



Εθνικό και Καποδιστριακό
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ - ΜΟΝΑΔΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ Π.Γ.Ν. "ΑΤΤΙΚΟΝ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΤΣΑΝΤΕΣ ΑΡΓΥΡΙΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Θρομβοελαστομετρία: Ο ρόλος της Θρομβοελαστογραφικής δοκιμασίας NATEM στην ανίχνευση των διαταραχών της αιμόστασης σε πάσχοντα νεογνά.

ΓΕΩΡΓΙΑΔΟΥ ΠΕΤΡΟΥΛΑ

Παιδίατρος-Νεογνολόγος
Επιμελήτρια Β' ΕΣΥ

ΑΘΗΝΑ 2023

Ημερομηνία αίτησης διατριβής: 26/06/2020

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 06/10/2020

Μέλη τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1. **Τσαντές Αργύριος**, Καθηγητής Εργαστηριακής Αιματολογίας- Αιμοδοσίας, ΕΚΠΑ, Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Διευθυντής Αιματολογικού Εργαστηρίου-Μονάδα Αιμοδοσίας, Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»
2. **Ιακωβίδου Νικολέττα**, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
3. **Κοκόρη Στυλιανή**, Επίκουρη Καθηγήτρια Αιματολογίας, ΕΚΠΑ, Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Αιματολογικό Εργαστήριο-Μονάδα Αιμοδοσίας, Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»

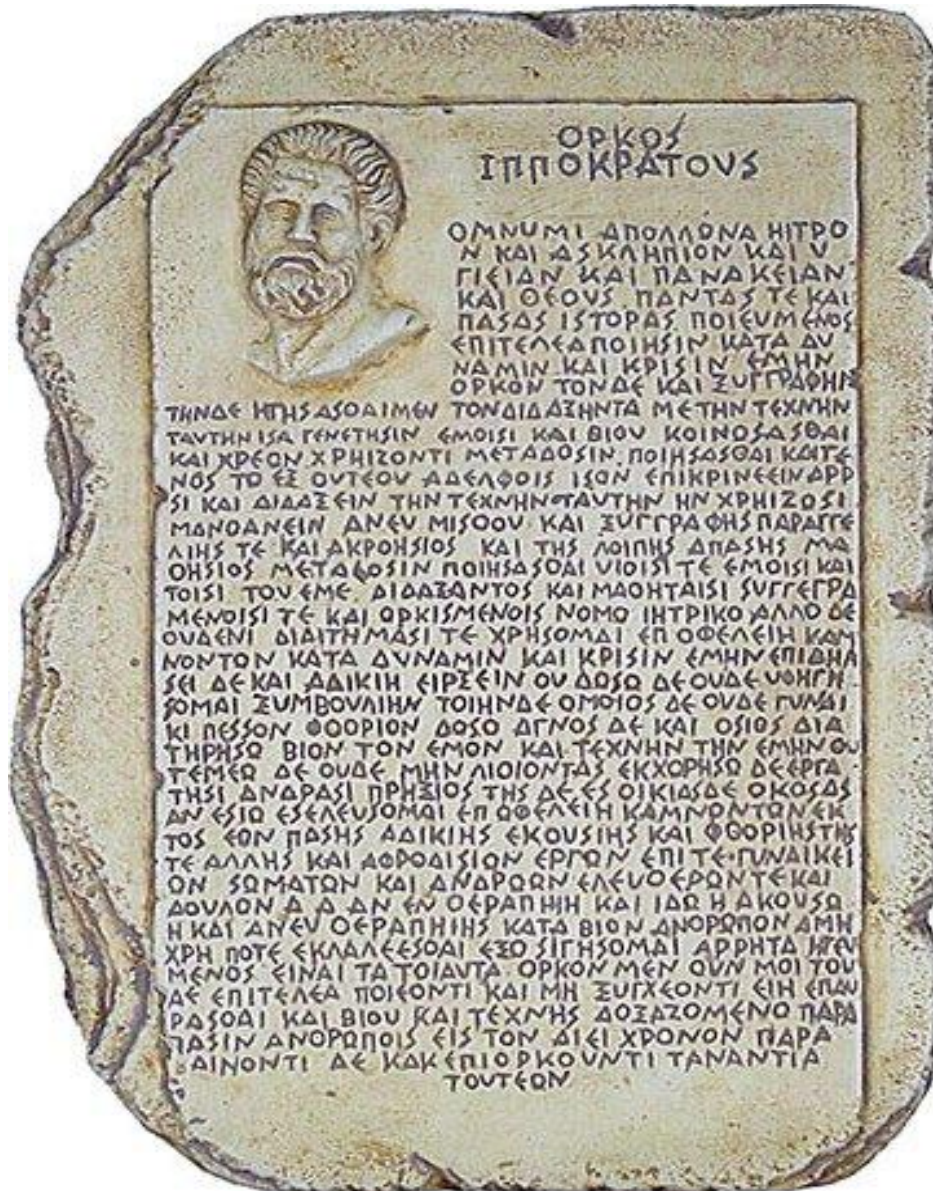
Ημερομηνία ορισμού θέματος διατριβής: 14/10/2020

Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής: 06/11/2023

Μέλη επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

1. **Τσαντές Αργύριος**, Καθηγητής Εργαστηριακής Αιματολογίας- Αιμοδοσίας, ΕΚΠΑ, Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Διευθυντής Αιματολογικού Εργαστηρίου-Μονάδα Αιμοδοσίας, Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»
2. **Ιακωβίδου Νικολέττα**, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
3. **Κοκόρη Στυλιανή**, Επίκουρη Καθηγήτρια Αιματολογίας, ΕΚΠΑ, Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Αιματολογικό Εργαστήριο-Μονάδα Αιμοδοσίας, Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»
4. **Μπούτσικου Θεοδώρα**, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
5. **Ηλιοδρομίτη Ζωή**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, Νεογνολογικής Κλινικής «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
6. **Βαλσάμη Σερένα**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, Ν.Υ. Αιμοδοσίας-Αιματολογικό Εργαστήριο, «Αρεταίειο» Νοσοκομείο
7. **Κριεμπάρδης Αναστάσιος**, Καθηγητής Α' Βαθμίδας, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Νικόλαος Φ. Αρκαδόπουλος



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της διδακτορικής μου διατριβής, αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους εκείνους που με την παρουσία και την υποστήριξή τους συνέβαλαν στην τελική διαμόρφωσή της.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή της Διατριβής μου. Τον Επιβλέποντά μου, Καθηγητή Αιματολογίας-Αιμοδοσίας του ΕΚΠΑ, κύριο Αργύριο Τσαντέ, για την ευκαιρία που μου έδωσε, την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, την αξιοπρεπή συνεργασία και τη βοήθεια που μου παρείχε καθ'ολη τη διάρκεια των 3 τελευταίων χρόνων. Την κυρία Νικολέττα Ιακωβίδου Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας ΕΚΠΑ, Διευθύντρια της Νεογνολογικής Κλινικής στο «Αρεταίειο» Νοσοκομείο για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου σε όλα τα στάδια εκπόνησης της διδακτορικής μου διατριβής καθώς και την Επίκουρη Καθηγήτρια Αιματολογίας του ΕΚΠΑ, κυρία Στυλιανή Κοκόρη που αποδέχτηκε να αποτελέσει μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στη συνάδελφο, φίλη και δασκάλα στη Νεογνολογία και την Θρομβοελαστομετρία, την κυρία Ροζέτα Σώκου, Διευθύντρια ΕΣΥ στη ΜΕΝΝ του Γ.Ν.Ν-Π «Άγιος Παντελεήμων», η οποία πρώτη επέδειξε εμπιστοσύνη προς το πρόσωπό μου για τη διενέργεια του παρόντος πονήματος και της οποίας η παρουσία, η προθυμία, οι συμβουλές και οι υποδείξεις σε συνδυασμό με το συνεχές ενδιαφέρον και την επιστημονική και όχι μόνο, συμπαράστασή της, ήταν αισθητές καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής μου.

Ακολούθως θα ήθελα να ευχαριστήσω τις συναδέλφους και δασκάλες μου στη Νεογνολογία, την κυρία Μάρθα Θεοδωράκη, Συντονίστρια Διευθύντρια ΕΣΥ στη ΜΕΝΝ του Γ.Ν.Ν-Π «Άγιος Παντελεήμων» και την κυρία Αικατερίνη Κωνσταντινίδη, Διευθύντρια στη ΜΕΝΝ του Γ.Ν.Ν-Π «Άγιος Παντελεήμων», όπου και διεξήχθη η δειγματοληψία της μελέτης.

Επίσης ένα ιδιαίτερο ευχαριστώ οφείλω στη φίλη και συνάδελφο κυρία Ευαγγελία Ταβουλάρη, Επιμελήτρια Β΄ στη ΜΕΝΝ του Γ.Ν.Ν-Π «Άγιος Παντελεήμων» για την εμπιστοσύνη αλλά και την ψυχολογική υποστήριξη που έλαβα από το πρόσωπό της και η παρουσία της οποίας έπαιξε σημαντικό ρόλο στο έναυσμα της διατριβής μου.

Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους εκείνους τους ανθρώπους που συνέβαλαν στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης.

Η συγγραφή και ολοκλήρωση της παρούσας Διατριβής, στη χρονική περίοδο της ζωής μου που έλαβε χώρα, αποτέλεσε για μένα ιδιαίτερα εσωτερική και πολύπλοκη διαδικασία και ένα σημαντικό προσωπικό στοίχημα.

Θα ήθελα ιδιαίτερος να ευχαριστήσω τον σύζυγό μου και συνάδελφο, κύριο Μάρα Αθανάσιο, για την εμπύχωση που μου παρείχε καθόλη τη διάρκεια της διενέργειας της Διατριβής μου καθώς και τις δύο μας κόρες, την Κατερίνα και την Αναστασία, οι οποίες αν και πολύ μικρές σε ηλικία, με στερήθηκαν υπομονετικά και επέδειξαν περισσή κατανόηση, όταν πρωταρχική μου ασχολία και μοναδική σκέψη ήταν η εκπόνηση της διατριβής.

Σε μία πράξη ευγνωμοσύνης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου για την οικονομική και την ηθική στήριξη που μου παρείχαν στη ζωή μου.

Η διδακτορική μου διατριβή αφιερώνεται στο σύζυγό μου, στις κόρες μας, στους γονείς και την αδερφή μου, στους καλούς μου φίλους και στους εμπνευσμένους δασκάλους μου.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Επώνυμο / Όνομα: Γεωργιάδου Πετρούλα

Διεύθυνση: -

Τηλέφωνο: -

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: -

Υπηκοότητα: Ελληνική

Ημερομηνία γέννησης: -

Φύλο: Θήλυ

Οικογενειακή κατάσταση: Έγγαμη

Τέκνα: Δύο

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ:

2004 Απόφοιτη 2ου Ενιαίου Λυκείου Κοζάνης. Βαθμός απολυτήριου 19& 7/10.

2004-2010 : Πτυχίο Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Βαθμός πτυχίου 8/10, Λίαν Καλώς.

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ:

14/07/2017 Απόκτηση τίτλου ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ Ειδικότητας

2015-2017 Μεταπτυχιακή φοιτήτρια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Ιατρικής Σχολής Αθηνών «Κλινική Παιδιατρική & Νοσηλευτική Έρευνα», Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία». Θέμα διπλωματικής Μεταπτυχιακής εργασίας:

«Έκβαση & Νοσηρότητα νεογνών τα οποία προέρχονται από εξωσωματική γονιμοποίηση.» Βαθμός πτυχίου:
9,68/10 (Άριστα).

22/12/2020 Απόκτηση τίτλου εξειδίκευσης στη Νεογνολογία

Από **06/10/2020** Υποψήφια Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

8/12/2010- 9/2/2011

Διδάσκων του Ινστιτούτου Επαγγελματικής Κατάρτισης (Δ.Ι.Ε.Κ.) Κοζάνης, στα μαθήματα: Στοιχεία Ορθοπαιδικής και Στοιχεία Ρευματολογίας.

15/2/2011-30/6/2011

Διδάσκων του Ινστιτούτου Επαγγελματικής Κατάρτισης (Δ.Ι.Ε.Κ.) Κοζάνης, στα μαθήματα: Στοιχεία Νευρολογίας και Στοιχεία Νευρολογίας- Ψυχιατρικής.

10/10/2011-14/2/2012

Διδάσκων του Ινστιτούτου Επαγγελματικής Κατάρτισης (Δ.Ι.Ε.Κ.) Κοζάνης, στο μάθημα Πρώτες Βοήθειες- Περίδεση.

11/3/2011-31/1/2012

Υπόχρεος Υπηρεσίας Υπαίθρου-Αγροτικός Ιατρός Π.Ι Εράτυρας – ΚΥ Σιάτιστας (Νομός Κοζάνης).

2010-2012

Ιατρός Αγώνων Ποδοσφαίρου, Τοπικού Πρωταθλήματος στο Νομό Κοζάνης.

1/2/2012-22/01/2014

Ειδικευόμενη Παιδιατρικής στο Γενικό Νοσοκομείο Μυτιλήνης, « Βοστάνειο».

5/12/2013-6/12/2013

Διδάσκων του Ι.Ε.Κ-ΕΚΑΒ Αθηνών, Οδηγός Κατάρτισης Ειδικότητας Διασώστης- Πλήρωμα Ασθενοφόρου, στο μάθημα αντιμετώπιση Επειγόντων παιδιατρικών καταστάσεων (Μυτιλήνη).

2014-2015

Ιατρός Αγώνων Ποδοσφαίρου, Τοπικού Πρωταθλήματος στο Νομό Κοζάνης.

10/4/2014-20/5/2014

Υπόχρεος Υπηρεσίας Υπαίθρου- Αγροτικός Ιατρός ΚΥ Τσοτυλίου

(Νομός Κοζάνης).

22/5/2014-31/12/2014

Ιατρός στη Euromedica (Ζωοδόχος Πηγή) Α.Ε. Παροχής Ιατρικών Υπηρεσιών,

Νομού Κοζάνης.

16/10/14-20/2/15

Διδάσκων του Ινστιτούτου Επαγγελματικής Κατάρτισης (Δ.Ι.Ε.Κ.) Κοζάνης-

Πτολεμαΐδας, στα μαθήματα Στοιχεία Νοσολογίας Αποστείρωση- Απολύμανση,

Φαρμακολογία, Υγιεινή- Μικροβιολογία, Νοσήματα του ανθρώπου και σύγχρονη

αντιμετώπισή τους, Ανατομία.

24/2/15-3/4/15

Διδάσκων του Ινστιτούτου Επαγγελματικής Κατάρτισης (Δ.Ι.Ε.Κ.) Πτολεμαΐδας,

Στα μαθήματα Φαρμακοτεχνική φαρμάκων και Πρώτες Βοήθειες.

17/4/15-17/7/16

Ειδικευόμενη Παιδιατρικής στο Γενικό Νοσοκομείο Ελευσίνας « Θριάσιο».

17/7/16-16/4/17

Ειδικευόμενη Παιδιατρικής στο Γενικό Νοσοκομείο Παίδων «Παν.& Αγλαΐας

Κυριακού» (Τμήματα: Ενδοκρινολογίας, Αναπτυξιακής Παιδιατρικής,

Αλλεργιολογίας, ΜΕΝΝ, Λοιμώξεων- Β'ΠΠΚ).

21/08/17-09/01/18

Επιμελήτρια Παιδιάτρος στην Ευρωκλινική Παίδων, Αθήνα.

9/10/17-16/02/18

Διδάσκων του Ινστιτούτου Επαγγελματικής Κατάρτισης (Δ.Ι.Ε.Κ.) Χαλανδρίου, στο

μάθημα Στοιχεία Υγιεινής.

19/06/18-5/10/20

Εξειδικευόμενη Παιδιάτρος Νεογνολογίας στη Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών του Γ.Κ.Ν Νίκαιας ‘Άγιος Παντελεήμων’.

12/01/2021-18/06/2022

Επικουρική Παιδιάτρος στο Γ.Ν. ‘Έλενα Βενιζέλου’.

Από 19/06/2022

Επιμελήτρια Β΄ Παιδιατρικής στο Κέντρο Υγείας Καμένων Βούρλων

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά Άριστο επίπεδο, πτυχίο: Certificate of Proficiency in English, University of Cambridge & Certificate of Proficiency in English, University of Michigan.

Γερμανικά Άριστο επίπεδο, πτυχίο: Goethe-Zertifikat B1, Goethe-Zertifikat B2, Goethe-Zertifikat C1.

Ισπανικά Βασικό επίπεδο (χωρίς πιστοποίηση).

ΆΛΛΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ

Γνώση και Χρήση Η/Υ, κάτοχος του πτυχίου ECDL, προγράμματα: Windows, Word, Excel, Access, Internet, Power Point.

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ: 3

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ: 1

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ: 9

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ: 3

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ: 5

1. Charalambos Neocleous, Eleni Andonopoulou, Alkistis Adramerina, Antigoni Pegkou, Olga Savelieva, **Petroula Georgiadou**, Ioannis Drikos.

‘*Tissue necrosis following extravasation of acyclovir in an adolescent: A case report*’. Acta Med Acad. 2017 May; 46(1):55-58. [https:// doi: 10.5644/ama2006-124.187](https://doi.org/10.5644/ama2006-124.187).

2. Martha Theodoraki, Rozeta Sokou, Serena Valsami, Zoi Iliodromiti, Abraham Pouliakis, Stavroula Parastatidou, Georgia Karavana, Georgios Ioakeimidis, **Petroula Georgiadou**, Nicoletta Iacovidou, Theodora Boutsikou.

‘*Reference Values of Thromboelastometry Parameters in Healthy Term Neonates*’. Children (Basel). 2020 Nov 26;7(12):259. [https:// doi: 10.3390/children7120259](https://doi.org/10.3390/children7120259).

3. Sylvia Gkantseva-Patsoura, George Katsaras, **Petroula Georgiadou**, Nektarios Lainakis, Eirini Liovarou, Rita Theofanopoulos, Martha Theodoraki.

‘*Idiopathic scrotal hematoma in a neonate*’. Ger Med Sci. 2021 Feb 19;19.

[https:// doi: 10.3205/000288](https://doi.org/10.3205/000288).

4. **Petroula Georgiadou**, Rozeta Sokou, Andreas G Tsantes, Stavroula Parastatidou, Aikaterini Konstantinidi, Dimitra Houhoula, Styliani Kokoris, Nicoletta Iacovidou, Argirios E Tsantes.

‘*The Non-Activated Thromboelastometry (NATEM) Assay’s Application among Adults and Neonatal/Pediatric Population: A Systematic Review*’. Diagnostics (Basel). 2022Mar8;12(3):658.

[https://doi:10.3390/diagnostics12030658](https://doi.org/10.3390/diagnostics12030658).

5. Rozeta Sokou, **Petroula Georgiadou**, Andreas G Tsantes, Stavroula Parastatidou, Aikaterini Konstantinidi, Georgios Ioakeimidis, Athanasia Makrogianni, Martha Theodoraki, Styliani Kokoris, Nicoletta Iacovidou, Anastasios G Kriebardis, Daniele Piovani, Stefanos Bonovas, Argirios E Tsantes.

‘*The Utility of NATEM Assay in Predicting Bleeding Risk in Critically Ill Neonates*’. Semin Thromb Hemost. 2023 Mar;49(2):182-191. [https:// doi: 10.1055/s-0042-1753513](https://doi.org/10.1055/s-0042-1753513).

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ- ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ: 50

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	13
-----------------------	----

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ	19
1.1 Φυσιολογία της αιμόστασης	19
1.2 Πρωτογενής αιμόσταση	20
1.2.α. Το ενδοθήλιο	20
1.2.β. Τα αιμοπετάλια	23
1.3 Δευτερογενής αιμόσταση	27
1.3.α. Ανασταλτές του μηχανισμού πήξης	32
1.4 Ινωδόλυση	33
1.4.α. Έλεγχος του μηχανισμού ινωδόλυσης	35
2. Εργαστηριακή διερεύνηση της αιμόστασης	35
2.1 Έλεγχος του αγγειακού συστήματος και των αιμοπεταλίων	36
2.2 Λειτουργικός έλεγχος της αιμόστασης και ποσοτικός προσδιορισμός των παραγόντων και ανασταλτών της πήξης	38
3. Αιμόσταση στα νεογνά	40
3.1 Πρωτογενής & Δευτερογενής αιμόσταση στα νεογνά	44
4. Εργαστηριακές παράμετροι για τη διερεύνηση των διαταραχών της αιμόστασης στα νεογνά	49
5. Διαταραχές της αιμόστασης στα νεογνά	54
5.1 Κληρονομικές διαταραχές της πήξης	56
5.2 Επίκτητες διαταραχές της πήξης	59
5.3 Διαταραχές των αιμοπεταλίων (Platelet disorders)	61
6. Θρομβοελαστογραφία/Θρομβοελαστομετρία	64
6.1 Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου	65
6.2 Οι κύριες παράμετροι της μεθόδου	68
6.3 Εφαρμογές της θρομβοελαστογραφίας/θρομβοελαστομετρίας	72
7. Η διαγνωστική-θεραπευτική αξία της Θρομβοελαστογραφικής δοκιμασίας NATEM στον ενήλικο, παιδιατρικό και νεογνικό πληθυσμό	74

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ	81
2. ΥΛΙΚΟ	81
2.1. Σχεδιασμός μελέτης	81
2.2. Συμμετέχοντες	81
3. ΜΕΘΟΔΟΣ	85
3.1. Ιστορικό	85

3.2.	Δημογραφικά χαρακτηριστικά	85
3.3.	Κλινικές παράμετροι	86
3.4.	Εργαστηριακές και απεικονιστικές εξετάσεις	87
3.5.	Τεχνική θρομβοελαστομετρίας	88
4.	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	89
5.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	90
6.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	100
7.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	105
8.	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	106
9.	ABSTRACT (ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ)	109
III.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	112
IV.	ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ	126

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AAP= American Academy of Pediatrics

ACOG=American College of Obstetricians and Gynecologists

ALB=Αλβουμίνη

APC= Ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C

ARDS= Οξύ σύνδρομο αναπνευστικής ανεπάρκειας

ADP= Διφωσφορική αδενοσίνη

AT= Αντιθρομβίνη

APTT= Χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστικής

ATP= Τριφωσφορική αδενοσίνη

A2MG= α2- μακρογλουβίνη

APTEM= Aprotinin TEM- Θρομβοελαστομετρία που περιέχει απροτινίνη

A10= Amplitude at 10' - Εύρος θρόμβου στα 10 λεπτά

A20= Amplitude at 20' - Εύρος θρόμβου στα 20 λεπτά

A30= Amplitude at 30' - Εύρος θρόμβου στα 30 λεπτά

BPD=Βρογχοπνευμονική δυσπλασία

BE= Περίσσεια βάσης

Cr=Κρεατινίνη

CRP= C- reactive protein- C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

CFT=Clot formation time- Χρόνος σχηματισμού θρόμβου

CT=clotting time- χρόνος πήξης

CLT= clot lysis time- χρόνος λύσης θρόμβου

DIC=Disseminated intravascular coagulation- διάχυτη ενδαγγειακή πήξη

D-dimers= D-διμερή θραύσματα

CHDN= classic haemorrhagic disease of the newborn-κλασική αιμορραγική νόσος του νεογνού

