Thresholds in Neonates*. New England Journal of Medicine, 2018. **380**(3): p. 242-251.
256. Davenport, P. and M. Sola-Visner, *Hemostatic Challenges in Neonates*. Frontiers in Pediatrics, 2021. **9**.
257. Fahrendorff, M., R.S. Oliveri, and P.I. Johansson, *The use of viscoelastic haemostatic assays in goal-directing treatment with allogeneic blood products – A systematic review and meta-analysis*. Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine, 2017. **25**(1): p. 39.
258. Sidlik, R., et al., *Assessment of Functional Fibrinolysis in Cord Blood Using Modified Thromboelastography*. Pediatr Blood Cancer, 2016. **63**(5): p. 839-43.
259. Cvirn, G., et al., *Clot strength: a comparison between cord and adult blood by means of thrombelastometry*. J Pediatr Hematol Oncol, 2008. **30**(3): p. 210-3.
260. Strauss, T., et al., *Clot formation of neonates tested by thromboelastography correlates with gestational age*. Thromb Haemost, 2010. **103**(2): p. 344-50.
261. Ravn, H.B., J.B. Andreasen, and A.M. Hvas, *Does whole blood coagulation analysis reflect developmental haemostasis?* Blood Coagul Fibrinolysis, 2017. **28**(3): p. 218-223.
262. Sokou, R., et al., *Reference ranges of thromboelastometry in healthy full-term and pre-term neonates*. Clin Chem Lab Med, 2017. **55**(10): p. 1592-1597.
263. Wiegele, M., et al., *Establishing reference ranges of cord blood: point-of-care hemostatic function assessment in preterm and term neonates*. Pediatric Research, 2021. **90**(2): p.

- 452-458.
264. Sokou, R., et al., *Thromboelastometry: studying hemostatic profile in small for gestational age neonates-a pilot observational study*. Eur J Pediatr, 2019. **178**(4): p. 551-557.
265. Oswald, E., et al., *Thromboelastometry (ROTEM) in children: age-related reference ranges and correlations with standard coagulation tests*. Br J Anaesth, 2010. **105**(6): p. 827-35.
266. 김혜금, et al., *Reference Intervals of Thromboelastometric Evaluation of Coagulation in Pediatric Patients with Congenital Heart Diseases: A Retrospective Investigation*. MEDICAL SCIENCE MONITOR, 2016. **22**: p. 3576-3587.
267. Sokou, R., et al., *Reference ranges of thromboelastometry in healthy full-term and pre-term neonates*. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 2017. **55**(10): p. 1592-1597.
268. Pinacho, A., et al., *Evaluation of the fibrinolytic system in full-term neonates*. International Journal of Clinical and Laboratory Research, 1995. **25**(3): p. 149-152.
269. Ries, M., et al., *In vitro fibrinolysis after adding low doses of plasminogen activators and plasmin generation with and without oxidative inactivation of plasmin inhibitors in newborns and adults*. J Pediatr Hematol Oncol, 1996. **18**(4): p. 346-51.
270. Saxonhouse, M.A. and M.J. Manco-Johnson, *The evaluation and management of neonatal coagulation disorders*. Semin Perinatol, 2009. **33**(1): p. 52-65.
271. Goldenberg, N.A., et al., *A new global assay of coagulation and fibrinolysis*. Thromb Res, 2005. **116**(4): p. 345-56.
272. Westbury, S.K., et al., *High haematocrit in cyanotic congenital heart disease affects how fibrinogen activity is determined by rotational thromboelastometry*. Thromb Res, 2013. **132**(2): p. e145-51.
273. Spiezia, L., et al., *Peculiar whole blood rotation thromboelastometry (Rotem) profile in 40 sideropenic anaemia patients*. Thrombosis and haemostasis, 2008. **100**(12): p. 1106-1110.
274. Özdemir, Z.C., et al., *Evaluation of hypercoagulability with rotational thromboelastometry in children with iron deficiency anemia*. Hematology, 2018. **23**(9): p. 664-668.
275. Görlinger, K., D. Dirkmann, and A.A. Hanke, *Rotational thromboelastometry (ROTEM®), in Trauma induced coagulopathy*. 2016, Springer. p. 267-298.
276. Ranucci, M. and E. Baryshnikova, *Sensitivity of viscoelastic tests to platelet function*. Journal of Clinical Medicine, 2020. **9**(1): p. 189.
277. Schott, N.J., et al., *Thromboelastography in term neonates*. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2018. **31**(19): p. 2599-2604.
278. Raffaelli, G., et al., *Thromboelastographic profiles of healthy very low birthweight infants serially during their first month*. Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition, 2020. **105**(4): p. 412.
279. Liu, Q., et al., *Establishing a reference range for thromboelastograph parameters in the neonatal period*. Int J Lab Hematol, 2019. **41**(4): p. 530-535.
280. Ballabh, P., *Pathogenesis and prevention of intraventricular hemorrhage*. Clin Perinatol, 2014. **41**(1): p. 47-67.
281. Brus, F., et al., *Increased Tissue-Type Plasminogen Activator Antigen Release Is Not Accompanied by Increased Systemic Fibrinolytic Activity in Severe Neonatal Respiratory Distress Syndrome*. Pediatric Research, 1999. **45**(4): p. 588-594.
282. Mautone, A., et al., *Coagulation and fibrinolytic systems in the ill preterm newborn*. Acta Paediatr, 1997. **86**(10): p. 1100-4.
283. Buyukinan, M., et al., *Long-term ongoing coagulopathy in premature infants with respiratory distress syndrome*. Clin Appl Thromb Hemost, 2013. **19**(5): p. 535-40.