DDAVP=Acetate desmopressin- δεσμοπρεσσίνη

ECMO=Extracorporeal membrane oxygenation-εξωσωματική οξυγόνωση με μεμβράνη

EDRF= endothelium derived releasing factor

EPI= extrinsic pathway inhibitor-αναστολέας της εξωγενούς οδού πήξης

EXTEM=Extrinsic activated TEM-Θρομβοελαστομετρία με ενεργοποιημένη την εξωγενή οδό της πήξης

FIBTEM= Fibrin-based extrinsic activated TEM- Θρομβοελαστομετρία με ενεργοποιημένη την εξωγενή οδό της πήξης παρουσία αναστολέα αιμοπεταλίων

FFP=φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα

F/FDP's=fibrin/fibrinogen degradation products- προϊόντα αποδόμησης ινώδους και ινωδογόνου

FSF= σταθεροποιητικός παράγων του ινώδους

GPIb= γλυκοπρωτεΐνη Ib

GPIIb/IIIa= γλυκοπρωτεΐνη IIb/IIIa

GA= gestational age-ηλικία κύησης

Hct= hematocrit-αιματοκρίτης

HELLP=Hypertension, Elevated liver enzymes, Low Platelets-υπέρταση, αυξημένα ηπατικά ένζυμα, χαμηλά αιμοπετάλια

HEPTEM= Heparinase-containing TEM-Θρομβοελαστομετρία που περιέχει ηπαρινάση

HUS=hemolytic uremic syndrome-ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο

INR= International normalized ratio-διεθνής κανονικοποιημένος λόγος

INTEM=Intrinsic activated TEM- Θρομβοελαστομετρία με ενεργοποιημένη την ενδογενή οδό της πήξης

IQR=Interquartile range-ενδοτεταρτημοριακό εύρος

ISTH=International Society on Thrombosis and Hemostasis-Διεθνής Εταιρεία Θρόμβωσης και Αιμόστασης

IUGR=Intrauterine growth restriction-Ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης

IVH=Intraventricular hemorrhage-ενδοκοιλιακή αιμορραγία

ITP=Immune thrombocytopenia-αυτοάνοση θρομβοπενία

LDH=γαλακτική αφυδρογονάση

LY=lysis-λύση

LI30, LI45,LI60 (%)= δείκτης που περιγράφει την εκατοστιαία αναλογία του εναπομείναντα θρόμβου στα 30,45 και 60 λεπτά μετά τον χρόνο πήξης (κατά ROTEM)

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

LMWH= χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη

MA= Maximum amplitude-μέγιστη σταθερότητα θρόμβου

MCF=Maximum clot firmness-μέγιστη σταθερότητα θρόμβου

MCE=Maximum clot elasticity-μέγιστη ελαστικότητα θρόμβου

ML=Maximum lysis-μέγιστη λύση

MW=μοριακό βάρος

NICU=Μονάδα εντατικής θεραπείας νεογνών

NATEM=Non-activated TEM-Μη ενεργοποιημένη θρομβοελαστομετρία

NO=nitric oxid-μονοξείδιο του αζώτου

NATP= Neonatal Autoimmune TP-Νεογνική αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα

NAITP= Neonatal alloimmune TPΝεογνική αλλοάνοση θρομβοπενική πορφύρα

PAI=Plasminogen Activator Inhibitor-αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

PGI2=προστακυκλίνη I2

PrC= protein C-πρωτεΐνη C

PS= protein S-πρωτεΐνη S

PFA-100=Platelet function analyzer-αναλυτής λειτουργία αιμοπεταλίων

PDGF=Platelet derived growth factor-αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας

PAF=Platelet Activating Factor-παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων

PT=χρόνος προθρομβίνης

PTT=partial thromboplastin time-χρόνος μερικής προμβοπλαστίνης

PH=ενεργός οξύτητα

PLT=αιμοπετάλια

PVT=θρόμωση της πυλαίας φλέβας

R=reaction time-χρόνος πήξης

RDS=Respiratory distress syndrome-σύνδρομο αναπνευστικής ανεπάρκειας

ROTEM=Rotational thromboelastometry-Περιστρώμενη θρομβοελαστομετρία

RIPA= platelet ristocetin aggregation test-χρόνος ροής και συγκολλητικότητας των αιμοπεταλίων με ριστοσετίνη

SD=Standard deviation-τυπική απόκλιση

SGA=Small for gestational age-μικρό για την ηλικία κύησης

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

SLE= Systemic Lupus Erythimatosous- Συστηματικός ερυθματώδης λύκος

TAFI=Thrombin Activable Fibrinolysis Inhibitor-ενεργοποιημένος από τη θρομβίνη αναστολέας της ινωδόλυσης

TFPI=Tissue Factor Pathway Inhibitor-αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα

TEG=θρομβοελαστογραφία

TEM=θρομβοελαστομετρία

TP=θρομβοπενία

TF=tissue factor-ιστικός παράγοντας

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

TxA2=A2 θρομβοξάνη

TT=χρόνος θρομβίνης

TAT=thrombin-antithrombin-θρομβίνη-αντιθρομβίνη

TTP =thrombotic thrombocytopenic purpura- θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα

UPA=πλασμινογόνο τύπου ουροκινάσης

vWF=παράγοντας vonWillebrand

vWFAg= αντιγόνο παράγοντα vonWillebrand

VLBW=Very low birth weight-πολύ χαμηλό βάρος γέννησης

WBC=white blood cell count-αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων

ΑΜΠ=αιμοπετάλια

Γωνία-α= εκφράζει την ταχύτητα σύνθεσης-ενίσχυσης του θρόμβου

ΔΕΠ= διάχυτη ενδαγγειακή πήξη

ΣΑΔ=σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας

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

Σταθερά K=εκφράζει το χρόνο δημιουργίας θρόμβου

TM=θρομβομοδουλίνη

HK= ηλικία κύησης

KT=καισαρική τομή

MENN=Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών

NEK=νεκρωτική εντεροκολίτιδα

PAI-1=αναστολέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

PAI-2=αναστολέας-2 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

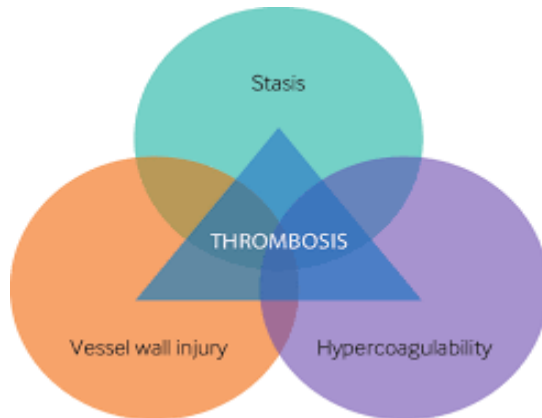
Η αιμόσταση είναι ένας θεμελιώδης αμυντικός μηχανισμός για τον άνθρωπο ο οποίος περιλαμβάνει ένα σύνολο πολύπλοκων βιοχημικών μηχανισμών και μηχανισμών αλληλεπίδρασης μεταξύ «παραγόντων της πήξης», κυττάρων του αίματος (κυρίως των αιμοπεταλίων και των κυττάρων που συμπεριλαμβάνονται στο κυτταρικό μοντέλο της πήξης όπως τα μακροφάγα) και του ενδοθηλίου των αγγείων με σκοπό την προστασία του οργανισμού από την αιμορραγία, όταν υπάρχει τραυματισμός (ή άλλες παθολογικές καταστάσεις) και ταυτόχρονα, τη διατήρηση του αίματος στα αγγεία σε ρευστή κατάσταση, ώστε να εμποδίζεται η θρόμβωση. Όλη η διαδικασία της αλληλοδιάδοξης ενεργοποίησης των παραγόντων πήξης, λαμβάνει χώρα σε επιφάνειες αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων. Η θρομβίνη αποτελεί το βασικό μόριο, το οποίο με θετικούς και αρνητικούς μηχανισμούς ανάδρασης, ελέγχει τόσο τη γένεση του θρόμβου, όσο και τη διάλυσή του σε περιπτώσεις υπέρμετρης αύξησής του. Ο στοιχειώδης εργαστηριακός έλεγχος της αιμόστασης περιλαμβάνει τη μέτρηση των αιμοπεταλίων, του χρόνου προθρομβίνης (PT), του χρόνου ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης (αPTT) και του ινωδογόνου. [1]

1.1 Φυσιολογία της αιμόστασης

Σύμφωνα με τη θεωρία του Virchow (περιγράφηκε το 19ο αιώνα), η παθογένεια της θρόμβωσης οφείλεται σε διαταραχή της ροής του αίματος ή σε βλάβη στο ενδοθήλιο ή σε υπερπηκτικότητα ή συνδυασμό των ανωτέρω. Στον μηχανισμό της αιμόστασης συμμετέχουν: α) το τοίχωμα των αγγείων (ενδοθήλιο), β) τα αιμοπετάλια, γ) οι παράγοντες της πήξης, δ) οι φυσικοί ανασταλτές της πήξης, ε) οι παράγοντες της ινωδόλυσης, και στ) οι φυσικοί ανασταλτές της ινωδόλυσης. Στο μηχανισμό αιμόστασης συμμετέχουν επίσης, με έμμεσο τρόπο τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα οποία με την έξοδό τους στον εξωαγγειακό χώρο αιμολύονται ελευθερώνοντας ADP, βασικό ενεργοποιητή των αιμοπεταλίων καθώς και τα λευκά αιμοσφαίρια, κυρίως τα μονοκύτταρα, τα οποία απελευθερώνουν παράγοντες που ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια (Platelet aggregating factor – PAF και λευκοτριένια) ή τον καταρράκτη της πήξης (ιστικός παράγοντας). [2,3] Η αιμόσταση μπορεί να συνοψισθεί στα ακόλουθα τρία στάδια (Εικ.1):

1. *Πρωτογενής αιμόσταση*, που περιλαμβάνει τη σύσπαση του τραυματισμένου αγγείου και τη δημιουργία ενός «πρωτογενούς αιμοπεταλιακού θρόμβου» (λευκού θρόμβου). Στο σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου βασικό ρόλο παίζουν: Α) το αγγειακό τοίχωμα (ενδοθήλιο), Β) τα αιμοπετάλια και Γ) ο παράγοντας Von Willebrand.
2. *Δευτερογενής αιμόσταση*, που περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός πλέγματος ινώδους που σταθεροποιεί τον θρόμβο (σε αυτή τη διαδικασία συμμετέχουν οι παράγοντες πήξης, αναστολείς και κύτταρα).

3. *Ινωδόλυση* – μία διαδικασία, που αποτρέπει την υπερβολική αύξηση του θρόμβου και μεσολαβεί στη διάλυσή του. [2-4]



Εικόνα 1. Η τριάδα του Virchow

1.2 Πρωτογενής αιμόσταση

1.2.α Το ενδοθήλιο

Το φυσιολογικό άθικτο ενδοθήλιο αναστέλλει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και των λευκών αιμοσφαιρίων, συντηρεί τη λειτουργία της αγγειοδιαστολής και προλαμβάνει την αιμορραγία και τη θρόμβωση μέσω παραγωγής και έκκρισης ρυθμιστικών παραγόντων:

- Το κολλαγόνο, ουσία που εντοπίζεται στο υποενδοθήλιο
- Ο αναστολέας της εξωγενούς οδού της πήξης (extrinsic pathway inhibitor, EPI) που εκκρίνεται από το ενδοθήλιο
- Ο EDRF (endothelium derived releasing factor) που προκαλεί αγγειοδιαστολή
- Η προστακυκλίνη (PGI₂) η οποία παρεμποδίζει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και προκαλεί αγγειοδιαστολή
- Οι μιμητές της ηπαρίνης (heparin sulfates), που βρίσκονται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, τους προσδίδουν αρνητικό φορτίο, εμποδίζουν την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και αναστέλλουν την ενδογενή οδό της πήξης σε αλληλεπίδραση με την αντιθρομβίνη
- Η θρομβομοντουλίνη (thrombomodulin) που βρίσκεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και σε συνεργασία με τη θρομβίνη ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C (PrC) που ανήκει στους φυσικούς ανασταλτές της πήξης (όπως η αντιθρομβίνη και η πρωτεΐνη S)

- Ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator, tPA)
- Ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (plasminogen activator inhibitor, PAI) που αναστέλλει τη δράση του t-PA
- Ο παράγοντας Von Willebrand (vWF) που συμμετέχει στο μηχανισμό συσσώρευσης των ΑΜΠ και επιπλέον είναι ο πρωτεϊνικός μεταφορέας του παράγοντα FVIII

Το ενδοθήλιο αποτελούμενο από ενδοθηλιακά κύτταρα θεωρείται ένα πολύ δυναμικό και μεταβαλλόμενο όργανο που συμμετέχει σε πολλαπλές φυσιολογικές λειτουργίες όπως: ο έλεγχος του αγγειοκινητικού τόνου, η διακίνηση κυττάρων και θρεπτικών συστατικών, η διατήρηση της ρευστότητας του αίματος και η ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων (αγγειογένεση).[5,6] Επίσης διαθέτει εκκριτικές, συνθετικές, μεταβολικές και ανοσολογικές λειτουργίες που είναι θεμελιώδεις για τη ζωή.

Το ενδοθήλιο υιοθετεί μια δομή που είναι συγκεκριμένη για τις ανάγκες και τη λειτουργία καθενός από τους ιστούς και σε κάθε όργανο. Όπου κι αν βρίσκεται, το ενδοθήλιο υπόκειται σε ρυθμιστικά ερεθίσματα ειδικά για αυτόν τον ιστό. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα καταναλώνουν μεγάλη ποσότητα ενέργειας λόγω του ενεργού μεταβολισμού τους. Στο ανθρώπινο σώμα, ολόκληρο το ενδοθήλιο των αγγείων μπορεί να ζυγίζει έως και 1 κιλό και στη μικροκυκλοφορία περιλαμβάνει μια έκταση από 1-7 m² έως 500-700 m².

Στην πλειονότητά της αυτή η μεγάλη έκταση αφορά σε τριχοειδή αγγεία στα οποία η ανταλλαγή θρεπτικών ουσιών και ορμονών εξυπηρετείται από τη σχετικά μικρή ποσότητα αίματος που ρέει σε αυτά, σε σχέση με τη μεγάλη επιφάνεια των τριχοειδικών ενδοθηλιακών κυττάρων. Αντίθετα, τα μεγάλα αγγεία καλύπτονται από συνολικά μικρότερη επιφάνεια ενδοθηλιακών κυττάρων ενώ περιέχουν μεγαλύτερο όγκο αίματος. Συνεπώς, τα ενδοθηλιακά κύτταρα των μικρότερης διαμέτρου αγγείων, αντιπροσωπεύουν τη γενικότερη λειτουργία του ενδοθηλίου.

Το ενδοθήλιο είναι γνωστό για τη σημασία του ως όχημα για τη μεταφορά ουσιών, σημάτων και άλλων κυττάρων σε όλο το σώμα.

Αυτές οι ρυθμιστικές λειτουργίες απαιτούν μακρινές επικοινωνίες μεταξύ των κυκλοφορούντων αιμοποιητικών κυττάρων και άλλων αγγειακών κυττάρων για την αποτελεσματική ρύθμιση της θρόμβωσης, της αγγειογένεσης, της φλεγμονής, της μόλυνσης και της ανοσίας. Λειτουργούν μέσω του εξωκυττάριου χώρου και ενορχηστρώνονται εν μέρει από την εκκριτική οδό και την εξωκυττάρωση των σωματίων Weibel-Palade (WPBs), των εκκριτικών κοκκίων και των εξωκυτταρικών κυστιδίων (EVs) και των εξωσωμάτων, ενώ παράλληλα συμβάλλουν στη ρύθμιση υγρών, ορμονών και μακρομορίων. [5,6]

Επιπλέον τα ενδοθηλιακά κύτταρα ανταποκρίνονται σε διαφορετικούς αγγειοδραστικούς παράγοντες ανάλογα με την εντόπιση των αγγείων, ενώ διευκολύνουν τις απαραίτητες προσαρμογές για την κάλυψη των απαιτήσεων μεμονωμένων ιστών σε συγκεκριμένες περιπτώσεις και προάγουν τη μεταγραφή νέων γονιδίων μετά την ενεργοποίησή τους από φλεγμονώδεις μεσολαβητές, κάτι το οποίο τους προσδίδει νέους υποδοχείς και καινούργιες ιδιότητες. Διαθέτουν επίσης την ικανότητα να επιστρατεύουν λευκοκύτταρα εκεί που η παρουσία τους κρίνεται απαραίτητη, ενώ εξαιρετικής σημασίας είναι η συνεισφορά τους στη διαδικασία επούλωσης είτε μετά από φλεγμονή είτε μετά από τραύμα. Το ενδοθήλιο των μεγάλων αγγείων παράγει κυρίως προστακυκλίνη, ενώ τα ενδοθηλιακά κύτταρα των μικρότερων αγγείων παράγουν προσταγλανδίνη E2. Το νιτρικό οξείδιο, το οποίο ενισχύει τη δράση της προστακυκλίνης και συνεπώς προάγει την αγγειοδιαστολή, παράγεται από την ενδοθηλιακή συνθετάση του νιτρικού οξειδίου (NOS-III), όχι μόνο μετά από την επίδραση αγγειοδραστικών ουσιών, αλλά και κατά την έκθεση των ενδοθηλιακών κυττάρων στην αρτηριακή ροή.[7,8] Επιπρόσθετα, η μετατροπή του ADP που αποτελεί ενεργοποιητή των αιμοπεταλίων σε αδενοσίνη, από τις εξωνουκλεάσες των ενδοθηλιακών κυττάρων συνεισφέρει επίσης στην αντιθρομβωτική διάθεση, ενώ οι αρνητικά φορτισμένες πρωτεογλυκάνες απωθούν τα αιμοπετάλια από την επιφάνεια του ενδοθηλίου αναχαιτίζοντας έτσι την προσκόλληση. Το ενδοθήλιο διαθέτει την ικανότητα της ρύθμισης των φυσικών ανασταλτών της πήξης προκειμένου να αποφευχθεί η θρόμβωση. Η παραγωγή της θειϊκής ηπαράνης (γλυκοζαμινογλυκάνης), η οποία αποτελεί φυσικό συμπαράγοντα της αντιθρομβίνης ενισχύει την αντιπηκτική δράση της τελευταίας. Επιπλέον παράγεται η θρομβομοντουλίνη, που είναι ο μεμβρανικός υποδοχέας της θρομβίνης και οδηγεί στην ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαθέτουν ακόμα τον υποδοχέα της πρωτεΐνης C και συνεπώς ενισχύουν ακόμη περισσότερο την ενεργοποίησή της, ενώ παράγουν σε μικρές ποσότητες και το συμπαράγοντά της, την πρωτεΐνη S. Το ενδοθήλιο παρέχει επίσης και τον αναστολέα της εξωγενούς οδού, τον TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor), ο οποίος αναστέλλει τον ιστικό παράγοντα, ενώ τέλος η παραγωγή ανεξίνης αποτελεί έναν επιπλέον αντιθρομβωτικό μηχανισμό λόγω της πρόσδεσής της στα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια, με αποτέλεσμα να μην απομένουν ελεύθερες θέσεις σύνδεσης για τους παράγοντες της πήξης. Αν παρόλα αυτά ο μηχανισμός της πήξης ενεργοποιηθεί, τα ενδοθηλιακά κύτταρα κινητοποιούν ινωδολυτικές διεργασίες με σκοπό πάντα να διατηρηθεί η ρευστότητα του αίματος. Η κύρια πηγή του tPA είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα τα οποία διαθέτουν θέσεις σύνδεσης τόσο για το πλασμινογόνο όσο και για τον ενεργοποιητή του, ώστε η μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη να λαμβάνει χώρα στη επιφάνεια του αγγείου. [7-10]

Το υγιές ενδοθήλιο αποτρέπει την προσκόλληση και την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Εν αντιθέσει, η υπενδοθηλιακή στοιβάδα είναι εξαιρετικά θρομβογόνος και αποτελείται από κολλαγόνο και παραγόνα vW, ενώ επιπλέον διαθέτει πρωτεΐνες όπως είναι η λαμνίνη, η

θρομβοσπονδίνη και η βιτρονεκτίνη οι οποίες προάγουν την προσκόλληση των αιμοπεταλίων. Ο τραυματισμός του ενδοθηλίου αποτελεί το ερέθισμα για τη μετατροπή από την αντιθρομβωτική, στην προθρομβωτική και προφλεγμονώδη κατάσταση. [7,9-10]

Η σύσταση του θρόμβου, η εξέλιξή του σε τοιχωματικό ή αποφρακτικό, εξαρτάται από την προέλευση του αγγείου και σχετίζεται πρωτίτως με τις διακυμάνσεις της ροής του αίματος σε κάθε αγγείο και ταυτόχρονα με τη διαφορετική απόκριση του ενδοθηλίου διαφορετικών αγγείων ακόμη και στα ίδια ερεθίσματα. Είναι αξιοσημείωτο ότι συστηματικές διαταραχές στην αιμόσταση οδηγούν τελικά σε τοπικές θρομβώσεις στο αγγειακό δέντρο. Συνεπώς, η υπερπηκτικότητα και το πως θα εξελιχθεί εξαρτάται από τις ιδιότητες τοπικών μηχανισμών που αφορούν το ενδοθήλιο και την αιματική ροή στο επίμαχο σημείο. Παράλληλα το ενδοθήλιο ανάλογα με την εντόπισή του, είναι αποδέκτης ποικίλων σημάτων τα οποία έχει τη δυνατότητα να μεταδίδει ποικιλοτρόπως. Έτσι, τόσο οι αντιθρομβωτικές όσο και οι προθρομβωτικές ιδιότητές του, εκφράζονται διαφορετικά ανάλογα με την εντόπιση στο αγγειακό δίκτυο και αυτό ακριβώς οδηγεί σε εντοπισμένη τελικά θρομβωτική έκφραση. Το ενδοθήλιο επομένως, έχει διπλό ρόλο στη διαδικασία της αιμόστασης εξασφαλίζοντας αφενός τη συνεχή ροή του αίματος στον αυλό του αγγείου και αφετέρου βρίσκεται σε ετοιμότητα αν προκύψει η ανάγκη της επιδιόρθωσης των βλαβών. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της παραγωγής πολυάριθμων παραγόντων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και κυρίως χάρη στην προσαρμοστική ικανότητα του ενδοθηλίου στο οξειδωτικό στρες, την ισχαιμία και τη φλεγμονή. [7,9-10]