## IV. ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ



Article

## Reference Values of Thrombolastometry Parameters in Healthy Term Neonates

Martha Theodoraki <sup>1,†</sup>, Rozeta Sokou <sup>1,\*</sup>, Serena Valsami <sup>2</sup>, Zoi Iliodromiti <sup>3</sup>, Abraham Pouliakis <sup>4</sup>, Stavroula Parastatidou <sup>1</sup>, Georgia Karavana <sup>1</sup>, Georgios Ioakeimidis <sup>1</sup>, Petroula Georgiadou <sup>1</sup>, Nicoletta Iacovidou <sup>3</sup> and Theodora Boutsikou <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Neonatal Intensive Care Unit, “Agios Panteleimon” General Hospital of Nikaia, 184 54 Piraeus, Greece; anastasiosmmr@yahoo.gr (M.T.); stavroula.parastatidou@gmail.com (S.P.); gogo\_kara@yahoo.gr (G.K.); giorgos.ioakeimidis@gmail.com (G.I.); petroulag@yahoo.gr (P.G.)

<sup>2</sup> Hematology Laboratory-Blood Bank, Aretaieio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, 157 72 Athens, Greece; serenavalsami@yahoo.com

<sup>3</sup> Neonatal Department, National and Kapodistrian University of Athens, Aretaieio Hospital, 157 72 Athens, Greece; ziliodromiti@yahoo.gr (Z.I.); niciac58@gmail.com (N.I.); theobtsk@gmail.com (T.B.)

<sup>4</sup> 2nd Department of Pathology, National and Kapodistrian University of Athens Medical School, University General Hospital Attikon, 124 62 Haidari, Greece; apou1967@gmail.com

\* Correspondence: sokourozeta@yahoo.gr

† These authors contributed equally to this work.

Received: 4 November 2020; Accepted: 24 November 2020; Published: 26 November 2020



**Abstract:** Background: Thromboelastometry (ROTEM), as a point of care test, is an attractive tool for rapid evaluation of hemostasis. Currently, no reference ranges exist for all ROTEM assays in neonates, limiting its use in this vulnerable population. The aim of the present study was: (1) to establish reference ranges for standard extrinsically activated (EXTEM), intrinsically activated (INTEM), and fibrinogen polymerization (FIBTEM) ROTEM assays in whole blood samples of healthy term neonates; (2) to determine the impact of gender, delivery mode, and hematocrit on ROTEM parameters. Methods: EXTEM, INTEM, and FIBTEM ROTEM assays were performed simultaneously with complete blood count in 215 healthy term neonates. Results: Reference ranges (2.5th and 97.5th percentiles) were obtained for clotting time (CT), clot formation time (CFT),  $\alpha$ -angle, clot firmness at 10 min (A10), maximum clot firmness (MCF), and lysis index at 60 min (LI60, %). Reference ranges for EXTEM were CT 38–78 s, CFT 49–148 s, A10 40–65 mm, and MCF 47–69 mm, LI60 83–98%. For INTEM, CT 134–270 s, CFT 50–142 s, A10 41–63 mm, and MCF 48–67 mm, LI60 85–97%, and finally, for FIBTEM: CT 36–85 s, A10 9–25 mm and MCF 10–26 mm, LI60 92–100%. Hematocrit values were positively correlated with CT, CFT and negatively with A10, MCF values. Conclusion: This study provides, for the first time, reference ranges for ROTEM EXTEM/INTEM/FIBTEM values simultaneously in healthy term neonates. The combined evaluation of ROTEM tests increases its diagnostic accuracy, contributing to the expansion of ROTEM use in the neonatal population.

**Keywords:** neonatal hemostasis; thromboelastometry; reference range; healthy term neonates; transfusion-guided therapy

### 1. Introduction

Viscoelastic methods, such as Thromboelastography (TEG) and rotational Thromboelastometry (ROTEM), evaluate the coagulation process according to the cell-based model of hemostasis, described in 2001 by Hoffman et al. [1], which involves four consecutive phases of clot formation, triggered by tissue factor. These bedside tests estimate all aspects of hemostasis, providing a rapid assessment

of clot initiation, clot firmness, thrombin generation, function and number of platelets (PLT), qualitative analysis of the functional fibrinogen component, and fibrin polymerization process. Viscoelastic assays provide in vitro assessment of global coagulation by a numerical and graphical representation of clot formation, clot stabilisation, and clot lysis in a short time and using a small sample of whole blood [2,3].

Conventional tests of coagulation—prothrombin time (PT)—partial thromboplastin time (PTT), international normalized ratio (INR), PLT counts, and fibrinogen—are the most commonly used to assess coagulation. A long turnaround time, inability to diagnose complex coagulation abnormalities, and hyperfibrinolysis are well known flaws of the conventional tests of coagulation, which render them of limited utility in detecting hemorrhage and guiding hemostatic therapy in case of severe bleeding in several clinical settings [4,5]. Additionally, they neither adequately reflect a prothrombotic state, nor do they evaluate the patient's risk for thrombosis [6].

ROTEM and TEG, as point of care (POC) tests, appear to improve treatment strategies of clotting abnormalities in bleeding patients. They have been increasingly used in diagnosis and goal-directed transfusion therapy [5,7], in adults and paediatric patients, in several clinical situations such as trauma [8], cardiac surgery [9], liver transplantation [10], and postpartum bleeding [7]. Since not only severe hemorrhage, but also blood products transfusions are associated with increased morbidity and mortality, ROTEM guided hemostatic therapy individualized for each patient's needs with blood products has been shown to be advantageous. It improves patient's safety and reduces transfusion requirements, complication rates, hospital costs, adverse outcomes, and even mortality [5,7,11]. ROTEM-guided algorithms initially evaluate the INTEM (ellagic acid activated intrinsic pathway) and EXTEM (tissue factor triggered extrinsic pathway) tests. According to the results, the investigation proceeds with FIBTEM, which isolates fibrinogen function (extrinsically activated test with tissue factor and the platelet inhibitor cytochalasin D which blocks platelet activation) and/or APTEM (modified EXTEM assay incorporating aprotinin to stabilize the clot against hyperfibrinolysis) and/or HEPTEM (modified INTEM assay, containing additional heparinase) [7,12].

Neonates, and especially preterms, are the most frequently transfused population in the intensive care units. According to the concept of developmental hemostasis, the coagulation system matures gradually from fetal life throughout adulthood; the levels of most of the coagulation factors are lower in the newborn and they are related to gestational as well as postnatal age. Although standard coagulation tests are often prolonged in the neonatal period compared to that in adult life, reflecting “the hemostatic immaturity”, hemorrhage or thrombosis are rare in the healthy neonate. In case of illness, this “hemostatic balance” is disrupted and the risk of coagulopathy is increased. Disorders of hemostasis in neonates are common incidences in neonatal intensive care units (NICU). Providing a global evaluation of a hemostatic profile and requiring a small amount of blood sample, ROTEM is particularly attractive for use in critically ill newborns. However, limited data exist on its utility in this fragile population, primarily due to the paucity of reference ranges for neonates.

This study aimed at (1) establishing the reference range of ROTEM parameters for EXTEM, INTEM, and FIBTEM assays in healthy term neonates, (2) assessing the impact of delivery mode and gender on the ROTEM parameters, and (3) estimating their correlation with haematocrit values and PLT count.

## 2. Material and Methods

Healthy term neonates born at the General Hospital of Nikaia “Aghios Panteleimon”, Piraeus, Greece over a three-year period (January 2017–February 2020) were the study subjects. The study was concordant with the Declaration of Helsinki and received the approval of the Institutional Review Board and Ethics Committee of the General Hospital of Nikaia-Piraeus (Project identification code: 25.01.2017, 3/1). Parental informed consent was obtained for all neonates included in the study. Gestational age, birth weight, gender, and mode of delivery of the neonates were recorded. Data concerning maternal diseases, medications received during or before the index pregnancy, and complications during pregnancy were also recorded. Healthy term neonates with gestational age  $\geq 37$  weeks and appropriate

birth weight for gestational age were included in the study. The aim of the present study was to evaluate the ROTEM parameters in healthy term neonates and any neonate hospitalized in the NICU was excluded from the study. Newborns delivered via emergency CS, with a personal or family history of bleeding disorders, with a known or suspected major chromosomal anomaly, septicemia, perinatal blood loss, birth asphyxia, or perinatal stress (defined as neonates with non-reassuring fetal status [13,14] who did not meet the criteria of perinatal asphyxia) were excluded from the study.

Immediately after delivery, 1 mg of vitamin K was administered intramuscularly to all neonates. During the conventional three day hospital stay, all neonates were followed up until discharge. On the second to third day of life, on any occasion of blood testing for various medical conditions (i.e., hyperbilirubinemia, testing for blood group ABO incompatibility, mothers with positive thyroid antibodies, or inadequate medical supervision throughout pregnancy), 900  $\mu$ L of residual peripheral blood was analyzed on the ROTEM<sup>®</sup> delta analyzer (Tem Innovations GmbH, Munich, Germany). Three ROTEM tests were performed in single determination (S): EXTEM S, INTEM S, and FIBTEM S. Whole blood had been anticoagulated with 0.109 mol/L (3.2%) trisodium citrate (9:1, v/v blood anticoagulant). Citrated whole blood (900  $\mu$ L) was incubated for 2–5 min at 37 °C and was tested 30–60 min after blood collection. The ROTEM tests were performed in single determination using the respective automated pipette programs according to the instructions of the manufacturer. The thromboelastometry technique has been described in detail elsewhere [15].

Blood specimens were carefully evaluated for fibrin clots and any unsuitable specimen was subsequently discarded. Various ROTEM parameters were measured: clotting time (CT, seconds), the time elapsed from the start of measurement until the formation of a clot 2 mm in amplitude; clot formation time (CFT, seconds), the time elapsed from the end of the CT (amplitude of 2 mm) until a clot firmness of 20 mm was achieved; amplitude was recorded at 5 and 10 min (A5, A10);  $\alpha$  angle ( $\alpha^\circ$ ), the angle between the central line (x-axis) and the tangent of the ROTEM tracing at the amplitude point of 2 mm, describing the kinetics of clot formation; maximum clot firmness (MCF, mm), the final strength of the clot; lysis index at 30, 45, and 60 min (LI30, LI45, LI60, %), the percentage of remaining clot stability in relation to the MCF following the 30, 45, and 60 min observation period after CT and indicating the speed of fibrinolysis.

In parallel with ROTEM assays, additional blood tests were performed on the study population, which included full blood count, peripheral blood smear, and bilirubin. Complete blood counts were performed on Sysmex XE-2100 analyzer (Roche, Lincolnshire, Illinois, USA). Bilirubin was measured by EXL DIMENSION Analyzer (SIEMENS, Healthcare Diagnostics, Newark, DE, USA). ABO and Rhesus blood group were documented for all neonates under study.

#### Statistical Analysis

Data were collected in logistic spread sheets and subsequently, the statistical analysis was performed by SAS-9.4 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA) software. Since normality was not possible to be ensured for all the arithmetic data, the results are presented as median value and the quartile 1 (Q1) to quartile 3 (Q3) range [interquartile range (IQR)]. The categorical data (such as gender) are presented as frequencies with the relevant percentages. The reference ranges were produced as the range between the 2.5 and 97.5 percentiles. Correlations were performed by the Spearman correlation ( $r_s$ ) coefficient. Comparisons of the ROTEM parameters between or among groups were performed by the Mann Whitney U (MW) test (for comparisons between two groups) or the Kruskal-Wallis (KW) test (for comparisons among more than two groups). All tests were two sided and the significance level of the study was set to  $p < 0.05$ .

### 3. Results

A total of 215 healthy term neonates with median gestational age of 39 weeks (IQR: 38–40 weeks) and median birth weight of 3300 g (IQR: 3050–3500 g) were included in the study; 52.1% of them were female. Baseline characteristics of the study population are presented in Table 1.