1.2.β Τα αιμοπετάλια

Φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά των αιμοπεταλίων

Τα **αιμοπετάλια** ή **θρομβοκύτταρα** είναι μικρά, δισκοειδή, διάφανα, κυτταρικά θραύσματα (δηλαδή κύτταρα που δεν έχουν πυρήνα), με διάμετρο 2-3 μικρόμετρα, προερχόμενα από θραύσματα μεγακαρυοκυττάρων. Ο μέσος όρος διάρκειας ζωής τους είναι μόλις 5 με 9 ημέρες. Τα αιμοπετάλια είναι μια φυσική πηγή αυξητικών παραγόντων και χρησιμεύουν στην επούλωση τραυμάτων. Κυκλοφορούν στο αίμα των θηλαστικών και συμμετέχουν στην αιμόσταση, οδηγώντας στο σχηματισμό θρόμβων αίματος. Παράγονται στον μυελό των οστών από τα μεγακαρυοκύτταρα (εξαιρετικά μεγάλα κύτταρα της αιμοποιητικής σειράς), τα οποία κατακερματίζονται προς αιμοπετάλια είτε μέσα στο μυελό των οστών, είτε νωρίς μετά την είσοδό τους στην κυκλοφορία και ιδιαίτερα κατά την δίοδό τους μέσα από τα τριχοειδή της πνευμονικής κυκλοφορίας. Κάθε μέρα παράγονται $14-40 \times 10^8$ αιμοπετάλια, ώστε να διατηρείται σταθερός ο αριθμός τους. Η φυσιολογική συγκέντρωση των αιμοπεταλίων στο αίμα είναι 150.000-400.000 ανά κυβικό χιλιοστόμετρο αίματος. Συγκεντρώνουν πολλαπλά λειτουργικά χαρακτηριστικά ολοκληρωμένων κυττάρων,

παρόλο που δε διαθέτουν πυρήνα και ικανότητα πολλαπλασιασμού. Τα αιμοπετάλια απελευθερώνουν πολλούς αυξητικούς παράγοντες συμπεριλαμβανομένου του αιμοπεταλιακού αυξητικού παράγοντα (PDGF), ενός ισχυρού χημειοτακτικού παράγοντα, και του TGF-β. Και οι δύο αυξητικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιδιόρθωση και την αναγέννηση συνδετικών ιστών. Άλλοι βασικοί αυξητικοί παράγοντες σχετιζόμενοι με την επούλωση που παράγονται στα αιμοπετάλια είναι ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών, ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας 1, ο προερχόμενος από αιμοπετάλια επιδερμικός αυξητικός παράγοντας και ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας. Συγκεκριμένα η σύστασή τους αποτελείται από:

- Κυτταρική μεμβράνη και γλυκοκάλυκα (γλυκοπρωτεΐνες)
- Κυτταρικό σκελετό (ακτίνη, μυοσίνη, θρομβοσθενίνη)-δίνουν τη δυνατότητα στα αιμοπετάλια να συστέλλονται
- Κυτταρόπλασμα:
 - Λυσοσωμάτια που περιέχουν μεταβολικά ένζυμα
 - Α- κοκκία με διάφορους παράγοντες πήξεως
 - Τα ‘πυκνά’ (dense) κοκκία που περιέχουν κυρίως ADP και ATP
 - PGF (αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγον)-υπεύθυνος για τον πολλαπλασιασμό και την αύξηση των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων, των αγγειακών λείων μυϊκών ινών και των ινοβλαστών, με απώτερο στόχο την αποκατάσταση του αγγειακού τοιχώματος μετά από βλάβη
 - FSF (σταθεροποιητικός παράγον του ινώδους)
 - Ενζυμικά συστήματα τα οποία συνθέτουν προσταγλανδίνες – τοπικές ορμόνες που προάγουν πολλούς και διάφορους τύπους αγγειακών και τοπικών ιστικών αντιδράσεων
- Τα αιμοπετάλια περιέχουν επίσης σεροτονίνη, αδρεναλίνη, νοραδρεναλίνη, ισταμίνη και ασβέστιο

Βασικό ρόλο διαδραματίζει η μεμβράνη των αιμοπεταλίων με την κλασική κατασκευή από δύο στρώματα λιπιδίων με ενσωματωμένα πρωτεϊνικά μόρια. Διαχωρίζεται ως εξής: α) στην εξωτερική, η οποία είναι ουδέτερα φορτισμένη και έτσι δεν παίρνει μέρος στην αιμόσταση και β) στην εσωτερική, που αποτελείται από φωσφατιδυλοσερίνη και φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη με αρνητικό φορτίο και προπηκτικές ιδιότητες. Το αιμοπετάλιο αποτελεί ενεργό στοιχείο του αίματος και έχει χρόνο ζωής 8-12 ημέρες, στο τέλος των οποίων οι ζωτικές λειτουργίες του φαίνεται να εξαντλούνται και αποσύρεται από την κυκλοφορία, κατά κύριο λόγο, με το σύστημα των ιστικών μακροφάγων, με τα περισσότερα από τα μισά αιμοπετάλια να απομακρύνονται από τα μακροφάγα μέσα στο σπλήνα (δικτυοενδοθηλιακό σύστημα του σπληνός). [11,12]

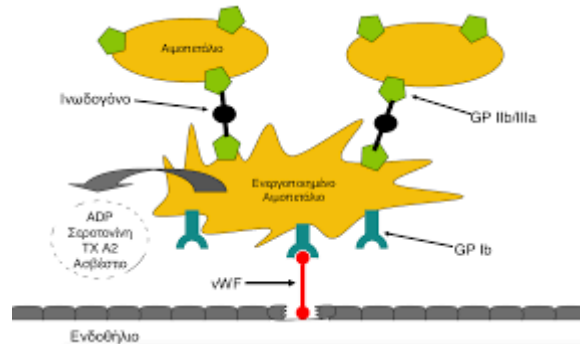
Η λειτουργία των Αιμοπεταλίων

Η λέξη αιμόσταση είναι ελληνική και προέρχεται από τις λέξεις αίμα και στάση δηλώνοντας την επίσχεση της αιμορραγίας, κάτι το οποίο προϋποθέτει ταχείες αλληλεπιδράσεις πολλών διαδικασιών ώστε να σχηματιστεί τελικά στο σημείο της βλάβης ο αιμοπεταλιακός θρόμβος. Η διαδικασία σχηματισμού του πλούσιου σε αιμοπετάλια θρόμβου ονομάζεται πρωτογενής αιμόσταση και αναφέρεται στα πρώιμα στάδια, όταν ο μηχανισμός της πήξης δεν έχει ακόμη πλήρως κινητοποιηθεί.

Η πρωτογενής αιμόσταση περιλαμβάνει τους μηχανισμούς που καταλήγουν στη δημιουργία ενός διαλυτού (εύθρυπτου) αιμοπεταλιακού θρόμβου μέσα σε λίγα λεπτά από τη στιγμή του τραυματισμού. Ο θρόμβος αυτός σταματά προς στιγμήν την απώλεια του αίματος, όμως δεν είναι αρκετά σταθερός για να αποτρέψει την αιμορραγία. Η ανεπιθύμητη αύξηση του μεγέθους του θρόμβου ελέγχεται από το γειτονικό ενδοθήλιο με την παραγωγή του NO και της προστακυκλίνης που αναστέλλουν την ενεργοποίηση των ΑΜΠ και προκαλούν αγγειοδιαστολή. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει αρχικά: (α) Την προσκόλληση των ΑΜΠ με το υπενδοθήλιο (adhesion), όταν τα αιμοπετάλια έρθουν σε επαφή με την αγγειακή επιφάνεια που έχει υποστεί την βλάβη (όπως είναι οι αποκεκαλυμμένες ίνες του κολλαγόνου στο αγγειακό τοίχωμα ή τα ενδοθηλιακά κύτταρα που εμφανίζουν βλάβη), υφίστανται άμεση και δραστική μεταβολή των χαρακτηριστικών τους. Η προσκόλληση των ΑΜΠ στο ενδοθήλιο του τραυματισμένου αγγείου επιτυγχάνεται μέσω του παράγοντα von Willebrand (vWF). Το μόριο αυτό συνδέεται με το κολλαγόνο του υπενδοθηλίου και στη συνέχεια με τον υποδοχέα της γλυκοπρωτεΐνης Ib (GPIb) που βρίσκεται στην επιφάνεια των ΑΜΠ. Αμέσως μετά την προσκόλληση, τα ΑΜΠ ενεργοποιούνται. (β) την αντίδραση απελευθέρωσης κοκκίων από το αιμοπετάλιο (release reaction). Η ενεργοποίηση των ΑΜΠ είναι υπεύθυνη για την αλλαγή του σχήματός τους και την απελευθέρωση των κοκκίων τους (αντίδραση απελευθέρωσης). Αρχίζουν να διογκώνονται και προσλαμβάνουν διάφορα ακανόνιστα σχήματα, με πολλές ακτινοειδείς προεκβολές στην επιφάνειά τους. Οι συσταλτικές πρωτεΐνες των αιμοπεταλίων συστέλλονται και προκαλούν την απελευθέρωση των κοκκίων, τα οποία περιέχουν πολλαπλούς δραστικούς παράγοντες. (γ) τη συσσώρευση των ΑΜΠ για τη δημιουργία θρόμβου (aggregation). [11,12,14]

Η προσκόλληση των ΑΜΠ στο ενδοθήλιο του τραυματισμένου αγγείου επιτυγχάνεται μέσω του παράγοντα Von Willebrand (VWF). Το μόριο αυτό συνδέεται με το κολλαγόνο του υπενδοθηλίου και στη συνέχεια με τον υποδοχέα της γλυκοπρωτεΐνης Ib (GPIb) που βρίσκεται στην επιφάνεια των ΑΜΠ. Αμέσως μετά την προσκόλληση, τα ΑΜΠ ενεργοποιούνται. Η ενεργοποίηση των ΑΜΠ είναι υπεύθυνη για την αλλαγή του σχήματός τους και την απελευθέρωση των κοκκίων τους (αντίδραση απελευθέρωσης). Το περιεχόμενο των κοκκίων (που προαναφέρθηκε) έχει ιδιότητες ενεργοποιητού

της συσσώρευσης των ΑΜΠ. Παράλληλα, στο κυτταρόπλασμα ενισχύεται η μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε Α2 θρομβοξάνη που επιτείνει την αγγειοσυστολή. (Εικ.2) [12,13,18]



Εικόνα 2. Ενεργοποίηση και προσκόλληση των αιμοπεταλίων

Η έκκριση του ADP και της Α2 θρομβοξάνης (ΤxA2), προκαλεί την ενεργοποίηση και άλλων ΑΜΠ και ενισχύει τη διαδικασία της συσσώρευσης. Τα ενεργοποιημένα ΑΜΠ ενώνονται μεταξύ τους μέσω μορίων, όπως το ινωδογόνο, η φιβρονεκτίνη και η βιτρονεκτίνη. Η γλυκοπρωτεΐνη GPIIb/IIIa και η γλυκοπρωτεΐνη GPIb των ΑΜΠ, παίζουν το ρόλο της «γέφυρας» και συμμετέχουν στη δημιουργία ενός πρωτογενούς αιμοστατικού θρόμβου. Ο θρόμβος αυτός ονομάζεται και «λευκός θρόμβος», γιατί στο εσωτερικό του δεν «παγιδεύονται» ερυθρά αιμοσφαίρια. Ο αιμοπετάλιακος θρόμβος, οφείλει να σταματήσει να αυξάνεται σε μέγεθος ώστε να μη προκληθεί απόφραξη του αγγείου. Πρόκειται πιθανότατα για έναν χαλαρό θρόμβο που θα μπορούσε να πετύχει την αναστολή της περαιτέρω εκροής αίματος, εφόσον το άνοιγμα στο αγγείο είναι μικρό. Στη συνέχεια, κατά την διάρκεια της διεργασίας της πήξης του αίματος, σχηματίζονται δοκίδες ινώδους, οι οποίες προσκολλώνται στα αιμοπετάλια, ώστε να σχηματίζεται ένας ανθεκτικός και αδιάλυτος θρόμβος.[15-17] Εάν το άνοιγμα στο αγγείο είναι μικρό, ο λευκός θρόμβος από μόνος του μπορεί να αναστείλει πλήρως την απώλεια αίματος, εάν όμως η οπή είναι μεγάλη, ο σχηματισμός του «πλήρους» θρόμβου αίματος είναι απαραίτητος για την αναστολή της αιμορραγίας. Καθώς ο θρόμβος μεγαλώνει, η επίδρασή του στην επιφάνεια αυξάνεται, γεγονός που σημαίνει ότι και η δύναμη που πρέπει να ξεπεράσει το περαστικό αιμοπετάλιο προκειμένου να προσκολληθεί είναι μεγάλη. Επίσης όσο μεγαλώνει η διάμετρος του θρόμβου, τα αιμοπετάλια τα οποία βρίσκονται στα εξωτερικά στρώματα ενεργοποιούνται σταδιακά λιγότερο και επομένως προσκολλώνται ασθενέστερα, μέχρι να επιτευχθεί τελικά ισορροπία και να παύσει η εναπόθεση των αιμοπεταλίων. Παράλληλα οι υποδοχείς τους πιθανόν να απενεργοποιούνται με αποτέλεσμα το αιμοπετάλιο να μπορεί να αποκολληθεί. Αν λόγω της μεγάλης διάτμησης η αποκόλληση αφορά μεγάλα κομμάτια του θρόμβου, τότε σχηματίζονται έμβολα. Συνήθως αυτά τα έμβολα διαλύονται και τα αιμοπετάλια

που τα απαρτίζουν είτε συνεχίζουν κανονικά στην κυκλοφορία αφού επιστρέψουν στην ήρεμη μορφή τους με τη βοήθεια της προσταγλανδίνης και του νιτρικού οξέος, είτε απομακρύνονται από αυτή σε περίπτωση που έχουν υποστεί μεγάλες αλλοιώσεις. Στο τέλος, το κατεστραμμένο σημείο στο αγγείο έχει επικαλυφθεί με μια μονή, μη θρομβογόνο στοιβάδα αιμοπεταλίων, και έχει επιτευχθεί η επίσχεση της αιμορραγίας. [15-19]

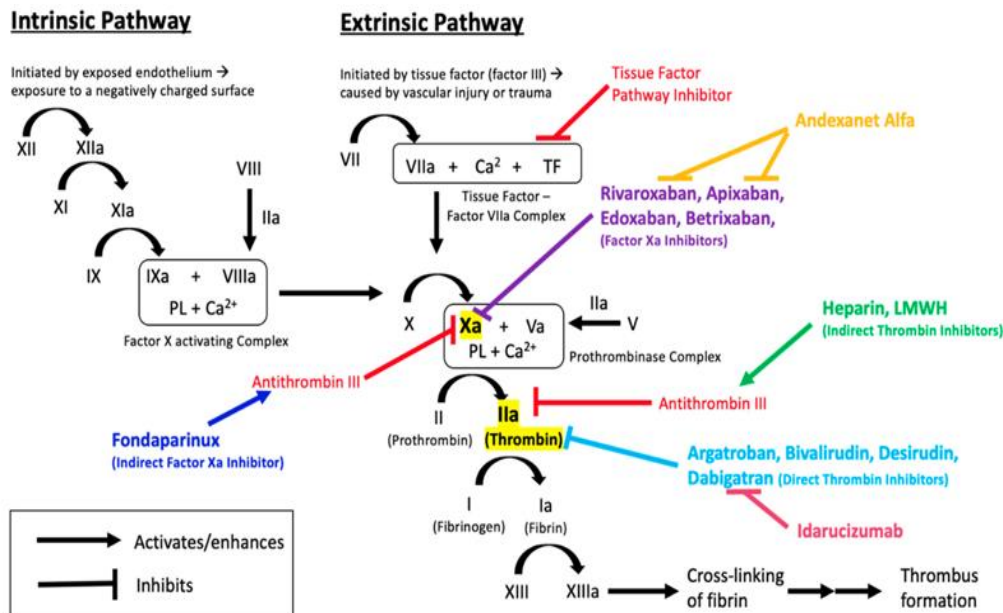
1.3 Δευτερογενής αιμόσταση

Η πήξη του αίματος

Ο μηχανισμός της πήξης αποτελείται από ένα σύνολο διαδοχικών αντιδράσεων που έχουν ως τελικό στόχο, τη μετατροπή του διαλυτού ινωδογόνου σε αδιάλυτο ινώδες, με αποτέλεσμα ο ασταθής αιμοπεταλιακός θρόμβος να ενισχύεται από ένα πλέγμα ινικής. Η δευτερογενής αιμόσταση είναι η δεύτερη φάση της αιμόστασης. Στον μηχανισμό της πήξης συμμετέχουν συνολικά πάνω από 50 διαφορετικές πρωτεΐνες. Οι περισσότερες παράγονται στο ήπαρ (εξαιρέση ο TF και ο vWF). Πολλές από αυτές εκτός από το όνομά τους χαρακτηρίζονται με έναν λατινικό αριθμό από I έως XIII (International Committee in Nomenclature of Blood Coagulation Factors 1962-63). Ο αριθμός του κάθε παράγοντα έχει σχέση με την σειρά ανακάλυψής του και όχι με την σειρά που συμμετέχει στον μηχανισμό της πήξης. Το «a» δίπλα στον κάθε αριθμό δηλώνει την ενεργοποιημένη μορφή του (F VIIa). Οι αντιδράσεις αλληλορυθμίζονται με μηχανισμούς θετικής ή αρνητικής ανάδρασης. Κατά συνέπεια η ανεπάρκεια των παραγόντων της πήξης ή η αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα σχετίζεται με αιμορραγική διάθεση, ενώ αντίθετα η ανεπάρκεια των ανασταλτών της πήξης ή η αυξημένη δραστηριότητα του μηχανισμού της πήξης οδηγεί κλινικά σε θρόμβωση. Η ενεργοποίηση του μηχανισμού και η εξέλιξη της διαδικασίας αφορούν διαδοχικές αντιδράσεις και εκεί οφείλεται και ο χαρακτηρισμός που του έχει αποδοθεί ως καταρράκτης της πήξης. Για περιγραφικούς και μόνο λόγους η ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης αναλύεται μέσω της ενδογενούς και της εξωγενούς οδού. [20,21]

Το σύστημα της πήξης πιο συγκεκριμένα αποτελείται από πρωτεΐνες του πλάσματος (παράγοντες πήξης και φυσικούς ανασταλτές της πήξης), κυτταρικά στοιχεία (αιμοπετάλια, λευκά αιμοσφαίρια) και συστατικά του αγγειακού ενδοθηλίου. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι περισσότεροι παράγοντες του συστήματος, είτε δεν είναι εκτεθειμένοι στην κυκλοφορία, είτε κυκλοφορούν σε ανενεργό μορφή. Η εμφάνιση αγγειακής βλάβης έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης και τη μετατροπή των παραγόντων αυτών σε βιολογικά δραστικούς. Το κλασικό μοντέλο της πήξης περιγράφει έναν «καταρράκτη» από αντιδράσεις, που αποτελούν διαδοχική ενεργοποίηση των διαφόρων παραγόντων της πήξης μέσω δύο ξεχωριστών οδών, οι οποίες ενεργοποιούνται με καταλυτικό μηχανισμό και έχουν ως τελικό στόχο, τη μετατροπή του διαλυτού ινωδογόνου σε

αδιάλυτο ινώδες και στη συνέχεια σε πλέγμα ινικής. Η ενεργοποίηση της «ενδογενούς» οδού, γίνεται μέσω του συστήματος «επαφής», και της «εξωγενούς», μέσω του ιστικού παράγοντα. (Εικ.3) [21]



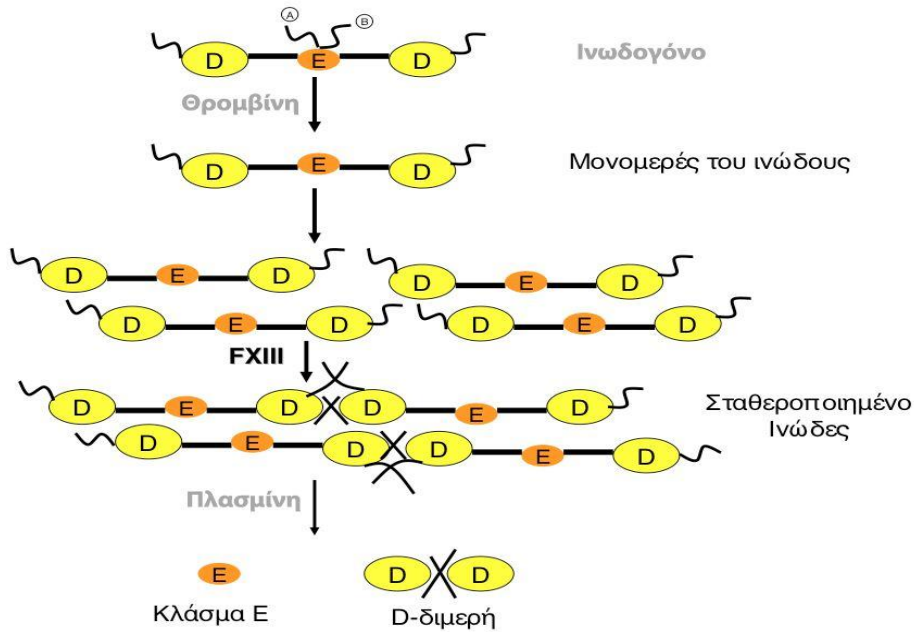
Εικόνα 3. Το κλασικό μοντέλο του «καταρράκτη» της πήξης μέσω δύο διαφορετικών οδών της εξωγενούς οδού (*extrinsic pathway*), με ενεργοποίηση του ιστικού παράγοντα και της ενδογενούς οδού (*intrinsic pathway*) με ενεργοποίηση του συστήματος επαφής.