**Table 1.** Baseline characteristics of the study population.

	Characteristic	Value
Newborns' data	Gestational age (weeks) Median (Q1–Q3)	39 (38–40)
	Birth weight (g) Median (Q1–Q3)	3300 (3050–3500)
	Gender (males) <i>N</i> (%)	103 (47.9%)
Newborns' laboratory data	Blood group	A (80/37.2%) B (25/11.6%) AB (5/2.3%) O (105/48.8%)
	Rhesus	Positive (195/90.7%) Negative (20/9.3%)
	Hematocrit (%) Median (Q1–Q3)	47.65 (45–51)
	Hemoglobin (g/dL) Median (Q1–Q3)	16 (15.2–17.1)
	Platelet count (K/ $\mu$ L) Median (Q1–Q3)	285 (240–325)
	Total bilirubin (mg/dL) Median (Q1–Q3)	8 (6–10)
Maternal data	Smoking <i>N</i> (%)	20 (9.3%)
	Thrombophilia history	0 (0%)
Pregnancy and delivery	Medication	No medication (184/85.6%) Insulin (1/0.4%) T4 (27/12.6%) T4 and insulin (1/0.4%) Low molecular weight heparin (0/0%) Acetylsalicylic acid (1/0.4%) Propylthiouracil (1/0.4%)
	Mother pregnancy problems <i>N</i> (%)	Gestational diabetes (9/4.2%) Autoimmune Thyroiditis (2/0.9%) Gestational Hypothyroidism (24/11.1%) Gestational Hypothyroidism and Diabetes (3/1.4%) Graves (1/0.4%) Hypothyroidism (7/3.2%) Cholestasis of pregnancy (1/0.4%)
	Delivery mode (Cesarean Section) <i>N</i> (%)	78 (36.3%)
	Multiple gestation <i>N</i> (%)	0 (0%)

All parameters of standard EXTEM, INTEM, and FIBTEM ROTEM assays are presented as median values and reference ranges (2.5th and 97.5th percentiles) in Table 2.

**Table 2.** Reference ranges of the ROTEM parameters (*N* = 215 term neonates).

Parameter	EXTEM			FIBTEM			INTEM		
	Median	2.5 Pctl	97.5 Pctl	Median	2.5 Pctl	97.5 Pctl	Median	2.5 Pctl	97.5 Pctl
A5	43	30	56	13	8	22	44	31	55
A10	52	40	65	15	9	25	54	41	63
CFT	86	49	148	-	-	-	76	50	142
CT	52	38	78	48	36	85	191	134	270
LI30	100	98	100	100	97	100	100	97	100
LI45	98	93	100	100	94	100	97	92	99
LI60	95	83	98	100	92	100	94	85	97
MCF	59	47	69	17	10	26	59	48	67
Alpha( $\alpha$ )	73	64	81	74	58	82	75	63	80

Abbreviations: CT, clotting time (seconds); CFT, clot formation time (seconds); A5, A10, clot strength at 5 and 10 min (mm); MCF, maximal clot firmness (mm); LI30, LI45, and LI60, lysis index at 30, 45, and 60 min (%); Pctl, percentile; ROTEM: rotational Thromboelastometry; EXTEM: extrinsically activated; FIBTEM: fibrinogen polymerization; INTEM: intrinsically activated.

Statistical analysis showed that there was no impact of gender on the majority of ROTEM parameters (MW test,  $p > 0.05$ ). INTEM LI45 and LI60 were lower in male neonates, with a minor, although statistically significant, difference (median 96% vs. 97% and 93% vs. 94% for males vs. females, MW test:  $p = 0.0429$  and  $0.0309$ , respectively). Moreover, weak correlations of gestational age with INTEM LI30, LI45, and LI60 were observed ( $r_s = 0.14, 0.16$ , and  $0.17$  with  $p = 0.0433, 0.0246$ , and  $0.0159$ , respectively) and similarly, with EXTEM LI30, LI45, and LI60 ( $r_s = 0.19, 0.14$  and  $0.15$  with  $p = 0.0043, 0.0341$ , and  $0.0278$ , respectively), while none of the FIBTEM parameters were correlated with gestational age. Birth weight, despite being strongly dependent on gestational age, was only correlated with INTEM LI60 ( $r_s = 0.16, p = 0.0233$ ). Delivery mode (i.e., vaginal delivery vs. Caesarean section) had no influence on any of the ROTEM parameters (MW test,  $p > 0.05$  for all comparisons). Regarding maternal disorders, we observed no relation of gestational diabetes or maternal thyroid disease with the ROTEM parameters (MW test,  $p > 0.05$ ).

The correlation of ROTEM variable values with neonatal laboratory blood test results was assessed. A positive correlation was observed between hematocrit values and INTEM CT, CFT and L30, L45 ( $r_s = 0.20, 0.24, 0.19$ , and  $0.15$ , respectively,  $p < 0.05$ ) and a negative correlation between hematocrit values and INTEM A5, A10 and alpha angle ( $r_s = -0.17, -0.15$ , and  $-0.25$ , respectively,  $p < 0.05$ ). In the same arena, regarding EXTEM parameters and hematocrit values, positive correlations were observed only for CT and CFT and a negative correlation was confirmed for alpha angle. Finally, hematocrit values were found to be positively correlated with FIBTEM CT, while negative correlations were observed between hematocrit values and FIBTEM A5 and alpha angle.

Regarding hemoglobin values, a significant correlation was noted with INTEM based measurements (detailed data are presented in Table 3). Hemoglobin was positively correlated with EXTEM CT, CFT and a statistically negative correlation was observed with EXTEM A5, A10, MCF and alpha angle. Finally, hemoglobin values were found to be positively correlated with FIBTEM CT, while negative correlations were observed between hemoglobin values and FIBTEM A5 and alpha angle.

**Table 3.** Correlations of ROTEM parameters with blood test results \*.

	CT	A5	A10	CFT	MCF	Alpha	LI30	LI45	LI60	
INTEM	Gestational age (weeks)	0.0103	0.007	0.0289	0.0687	0.0894	-0.0718	0.14062	0.1569	0.17196
		0.8828	0.9165	0.679	0.3241	0.1991	0.3027	<b>0.0433</b>	<b>0.0246</b>	<b>0.0159</b>
	Birth weight (gr)	0.0686	0.03761	0.04179	-0.0067	0.07548	-0.0084	0.07672	0.1311	0.16317
		0.325	0.5896	0.549	0.9238	0.2786	0.9045	0.2718	0.061	<b>0.0223</b>
	Hematocrit	0.1956	-0.174	-0.1451	0.23961	-0.0948	-0.2451	0.13712	0.1928	0.15104
		<b>0.0064</b>	<b>0.0155</b>	<b>0.0441</b>	<b>0.0008</b>	0.19	<b>0.0006</b>	0.0579	<b>0.0077</b>	<b>0.0413</b>
	Hb (g/dL)	0.2174	-0.2459	-0.2258	0.29104	-0.1638	-0.2855	0.16442	0.2244	0.17762
		<b>0.0017</b>	<b>0.0004</b>	<b>0.0011</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>0.0187</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>0.0185</b>	<b>0.0013</b>	<b>0.0128</b>
	PLT ( $\mu$ L)	-0.0118	0.41007	0.39177	-0.3689	0.3588	0.33725	-0.0806	-0.1195	-0.1096
		0.8668	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	0.2504	0.0894	0.1263
Total bilirubin (mg/dL)	0.0253	0.04715	0.03787	-0.0538	0.0134	0.04437	0.01898	-0.0593	-0.0712	
	0.7248	0.5117	0.5982	0.4539	0.8522	0.5369	0.7923	0.4131	0.3368	
EXTEM	Gestational age (weeks)	0.0514	-0.0186	-0.0003	0.09516	0.01582	-0.0750	0.19417	0.1449	0.15225
		0.4534	0.7866	0.9961	0.1644	0.8176	0.2735	<b>0.0043</b>	<b>0.0341</b>	<b>0.0278</b>
	Birth weight (gr)	0.08697	0.0405	0.0434	-0.0045	0.04138	0.01554	0.03285	0.11182	0.10228
		0.204	0.5548	0.5268	0.9481	0.5462	0.8208	0.6319	0.1028	0.1406
	Hematocrit	0.2285	-0.1366	-0.1174	0.19478	-0.0807	-0.2096	0.1007	0.0966	0.09766
		0.0013	0.0568	0.1023	<b>0.0064</b>	0.2618	<b>0.0033</b>	0.1613	0.1802	0.1801
	Hb (g/dL)	0.2466	-0.2318	-0.2213	0.25178	-0.1839	-0.2592	0.07342	0.1065	0.11515
		<b>0.0003</b>	<b>0.0007</b>	<b>0.0011</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.0071</b>	<b>0.0001</b>	0.2861	0.1221	0.0985
	PLT ( $\mu$ L)	-0.1346	0.33334	0.32655	-0.3399	0.30471	0.28469	-0.1691	-0.0966	-0.1036
		0.05	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>0.0135</b>	0.1612	0.1374
Total bilirubin (mg/dl)	-0.0984	-0.0264	-0.0534	-0.0177	-0.08981	0.00626	-0.08282	-0.1182	-0.06774	
	0.1627	0.7085	0.4492	0.8025	0.2026	0.9293	0.2401	0.0939	0.3443	



Table 3. Cont.

	CT	A5	A10	CFT	MCF	Alpha	LI30	LI45	LI60
Gestational age (weeks)	0.07063	0.05007	0.06083	NA	0.10829	0.00412	0.01901	0.04735	−0.0875
	0.3167	0.478	0.3886		0.1241	0.9555	0.7878	0.5044	0.2238
Birth weight (gr)	0.1012	0.03128	0.04169	NA	0.04325	−0.0071	0.02571	0.0336	−0.10955
	0.1505	0.6577	0.5548		0.5401	0.9233	0.7157	0.6358	0.1274
Hematocrit	0.22679	−0.14532	−0.10774	NA	−0.05365	−0.18425	0.06064	0.13475	−0.03144
	<b>0.0012</b>	<b>0.0396</b>	0.1279		0.4494	<b>0.0123</b>	0.3925	0.0577	0.6643
Hb (g/dL)	0.2515	−0.1735	−0.1368	NA	−0.0814	−0.1893	0.01676	0.1140	−0.0436
	<b>0.0003</b>	<b>0.0135</b>	0.0522		0.2492	<b>0.0099</b>	0.8129	0.108	0.5465
Total bilirubin (mg/dL)	−0.0713	−0.01572	−0.05518	NA	−0.0837	0.15371	0.08055	0.0897	0.06423
	0.3269	0.8291	0.4484		0.2496	<b>0.0429</b>	0.268	0.2196	0.3877

Abbreviations: CT, clotting time (seconds); CFT, clot formation time (seconds); A5, A10, clot strength at 5 and 10 min (mm); MCF, maximal clot firmness (mm); LI30, LI45, and LI60, lysis index at 30, 45, and 60 min (%); Hb, hemoglobin; PLT, platelet. \* Each cell shows the Spearman correlation coefficient and below the *p*-value. *p*-values in bold indicate statistical significance.

With regards to PLT count, positive correlations with INTEM and EXTEM A5, A10, MCF, and alpha angle and negative correlations with INTEM and EXTEM CFT were observed. Correlations of ROTEM parameters with the blood tests results are reported in Table 3. In the FIBTEM assay, cytochalasin D reagent is used to inhibit the platelet contribution in clot firmness, reflecting the adequacy and functionality of fibrinogen. Consequently, the correlation between platelet count and FIBTEM parameters was not performed. Furthermore, all ROTEM parameters were comparable between neonates with different ABO (KW test:  $p > 0.05$  for all comparisons) and Rhesus blood groups (MW test:  $p > 0.05$  for all comparisons), while no effect of bilirubinemia on ROTEM parameters was observed (MW test:  $p > 0.05$ ).