Η ενδογενής οδός της πήξης πυροδοτείται από την ενεργοποίηση του παράγοντα XII, επάνω στην αλλοιωμένη αγγειακή επιφάνεια (στο ενδοθήλιο και στην υπενδοθηλιακή στιβάδα). Η ενεργοποίηση του παράγοντα XII, προάγεται από την προκαλλικρεΐνη, από το μεγάλο μοριακού βάρους κινινογόνο (KMMB) και από τον παράγοντα XI. Σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα, που εντοπίζεται στην αλλοιωμένη επιφάνεια, το οποίο ενεργοποιεί τον παράγοντα XII. Στη συνέχεια ο ενεργοποιημένος παράγων (XIIa) δρώντας σαν ένζυμο, καταλύει την ενεργοποίηση του παράγοντα XI, ο οποίος ακολούθως ενεργοποιεί τον παράγοντα IX. Η ενεργοποίηση του παράγοντα IX από τον XIa απαιτεί την παρουσία ιόντων ασβεστίου («παράγων IV^{'''} / Ca⁺⁺). Ο ενεργοποιημένος παράγων IX συνδέεται με τον παράγοντα VIII (αντιαιμορροφιλικό παράγοντα). Με τη μεσολάβηση ιόντων ασβεστίου και ενός φωσφολιποειδούς, ο ενεργοποιημένος παράγων IX ενεργοποιεί τον παράγοντα X σε Xa. Η ενεργοποίηση αυτή πραγματοποιείται συνήθως, στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των αιμοπεταλίων που έχουν ενεργοποιηθεί, μπορεί όμως να γίνει και επάνω στο αγγειακό ενδοθήλιο. Όλοι οι παράγοντες που συμμετέχουν στην οδό αυτή βρίσκονται εντός της κυκλοφορίας. Εξελίσσεται αργά (απαιτεί μερικά λεπτά για να ολοκληρωθεί, 4-8 min) ενώ αποτελεί

δευτερεύουσας σημασία οδό για την εκκίνηση του μηχανισμού. In vivo δρα ενισχύοντας τον σχηματισμό θρομβίνης από την εξωγενή οδό. [22-27]

Η εξωγενής οδός ενεργοποιείται, όταν ο ιστικός παράγοντας (tissue factor-TF) εκτίθεται στην κυκλοφορία. Ο TF είναι μία γλυκοπρωτεΐνη, η οποία εκφράζεται σε διάφορα είδη κυττάρων, και κυρίως τα ενδοθηλιακά. Μετά από αγγειακή βλάβη ή φλεγμονώδη διέγερση, ο εκτεθειμένος στην επιφάνεια των κυττάρων TF, έρχεται σε επαφή με τον παράγοντα VII (FVII), με τον οποίο εμφανίζει υψηλή συγγένεια και σχηματίζει πάνω στην επιφάνεια του κυττάρου ισχυρό σύμπλεγμα με την ενεργοποιημένη μορφή του (σύμπλεγμα TF/ FVIIa). Το σύμπλεγμα TF/FVIIa έχει δύο στόχους: (α) την ενεργοποίηση του παράγοντα X σε Xa και (β) την ενεργοποίηση του παράγοντα IX σε IXa. Εξελίσσεται ταχέως (σε δευτερόλεπτα).[25,27,28]

Στην κοινή οδό ο FXa σχηματίζει σύμπλεγμα με τον FVa, πάνω στην επιφάνεια του αιμοπεταλίου, (σύμπλεγμα προθρομβινάσης: Va.,Xa, Ca⁺⁺, φωσφολιπίδια) το οποίο καταλύει τη μετατροπή μεγάλων ποσοτήτων προθρομβίνης, σε θρομβίνη. Αυτή η «εκκρηκτική» παραγωγή θρομβίνης, είναι ικανή να αποσπάσει από το ινωδογόνο τα ινωδοπεπτίδια A και B και να ενεργοποιήσει τον παράγοντα FXIII (έχει ιδιότητες τρανσγλουταμινάσης). Τα παραγόμενα μονομερή του ινώδους, πολυμερίζονται, δημιουργούν έναν ασταθή θρόμβο, ο οποίος υπό την επίδραση του παράγοντα XIIIa, μετατρέπεται σε αδιάλυτο θρόμβο ινώδους. Ο θρόμβος αυτός προστατεύεται από την ινωδόλυση, από τον ενεργοποιημένο από τη θρομβίνη αναστολέα της ινωδόλυσης (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor-TAFI), ο οποίος δραστηριοποιείται σε υψηλές συγκεντρώσεις θρομβίνης. (Εικ.4) [20-25]

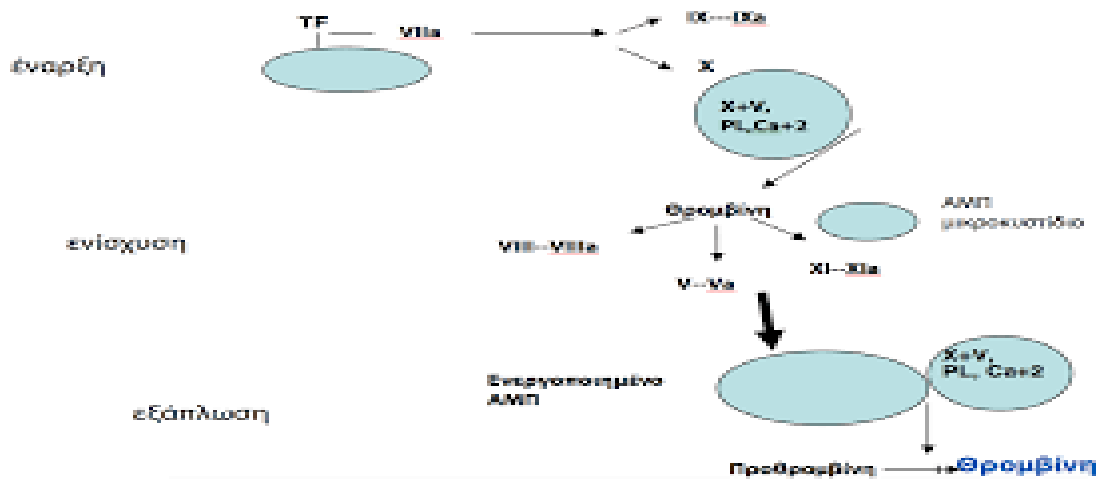


Εικόνα 4. Ο πολυμερισμός του ινωδογόνου και τα προϊόντα λύσεως του ινώδους

Τα τελευταία χρόνια, ένα νέο μοντέλο πήξης έχει περιγραφεί και είναι αποδεκτό από τους περισσότερους ερευνητές. Κεντρική ιδέα του μοντέλου αυτού το οποίο προτάθηκε από τους Hoffman & Monroe είναι ότι η αιμοστατική διαδικασία συμβαίνει *in vivo* σε συγκεκριμένες κυτταρικές επιφάνειες οι οποίες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ρύθμιση του μηχανισμού ανάλογα με το είδος των υποδοχέων που φέρουν στην μεμβράνη τους σύμφωνα με το οποίο η διαδικασία της πήξης συντελείται σε τρεις αλληλοεπικαλυπτόμενες φάσεις, (έναρξη- ενίσχυση-εξάπλωση) που συμβαίνουν στην κυτταρική μεμβράνη διαφόρων κυττάρων, τα οποία παρέχουν ως υπόστρωμα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια και στα οποία συνδέονται τα προπηκτικά συμπλέγματα των πρωτεϊνών της πήξης (κυτταρικό μοντέλο της πήξης). Το ερέθισμα έναρξης της πήξης είναι ο ιστικός παράγοντας ο οποίος, μαζί με τον VIIa, ενεργοποιούν τόσο τον παράγοντα IX, όσο και το σύμπλοκο προθρομβινάσης πάνω στα AMPI, και καταλύει τη μετατροπή μικρών ποσοτήτων προθρομβίνης σε θρομβίνη. Η προαγωγή της πήξης ενισχύεται περαιτέρω από μηχανισμούς θετικής ανάδρασης. Συγκεκριμένα, οι μικρές αυτές ποσότητες θρομβίνης είναι ικανές να ενεργοποιήσουν αναδραστικά: (α) τα αιμοπετάλια, (β) τον FVIII με αποτέλεσμα αυτός να αποσυνδέεται από τον παράγοντα von Willebrand (vWF) με τον οποίο κυκλοφορεί ως σύμπλεγμα, (γ) τον παράγοντα V, οποίος εκκρίνεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και (δ) τον παράγοντα XI. Επιπλέον, τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια, στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, προσφέρουν το έδαφος για τον ενεργοποιημένο από τη θρομβίνη FIXa να σχηματίσει σύμπλεγμα με το συμπαραγοντά του FVIIIa (σύμπλεγμα τενάσης). Το σύμπλεγμα αυτό έχει τη δυνατότητα να μετατρέπει μεγαλύτερες ποσότητες FX σε FXa, να ενεργοποιεί το σύμπλοκο

προθρομβινάσης, και επομένως να προωθεί τη δημιουργία μεγαλύτερων ποσοτήτων θρομβίνης. (Εικ.5)

Η τελική δράση της θρομβίνης συνίσταται στη μετατροπή του ινωδογόνου σε μονομερή ινώδους, με την υδρόλυση των δεσμών αργινίνης-γλυκίνης, και στην ενεργοποίηση του παράγοντα XIII ο οποίος συνεισφέρει στη σταθερότητα του θρόμβου σχηματίζοντας διασταυρούμενους δεσμούς καθιστώντας τον ανθεκτικό στη διάσπαση από την πλασμίνη. Επίσης συμβάλει στο μηχανισμό θετικής ανάδρασης, προάγοντας την ενεργοποίηση των παραγόντων XI, V, και VIII, εξασφαλίζοντας τη συνεχή κινητοποίηση του μηχανισμού της πήξης. Αξίζει να σημειωθεί σε αυτό το σημείο η συνεισφορά του παράγοντα XIa (σύστημα επαφής) ώστε να επιτευχθεί ικανοποιητική αιμόσταση, διότι δίχως τη συμμετοχή του δεν θα μπορούσαν να ενεργοποιηθούν οι παράγοντες VIII και IX, λόγω της ταχείας αναστολής της εξωγενούς οδού από τον TFPI. Ιδιαίτερα σε περιπτώσεις που η ινωδόλυση είναι αυξημένη, η ποσότητα του παράγοντα IXa μόνο από την εξωγενή οδό δεν επαρκεί ώστε να διατηρηθεί ικανοποιητική αιμόσταση. Σε αυτές τις περιπτώσεις είναι χρήσιμη η συνεισφορά του παράγοντα XI στη δημιουργία επιπρόσθετου παράγοντα IXa. Τα παραπάνω γίνονται περισσότερο κατανοητά αν σκεφτεί κανείς ότι τα άτομα με ανεπάρκεια του παράγοντα XI δεν εμφανίζουν αυτόματες αιμορραγίες, αλλά εμφανίζουν συχνά μετεγχειρητικές αιμορραγίες ιδιαίτερα όταν τα χειρουργεία αφορούν ιστούς με έντονη ινωδολυτική δραστηριότητα. [20-28]



Εικόνα 5. Το κυτταρικό μοντέλο της πήξης.

Στο κυτταρικό μοντέλο:

- η διαδικασία της πήξης συμβαίνει σε συγκεκριμένες κυτταρικές επιφάνειες οι οποίες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ρύθμιση του μηχανισμού

- δεν διακρίνεται πλέον σε εξωγενή και ενδογενή οδό αλλά πραγματοποιείται σε 3 επικαλυπτόμενα στάδια (έναρξης, ενίσχυσης, επέκτασης) πάνω σε κύτταρα που φέρουν TF και στα αιμοπετάλια
- δεν περιλαμβάνονται οι παράγοντες του ενδογενούς συστήματος (FXII, HMWK, Καλλικρεΐνη), οι οποίοι δεν φαίνεται να είναι απαραίτητοι για την αιμόσταση [20-28]

1.3.α Ανασταλτές του μηχανισμού πήξης

Ο αποτελεσματικός έλεγχος της διαδικασίας του σχηματισμού του θρόμβου είναι αναγκαίος, έτσι ώστε ο θρόμβος, αφενός να περιορίζεται στο σημείο της βλάβης και αφετέρου να λύεται ικανοποιητικά, όταν αυτό απαιτείται. Η ρύθμιση επιτυγχάνεται με δύο κύριους μηχανισμούς, με τους οποίους ρυθμίζεται η δράση της θρομβίνης:

(α) ένα άμεσο σύστημα αναστολέων των πρωτεασών της σερίνης, που περιλαμβάνουν την αντιθρομβίνη (AT) και τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (Tissue Factor Pathway Inhibitor) TFPI. Η AT απενεργοποιεί κυρίως τη θρομβίνη, και τους παράγοντες IXa, Xa, XIa, δημιουργώντας συμπλέγματα 1:1, ενώ ο TFPI αναστέλλει τον ιστικό παράγοντα. Η αναστολή της θρομβίνης από την AT χωρίς την παρουσία συμπαραγοντών είναι ήπια, ενώ με την παρουσία της ηπαρίνης ή της θειϊκής ηπαρίνης της επιφάνειας του ενδοθηλίου, δημιουργείται το σύμπλεγμα ηπαρίνη-AT το οποίο λειτουργεί ως αντιπηκτική ουσία με αποτελεσματικότητα μέχρι και χίλιες φορές μεγαλύτερη της AT. Το σύμπλεγμα αυτό απενεργοποιεί εκτός της θρομβίνης και διάφορους άλλους ενεργοποιημένους παράγοντες πήξης όπως οι XII, XI, IX και X, με αποτέλεσμα την περαιτέρω ενίσχυση της αντιπηκτικής του δραστηριότητας.

(β) ένα έμμεσο σύστημα που αποτελείται από την πρωτεΐνη C (PC) και τον συμπαραγοντά της, την πρωτεΐνη S (PS) (είναι K-βιταμινοεξαρτώμενες πρωτεΐνες). Η οδός της PC ενεργοποιείται από το σύμπλεγμα θρομβίνης/ θρομβομοντουλίνης (TM) που βρίσκεται στο ενδοθήλιο. Η ενεργοποιημένη PC (APC) με την παρουσία του συμπαραγοντά της PS, είναι ικανή να απενεργοποιήσει τους Va και VIIIa αναστέλλοντας αποτελεσματικά το σύμπλεγμα της προθρομβινάσης και το σύμπλεγμα της τενάσης. Επιπλέον, η ενεργοποιημένη PC διεγείρει την ινωδόλυση. (Εικ.6) [29,30]



Εικόνα 6. Η οδός της πρωτεΐνης C

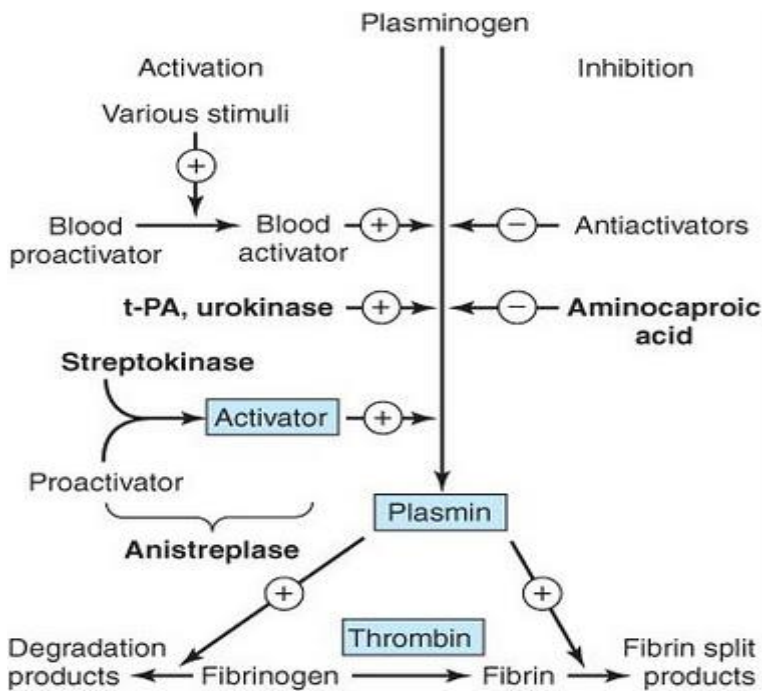
1.4 Ινωδόλυση

Τελικό στάδιο της διαδικασίας της πήξης είναι η ινωδόλυση (διάλυση του θρόμβου). Παράλληλα με τη δημιουργία του θρόμβου, δραστηριοποιείται το ινωδολυτικό σύστημα που έχει σα σκοπό τη λύση του θρόμβου και την αποκατάσταση της κυκλοφορίας στο αγγείο. Πρόκειται για ένα σύνολο ενζύμων και αναστολέων που αποτελούν τον κύριο αμυντικό μηχανισμό, ο οποίος προστατεύει από τη θρόμβωση. Περιλαμβάνει ένα ανενεργό προένζυμο, το πλασμινογόνο, που είναι βασική πρωτεΐνη του μηχανισμού της ινωδόλυσης, είναι μία β2-σφαιρίνη του αίματος, παράγεται στο ήπαρ και κυκλοφορεί στο αίμα προσκολλημένο πάνω στο ινωδογόνο, γεγονός που εξηγεί και την παρουσία του στο εσωτερικό του θρόμβου. Το ινωδογόνο και το ινώδες αποτελούν το υπόστρωμα δράσης του. Το πλασμινογόνο αφού μετατραπεί σε ενεργό ένζυμο (πλασμίνη), διασπά την ινική σε διαλυτά προϊόντα. Η ενεργοποίηση του πλασμινογόνου γίνεται από διάφορες ουσίες, τους ενεργοποιητές του πλασμινογόνου προκειμένου να σχηματισθεί η πλασμίνη. Ενεργοποιητές του πλασμινογόνου είναι: (α) Ο ιστικός ενεργοποιητής (tPA), που παράγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, (β) Ο ενεργοποιητής τύπου ουροκινάσης (uPA), που παράγεται στα νεφρικά κύτταρα, (γ) Πλασματικοί ενεργοποιητές, όπως οι παράγοντες XI, XII, το υψηλού μοριακού βάρους κινογόνο (HMWK) και η καλλικρεΐνη. Η δραστηριότητα των ιστικών παραγόντων ενεργοποίησης του πλασμινογόνου επαυξάνεται από τη σύνδεσή τους με το ινώδες και έτσι η παραγωγή της πλασμίνης εντοπίζεται στο θρόμβο. Η πλασμίνη δρα προκαλώντας: (α) Αδρανοποίηση των παραγόντων V, VIII, XIII, (β) διάσπαση ινωδογόνου (ινωδογονόλυση) παράγοντας μονομερή D και E και (γ) διάσπαση ινώδους (ινωδόλυση), παράγοντας μονομερή E και D διμερή. Το μόριο του ινωδογόνου εμφανίζει τρεις «οζώδεις» περιοχές, μία στο μέσον του μορίου που φέρεται ως περιοχή E και δύο στα άκρα του μορίου εκατέρωθεν της περιοχής E που φέρονται ως περιοχές D. Η δράση της πλασμίνης επί του ινωδογόνου (ινωδογονόλυση) προκαλεί αρχικά διάσπαση του τριμερούς D-E-D και σχηματισμό του διμερούς E-D και του μονομερούς D. Στη συνέχεια, γίνεται διάσπαση του διμερούς D-E με αποτέλεσμα τα τελικά προϊόντα της διάσπασης του ινωδογόνου από την πλασμίνη να είναι τα μονομερή D και E. Τα προϊόντα αποδόμησης του ινωδογόνου (FDP) ανιχνεύονται με εργαστηριακές δοκιμασίες. Από τη διάσπαση του ινώδους με τη δράση της πλασμίνης (ινωδόλυση) προκύπτουν διάφορα κλάσματα, από τα οποία με τη συνεχιζόμενη δράση της πλασμίνης σχηματίζονται τα τελικά προϊόντα αποδόμησης του ινώδους που είναι τα E μονομερή και τα D διμερή (D-d), τα οποία ανιχνεύονται με εργαστηριακές δοκιμασίες. Κατά τη διαδικασία λύσεως του ινώδους ανιχνεύονται και FDP.[31-33]

Ανασταλτές του ινωδολυτικού μηχανισμού

Οι ανασταλτές του ινωδολυτικού μηχανισμού ταξινομούνται σε δύο ομάδες: τους αναστολείς της ενεργοποίησης του πλασμινογόνου και τους αδρανοποιητές της ενεργοποιημένης μορφής του

ενζύμου της πλασμίνης. Στους ανασταλτές της ενεργοποίησης του πλασμινογόνου υπάγονται: (α) Ο ανασταλτής-1 του πλασμινογόνου (PAI-1), ο οποίος παράγεται στο ενδοθήλιο των αγγείων και στο ήπαρ και αδρανοποιεί τον tPA και (β) Ο ανασταλτής-2 του πλασμινογόνου (PAI-2), που παράγεται στον πλακούντα, αδρανοποιεί κυρίως την ουροκινάση και δευτερευόντως τον tPA. Κύριος ανασταλτής της πλασμίνης θεωρείται η α2 αντιπλασμίνη. Ως φαρμακευτικός αναστολέας της ινωδολύσης χρησιμοποιείται το ε- αμινοκαπροϊκό οξύ και το τρανεξαμικό οξύ. (Εικ.7) [31-33]



Εικόνα 7. Ρύθμιση του ινωδολυτικού μηχανισμού.

ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΝΩΔΟΛΥΣΗΣ

- Μεγάλη ελάττωση του ινωδογόνου.
- Ο PT, ο aPTT και ο χρόνος θρομβίνης είναι παρατεταμένοι.
- Παθολογική λύση πύγματος. Αίμα λαμβανόμενο χωρίς αντιπηκτικό σε σωληνάριο δεν πήζει ή δημιουργείται ένα ψευδοπήγμα που λύεται σε λίγα λεπτά ή σε λίγες ώρες. Στο φυσιολογικό αίμα ο θρόμβος λύεται μετά από 36-72 ώρες. Η αδυναμία πήξης εν προκειμένω οφείλεται στην έλλειψη ινωδογόνου και η ταχεία λύση του ψευδοθρόμβου στην παρουσία ελεύθερης πλασμίνης.
- Ελάττωση του πλασμινογόνου, της α2 αντιπλασμίνης και αυξημένη παρουσία συμπλεγμάτων πλασμίνης-αντιπλασμίνης.

- Αύξηση του tPA.
- Μειωμένος χρόνος λύσης θρόμβου ευσφαιρινών.
- Ανίχνευση προϊόντων αποδομής ινωδογόνου (FDP) και D διμερών (D-D) από τη διάσπαση του ινώδους.

1.4.α Έλεγχος του μηχανισμού της ινωδόλυσης

Προσδιορισμός D-διμερών (D-dimers)

Τα D-διμερή είναι τα τελικά προϊόντα της διάσπασης του ινώδους από την πλασμίνη (βλ. σχήμα ινωδογόνου). Παθολογική αύξησή τους παρατηρείται σε περιπτώσεις αυξημένης ινωδολυτικής δραστηριότητας, η οποία προκαλείται από αυξημένη ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης. Αυξημένα επίπεδα D-διμερών παρατηρούνται σε περιπτώσεις πνευμονικής εμβολής, εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης και διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (ΔΕΠ). Όμως μπορούμε να συναντήσουμε υψηλά επίπεδα D-διμερών και σε μετεγχειρητικούς ασθενείς και καρκινοπαθείς, χωρίς το αποτέλεσμα αυτό να έχει κάποια διαγνωστική αξία. Χρήσιμη είναι η μέτρηση των D-διμερών κατά την παρακολούθηση της αντιπηκτικής αγωγής με ηπαρίνη ή κουμαρινικά, αφού τα επίπεδα των D-διμερών μπορούν να καθορίσουν τη διάρκεια ή την ένταση της αντιπηκτικής αγωγής και πιθανόν να προβλέψουν υποτροπή της θρόμβωσης. [31,32]

Προσδιορισμός του Πλασμινογόνου

Το πλασμινογόνο είναι ένα ένζυμο που κυκλοφορεί στο πλάσμα σε ανενεργό μορφή και μετατρέπεται σε πλασμίνη (ενεργός μορφή) με την παρέμβαση του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA). Στον προσδιορισμό του περιλαμβάνεται ο έλεγχος της δραστηριότητας και της συγκέντρωσης στο πλάσμα. Χαμηλά επίπεδα δραστηριότητας του πλασμινογόνου μπορεί να οφείλονται σε ποσοτική έλλειψη ή ποιοτική διαταραχή του μορίου και αποτελούν παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση θρόμβωσης. [31,32]

2. Εργαστηριακή διερεύνηση της αιμόστασης

Η εργαστηριακή διερεύνηση της αιμόστασης περιλαμβάνει τον ποσοτικό ή/και λειτουργικό έλεγχο όλων των συστημάτων που συμμετέχουν στο μηχανισμό αυτό, όπως: (α) Το αγγειακό σύστημα, (β) τα αιμοπετάλια, (γ) τους παράγοντες της πήξης (ενδογενούς και εξωγενούς), (δ) το ινωδολυτικό σύστημα, (ε) τους φυσικούς ανασταλτές της πήξης. Η διάγνωση μιας ενδεχόμενης διαταραχής του αιμοστατικού μηχανισμού πρέπει να γίνεται με προσεκτική κλινική εξέταση του ασθενούς, λήψη λεπτομερούς ατομικού και οικογενειακού ιστορικού και μια σειρά εργαστηριακών δοκιμασιών που μπορούν να μας καθοδηγήσουν στη διερεύνησή της.