#### 4. Discussion

We present reference ranges for ROTEM parameters of EXTEM, INTEM, and FIBTEM assays in healthy term neonates. Until recently, reference ranges for these three ROTEM assays, performed simultaneously, have not been described in neonates. Due to scarce data, the usefulness of ROTEM to guide transfusion therapy in this population is limited.

One of the main problems of neonates hospitalized in NICUs is hemostatic disorders. They may become severe and life-threatening; therefore, their diagnosis and management are extremely important for the neonatologist. Hemostasis is a developmental process, constantly evolving from the fetal period until adulthood. Neonates are born with a complex hemostatic deficit, which depends on gestational age, vitamin K levels, and grade of hepatic maturation. There are differences in all coagulation—fibrinolysis system factors between neonates and children or adults. The deficiency of coagulation factors in neonates is functionally counterbalanced by the lower levels of natural inhibitors of hemostasis (Tissue Factor Pathway Inhibitor, antithrombin, protein C, protein S, heparin co-factor II) and the deficits of fibrinolysis components. As a result, healthy term or preterm neonates have no tendency to bleeding or clotting. However, this dynamic equilibrium is deranged in pathologic conditions, including sepsis, asphyxia, injury, etc. In neonates, clinical expression of hemostatic disorders and bleeding manifestation may range from mild (venipuncture-site bleeding) to life threatening. Limited blood volume in neonates and the difficulty to compensate for hypovolemia, which is more prominent in preterm neonates, renders hemorrhage of any grade critical in this patient group. Severe bleeding, with the imminent need of allogeneic blood transfusion, is a complication in NICUs, associated with increased morbidity and mortality. Better understanding of the neonatal hemostatic profile and of the complex functionality of neonatal platelets is also essential.

Conventional coagulation tests, including PT, activated partial thromboplastin time (aPTT), fibrinogen levels, and PLT count, provide data regarding activation of coagulation and consumption of coagulation factors. Nevertheless, their diagnostic capacity is debatable [16], while they present limitations in the provision of hemorrhage and guidance of transfusion therapy in critically ill patients

and especially, in neonates [17]. TEG/ROTEM are diagnostic methods which can uniquely monitor all stages of the hemostatic process. They are conducted in whole blood samples and therefore, analysis encompasses the complex interactions between different cellular blood components and their first results are available within 10 min from the beginning of the test. These viscoelastic methods allow for prompt recognition of various coagulation disorders and accurate treatment guidance. Although ROTEM is utilized as a real time POC test to evaluate the coagulation process and guide evidence based blood product replacement in adults, its use in neonatal transfusion therapy is limited due to the lack of the reference ranges for the basic ROTEM assays.

Most of the studies reporting reference values for ROTEM parameters in neonates have used umbilical cord blood samples [18–20]. A few studies have been conducted with neonatal blood samples; however, the population size is small. Additionally, the reference values reported are limited to only one ROTEM test (i.e., EXTEM) [21,22]. Sokou et al. [22] have published reference ranges for EXTEM in term and preterm neonates. Our results for EXTEM assay are within the reference ranges previously established by this group. Oswald et al. [23] have determined reference ranges for EXTEM, FIBTEM, and INTEM assays in different paediatric age groups. One of the study groups included 51 neonates and infants, 0–3 months old, who exhibited accelerated coagulation and strong clot firmness compared to the other groups. Kim et al. [24] aimed to establish reference intervals for the same three ROTEM assays (INTEM, EXTEM, and FIBTEM) in children aged 0–16 years with congenital heart diseases. This study included 119 neonates, who demonstrated a similar hemostatic profile to the population of healthy neonates studied by Oswald et al.

In our study, there was no impact of maternal problems during pregnancy (gestational diabetes, thyroid disease) on the ROTEM neonatal variables. These results are in accordance with previously reported data [22]. Moreover, ROTEM parameters were not influenced by the delivery mode. Schott et al. [25] performed TEG in umbilical blood samples and concluded that the delivery mode did not have an effect on the measured parameters. There were no gender-related differences in the ROTEM variables in our population, except for INTEM LI45 and LI60 being lower in male neonates. Oswald et al. [23] reported similar values of ROTEM parameters between males and females. Among the ROTEM variables tested, LI30, LI45, and LI60 of EXTEM and INTEM assays were positively correlated with gestational age. This finding could be attributed to the lower levels of fibrinolysis inhibitor proteins in earlier gestational weeks [22,26].

Interestingly, a “hypocoagulable” profile, expressed as prolonged CT and CFT in INTEM/EXTEM assays and reduced A5 in INTEM/FIBTEM assays, was observed in neonates with higher hematocrit levels, in keeping with previously published studies [27]. Increased relative red blood cell concentration results in dilution of fibrinogen in whole blood and a subsequent decrease in fibrinogen activity. It has already been highlighted by others that the impact of low hematocrit in patients with anemia should be considered as a possible cause of “hypercoagulability” in ROTEM test results [27–29]. As expected, ROTEM parameters were correlated with platelet count, in accordance with reports in literature [3,30].

A limitation of this study is the lack of simultaneous conduction of conventional coagulation tests to correlate with ROTEM parameters. Further large scale trials are required to verify our results.

## 5. Conclusions

To the best of our knowledge, this is the first study to concurrently evaluate three ROTEM assays in a neonatal population, with a relatively large sample size. Considering that the combined evaluation of ROTEM tests increases its diagnostic and therapeutic value, our study results could contribute to the expansion of ROTEM use in the neonatal population. The established reference ranges could possibly support the development of ROTEM-guided transfusion algorithms in neonates.