2.1 Έλεγχος του αγγειακού συστήματος και των αιμοπεταλίων

Η αρίθμηση των αιμοπεταλίων

Ο αριθμός των αιμοπεταλίων σήμερα, δίνεται από τους αυτόματους αιματολογικούς αναλυτές. Όμως, επειδή τα αποτελέσματα αυτά μπορεί να αλλοιωθούν από την παρουσία άλλων κυτταρικών στοιχείων στο αίμα του ασθενούς ή τη δημιουργία σωρών αιμοπεταλίων, είναι απαραίτητη η εκτίμηση του αριθμού μικροσκοπικά σε επίχρισμα περιφερικού αίματος. Το επίχρισμα μπορεί να μας προσφέρει πρόσθετες πληροφορίες για την αιτία της θρομβοπενίας, όπως κατακερματισμένα ερυθρά στη TTP ή βλάστες σε λευχαιμία.

Ο έλεγχος λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων (aggregation)

Ο φυσιολογικός αριθμός αιμοπεταλίων δεν εξασφαλίζει ότι λειτουργούν σωστά. Ενδεχόμενες ελλείψεις γλυκοπρωτεϊνών στην επιφάνειά τους ή στο πλάσμα προκαλούν λειτουργικές διαταραχές στη διαδικασία της προσκόλλησης (adhesion)[έλλειψη της GpIb (Bernard Soulier), έλλειψη του παράγοντα von Willebrand] και της συσσώρευσής τους (aggregation) [έλλειψη της γλυκοπρωτεΐνης GpIIb/IIIa (Θρομβασθένεια Glanzmann)], νόσος των δεξαμενών (storage pool disease). Ο λειτουργικός έλεγχος των αιμοπεταλίων γίνεται σε ειδικούς αναλυτές που παρακολουθούν φωτομετρικά τη δημιουργία συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων, μετά από την προσθήκη παραγόντων που προκαλούν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τέτοιοι παράγοντες είναι το ADP, το κολλαγόνο, η επινεφρίνη, το αραχιδονικό οξύ, η θρομβίνη και τα ιόντα ασβεστίου. Για τον έλεγχο της λειτουργικότητας των μορίων που συμμετέχουν στη διαδικασία της προσκόλλησης, χρησιμοποιείται η ριστοσετίνη, μια ουσία που συνδέει τα αιμοπετάλια μεταξύ τους μέσω του παράγοντα vWF. Πρόκειται για ένα σπουδαίο εργαστηριακό εργαλείο για τη διάγνωση της νόσου von Willebrand. Σε περίπτωση απουσίας ή δυσλειτουργίας του παράγοντα vWF ή των υποδοχέων του δεν προκαλείται συσσώρευση. [32-37]

Ο χρόνος ροής (Μέθοδος του Ivy)

Πραγματοποιείται ως εξής: Εφαρμόζεται μανόμετρο στο βραχίονα του ασθενούς και ασκείται πίεση 40mmHg, στη συνέχεια γίνονται 3 τομές με ειδικό σκαρφιστήρα βάθους περίπου 1mm (διατομή μικρών τριχοειδών και όχι μεγάλων αγγείων) στο εσωτερικό μέρος του βραχίονα και το αίμα αναρροφάται με διηθητικό χαρτί κατά διαστήματα, μέχρι να σταματήσει η αιμορραγία. Ο χρόνος ροής ισούται με το μέσο όρο των 3 χρόνων (ένας για κάθε τομή) που απαιτείται για να σταματήσει η αιμορραγία. Η αιμορραγία φυσιολογικά σταματάει μετά από 3-8 λεπτά. Παράταση του χρόνου ροής μπορεί να οφείλεται σε: (α) Ανωμαλίες του αγγείου (Henoch-Schönlein, Ehlers-Danlos), (β) ποσοτική ή λειτουργική διαταραχή των αιμοπεταλίων ή λήψη αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων, (γ) νόσο von Willebrand. [32-37]

Ο έλεγχος της ενδογενούς και εξωγενούς οδού της πήξης

- Ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT)

Πρόκειται για ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού της πήξης με προσθήκη στο πλάσμα του ασθενούς καολίνης (ενεργοποιητή των παραγόντων XI και XII), ασβεστίου και φωσφολιπιδίων και μέτρηση του χρόνου που απαιτείται για να δημιουργηθεί πήγμα. Η απάντηση δίνεται σε δευτερόλεπτα. Με τη δοκιμασία αυτή ελέγχονται οι παράγοντες VIII, IX, XI, XII και οι παράγοντες της κοινής οδού II, V, X με την προϋπόθεση ότι η συγκέντρωση του ινωδογόνου είναι φυσιολογική. Παράταση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης μπορεί να οφείλεται: (α) Σε έλλειψη των παραγόντων της ενδογενούς οδού: -Έλλειψη παράγοντα VIII (Αιμορροφιλία A ή νόσος von Willebrand) -Έλλειψη παράγοντα IX (Αιμορροφιλία B)-Έλλειψη παράγοντα XI (Αιμορροφιλία C) (β) Σε μεγάλη έλλειψη παραγόντων της κοινής οδού (II, V, X,) (π.χ. Δ.Ε.Π.) (γ) Σε ύπαρξη αυτοαντισωμάτων έναντι του παράγοντα VIII (δ) Σε λήψη κλασικής ηπαρίνης (ε) Σε ύπαρξη αυτοαντισωμάτων αντιπηκτικών του λύκου (στ) Σε έλλειψη καλλικρεΐνης. [32-37,43]

- Ο χρόνος προθρομβίνης (PT)

Η δοκιμασία αυτή ελέγχει την εξωγενή οδό της πήξης και την κοινή οδό και συγκεκριμένα τους παράγοντες VII, X, V και II. Πρόκειται για τον χρόνο που απαιτείται, για να δημιουργηθεί πήγμα από το πλάσμα μετά από προσθήκη σε αυτό ιστικής θρομβοπλαστίνης και ιόντων ασβεστίου. Και στη δοκιμασία αυτή η συγκέντρωση του ινωδογόνου πρέπει να είναι μέσα στα φυσιολογικά επίπεδα, για να αξιολογηθεί το αποτέλεσμα. Λόγω των μεγάλων διαφορών στη δραστηριότητα που παρουσιάζουν οι θρομβοπλαστίνες που κυκλοφορούν στο εμπόριο, καθιερώθηκε η χρήση του INR (International Normalised Ratio) το οποίο καθορίζεται από το δείκτη ευαισθησίας του χρησιμοποιούμενου αντιδραστηρίου ISI (International Sensitivity Index), ώστε τα αποτελέσματα των διαφόρων εργαστηρίων να είναι συγκρίσιμα. $INR = (PT \text{ ασθενούς} / PT \text{ μάρτυρα})^{ISI}$.

Ενδεχόμενη παράταση του χρόνου προθρομβίνης μπορεί να οφείλεται σε: (α) Λήψη κουμαρινικών σκευασμάτων. Η ρύθμιση της δόσης των αντιπηκτικών per os γίνεται πάντα με μέτρηση του INR, (β) Έλλειψη παράγοντα της κοινής οδού (II, V, X) (Θα υπάρχει και παράταση του aPTT), (γ) Έλλειψη Βιταμίνης K (κακή απορρόφηση), (δ) Ύπαρξη αυτοαντισωμάτων αντιπηκτικών του λύκου, (ε) Ηπατική ανεπάρκεια, αποφρακτικό ίκτερο, παρεντερική σίτιση, (στ) Έλλειψη του παράγοντα VII ή ύπαρξη αναστολέα του. [32-37,43]

- Η μέτρηση του Ινωδογόνου κατά Clauss

Είναι η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό της βιοχημικής δραστηριότητας του ινωδογόνου. Πραγματοποιείται μετά από αραίωση του πλάσματος του ασθενούς και στη συνέχεια προσθήκη πυκνού διαλύματος θρομβίνης. Αν και το ινωδογόνο είναι μια πρωτεΐνη οξείας

φάσεως και τα επίπεδά του μπορεί να κυμαίνονται κατά την εξέλιξη μιας λοίμωξης, υψηλά επίπεδα ινωδογόνου χωρίς αιτιολογία θεωρούνται σήμερα παράγων κινδύνου για θρομβωτικά επεισόδια. [34]

- **Ο χρόνος θρομβίνης (TT)**

Ελέγχει και αυτή την τελική φάση της πήξης, δηλαδή τη μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες μετά από προσθήκη θρομβίνης στο πλάσμα του ασθενούς. Είναι δοκιμασία ευαίσθητη, αλλά όχι ειδική στη χορήγηση ηπαρίνης. [34]

2.2 Λειτουργικός έλεγχος της αιμόστασης και ποσοτικός προσδιορισμός των παραγόντων και ανασταλτών της πήξης

Οι παράγοντες της πήξης είναι ένζυμα, τα οποία λειτουργούν επάνω σε ένα συγκεκριμένο υπόστρωμα αποκόπτοντας σε ένα συγκεκριμένο σημείο την πεπτιδική αλυσίδα του μορίου υποστρώματος. Οι χρωμογονικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της δραστηριότητας των παραγόντων πήξεως, βασίζονται σε αυτή την πρωτεολυτική ιδιότητά τους. Το μόριο που παίζει το ρόλο του υποστρώματος συνδέεται ομοιοπολικά με χρωμογόνο ουσία (π.χ. παρανιτροανιλίνη pNA) η οποία, όταν απελευθερώνεται από την πρωτεολυτική δράση του προς μέτρηση παράγοντα, αλλάζει χρώμα. Η αλλαγή του χρώματος μετριέται φωτομετρικά και αντιστοιχεί στη δραστηριότητα του παράγοντα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των μορίων γίνεται με χρήση ανοσοενζυμικών τεχνικών (ELISA, νεφελομετρία με χρήση αντισώματος). Όταν ο ποσοτικός προσδιορισμός ενός παράγοντα ή αναστολέα είναι φυσιολογικός αλλά η δραστηριότητα είναι χαμηλή, τότε έχουμε λειτουργική διαταραχή στο μόριο του. [38]

- **Μοριακός έλεγχος των γονιδίων που συνδέονται με διαταραχές της αιμόστασης**

Ο μοριακός έλεγχος βασίζεται στη τεχνική της PCR (Polymerase Chain Reaction) με τροποποιήσεις που επιτρέπουν σήμερα τον ταυτόχρονο έλεγχο πολλών μεταλλάξεων ή πολυμορφισμών. Οι συχνότερες μεταλλάξεις που σήμερα ελέγχονται σε άτομα με υποψία κληρονομικής θρομβοφιλίας είναι οι μεταλλάξεις στα μόρια του παράγοντα V (V Leiden) και της προθρομβίνης. Ο μοριακός έλεγχος μπορεί να επεκταθεί και στο μόριο του ινωδογόνου, στα μόρια του ινωδολυτικού συστήματος, σε πρωτεΐνες που παίζουν ρόλο υποδοχέα στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων και του ενδοθηλίου. [38]

- **Η θρομβοελαστογραφία**

Η θρομβοελαστογραφία είναι μια σφαιρική εξέταση (global assay), η οποία περιγράφει σε πραγματικό χρόνο τη δημιουργία θρόμβου. Ολικό αίμα του ασθενούς εισάγεται σε μια ειδική κυψελίδα μέσα στην οποία περιστρέφεται ένα έμβολο. Η ενεργοποίηση της πήξης και η δημιουργία θρόμβου παρεμποδίζουν την περιστροφή του εμβόλου. Η κίνηση αυτή περιγράφεται γραφικά και

ποσοτικοποιείται με συγκεκριμένες παραμέτρους που αφορούν στην κινητική, στο μέγεθος του θρόμβου που σχηματίζεται και στο βαθμό λύσης του. Η μέθοδος αυτή είναι πολύ χρήσιμη ως εξέταση παρά την κλίνη του ασθενούς, καθώς σε περιπτώσεις εκτεταμένων χειρουργικών επεμβάσεων ή/και μαζικής αιμορραγίας, δύναται να κατευθύνει τη μετάγγιση του ενδεδειγμένου παραγώγου (μετάγγιση πλάσματος ή αιμοπεταλίων, αντινωδολυτική αγωγή). [39]

- **PFA 100 (platelet function analyser)**

Η μέθοδος αφορά στον έλεγχο της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και τείνει να αντικαταστήσει το χρόνο ροής. Στην ουσία μετράει το χρόνο που απαιτείται, για να επιτευχθεί η φραγή ενός τριχοειδούς (closure time) από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια του εξεταζόμενου δείγματος, από το σχηματισμό δηλαδή, ενός λευκού θρόμβου in vitro. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων επιτυγχάνεται με την επαφή των αιμοπεταλίων σε μία μεμβράνη εμποτισμένη με αιμοπεταλαιογόνους αγωνιστές-διεγέρτες, όπως το κολλαγόνο/ επινεφρίνη ή κολλαγόνο/ADP. Είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη και χρήσιμη μέθοδος ιδιαίτερα για τον προεγχειρητικό έλεγχο ασθενών, για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων, αλλά και για τη διερεύνηση της νόσου von Willebrand.[37]

- **Ο χρόνος ρεπτιλάσης**

Η δοκιμασία πραγματοποιείται με την προσθήκη της ρεπτιλάσης, ενός δηλητηρίου φιδιού που δρα σαν τη θρομβίνη, αλλά δεν επηρεάζεται από τη χορήγηση ηπαρίνης. Χρησιμοποιείται για τον έλεγχο δυσινωδογοναιμίας (δομική ανωμαλία του μορίου) ή υποϊνωδογοναιμίας (χαμηλότερα επίπεδα). Εκτός από τις προαναφερθείσες μεθόδους προσδιορισμού η σπουδαιότητα του μορίου του ινωδογόνου στην αιμόσταση αλλά και η πολυπλοκότητά του, απαιτούν και τη χρήση άλλων μεθόδων για τον προσδιορισμό ποσοτικών ή λειτουργικών ανωμαλιών. Ο ποσοτικός προσδιορισμός του μορίου, γίνεται με ανοσοενζυμικές μεθόδους (ELISA, νεφελομετρία), ενώ λειτουργικές διαταραχές του μορίου μπορούν να ανιχνευθούν με ηλεκτροφόρηση σε δυο διαστάσεις, κρυσταλλογραφία και με μοριακή ανάλυση του γονιδίου και για τις τρεις πεπτιδικές αλυσίδες του μορίου. [40,41]

- **Προσδιορισμός του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA)**

Αυξημένα επίπεδα του tPA (κληρονομική υπερिनωδόλυση), μπορούν να οδηγήσουν σε αιμορραγική διάθεση, αντίθετα μειωμένα επίπεδα αποτελούν παράγοντα κινδύνου για θρόμβωση. Παροδικά αυξημένα επίπεδα tPA ανευρίσκονται σε καταστάσεις εμφράγματος του μυοκαρδίου, αγγειακής βλάβης, στάσης αίματος και ενδοθηλιακής υπερδραστηριότητας γενικά. Ο ιστικός ενεργοποιητής tPA είναι εκείνος που ελέγχεται συχνότερα σε περιπτώσεις διαταραχών της αιμόστασης. Όμως τελευταία συχνά ελέγχεται και ο ενεργοποιητής τύπου ουροκινάσης (uPA). [44]

- **Αναστολέας του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1)**

Αυξημένα επίπεδα συναντώνται σε περιπτώσεις θρομβώσεων και εμφράγματος του μυοκαρδίου, αλλά και σε περιπτώσεις κακοήθειας, σηπτικού shock και σε μετεγχειρητικές περιόδους. [42]

- **α2-αντιπλασμίνη**

Συγγενής έλλειψη της α2-αντιπλασμίνης συνδέεται με αιμορραγική διάθεση. Ελαττωμένα επίπεδα ανιχνεύονται στη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ) και σε περιπτώσεις ηπατικής ανεπάρκειας. Ο προσδιορισμός της είναι χρήσιμος και για την παρακολούθηση της ινωδολυτικής αγωγής. [45]

3. Αιμόσταση στα νεογνά

Στο κλασικό μοντέλο καταρράκτη πήξης, οι παράγοντες της αιμόστασης αλληλεπιδρούν και υφίστανται μια σειρά από ενζυματικές αντιδράσεις μέσω των οδών ενεργοποίησης επαφής (εσωτερικός) και ιστικού παράγοντα (εξωγενής), που συγκλίνουν σε μια τελική κοινή οδό που καταλήγει στο σχηματισμό θρομβίνης. Οι παράγοντες πήξης δεν διασχίζουν τον πλακούντα λόγω του μεγέθους τους και παράγονται στο έμβρυο από την 11η εβδομάδα κύησης.[46,47] Τα επίπεδα των περισσότερων παραγόντων πήξης αυξάνονται κατά τη διάρκεια της κύησης και μετά τον τοκετό και επομένως είναι χαμηλότερα στα πρόωρα σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά και στα τελειόμηνα σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα παιδιά και τους ενήλικες.[48,49] Στα τελειόμηνα νεογνά, τα επίπεδα των περισσότερων παραγόντων πήξης (ιδιαίτερα των εξαρτώμενων από τη βιταμίνη Κ) είναι ~ 50% των επιπέδων των ενηλίκων και αυξάνονται σε τιμές σχεδόν ενήλικα μέχρι την ηλικία των 6 μηνών. Η δραστηριότητα των παραγόντων που εξαρτώνται από τη βιταμίνη Κ μειώνεται περαιτέρω στα πρόωρα νεογνά, στο μείον 30% σε νεογνά κύησης 24-29 εβδομάδων. Σε αντίθεση με τους εξαρτώμενους από τη βιταμίνη Κ παράγοντες, τα νεογνά έχουν φυσιολογικά επίπεδα παράγοντα VIII, παράγοντα XIII και ινωδογόνου και αυξημένα επίπεδα vWF.[50]

Το PT και το aPTT, οι δύο πιο συχνά χρησιμοποιούμενες δοκιμασίες για την αξιολόγηση της κατάστασης πήξης, εκτιμούν την ενδογενή και την εξωγενή οδό της πήξης αντίστοιχα. Και οι δύο δοκιμές αναπτύχθηκαν ειδικά για τη διερεύνηση των ελλείψεων παραγόντων πήξης και επομένως είναι μεγαλύτερες σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά σε σύγκριση με τους ενήλικες, αντανακλώντας τα χαμηλότερα επίπεδα δραστηριότητας των περισσότερων παραγόντων πήξης σε αυτούς τους πληθυσμούς. Ο Andrew et al., δημοσίευσε τις πρώτες σειρές αναφοράς PT, aPTT και ινωδογόνου για υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά το 1987 [51], ακολουθούμενη από μια μελέτη σε πρόωρα νεογνά 30-36 εβδομάδων το 1988 [52]. Αυτές οι μελέτες περιλάμβαναν εύρη αναφοράς για νεογνά τις ημέρες ζωής 1, 5, 30, 90 και 180, οι οποίες έδειξαν ταχείες αλλαγές τις πρώτες λίγες ημέρες μετά τη γέννηση και κατά τη διάρκεια της βρεφικής ηλικίας. Σε μια μεταγενέστερη μελέτη, η ίδια ομάδα μέτρησε τη συγκέντρωση 33 συστατικών του αιμοστατικού συστήματος σε παιδιά

ηλικίας 1 έως 16 ετών και έδειξε σημαντικές φυσιολογικές διαφορές μεταξύ του αιμοστατικού συστήματος των παιδιών και του αιμοστατικού συστήματος των ενηλίκων [53]. Συνολικά, αυτές οι παρατηρήσεις οδήγησαν στην έννοια της «αναπτυξιακής αιμόστασης» για να περιγράψει μια σειρά φυσιολογικών αλλαγών του συστήματος πήξης που σχετίζονται με την ηλικία από την εμβρυϊκή έως τη νεογνική, την παιδιατρική και τελικά την ενήλικη ζωή. Η κατανόηση της αιμόστασης στα νεογνά εξακολουθεί να είναι ελλιπής σε σχέση με τους ενήλικες. Η βασική αρχή της developmental hemostasis είναι ότι η μεταβολή, με την πάροδο της ηλικίας, των λειτουργικών επιπέδων των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην πήξη είναι προβλέψιμη. [46]

Παρά το γεγονός ότι οι λόγοι για την απόκλιση μεταξύ παρατεταμένων χρόνων πήξης και επαρκούς/γρηγορότερης παραγωγής θρομβίνης στα πρόωρα σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά (καθώς και στα νεογνά σε σύγκριση με τους ενήλικες) δεν είναι πλήρως κατανοητοί, πιθανότατα αφορούν στις συνυπάρχουσες αναπτυξιακές διαφορές στις αντιπηκτικές οδούς οι οποίες δεν αντανακλώνται επαρκώς στις αναλύσεις PT και PTT. Πράγματι, όπως οι περισσότεροι παράγοντες πήξης μειώνονται στα νεογνά, τα περισσότερα φυσικά αντιπηκτικά μειώνονται επίσης κατά τη γέννηση [54,55], γεγονός που οδηγεί σε ένα ισορροπημένο νεογνικό αιμοστατικό σύστημα. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της αντιθρομβίνης (AT), του συμπαράγοντα ηπαρίνης II και των πρωτεϊνών C και S, βρίσκονται σημαντικά μειωμένα στα νεογνά (τόσο τα τελειόμηνα όσο και τα πρόωρα), ~50% των επιπέδων των ενηλίκων κατά τη γέννηση [48,49]. Τα επίπεδα αυτών των αντιπηκτικών αυξάνονται αργά μετά τη γέννηση και η AT και ο συμπαράγοντας ηπαρίνης II φτάνουν τα επίπεδα των ενηλίκων έως την ηλικία των 3 μηνών [48,49,55-57]. Ίσως για να αντισταθμιστούν αυτά τα χαμηλά επίπεδα, ένα άλλο αντιπηκτικό, η α2-μακροσφαιρίνη, υπάρχει σε υψηλότερα επίπεδα στα νεογνά από ότι στους ενήλικες και αυξάνεται περαιτέρω κατά τους πρώτους 6 μήνες της ηλικίας [48,49,54-57]. Συνολικά, τα στοιχεία υποδηλώνουν ότι οι παρατεταμένοι χρόνοι PT και PTT που βρέθηκαν σε κατά τα άλλα υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά δεν θα πρέπει να ερμηνεύονται ως αναπτυξιακή ανεπάρκεια ή αιμορραγική τάση, αλλά μάλλον ως περιορισμός αυτών των δοκιμών να αντικατοπτρίζουν την πολυπλοκότητα ενός μοναδικά αναπτυξιακού αλλά παράλληλα πολύ καλά ισορροπημένου νεογνικού αιμοστατικού συστήματος. [58-61]

Πιο συγκεκριμένα το υγιές τελειόμηνο νεογνό έρχεται στον κόσμο με σύνθετες διαταραχές της αιμόστασης, που συνίστανται σε ανεπάρκεια παραγόντων της πήξης, ανεπάρκεια φυσικών ανασταλτών και σε διαταραχές στοιχείων της ινωδόλυσης. Όλοι οι πλασματικοί παράγοντες της πήξης (FII, FVII, FIX, FX, FXI, FXII και FXIII), με εξαίρεση τον παράγοντα VIII (FVIII), συντίθενται στο ήπαρ. Η σύνθεση των FII, FVII, FIX και FX εξαρτάται, όχι μόνον από την ωριμότητα του ήπατος, αλλά και από την επάρκεια της βιταμίνης K. Τα αιμοπετάλια παράγονται

από την 11η εβδομάδα της εμβρυϊκής ζωής και είναι φυσιολογικά σε αριθμό, ανεξάρτητα από την ωριμότητα του νεογνού, ενώ είναι ελαφρώς μειωμένα στα πρόωρα νεογνά. Τα αιμοπετάλια των νεογνών διαθέτουν τις ίδιες γλυκοπρωτεΐνες στην επιφάνειά τους όπως και των ενηλίκων, αλλά φαίνεται ότι η έκφρασή τους και η απόκρισή τους στους αγωνιστές είναι ελαττωμένη. Παρά τη μειωμένη ωστόσο, in vivo, λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, οι λειτουργικές δοκιμάσεις in vitro φαίνεται ότι είναι φυσιολογικές. Αυτή η ανακολουθία αποδίδεται πιθανόν στην αυξημένη συγκέντρωση του παράγοντα vW στα νεογνά, καθώς και στο γεγονός ότι η συγκεκριμένη πληθυσμιακή ομάδα διαθέτει σε μεγαλύτερο ποσοστό τα μεγάλου MB πολυμερή του παράγοντα Willebrand. Τέλος, ο αυξημένος αιματοκρίτης που παρατηρείται στα νεογέννητα συμβάλλει και αυτός με τη σειρά του στην ανωτέρω παρατήρηση. (Εικ.8) [58-61]

Coagulation factor levels	<ul style="list-style-type: none"> • Neonates have reduced levels of most coagulation factors, particularly vitamin K-dependent factors • FVIII, FXIII, and fibrinogen levels are normal • vWF levels are elevated • Coagulation factor levels change in neonatal life, infancy and childhood following specific patterns (developmental hemostasis).
Natural anticoagulant levels	<ul style="list-style-type: none"> • Neonates have low levels of AT, HCII, protein C and protein S • α2-macroglobulin is present at higher levels in neonates than in adults
Laboratory evaluation of hemostasis	<ul style="list-style-type: none"> • PT and PTT are longer in healthy neonates than in healthy adults (pre-term > term) and decrease in the first few days after birth • Actual values for tests of coagulation vary depending on the source of the sample (cord blood vs. neonatal blood), reagents and testing systems used. • However, thrombin generation is faster in neonates than in adults (pre-term > term) • Tests of whole blood hemostasis (TEG, ROTEM) show faster initiation and propagation of coagulation in neonates compared to adults
FFP transfusions	<ul style="list-style-type: none"> • FFP should be administered to neonates who present with bleeding associated with coagulation factor(s) deficiency, if the specific factor is not known or available. • Prophylactic FFP transfusions given empirically to pre-term neonates or in response to "prolonged" PT or PTT do not decrease the incidence or severity of IVH.

vWF, von Willebrand Factor; AT, antithrombin; HCII, Heparin cofactor II; IVH, Intraventricular hemorrhage.

Εικόνα 8. Νεογνική αιμόσταση

Οι πρωτεΐνες της πήξης δεν διέρχονται από τον πλακούντα, ενώ από την άλλη πλευρά συντίθενται από το ίδιο το έμβρυο και βρίσκονται σε μετρήσιμα επίπεδα ήδη από τη 10η εβδομάδα της κύησης. Καθώς η εγκυμοσύνη εξελίσσεται παρατηρείται παράλληλα και αύξηση των παραγόντων. Οι βιταμίνο-Κ εξαρτώμενοι παράγοντες έχουν μελετηθεί εκτενέστερα συγκριτικά με τους υπόλοιπους και έχει επανειλημμένα διαπιστωθεί ότι τα επίπεδά τους κατά τη γέννηση είναι χαμηλά και αυξάνονται τους πρώτους 6 μήνες της ζωής προσεγγίζοντας τις τιμές των ενηλίκων. [58]

Οι διαταραχές που παρατηρούνται στο σύστημα αιμόστασης των νεογνών, αντιρροπούνται από τη φυσική ανεπάρκεια των φυσικών ανασταλτών (natural inhibitors of haemostasis) και την ανεπάρκεια των στοιχείων της ινωδόλυσης. Τα επίπεδα των φυσικών ανασταλτών της αιμόστασης (ανασταλτής της οδού του ιστικού παράγοντα - Tissue Factor Pathway Inhibitor, TFPI), της αντιθρομβίνης (antithrombin, AT), της πρωτεΐνης C (protein C, PC), της πρωτεΐνης S (protein S, PS) - η ελεύθερη PS είναι φυσιολογική- και του συμπαράγοντα II της ηπαρίνης (heparin co-factor II) είναι ελαττωμένα, ενώ τα επίπεδα της α2MG (α2-μακρογλοβουλίνη) είναι φυσιολογικά ή και αυξημένα ώστε να αντιρροπείται η φυσική ανεπάρκεια της AT, PC, και PS. Κατά τη γέννηση η

συγκέντρωση της PC είναι αρκετά ελαττωμένη και διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα κατά τους πρώτους 6 μήνες της ζωής. Η πρωτεΐνη S από την άλλη πλευρά, ενώ διαπιστώνεται επίσης σε χαμηλά επίπεδα κατά τη γέννηση, εμφανίζει παρόμοια λειτουργικότητα με αυτή του ενήλικα και αυτό συμβαίνει διότι συνολικά βρίσκεται στην ελεύθερη δραστική της μορφή. Επιπλέον αυτό οφείλεται και στην απουσία της C4-binding protein, με την οποία κυκλοφορεί συνδεδεμένο το μεγαλύτερο μέρος της πρωτεΐνης S στους ενήλικες. Αντιθέτως, η α2-μακροσφαιρίνη παρατηρείται σε διπλάσια επίπεδα στα νεογνά και φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης S με την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C. Παράλληλα, η θρομβομοντουλίνη είναι αυξημένη στα νεογνά και μειώνεται σταδιακά ώστε να φτάσει τα επίπεδα των ενηλίκων στην εφηβική περίοδο. Τέλος τα επίπεδα της αντιθρομβίνης κατά τους τρεις πρώτους μήνες της ζωής είναι χαμηλά ενδεχομένως όμως η ανεπάρκεια αυτή να αντισταθμίζεται από την αυξημένη συγκέντρωση της α2-μακροσφαιρίνης. [56,59-61,63-65]

Όσον αφορά στα στοιχεία της ινωδολύσης, το πλασμινογόνο (plg) (σχεδόν κατά 50%) και ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator, tPA) είναι μειωμένα, ενώ ο ανασταλτής του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator inhibitor, PAI) και η α2-αντιπλασμίνη (α2- antiplasmin, α2-AP) είναι αυξημένα. Οι διαταραχές αυτές των στοιχείων που συμμετέχουν στο ινωδολυτικό σύστημα εκφράζονται με ανεπαρκή ινωδολυτική δραστικότητα, που σημαίνει ότι ο θρόμβος, που πιθανόν να έχει σχηματισθεί, δεν λύεται από τον ινωδολυτικό μηχανισμό. Οι ανωτέρω διαταραχές των συστημάτων της πήξης εξαρτώνται σαφώς όχι μόνο από την ωριμότητα του ήπατος αλλά και από την ηλικία κύησης και το βάρος του νεογνού, μαρτυρούν την ελαττωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα των νεογέννητων και παρατηρούνται από τη πρώτη ημέρα της ζωής τους, ενώ αντίθετα οι μετρήσεις που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου δείχνουν ακριβώς το αντίθετο, υποδεικνύοντας τη γρήγορη μετατροπή της δραστηριότητας του ινωδολυτικού συστήματος αμέσως μετά τη γέννηση. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, η ωρίμανση που επισυμβαίνει κατά την ενδομήτριο ζωή είναι σημαντική και ενδεχομένως να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις διαφορές οι οποίες παρατηρούνται ανάμεσα σε πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά. Εν τούτοις, παρά τις σύνθετες διαταραχές της αιμόστασης, σε κλινικό επίπεδο, το υγιές τελειόμηνο ή πρόωρο νεογνό δεν αιμορραγεί ούτε θρομβώνει, διότι υπό φυσιολογικές συνθήκες μεταξύ των συστημάτων διατηρείται μία δυναμική ισορροπία, η οποία διαταράσσεται και εκτρέπεται προς την μία ή την άλλη κατεύθυνση, όταν υπάρχουν κληρονομικές ή επίκτητες διαταραχές της αιμόστασης συνυφασμένες με υποκείμενα νοσήματα ή καταστάσεις. Η αιμορραγία, λοιπόν στο νεογνό μπορεί να οφείλεται σε κληρονομικές ή επίκτητες διαταραχές της αιμόστασης που μπορεί να αφορούν τους πλασματικούς παράγοντες της πήξης, τα αιμοπετάλια ή και τα δύο μαζί. [54-56,58-61]

Στη νεογνική περίοδο, η ανεπάρκεια ενός ή περισσότερων πλασματικών παραγόντων της πήξης μπορεί να εκφραστεί με ένα ή περισσότερα από τα εξής συμπτώματα: πετέχειες /εκχυμώσεις, κεφαλαιμάτωμα, αιμορραγία από τον ομφαλό, αιματέμεση, μέλαινα κένωση, αιμορραγία μετά από παρεμβατικές επεμβάσεις, όπως φλεβοκεντήσεις, δειγματοληψία από τη φτέρνα, ενδομυϊκή ένεση βιταμίνης K ή χειρουργική επέμβαση. Η ενδοκράνιος εγκεφαλική αιμορραγία ή το υποσκληρίδιο αιμάτωμα μπορεί να αποτελούν την πρώτη έκφραση ανεπάρκειας πλασματικών παραγόντων (FVII, FVIII, FIX, and FXIII) και ποιοτικών διαταραχών των αιμοπεταλίων (immune thrombocytopenias). Αντίθετα, η ουλορραγία και η επίσταξη είναι ασυνήθεις κατά τη νεογνική περίοδο. Ποσοτικές ή ποιοτικές διαταραχές αιμοπεταλίων, καθώς και η νόσος vWD συνηθέστερα εκφράζονται με πετέχειες/εκχυμώσεις, αιμορραγία από τους βλεννογόνους, ενώ από την άλλη πλευρά η ανεπάρκεια των παραγόντων της πήξης συσχετίζεται περισσότερο με αίμαρθρα και αιματώματα. [62]

3.1 Πρωτογενής & Δευτερογενής αιμόσταση στα νεογνά

Το νεογνικό αιμοστατικό σύστημα είναι εντυπωσιακά διαφορετικό από αυτό των ενηλίκων. Μεταξύ άλλων διαφορών, τα νεογνά εμφανίζουν υπολειτουργικά αιμοπετάλια και μειωμένα επίπεδα παραγόντων πήξης, με τους τελευταίους να μεταφράζονται σε παρατεταμένους χρόνους πήξης (PT και PTT).[48,49] Δεδομένου ότι τα πρόωρα νεογνά εμφανίζουν σε υψηλή συχνότητα αιμορραγική προδιάθεση, (π.χ. ενδοκοιλιακή αιμορραγία), οι νεογνολόγοι καλούνται να χορηγήσουν συχνά προϊόντα αίματος. Ωστόσο, έχει γίνει ολοένα και πιο σαφές ότι τόσο η υπολειτουργικότητα των αιμοπεταλίων όσο και τα μειωμένα επίπεδα των παραγόντων πήξης εξουδετερώνονται αποτελεσματικά από άλλους παράγοντες στο νεογνικό αίμα οι οποίοι προάγουν την αιμόσταση (δηλαδή, υψηλά επίπεδα vWF, υψηλός αιματοκρίτης και MCV, μειωμένα επίπεδα φυσικών αντιπηκτικών), με αποτέλεσμα ένα καλά ισορροπημένο νεογνικό αιμοστατικό σύστημα, ίσως ελαφρώς κεκλιμένο προς έναν προθρομβωτικό φαινότυπο.

Το νεογνικό σύστημα αιμόστασης διαφέρει τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά από εκείνο ενός ενήλικα. Ο όρος «αναπτυξιακή αιμόσταση» έχει εφαρμοστεί στη χρονική περίοδο κατά την οποία το νεογνικό αιμοστατικό σύστημα υπάρχει σε μια εξελισσόμενη ισορροπία μεταξύ προ- και αντιπηκτικών παραγόντων. Τα εύρη αναφοράς έχουν προσδιοριστεί τόσο για τις προ- όσο και για τις αντιπηκτικές πρωτεΐνες για νεογνά σε διαφορετικές ηλικίες κύησης καθώς και για τα βρέφη. Περαιτέρω, φυσιολογικά εύρη για τις αξιολογήσεις του δευτερογενούς αιμοστατικού συστήματος, όπως ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης ή ο χρόνος προθρομβίνης έχουν επίσης προσδιοριστεί για νεογνά και βρέφη. Μετά την ηλικία των έξι μηνών, τα εύρη αναφοράς ενηλίκων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να προσδιοριστεί εάν μια συγκεκριμένη τιμή είναι φυσιολογική. [61]

Ο καθορισμός των φυσιολογικών τιμών της λειτουργίας των νεογνικών αιμοπεταλίων που εξαρτώνται από την ηλικία είναι γεμάτος προκλήσεις. Τα εύρη αναφοράς για τον αριθμό των αιμοπεταλίων σε νεογνά και ενήλικες είναι παρόμοια. Ωστόσο, οι αναπτυξιακές αλλαγές και ο αντίκτυπος αυτών των αλλαγών στις λειτουργικές πτυχές της πρωτοπαθούς αιμόστασης είναι λιγότερο σαφείς από ό,τι στο δευτερογενές αιμοστατικό σύστημα. Η αξιολόγηση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων, ανεξαρτήτως ηλικίας, είναι δύσκολη καθώς οι δοκιμασίες λειτουργίας των αιμοπεταλίων απαιτούν συχνά όχι μόνο μεγάλους όγκους αίματος αλλά και εξειδικευμένα εργαστήρια και τεχνογνωσία και προσομοιώνουν ελάχιστα την in vivo πρωτοπαθή αιμόσταση. Επί του παρόντος, τα νεογνικά αιμοπετάλια χαρακτηρίζονται ως υπολειτουργικά σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια των ενηλίκων, παρά τις ενδείξεις για πιο αποτελεσματική πρωτοπαθή αιμόσταση στα νεογνά. [50,51]

Οι προκλήσεις που σχετίζονται με τον καθορισμό της λειτουργίας των αιμοπεταλίων των νεογνών υπάρχουν σε διάφορα επίπεδα. Πρώτον, η απόκτηση επαρκούς όγκου αίματος για την πλήρη αξιολόγηση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων των νεογνών είναι πρόκληση, ειδικά στις πρώιμες ηλικίες κύησης. Δεύτερον, δεν είναι σαφές πώς, άλλες αιμοστατικές μεταβλητές επηρεάζουν τη λειτουργία των αιμοπεταλίων. Πιο συγκεκριμένα, δεν έχει καθοριστεί καλά πώς τα μεταβαλλόμενα επίπεδα των πρωτεϊνών προ- και αντιπηκτικών επηρεάζουν τη λειτουργία των αιμοπεταλίων. Τα νεογνά έχουν συχνά υψηλότερο αιματοκρίτη καθώς και υψηλότερους μέσους σωματικούς όγκους από τα μεγαλύτερα παιδιά και τους ενήλικες, γεγονός που πιθανώς ενισχύει την πρωτοπαθή αιμόσταση και μπορεί να αντισταθμίσει την αλλοιωμένη λειτουργία των νεογνικών αιμοπεταλίων. Οι τρέχουσες διαθέσιμες μέθοδοι εξέτασης είναι λιγότερες από τις ιδανικές και συνήθως δεν είναι εφικτές στον νεογνικό πληθυσμό. Η λειτουργία των αιμοπεταλίων των νεογνών έχει αξιολογηθεί σε κάθε στάδιο της πρωτοπαθούς αιμόστασης. Η πλειονότητα των μελετών χρησιμοποίησε αιμοπετάλια που προέρχονται από αίμα ομφαλίου λώρου και όχι από δείγματα περιφερικού αίματος για λειτουργική ανάλυση. Το άθροισμα αυτών των δεδομένων οδήγησε στον χαρακτηρισμό των νεογνικών αιμοπεταλίων ως υπο-αντιδραστικών. Η διαθεσιμότητα και η προσβασιμότητα του αίματος ομφαλίου λώρου το καθιστά ένα συχνά χρησιμοποιούμενο υποκατάστατο του περιφερικά λαμβανόμενου αίματος για την πλειονότητα των μελετών που στοχεύουν στην αποσαφήνιση του νεογνικού φαινοτύπου αιμοπεταλίων. Ωστόσο, δεν είναι σαφές εάν η λειτουργία των αιμοπεταλίων που προέρχονται από το αίμα του ομφαλίου λώρου αντιπροσωπεύει με ακρίβεια τη λειτουργία των αιμοπεταλίων των νεογνών. Όπως περιεγράφηκε παραπάνω, ένα βύσμα αιμοπεταλίων σχηματίζεται ως απάντηση σε αγγειακό τραυματισμό μετά από προσκόλληση, ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων. Το πλήρες αίμα νεογνών, που υποβάλλεται σε διάτμηση, έχει αποδειχθεί ότι παράγει σημαντικά υψηλότερη εναπόθεση αιμοπεταλίων και VWF σε σύγκριση με δείγματα ενηλίκων. Αυτό το εύρημα ισχύει και για τα αιμοπετάλια που προέρχονται από τον ομφάλιο λώρο καθώς και

από το περιφερικό αίμα. Επομένως, είναι ασαφές εάν η υπο-αντιδραστικότητα των νεογνικών αιμοπεταλίων μεταφράζεται σε μειωμένη αιμοστατική απόκριση. [54,55]

Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, έχει αξιολογηθεί και οδήγησε στον χαρακτηρισμό του νεογνικού αιμοπεταλίου ως υπο-λειτουργικό. Η αξιολόγηση κάθε πτυχής της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων επιτρέπει την κριτική αξιολόγηση αυτού του χαρακτηρισμού. Οι μηχανισμοί προσκόλλησης, ενεργοποίησης και έκκρισης των νεογνικών αιμοπεταλίων σε σύγκριση με των ενηλίκων [50,63] περιγράφονται παρακάτω:

1. Έκθεση σε φωσφατιδυλοσερίνη (PS): Η αννεξίνη V, η οποία δεσμεύει την PS με υψηλή συγγένεια, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον χαρακτηρισμό του προπηκτικού φαινότυπου των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Η ανάλυση της έκθεσης σε PS μέσω της μέτρησης της δέσμευσης της αννεξίνης V μέσω κυτταρομετρίας ροής έδειξε ότι ο προπηκτικός φαινότυπος είναι παρόμοιος τόσο για τα αιμοπετάλια που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου όσο και για τα αιμοπετάλια ενηλίκων μετά από διέγερση με θρομβίνη. Ο προπηκτικός φαινότυπος των νεογνικών αιμοπεταλίων που προέρχονται από περιφερικό αίμα δεν έχει ακόμη καθοριστεί. [50,59,61,63]

2. Περιεκτικότητα και απελευθέρωση κοκκίων: Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων χαρακτηρίζεται περαιτέρω από άλφα και δέλτα (πυκνή) απελευθέρωση κοκκίων. Η απελευθέρωση κοκκώδους περιεχομένου προάγει περαιτέρω την αυτοκρινή και παρακρινή διέγερση, ενισχύοντας την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και ενεργοποιώντας τα κοντινά αιμοπετάλια. Η έκφραση της P-σελεκτίνης ενισχύεται σημαντικά στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων μετά από ενεργοποίηση και έκκριση άλφα κοκκίων. Ως εκ τούτου, τα αντισώματα που κατευθύνονται στην P-σελεκτίνη (αντι-CD62P) χρησιμοποιούνται ως δείκτες της απελευθέρωσης άλφα κοκκίων και ως εκ τούτου, της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Η έκφραση της P-σελεκτίνης μετά από διέγερση με θρομβίνη σε αιμοπετάλια που προέρχονται από νεογνικό περιφερικό αίμα και αίμα ομφάλιου λώρου συγκρίθηκε με την έκφραση της P-σελεκτίνης αιμοπεταλίων ενηλίκων. Μετά τη διέγερση, η έκφραση της P-σελεκτίνης ήταν χαμηλότερη στα αιμοπετάλια νεογνών που ελήφθησαν τόσο από αίμα ομφάλιου λώρου όσο και από περιφερικό αίμα σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων. Αυτή η διαφορά παρέμεινε στατιστικά σημαντική μέχρι τη 12η ημέρα της ζωής και αυτή η διαφορά ήταν μεγαλύτερη μεταξύ νεογνών κάτω των 30 εβδομάδων κύησης και ενηλίκων. Δεν αναφέρθηκε διαφορά μεταξύ των αιμοπεταλίων νεογνών (που προέρχονται από ομφαλικό ή περιφερικό αίμα) και την απελευθέρωση κοκκίων δέλτα, από αιμοπετάλια ενηλίκων, όπως αξιολογήθηκε με τη μέτρηση της έκκρισης σεροτονίνης, ως απόκριση στη διέγερση με θρομβίνη ή τους αγωνιστές αιμοπεταλίων 1-ελαοιλλ-2-ακετυλ-γλυκερόλη και τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3). Ωστόσο, η έκκριση σεροτονίνης ήταν σημαντικά μειωμένη στα αιμοπετάλια νεογνών που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου ως απόκριση στο κολλαγόνο σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων.