**Author Contributions:** Conceptualization, M.T., R.S., N.I., and T.B.; methodology, M.T. and R.S.; data curation, M.T., R.S., S.P., G.I., G.K., and P.G.; formal analysis, A.P.; writing—original draft preparation, M.T., R.S., S.P., S.V., Z.I., T.B., and N.I.; writing—review and editing, M.T., R.S., S.P., and N.I.; visualization, M.T., R.S., and N.I. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Hoffman, M.; Monroe, D.M. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost* **2001**, *85*, 958–965.
2. Crochemore, T.; de Toledo Piza, F.M.; dos Reis Rodrigues, R.; de Campos Guerra, J.C.; Rolim Ferraz, L.J.; Domingos Correa, T. A new era of thromboelastometry. *Einstein* **2017**, *15*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Görlinger, K.; Dirkmann, D.; Hanke, A. Rotational thromboelastometry (ROTEM®). In *Trauma Induced Coagulopathy*; Gonzalez, E., Moore, H., Moore, E., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2016; pp. 267–298.
4. Shen, L.; Tabaie, S.; Ivascu, N. Viscoelastic testing inside and beyond the operating room. *J. Thoracic Dis.* **2017**, *9* (Suppl 4), S299–S308. [[CrossRef](#)]
5. Dhara, S.; Moore, E.E.; Yaffe, M.B.; Moore, H.B.; Barrett, C.D. Modern management of bleeding, clotting, and coagulopathy in trauma patients: What is the role of viscoelastic assays? *Curr. Trauma Rep.* **2020**, *6*, 69–81. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Park, M.S.; Martini, W.Z.; Dubick, M.A.; Salinas, J.; Butenas, S.; Kheirabadi, B.S.; Pusateri, A.E.; Wang, J.J.; Vos, J.A.; Guymon, C.H. Thromboelastography as a better indicator of hypercoagulable state after injury than prothrombin time or activated partial thromboplastin time. *J. Trauma* **2009**, *67*, 266–276. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Görlinger, K.; Perez-Ferrer, A.; Dirkmann, D.; Saner, F.; Maegele, M.; Perez Calatayud, A.A. The role of evidence-based algorithms for rotational thromboelastometry-guided bleeding management. *Kor. J. Anesthesiol.* **2019**, *72*, 297–322. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Figueiredo, S.; Tantot, A.; Duranteau, J. Targeting blood products transfusion in trauma: What is the role of thromboelastography? *Minerva Anesthesiol.* **2016**, *82*, 1214–1229. [[PubMed](#)]
9. Görlinger, K.; Lesserson, L.S.; Dirkmann, D.; Hanke, A.A.; Rahe-Meyer, N.; Tanaka, K.A. Management of hemorrhage in cardiothoracic surgery. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* **2013**, *27* (Suppl 4), S20–S34. [[CrossRef](#)]
10. Görlinger, K. Coagulation management during liver transplantation [in German]. *Hämostaseologie* **2006**, *26*, S64–S76.
11. Peng, H.T.; Nascimento, B.; Beckett, A. Thromboelastography and thromboelastometry in assessment of fibrinogen deficiency and prediction for transfusion requirement: A descriptive review. *BioMed Res. Internat.* **2018**, *2018*, 7020539. [[CrossRef](#)]
12. Lier, H.; Vorweg, M.; Hanke, A.; Gorlinger, K. Thromboelastometry guided therapy of severe bleeding. *Hamostaseologie* **2013**, *33*, 51–61. [[PubMed](#)]
13. Gravett, C.; Eckert, L.A.; Gravett, M.G.; Dudley, D.J.; Stringer, E.M. Non-reassuring fetal status: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* **2016**, *34*, 6084–6092. [[PubMed](#)]
14. Parer, J.T.; Livingston, E.G. What is fetal distress? *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1990**, *162*, 1421–1425, discussion 1425–1427. [[CrossRef](#)]
15. Lang, T.; Anne, B.; Siegmund, B.; Bernd, P.; Klaus-Werner, P.; Hans-Jurgen, K.; Meret, L. Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry. *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2005**, *16*, 301–310. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Levi, M.; Meijers, J.C. DIC: Which laboratory tests are most useful. *Blood Rev.* **2011**, *25*, 33–37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Konstantinidi, A.; Sokou, R.; Parastatidou, S.; Lampropoulou, K.; Katsaras, G.; Boutsikou, T.; Gounaris, A.; Tsantes, A.E.; Iacovidou, N. Clinical application of thromboelastography/thromboelastometry (TEG/TEM) in the neonatal population: A narrative review. *Semin. Thromb. Hemost.* **2019**, *45*, 449–457. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Sidlik, R.; Strauss, T.; Morag, I.; Shenkman, B.; Tamarin, I.; Lubetsky, A.; Livnat, T. Assessment of functional fibrinolysis in cord blood using modified thromboelastography. *Pediatr. Blood Cancer* **2016**, *63*, 839–843. [[CrossRef](#)]
19. Strauss, T.; Levy-Sharga, Y.; Ravid, B.; Schushan-Eisen, I.; Maayan-Metzger, A.; Kuint, J.; Kenet, G. Clot formation of neonates tested by thromboelastography correlates with gestational age. *Thromb. Haemost.* **2010**, *103*, 344–350. [[CrossRef](#)]

20. Cvirn, G.; Siegfried, G.; Joerg, K.; Thomas, W.; Ulrika, T.A.; Gunter, J.; Martin, K. Clot strength: A comparison between cord and adult blood by means of thrombelastometry. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* **2008**, *30*, 210–213. [CrossRef]
21. Ravn, H.B.; Andreassen, J.B.; Hvald, A. M Does whole blood coagulation analysis reflect developmental haemostasis? *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2017**, *28*, 218–223. [CrossRef]
22. Sokou, R.; Foudolaki-Papaziros, L.; Lytras, T.; Konstantidini, A.; Theodoraki, M.; Lambadaris, I.; Gounaris, A. Reference ranges of thromboelastometry in healthy full-term and pre-term neonates. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2017**, *55*, 1592–1597. [CrossRef]
23. Oswald, E.; Stalzer, B.; Heitz, E.; Schmugge, M.; Strasak, A.; Haas, I.T. Thromboelastometry (ROTEM) in children: Age-related reference ranges and correlations with standard coagulation tests. *Br. J. Anaesth.* **2010**, *105*, 827–835. [CrossRef]
24. Kim, J.Y.; Shin, J.R.; Kil, H.K.; Park, M.R.; Lee, J.W. Reference intervals of thromboelastometric evaluation of coagulation in pediatric patients with congenital heart diseases: A retrospective investigation. *Med. Sci. Monit.* **2016**, *22*, 3576–3587. [CrossRef]
25. Schott, N.J.; Emery, S.P.; Garbee, C.; Waters, J. Thromboelastography in term neonates. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* **2018**, *31*, 2599–2604. [CrossRef]
26. Pinacho, A.; Paramo, J.A.; Ezcurdia, M.; Rocha, E. Evaluation of the fibrinolytic system in full-term neonates. *Int. J. Clin. Lab. Res.* **1995**, *25*, 149–152. [CrossRef]
27. Westbury, S.K.; Lee, K.; Reilly-Stit, C.; Tulloh, R.; Mumford, A.D. High haematocrit in cyanotic congenital heart disease affects how fibrinogen activity is determined by rotational thromboelastometry. *Thromb. Res.* **2013**, *132*, e145–e151. [CrossRef]
28. Spiezia, L.; Radu, C.; Marchiro, P.; Bertini, D.; Rossetto, V.; Castelli, M.; Pagnan, A.; Sorensen, B.; Simioni, P. Peculiar whole blood rotation thromboelastometry (Rotem) profile in 40 sideropenic anemia patients. *Thromb. Haemost.* **2008**, *100*, 1106–1110. [CrossRef]
29. Özdemir, Z.C.; Kar, Y.D.; Gunduz, E.; Turhan, A.B.; Bor, O. Evaluation of hypercoagulability with rotational thromboelastometry in children with iron deficiency anemia. *Hematology* **2018**, *23*, 664–668. [CrossRef]
30. Ranucci, M.; Baryshnikova, E. Sensitivity of viscoelastic tests to platelet function. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 189. [CrossRef]

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Rotational Thromboelastometry in Neonates Admitted to a Neonatal Intensive Care Unit: A Large Cross-sectional Study

Rozeta Sokou, MD<sup>1,\*</sup> Andreas G. Tsantes, MD<sup>2,\*</sup> Aikaterini Konstantinidi, MD<sup>1</sup>  
 Georgios Ioakeimidis, MD<sup>1</sup> Maria Lampridou, PhD<sup>1</sup> Stavroula Parastatidou, MD<sup>1</sup>  
 Martha Theodoraki, MD<sup>1</sup> Daniele Piovani, PhD<sup>3,4</sup> Zoe Iliodromiti, MD<sup>5</sup> Theodora Boutsikou, MD<sup>5</sup>  
 Nicoletta Iacovidou, MD<sup>5</sup> Panagiota Douramani, MD<sup>2</sup> Aristarchos Poulis, MD<sup>2</sup> Styliani Kokoris, MD<sup>2</sup>  
 Anastasios G. Kriebardis, MD<sup>6</sup> Stefanos Bonovas, MD<sup>3,4</sup> Argirios E. Tsantes, MD<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Neonatal Intensive Care Unit, "Agios Panteleimon" General Hospital of Nikaia, Piraeus, Greece

<sup>2</sup> Laboratory of Haematology and Blood Bank Unit, "Attikon" Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

<sup>3</sup> Department of Biomedical Sciences, Humanitas University, Pieve Emanuele, Milan, Italy

<sup>4</sup> IRCCS Humanitas Research Hospital, Rozzano, Milan, Italy

<sup>5</sup> Neonatal Department, National and Kapodistrian University of Athens, Aretaeio Hospital, Athens, Greece

<sup>6</sup> Laboratory of Hematology, Department of Biomedical Science, School of Health and Caring Science, University of West Attica, Egaleo, Greece

**Address for correspondence** Rozeta Sokou, MD, PhD, Neonatal Intensive Care Unit, "Agios Panteleimon" General Hospital of Nikaia, 3 D.Mantouvalou Street, 18454 Nikaia, Piraeus, Greece (e-mail: sokourozeta@yahoo.gr).

Semin Thromb Hemost

### Abstract

The aim of the present study was to assess the coagulation profile in neonatal critical illness using rotational thromboelastometry (ROTEM), and to investigate its association with disease severity and its potential prognostic role in this clinical setting. Over a period of 67 months (July 2014–February 2020) 423 critically ill neonates with confirmed or suspected sepsis, perinatal hypoxia, or respiratory distress syndrome, hospitalized in our neonatal intensive care unit were included in the study. Demographic, clinical, and laboratory data were recorded on admission day and arterial blood was analyzed on ROTEM analyzer using the standard extrinsically activated rotational thromboelastometry assay (EXTEM). Neonatal illness severity scores (Modified NEOMOD [Neonatal Multiple Organ Dysfunction] and SNAPPE [Score for Neonatal Acute Physiology with Perinatal Extension]) were calculated at the same time as ROTEM analysis. Mortality during in-hospital stay was the main outcome measure. Multivariable analyses showed that a 10 mm decrease in EXTEM clot amplitude recorded at 10 minutes (A10) is significantly associated with a higher mortality (odds ratio [OR] = 1.69, 95% confidence interval [CI]: 1.33–2.08). Higher modified NEOMOD (OR = 1.36, 95% CI: 1.26–1.47) and higher SNAPPE scores (OR = 1.06, 95% CI: 1.04–1.08) were also associated with increased mortality. The CT and A10 variables demonstrated the best prognostic performance among the EXTEM parameters for

### Keywords

- ▶ thromboelastometry
- ▶ ROTEM
- ▶ prognosis
- ▶ mortality
- ▶ critically ill neonates

\* Both authors have equal contribution.