Επιπλέον, τα νεογνικά αιμοπετάλια (από αίμα ομφάλιου λώρου) βρέθηκαν να περιέχουν τον ίδιο αριθμό πυκνών κοκκίων με τα ενήλικα αιμοπετάλια, αλλά αυτά τα ίδια αιμοπετάλια είχαν ελαττωματική απελευθέρωση πυκνών κοκκίων μετά από διέγερση θρομβίνης. Συνολικά, αυτές οι μελέτες υποδηλώνουν ότι η έκκριση κοκκίων μπορεί να είναι λειτουργικά διαφορετική μεταξύ αιμοπεταλίων νεογνών και ενηλίκων. [46,50,61,63-65]

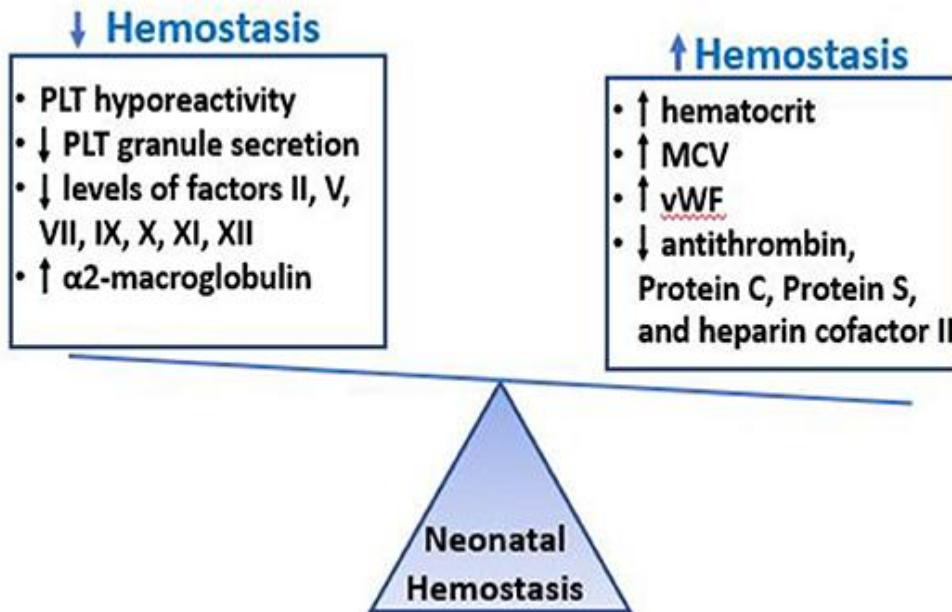
3. Μετατροπή της γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa στην ενεργό μορφή της: Η μετατροπή του υποδοχέα της επιφάνειας των αιμοπεταλίων GPIIb/IIIa στην ενεργό μορφή της αποτελεί ένα κρίσιμο βήμα στην ανάπτυξη ενός συσσωματώματος αιμοπεταλίων και επιτρέπει το σχηματισμό γεφυρών ινωδογόνου μεταξύ γειτονικών αιμοπεταλίων. Η ενεργός μορφή του GPIIb/IIIa μπορεί να αξιολογηθεί με κυτταρομετρία ροής μέσω αξιολόγησης της δέσμευσης του PAC-1, ενός αντισώματος που αναγνωρίζει μόνο τη δραστική μορφή του GPIIb/IIIa. Η βασική έκφραση GPIIb/IIIa έχει αναφερθεί ότι είναι ισοδύναμη για τα αιμοπετάλια (τόσο από ομφάλιο λώρο όσο και από περιφερικό αίμα) μεταξύ νεογνών και ενηλίκων. Ωστόσο, το ποσοστό θετικών PAC-1 αιμοπεταλίων μετά από διέγερση με θρομβίνη ήταν χαμηλότερο σε δείγματα νεογνών (από ομφάλιο λώρο και περιφερικό αίμα) σε σύγκριση με δείγματα ενηλίκων. Αυτές οι μελέτες υποδηλώνουν ότι οι οδοί σηματοδότησης που ρυθμίζουν την ενεργοποίηση GPIIb/IIIa μπορεί να ρυθμίζονται διαφορετικά στα αιμοπετάλια νεογνών συγκριτικά με εκείνα των ενηλίκων. [46,50,61,63-65]

4. Δημιουργία θρομβοξάνης: Η δημιουργία και η απελευθέρωση θρομβοξάνης A2 (TxA2) μέσω του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος επιτρέπει τη διέγερση των κοντινών αιμοπεταλίων, την ενίσχυση της προσκόλλησης των αιμοπεταλίων, την ενεργοποίηση και τελικά τη συσσώρευσή τους. Η θρομβοξάνη B2 (TxB2) είναι ένας μεταβολίτης του TxA2 και χρησιμοποιείται συχνά ως δείκτης της παραγωγής TxA2. Πρώιμες μελέτες έδειξαν ότι τα αιμοπετάλια νεογνών που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου απελευθερώνουν περισσότερο αραχιδονικό οξύ ως απόκριση στη θρομβίνη σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων, ωστόσο τα αιμοπετάλια του αίματος του ομφάλιου λώρου συνέθεσαν λιγότερο TxB2. Μεταγενέστερες μελέτες απέτυχαν να βρουν διαφορά στη δημιουργία αιμοπεταλιακής TxB2 νεογνών που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου σε απόκριση στη θρομβίνη και το κολλαγόνο σε σύγκριση με την αιμοπεταλιακή TxB2 ενηλίκων. Στο πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα, τα αιμοπετάλια νεογνών που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου παρήγαγαν μεγαλύτερη ποσότητα TxB2 σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων ως απόκριση στο αραχιδονικό οξύ. Αυτή η διαφορά αντιστράφηκε μετά την πλύση των αιμοπεταλίων, υποδηλώνοντας ότι οι παράγοντες που υπάρχουν στο πλάσμα μπορεί να ευθύνονται για αυτήν τη διαφορά. Τέλος, τα αιμοπετάλια νεογνών που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου παρήγαγαν λιγότερο TxB2 ως απόκριση στην επινεφρίνη σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια

ενηλίκων. Συνολικά, αυτές οι μελέτες υποδηλώνουν ότι η παραγωγή θρομβοξάνης ρυθμίζεται διαφορετικά στα αιμοπετάλια νεογνών σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων. [50,56,57,63]

5. Κυτταροσκελετική αναδιοργάνωση των αιμοπεταλίων: Κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, λαμβάνει χώρα μία σημαντική μορφολογική αναδιάταξη με αποτέλεσμα το αιμοπετάλιο να παίρνει μια εμφάνιση «τηγανισμένου αυγού», αυξάνοντας έτσι την εκτεθειμένη επιφάνεια του. Η υπερδομή των μη διεγερμένων αιμοπεταλίων που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου είναι παρόμοια με αυτή των αιμοπεταλίων των ενηλίκων. Έχουν αποδειχθεί διαφορές στον αριθμό των ψευδοπόδων, στις μικροσωληνώδεις δομές και στο κοκκώδες περιεχόμενο, αλλά ήταν πιθανόν αυτές οι διαφορές να οφείλονταν στην τεχνική δειγματοληψίας. Μορφολογικές αλλαγές μετά την ενεργοποίηση δεν έχουν διερευνηθεί στα νεογνικά αιμοπετάλια. [50,61,63]

Οι διαφορές που περιγράφονται παραπάνω έχουν αποδοθεί σε αλλαγές στην κινητοποίηση του ασβεστίου και στην ενδοκυτταρική σηματοδότηση εντός των νεογνικών αιμοπεταλίων σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων. Τα αιμοπετάλια νεογνών που προέρχονταν από το αίμα του ομφάλιου λώρου και ενηλίκων είχαν παρόμοια επίπεδα ασβεστίου. Ωστόσο, η ενδοκυτταρική απελευθέρωση ασβεστίου στα αιμοπετάλια νεογνών μειώθηκε σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων ως απόκριση είτε στο κολλαγόνο είτε στη θρομβίνη. Αυτές οι διαφορές θεωρήθηκε ότι είναι δευτερογενείς και οφείλονται σε μια ανεπάρκεια στην παραγωγή IP₃ και στην αλληλεπίδραση της IP₃ με τον υποδοχέα της στο πυκνό σωληνοειδές σύστημα που τελικά απαιτείται για την απελευθέρωση ασβεστίου. Η κινητοποίηση του ασβεστίου βρέθηκε να είναι μειωμένη στα νεογνικά αιμοπετάλια ως απόκριση σε ένα ανάλογο θρομβοξάνης. Επιπλέον, η σηματοδότηση της πρωτεΐνης G βρέθηκε να είναι μειωμένη στα νεογνικά αιμοπετάλια σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ενηλίκων, γεγονός που μπορεί να παρέχει έναν μηχανισμό που εξηγεί τα μειωμένα επίπεδα ενεργοποίησης που παρατηρούνται στα αιμοπετάλια των νεογνών. (Εικ.9) [48,50,51,63]



Εικόνα 9. Νεογνική αιμόσταση

Αυτοί οι αντισταθμιστικοί μηχανισμοί μπορεί να είναι λιγότερο ανεπτυγμένοι στα πρόωρα νεογνά, των οποίων τα αιμοπετάλια επίσης υπολειτουργούν σε σύγκριση με εκείνα των τελειόμηνων νεογνών, οδηγώντας δυνητικά σε ένα πιο ευάλωτο πρωτογενές αιμοστατικό σύστημα. [51,52] Συνολικά, ενώ η μειωμένη λειτουργία των αιμοπεταλίων των νεογνών έχει αναφερθεί ως δυνητικός παράγοντας που συμβάλλει στην υψηλή συχνότητα αιμορραγίας μεταξύ των νεογνών, ιδιαίτερα εκείνων που γεννήθηκαν πρόωρα, τα στοιχεία δείχνουν ότι υπό κανονικές συνθήκες αυτή η υποαντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων δεν αποτελεί αναπτυξιακό ελάττωμα, αλλά μάλλον αναπόσπαστο μέρος ενός αναπτυξιακά διακριτού και καλά ισορροπημένου πρωτογενούς αιμοστατικού συστήματος νεογνών. [55]

4. Εργαστηριακές παράμετροι για τη διερεύνηση των διαταραχών της αιμόστασης στα νεογνά

Τα νεογνά, ειδικά εκείνα που γεννήθηκαν πρόωρα, διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο αιμορραγικών διαταραχών, κάτι το οποίο χρήζει έγκαιρης αντιμετώπισης αρκετά συχνά στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας Νεογνών (MENN), μολονότι οι αιμορραγικές διαταραχές είναι σπάνιες στο συνολικό νεογνικό πληθυσμό (0.3%). [63] Αυτή η υψηλή συχνότητα αιμορραγίας, ιδιαίτερα μεταξύ των πρόωρων νεογνών, σχετίζεται τουλάχιστον εν μέρει με παράγοντες ειδικούς για τον νεογνικό πληθυσμό. Αυτοί οι μοναδικοί παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν τη διαπλακουντιακή διέλευση ορισμένων αιμοστατικά ενεργών βιταμινών (π.χ. βιταμίνης K) ή μητρικών αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων και το στάδιο ανάπτυξης των αιμοφόρων αγγείων, του γαστρεντερικού σωλήνα και του αιμοστατικού μηχανισμού σε διάφορες ηλικίες κύησης. Δεδομένου ότι η συγγενής ανεπάρκεια

παραγόντων πήξης είναι σπάνια, αιτιολογικοί παράγοντες επίκτητης ανεπάρκειας της αιμόστασης στις ΜΕΝΝ, έχουν αναδειχθεί η ηπατική ανεπάρκεια ή η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ) (disseminated intravascular coagulation, DIC) λόγω σηψαιμίας ή ασφυξίας. Ως εκ τούτου, η διαφορική διάγνωση για τις διαταραχές της νεογνικής αιμόστασης είναι ευρεία και η ενδελεχής κατανόηση του αναπτυξιακού σταδίου, των παραγόντων κινδύνου και της υποκείμενης παθοφυσιολογίας είναι κρίσιμη για την κατάλληλη αντιμετώπιση και προσπάθεια πρόληψης των διαταραχών αιμόστασης σε αυτόν τον ευάλωτο πληθυσμό ασθενών. Ειδικότερα, τα επίπεδα των προπηκτικών πρωτεϊνών στο πλάσμα είναι χαμηλά στα νεογνά, εκτός από εκείνα των παραγόντων V, VIII, XIII (FV, FVIII, FXIII) και του παράγοντα von Willebrand (vWF) που φτάνουν σχεδόν τις τιμές των ενηλίκων. Τα φυσικά αντιπηκτικά είναι μειωμένα εκτός από την α-μακροσφαιρίνη η οποία είναι σημαντικά αυξημένη. Η δραστηριότητα του συστήματος πλασμίνης/ πλασμινογόνου προστίθεται στη μειωμένη ικανότητα ινωδόλυσης αν και οι εξαρτώμενες από βιταμίνη Κ πρωτεΐνες πήξης και η ικανότητα παραγωγής θρομβίνης εξασφαλίζουν μία ισορροπημένη νεογνική αιμόσταση. [62,63]

Η ταχεία διάγνωση και διαχείριση των διαταραχών της πήξης εξαρτάται τόσο από την έγκαιρη εκτίμηση των κλινικών συμπτωμάτων όσο και από την κατάλληλη αξιολόγηση των εργαστηριακών εξετάσεων. Η αιμορραγία σε ένα υγιές νεογνό μαρτυρά μια υποκείμενη συγγενή διαταραχή της πήξης ή ένα ποσοτικό έλλειμμα του αιμοστατικού μηχανισμού, ενώ ένα πάσχον πρόωρο νεογνό είναι πιο πιθανό να πάσχει από επίκτητη διαταραχή της πήξης, όπως η ΔΕΠ. Ένα θετικό οικογενειακό ιστορικό ενδεχομένως να είναι ενδεικτικό συγγενούς ανεπάρκειας κάποιου παράγοντα πήξης, ενώ επιπρόσθετα οι μαιευτικές επιπλοκές και συμβάματα κατά τον τοκετό μπορεί επίσης να επηρεάσουν το αιμοστατικό σύστημα του εμβρύου, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της πήξης και την εμφάνιση ΔΕΠ. Τέλος, η φαρμακευτική αγωγή που χορηγείται στη μητέρα παρεμβαίνοντας στο μεταβολισμό της βιταμίνης Κ, συνδέεται έντονα με αιμορραγικά επεισόδια κατά τη νεογνική περίοδο.

Πιθανά αίτια αιμορραγίας σύμφωνα με το οικογενειακό, το μαιευτικό, το περιγεννητικό και το μεταγεννητικό ιστορικό είναι τα ακόλουθα:

- **Οικογενειακό ιστορικό:** Κληρονομική αιμορραγική διαταραχή
- **Ιστορικό της μητέρας:** Χοριοαμνιονίτιδα, Σύνδρομο HELLP (Hypertension, elevated liver enzymes, low platelets – υπέρταση, αυξημένα ηπατικά ένζυμα, χαμηλά αιμοπετάλια), Φαρμακευτική αγωγή (Ακετυλοσαλικυλικό οξύ, Βαρφαρίνη)
- **Μαιευτικά/ περιγεννητικά συμβάματα:** Προδρομικά αγγεία, Αποκόλληση πλακούντα Προδρομικός πλακούντας, Ατύχημα κατά την απολίνωση του ομφάλιου λώρου

➤ **Νεογνό:** Συγγενείς λοιμώξεις, Εμβρυομητρική μετάγγιση TTTS (Twin to twin transfusion syndrome—σύνδρομο υποκλοπής), Ενδοκράνια αιμορραγία, Κεφαλαιμάτωμα, Υπαραχνοειδής αιμορραγία, Αιμολυτική νόσος νεογνού, Θρομβοπενία επαγόμενη από την ηπαρίνη, Πολυκυτταραιμία/ υπεργλοιοτότητα IUGR (Intrauterine growth restriction – ενδομήτρια καθυστέρηση αύξησης)

Η γενική αίματος μαζί με τον αριθμό των αιμοπεταλίων αποτελούν πάντα μέρος της αρχικής αξιολόγησης ενός νεογνού που παρουσιάζει διαταραχή της αιμόστασης. Σε αυτό το πλαίσιο, η εύρεση θρομβοπενίας (είτε μεμονωμένης είτε ως μέρος μιας αιμοστατικής νόσου) είναι μια σημαντική διαγνωστική ένδειξη. Η σοβαρή μεμονωμένη θρομβοπενία σε ένα κατά τα άλλα υγιές νεογνό θα πρέπει να εγείρει υποψίες για εμβρυϊκή/νεογνική αλλοάνοση θρομβοπενία (που προκαλείται από τη διαπλακουντιακή διέλευση μητρικών αλλοαντισωμάτων που στρέφονται κατά των αντιγόνων στα εμβρυϊκά αιμοπετάλια) η οποία σχετίζεται με συχνότητα αιμορραγίας 10-20%. Μεμονωμένη θρομβοπενία μπορεί επίσης να βρεθεί σε νεογνά με ιστορικό ενδομήτριας καθυστέρησης της ανάπτυξης ή με ιογενείς, βακτηριακές ή μυκητιασικές λοιμώξεις. Σε βαρέως πάσχοντα νεογνά με αιμορραγία στο πλαίσιο σηψαιμίας, NEC ή σοβαρής περιγεννητικής ασφυξίας, η θρομβοπενία είναι συχνά παρούσα, είτε μεμονωμένα είτε ως μέρος μιας εικόνας διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (DIC). Η χρησιμότητα του αριθμού των αιμοπεταλίων ως παράγοντα πρόβλεψης του κινδύνου αιμορραγίας σε νεογνά χωρίς διαταραχή αιμόστασης είναι πολύ πιο αμφιλεγόμενη, αν και στη νεογνική κλινική πρακτική η θρομβοπενία έχει ευρέως θεωρηθεί ως παράγοντας κινδύνου για αιμορραγία, ιδιαίτερα στα πρόωρα νεογνά. Προς υποστήριξη της συσχέτισης μεταξύ θρομβοπενίας και αιμορραγίας, μια πρόσφατη μελέτη 972 βρεφών πολύ χαμηλού βάρους γέννησης (VLBW, <1.500 g κατά τη γέννηση) διαπίστωσε ότι αριθμός αιμοπεταλίων $<150 \times 10^9/L$ την πρώτη εβδομάδα της ζωής τους συσχετίστηκε με υψηλότερη επίπτωση IVH (αναλογία κινδύνου 2,17, 95% CI, 1,53–3,08, $p < 0,001$). [63] Ωστόσο, η συσχέτιση δεν συνεπάγεται αιτιότητα και η ίδια μελέτη δεν βρήκε συσχέτιση μεταξύ της σοβαρότητας της θρομβοπενίας και του κινδύνου για IVH [63]. Το τελευταίο εύρημα, σε συμφωνία με πολλές άλλες μελέτες, έθεσε σοβαρά ερωτήματα σχετικά με την τιμή του αριθμού των αιμοπεταλίων ως δείκτη κινδύνου αιμορραγίας στα πρόωρα νεογνά και την αποτελεσματικότητα των μεταγγίσεων αιμοπεταλίων στην πρόληψη της αιμορραγίας σε μη αιμορραγικά νεογνά με ήπια έως μέτρια θρομβοπενία. Είναι ενδιαφέρον ότι η ίδια έλλειψη συσχέτισης μεταξύ της σοβαρότητας της θρομβοπενίας και της σημαντικής αιμορραγίας έχει αναφερθεί σε παιδιατρικούς ασθενείς με θρομβοπενία σχετιζόμενη με χημειοθεραπεία, υποδηλώνοντας ότι και άλλοι παράγοντες εκτός από τον αριθμό των αιμοπεταλίων μπορεί να είναι οι κύριοι καθοριστικοί παράγοντες του κινδύνου αιμορραγίας τόσο σε παιδιά με θρομβοπενία όσο και στα νεογνά. [63,66]

Πρόσφατα, έχουν προταθεί άλλες προσεγγίσεις για την αξιολόγηση του κινδύνου αιμορραγίας σε θρομβοπενικά πρόωρα νεογνά. Σε μια μελέτη που αξιολόγησε τη λειτουργία των αιμοπεταλίων σε πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά με κυτταρομετρία ροής, οι αποκρίσεις δέσμευσης ινωδογόνου και αποκοκκίωσης στην ADP μειώθηκαν σημαντικά σε σηπτικά σε σύγκριση με υγιή νεογνά, αυξάνοντας την πιθανότητα οι δοκιμές της λειτουργίας των αιμοπεταλίων να συμβάλουν τελικά στον εντοπισμό νεογνών με υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας. Ωστόσο, το εάν αυτές οι λειτουργικές διαφορές των αιμοπεταλίων σχετίζονται με υψηλότερη συχνότητα ή σοβαρότητα της αιμορραγίας μένει ακόμα να διερευνηθεί. [63,67] Συνολικά, αναφορικά με τη συμβολή των αιμοπεταλίων στη δύναμη του θρόμβου, λίγα είναι γνωστά για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, η οποία αποδεικνύεται καλύτερα με το ποσοστό ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων παρά από τον ίδιο τον αριθμό των αιμοπεταλίων μόνο. Η λειτουργία των αιμοπεταλίων θα μπορούσε σαφώς να παρέχει έγκυρες πληροφορίες για την αιτιολογία της αιμορραγίας και τη θεραπευτική της αντιμετώπιση. [63]

Επιπλέον, στις εργαστηριακές εξετάσεις για τη διερεύνηση των διαταραχών της αιμόστασης στα νεογνά πρέπει να συμπεριληφθούν ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (activated partial thromboplastin time, aPTT), ο χρόνος προθρομβίνης (prothrombin time, PT) ή ο διεθνής κανονικοποιημένος λόγος (international normalized ratio, INR), το ινωδογόνο και τα Δ-διμερή. Τιμές αναφοράς αντί για φυσιολογικές τιμές που αφορούν παράγοντες πήξης σε τελειόμηνα και πρόωρα νεογνά έχουν δημοσιευθεί από λίγους ερευνητές ανάλογα με την ΗΚ. Παρόλα αυτά, τιμές αναφοράς μεταξύ διαφόρων ιδρυμάτων, έχουν θεσπιστεί βάση συγκεκριμένων ρυθμίσεων αντιδραστηρίων και αναλυτών, οι οποίες μπορεί να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των ερευνητικών κέντρων. [68]

Οι παράμετροι PT και PTT, οι δύο πιο συχνά χρησιμοποιούμενες δοκιμασίες για την αξιολόγηση της κατάστασης πήξης, αντιπροσωπεύουν την ενδογενή και την εξωγενή οδό πήξης, αντίστοιχα. Και οι δύο δοκιμασίες είναι πιο παρατεταμένες σε υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά σε σύγκριση με τους ενήλικες, αντανακλώντας τα χαμηλότερα επίπεδα δραστηριότητας των περισσότερων παραγόντων πήξης σε αυτούς τους πληθυσμούς. Αυτή η «παράταση» του PT και του PTT σε νεογνά και ιδιαίτερα σε εξαιρετικά πρόωρα νεογνά, που έχουν την υψηλότερη συχνότητα μείζονος αιμορραγίας, έχει συχνά ερμηνευτεί ως αιμοστατικό ελάττωμα και έχει οδηγήσει στην πρακτική σε πολλές Μονάδες Εντατικής Θεραπείας Νεογνών, ελέγχου ρουτίνας των δοκιμασιών πήξης και χορήγησης FFP σε μη αιμορραγικά πρόωρα νεογνά με «μη φυσιολογικές» τιμές ώστε να προσπαθήσουν να αποτρέψουν την αιμορραγία, ιδιαίτερα την IVH. (Πιν.1) [69,70]

<p>Πίνακας 1. Εύρη αναφοράς για κοινές δοκιμασίες πήξης στα νεογνά που μετρώνται την ημέρα 1 της ζωής, ανά ηλικία κύησης</p> <p>ΗΚ</p>	<p>PT (s)</p>	<p>PTT (s)</p>	<p>Ινωδογόνο (mg/dL)</p>
<p><27 εβδομάδες*</p>	<p>14.4–36.7</p>	<p>40.5–158.5</p>	<p>70–480</p>
<p>28–34 εβδομάδες**</p>	<p>13.9–20.6</p>	<p>30–57</p>	<p>87–470</p>
<p>30–36 εβδομάδες*</p>	<p>10.6–16.2</p>	<p>27.5–79.4</p>	<p>150–373</p>
<p>Τελειόμηνα***</p>	<p>10.1–15.9</p>	<p>31.3–54.5</p>	<p>167–399</p>

*Reference ranges reflect 2.5th–97.5th percentiles (31, 43).

**Reference ranges reflect 5th–95th percentiles (42).

***Reference ranges calculated from mean \pm SD (2SD below and above the mean)

Αν και τα επίπεδα των aPTT, PT και ινωδογόνου και ο αριθμός των αιμοπεταλίων δεν αντιπροσωπεύουν πλήρως την παθοφυσιολογία σχηματισμού του θρόμβου in vivo, είναι υψίστης σημασίας στην εργαστηριακή πράξη για την διερεύνηση της πήξης του αίματος. Οι δοκιμασίες διεξάγονται στο πλάσμα, απουσία ερυθρών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων, με αποτέλεσμα να αδυνατούν να παρέχουν με ακρίβεια την απεικόνιση της αμοιβαίας εξάρτησης των κυτταρικών και των ενζυματικών συστατικών της πήξης. Κάτι τέτοιο οδηγεί όχι μόνο σε ανακριβή ερμηνεία των αιμοστατικών μηχανισμών in vivo αλλά επιπλέον σε κλινική ανακρίβεια στην απεικόνιση του αιμοστατικού προφίλ και της αιμορραγικής διάθεσης του ασθενούς. Ενώ οι λόγοι για την απόκλιση μεταξύ παρατεταμένων χρόνων πήξης και επαρκούς/γρηγορότερης παραγωγής θρομβίνης στα πρόωρα σε σύγκριση με τα τελειόμηνα νεογνά (και στα νεογνά σε σύγκριση με τους ενήλικες) δεν είναι πλήρως κατανοητοί, πιθανότατα αφορούν τις συνυπάρχουσες αναπτυξιακές διαφορές στις αντιπηκτικές οδούς των νεογνών, οι οποίες δεν αντανακλώνται επαρκώς στις αναλύσεις PT και PTT. Πράγματι, όπως οι περισσότεροι παράγοντες πήξης μειώνονται στα νεογνά, τα περισσότερα φυσικά αντιπηκτικά μειώνονται επίσης κατά τη γέννηση, γεγονός που οδηγεί σε ένα ισορροπημένο νεογνικό αιμοστατικό σύστημα. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της αντιθρομβίνης (AT), του

συμπαράγοντα ηπαρίνης II και των πρωτεϊνών C και S μειώνονται σημαντικά στα νεογνά (τόσο τελειόμηνα όσο και πρόωρα), ~50% των επιπέδων των ενηλίκων κατά τη γέννηση. Τα επίπεδα αυτών των αντιπηκτικών αυξάνονται αργά μετά τη γέννηση και η AT και ο συμπαράγοντας ηπαρίνης II φτάνουν τα επίπεδα των ενηλίκων έως την ηλικία των 3 μηνών. Ίσως για να αντισταθμιστούν αυτά τα χαμηλά επίπεδα, ένα άλλο αντιπηκτικό, η α2-μακροσφαιρίνη, υπάρχει σε υψηλότερα επίπεδα στα νεογνά από ότι στους ενήλικες και αυξάνεται περαιτέρω κατά τους πρώτους 6 μήνες ζωής. Συνολικά, τα στοιχεία αυτά υποδηλώνουν ότι η παράταση των PT και PTT που βρέθηκε σε κατά τα άλλα υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά δεν θα πρέπει να ερμηνεύεται ως αναπτυξιακή ανεπάρκεια ή αιμορραγική προδιάθεση, αλλά περισσότερο ως αδυναμία αυτών των δοκιμασιών να αντικατοπτρίσουν πλήρως την πολυπλοκότητα του μοναδικού αλλά καλά ισορροπημένου νεογνικού αιμοστατικού συστήματος. [63]

Συνεπώς οι μεταβολές στον αιμοστατικό μηχανισμό των νεογνών και η ανεπάρκεια των εξετάσεων ρουτίνας για μία ολοκληρωμένη μελέτη της αιμόστασης συχνά οδηγούν σε υπερδιαγνώσεις ή εσφαλμένες διαγνώσεις. Επιπλέον σε ασθενή νεογνά είναι δύσκολη η διάκριση μιας παθολογικής τιμής λόγω ηλικίας ή υποκείμενης νόσου. Αυτό καταδεικνύει την ανάγκη για περισσότερο αντιπροσωπευτικούς για την ηλικία εργαστηριακούς ελέγχους, ώστε η θεραπευτική αντιμετώπιση να είναι περισσότερο στοχευμένη.

5. Διαταραχές της αιμόστασης στα νεογνά

Οι διαταραχές της αιμόστασης στο νεογνά αποτελούν αναμφίβολα μία πρόκληση για τους νεογνολόγους και ένα καθημερινό και υψίστης σημασίας πρόβλημα μεταξύ εκείνων που προκύπτουν κατά τη διάρκεια της νοσηλείας των νεογνών στις μονάδες εντατικής θεραπείας. Η θρομβοπενία είναι ίσως η πιο κοινή αιτία, αλλά παρατηρούνται επίσης διαταραχές του συστήματος της πήξης και τα δύο προβλήματα συχνά συνυπάρχουν. Αν και οι περισσότερες διαταραχές αιμόστασης στα νεογνά αντικατοπτρίζουν επίκτητες διαταραχές, είναι επίσης πιθανό να παρουσιαστούν ορισμένες κληρονομικές παθήσεις. Η κατάλληλη διάγνωση και αντιμετώπιση αυτών των καταστάσεων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την έγκαιρη αναγνώριση της κλινικά καταφανούς αιμορραγίας και την έναρξη της κατάλληλης διερεύνησης. Παρά το γεγονός ότι οι επίκτητες διαταραχές εμφανίζονται συχνότερα σε πάσχοντα τελειόμηνα ή πρόωρα νεογνά, πολλές κληρονομικές διαταραχές εκδηλώνονται σε κατά τα άλλα υγιή νεογνά. Η αναγνώριση του κλινικού περιβάλλοντος στο οποίο εμφανίζεται η αιμορραγία είναι επομένως μια σημαντική ένδειξη για την υποκείμενη διάγνωση. Η διερεύνηση απαιτεί προσεκτική παρατήρηση των χαρακτηριστικών που εξαρτώνται από την ηλικία, τα οποία είναι ιδιαίτερα σημαντικά κατά τις πρώτες εβδομάδες της ζωής του νεογνού.

Η φυσιολογική αιμόσταση αποτελεί μια εξαιρετικά περίπλοκη διαδικασία, η οποία εξαρτάται από μια σειρά αλληλεπιδράσεων που συμβαίνουν μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων, των αιμοπεταλίων και των πρωτεϊνών αιμόστασης. Η κατανόηση αυτής της διαδικασίας έχει βελτιωθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια και είναι πλέον αποδεκτό ότι τα παραδοσιακά μοντέλα αιμόστασης δεν αντικατοπτρίζουν επαρκώς τα γεγονότα *in vivo* αλλά αποτελούν υπεραπλούστευση των διαδικασιών που εμπλέκονται. Είναι πλέον αποδεκτό ότι η παραδοσιακή εξωγενής οδός, που περιλαμβάνει τον ιστικό παράγοντα και τον παράγοντα VIIa, είναι η κύρια οδός με την οποία ξεκινά η πήξη και ότι η θρομβίνη παίζει καθοριστικό ρόλο τόσο στην ενεργοποίηση και αναστολή της πήξης όσο και στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Η κατανόηση του αιμοστατικού συστήματος και των χαρακτηριστικών που είναι μοναδικά για τις πρώτες εβδομάδες της ζωής είναι σημαντική όταν πρόκειται για τη διερεύνηση ενός νεογνού με αιμορραγικό πρόβλημα. Το αιμοστατικό σύστημα επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την ηλικία και οι συγκεντρώσεις πολλών αιμοστατικών πρωτεϊνών που εξαρτώνται τόσο από την ηλικία κύησης όσο και από τη μεταγεννητική ηλικία του νεογνού. Κατά τη γέννηση, οι συγκεντρώσεις των εξαρτώμενων από τη βιταμίνη K παραγόντων (FII, FVII, FIX, FX) και των παραγόντων επαφής (FXI, FXII) μειώνονται στο 50% περίπου των φυσιολογικών τιμών των ενηλίκων ενώ μειώνονται περαιτέρω στα πρόωρα νεογνά. Ομοίως, οι συγκεντρώσεις από τα φυσικά αντιπηκτικά, η αντιθρομβίνη, η πρωτεΐνη C και η πρωτεΐνη S, είναι χαμηλά κατά τη γέννηση και, κατά συνέπεια, τόσο η παραγωγή θρομβίνης όσο και η αναστολή της θρομβίνης μειώνονται κατά τη νεογνική περίοδο. Το πλασμινογόνο είναι η κύρια πρωτεΐνη που εμπλέκεται στην ινωδόλυση, και πάλι αυτό μειώνεται κατά τη νεογνική περίοδο, με αποτέλεσμα μια σχετικά υποϊνωδολυτική κατάσταση. Παρά τη φαινομενική αυτή λειτουργική ανωριμότητα, το νεογνικό αιμοστατικό σύστημα φαίνεται να μην οδηγεί συχνά σε κλινικές διαταραχές αιμορραγίας στο υγιές τελειόμηνο νεογνό. Το αιμοστατικό σύστημα ωριμάζει κατά τις πρώτες εβδομάδες και τους πρώτους μήνες της ζωής και οι συγκεντρώσεις των περισσότερων αιμοστατικών πρωτεϊνών, τόσο στα τελειόμηνα όσο και στα πρόωρα νεογνά, προσεγγίζουν τις τιμές των ενηλίκων έως την ηλικία των 6 μηνών. [50,61]

Τα αιμοπετάλια επηρεάζονται επίσης από την ηλικία, περισσότερο ποιοτικά παρά ποσοτικά. Έτσι ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι εντός του φυσιολογικού εύρους των ενηλίκων τόσο στα τελειόμηνα όσο και στα πρόωρα νεογνά. Παρά το γεγονός ότι ο αριθμός των αιμοπεταλίων των νεογνών είναι φυσιολογικός, μελέτες για τη λειτουργία των αιμοπεταλίων υποδηλώνουν ότι τα νεογνικά αιμοπετάλια είναι υπολειτουργικά σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια των ενηλίκων. Εν τούτοις, ο χρόνος ροής, ο οποίος μπορεί να θεωρηθεί ως *in vivo* αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης αιμοπεταλίου-τοιχώματος αγγείου, μειώνεται σε φυσιολογικά υγιή νεογνά. Αυτό πιθανώς αντανακλά πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των αυξημένων συγκεντρώσεων του

παράγοντα von Willebrand (vWF), της παρουσίας των μεγάλων πολυμερών vWF και του υψηλού νεογνικού όγκου κυττάρων. [71]

Ορισμένες κλινικές παράμετροι είναι σημαντικές στη διερεύνηση ενός νεογνού με ένα πρόβλημα αιμορραγίας ή και μια πιθανή υποκείμενη διαταραχή της πήξης. Η πιο σημαντική από αυτές, είναι ίσως το κλινικό περιβάλλον μέσα στο οποίο συμβαίνει η αιμορραγία. Έτσι, η αιμορραγία η οποία εκδηλώνεται σε ένα κατά τα άλλα υγιές νεογνό είναι πολύ πιο ενδεικτική για υποκείμενη κληρονομική διαταραχή της πήξης ή για μία ανοσοδιαμεσολαβούμενη θρομβοκυτταροπενία, ενώ ένα πάσχον πρόωρο νεογνό είναι πιο πιθανό να έχει αντίστοιχα μια επίκτητη διαταραχή της πήξης- π.χ. διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ). Επιπλέον, η παρουσία θετικού οικογενειακού ιστορικού για κληρονομικές διαταραχές της πήξης (π.χ. επεισόδια αιμορραγίας στην οικογένεια ή ύπαρξη προηγουμένου βρέφους- παιδιού που έχει προσβληθεί), μπορεί επίσης να είναι ένας σημαντικός διαγνωστικός δείκτης. Οι μαιευτικές επιπλοκές και τα προβλήματα που μπορεί να προκύψουν κατά τον τοκετό μπορεί επίσης να επηρεάσουν το αιμοστατικό σύστημα, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της πήξης και τη ΔΕΠ. Τέλος, τόσο τα φάρμακα που λαμβάνει η μητέρα όσο και τα φάρμακα που χορηγούνται στο νεογνό και ιδιαίτερα αυτά που σχετίζονται με το μεταβολισμό της βιταμίνης K, μπορεί να έχουν ιδιαίτερα καθοριστικό ρολό σε αυτή τη φάση. [72,73]

5.1 Κληρονομικές διαταραχές της πήξης

Αιμοφιλία

Η αιμορροφιλία Α και Β αποτελούν τις πιο συχνές κληρονομικές αιμορραγικές διαταραχές που εμφανίζονται στη νεογνική περίοδο. Αυτές οι διαταραχές οφείλονται σε ανεπάρκεια των FVIII και FIX αντίστοιχα και είναι ποικίλης βαρύτητας, κάτι το οποίο αντικατοπτρίζει την ετερογενή φύση των υποκείμενων μοριακών ανωμαλιών. Και οι δύο καταστάσεις μεταβιβάζονται με το φυλοσύνδετο χρωμόσωμα, επομένως οι γυναίκες είναι φορείς της διαταραχής και τα άρρενα τέκνα που κληρονομούν το παθολογικό γονίδιο εκφράζουν τη νόσο.

Η γενετική διαταραχή ποικίλει από οικογένεια σε οικογένεια αλλά είναι ίδια στα πάσχοντα μέλη της ίδιας οικογένειας. Νεογνά με όποια από τις δύο διαταραχές, είναι κατά τα άλλα φυσιολογικά, ωστόσο, σε περίπτωση σοβαρής απώλειας αίματος στο κρανίο (κεφαλαιμάτωμα) ή στον εγκέφαλο (εγκεφαλική αιμορραγία), το νεογνό φαίνεται ωχρό και υποτονικό. Αιμορραγικές εκδηλώσεις στη γέννηση συμβαίνουν σε 15-33% των παιδιών με αιμορροφιλία και 41% από αυτές αφορούν στον εγκέφαλο, σύμφωνα με την πρόσφατη βιβλιογραφία. [74-77] Βεβαίως αυτός ο τύπος αιμορραγίας συχνά σχετίζεται με τραύμα κατά τον τοκετό και συνδέεται με κακή έκβαση του νεογνού. Επίσης κεφαλαιμάτωμα, ΕΚΑ, αιμορραγία μετά από περιτομή, μετά από άστοχη φλεβοκέντηση, νυγμό φτέρνας ή χορήγηση βιταμίνης K μπορεί να συμβούν κατά τη γέννηση. [74-77]

Κατά τον αρχικό συμβατικό έλεγχο της πήξης, τόσο η αιμορροφιλία A όσο και η B συνήθως εμφανίζουν μεμονωμένη παράταση του APTT, η οποία σε ένα κατά τα άλλα υγιές άρρεν νεογνό εγείρει σε σημαντικό βαθμό την υποψία της διάγνωσης. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης απαιτεί μέτρηση των συγκεντρώσεων FVIII και FIX. Καθώς οι συγκεντρώσεις του παράγοντα FVIII βρίσκονται εντός του φυσιολογικού εύρους των τιμών ενός ενήλικα ή είναι ελαφρώς αυξημένες κατά τη γέννηση, είναι συνήθως δυνατό να επιβεβαιωθεί η διάγνωση της αιμορροφιλίας A ανεξάρτητα από τη σοβαρότητα της κατάστασης ή την ηλικία κύησης του νεογνού. Η μόνη εξαίρεση σε αυτό είναι η ήπια αιμορροφιλία A, όπου ένα αρχικό αποτέλεσμα στις κατώτερες τιμές του φυσιολογικού εύρους μπορεί να δικαιολογήσει επανάληψη του ελέγχου σε μεγαλύτερη ηλικία του βρέφους. Οι συγκεντρώσεις του παράγοντα FIX, αφετέρου, μειώνονται σημαντικά κατά τη γέννηση, γεγονός που αποκλείει τη διάγνωση των ήπιων περιπτώσεων αιμορροφιλίας B μέχρι τους 3-6 μήνες λόγω της αλληλοεπικάλυψης με το φυσιολογικό εύρος τιμών σε αυτήν την ηλικία.[74-77]

Είναι πρωταρχικής σημασίας τα νεογνά που παρουσιάζουν ανεξήγητη αιμορραγία να διερευνώνται κατάλληλα για αιμορροφιλία καθώς και άλλες κληρονομικές αιμορραγικές διαταραχές. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία παρατηρούνται συχνά καθυστερήσεις στην επίτευξη διάγνωσης σε αυτές τις καταστάσεις γεγονός ενδεικτικό όχι μόνο της αποτυχίας αναγνώρισης μιας ανεξήγητης αιμορραγίας αλλά και πιθανών προβλημάτων κατά την έναρξη ή την ερμηνεία των κατάλληλων εξετάσεων. Πιο συγκεκριμένα, η φυσιολογική παράταση του APTT πρέπει να ερμηνεύεται με ιδιαίτερη προσοχή και θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι μια ηπίως ελαττωμένη συγκέντρωση του παράγοντα FVIII μπορεί να συνυπάρχει με ένα φυσιολογικό APTT. Επομένως, θα πρέπει πάντα να τελούνται αναλύσεις παραγόντων εφόσον η αιμορραγία φαίνεται ανεξήγητη ή υπερβολική. Η αντιμετώπιση των αιμορραγικών διαταραχών στα νεογνά γίνεται σε συνεννόηση με έναν παιδίατρο-αιματολόγο, στην προκειμένη περίπτωση με εμπειρία στην αιμορροφιλία, και απαιτεί κατάλληλη θεραπεία υποκατάστασης παραγόντων ενώ είναι πλέον ευρέως γνωστό ότι στον ανεπτυγμένο κόσμο, τα ανασυνδυασμένα προϊόντα αποτελούν τη θεραπεία εκλογής.[74-77]

Νόσος von Willebrand

Η νόσος vW είναι η πιο συχνή κληρονομική διαταραχή της αιμόστασης. Η επίπτωσή της αγγίζει το 1% στο γενικό πληθυσμό. Η νόσος είναι αποτέλεσμα ποσοτικής ή ποιοτικής διαταραχής του παράγοντα von Willebrand (vWF) ενώ έχει 3 διαφορετικούς τύπους. Ο τύπος I είναι ο πιο συχνός ωστόσο παρουσιάζει ήπια κλινική εκδήλωση. Ο τύπος II υποδιαιρείται σε 3 υποτύπους από τους οποίους, ο τύπος IIb συνδυάζεται με θρομβοπενία. Ο τύπος III είναι εξαιρετικά σπάνιος, αλλά αποτελεί την πιο βαριά μορφή της νόσου. Η διαταραχή κληρονομείται με αυτοσωμικό χαρακτήρα, υπολειπόμενο (type III vWD) ή επικρατούντα. Η νόσος vWd δεν εκφράζεται συνήθως κατά τη νεογνική περίοδο. Αιμορραγικές εκδηλώσεις από τους βλεννογόνους είναι οι πιο συχνές εκφράσεις

της νόσου στη νηπιακή ηλικία. Η διάγνωση γίνεται με προσδιορισμό των επιπέδων και δραστηριοτήτων του παράγοντα FVIII και vWF, το χρόνο ροής και τη συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων με ριστοσετίνη (platelet ristocetin aggregation test, RIPA). Το DDAVP s/c ή iv χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των αιμορραγικών επεισοδίων, όμως στη βαριά μορφή της νόσου συνιστώνται συμπυκνωμένοι παράγοντες vWF, που προέρχονται από πλάσμα (plasma-derived vWF concentrates) ή διάμεσης καθαρότητας FVIII, που περιέχει vWF.[78]

Σπάνιες κληρονομικές διαταραχές των πλασματικών παραγόντων της πήξης

Κατά τα κοινώς λεγόμενα, οι σπάνιες διαταραχές της πήξης περιλαμβάνουν μια ομάδα αυτοσωμικών υπολειπόμενων ελλείψεων που είτε σε ομόζυγη είτε σε σύνθετη ετεροζυγωτική κατάσταση μπορεί να προκαλέσουν μια σημαντική κλινική αιμορραγική διάθεση. Λόγω του τρόπου κληρονομικότητάς τους, αυτές οι ανωμαλίες εμφανίζονται συχνότερα σε χώρες ή πληθυσμούς όπου ο γάμος μεταξύ συγγενών είναι συνήθης. Η τρέχουσα βιβλιογραφία για τις κλινικές εκδηλώσεις και τη διαχείριση των ανωτέρω διαταραχών είναι σχετικά περιορισμένη ωστόσο είναι σαφές ότι ορισμένες από αυτές τις διαταραχές σχετίζονται με σοβαρή αιμορραγική τάση, η οποία μπορεί να εκδηλωθεί ήδη από τις πρώτες ημέρες της ζωής. [79]

Οι σοβαρές ανεπάρκειες του ινωδογόνου, του FVII, του FX και του FXIII είναι οι πιο πιθανές διαταραχές που μπορεί να παρουσιαστούν κατά τη νεογνική περίοδο. Η αιμορραγία από τους βλεννογόνους και τους μαλακούς ιστούς καθώς και η αιμορραγία από το ομφαλικό κολόβωμα είναι οι πιο χαρακτηριστικές εκδηλώσεις, ενώ αναφέρεται ότι περίπου το 80% των περιπτώσεων σοβαρής ανεπάρκειας FXIII εκδηλώνεται με αιμορραγία από τον ομφαλό μετά την απόπτωση του κολοβώματος. Καθώς η εγκεφαλική αιμορραγία αποτελεί ένα σχετικά κοινό χαρακτηριστικό αυτών των διαταραχών, καθίσταται επιτακτική η ανάγκη αποκλεισμού μιας κληρονομικής αιμορραγικής διαταραχής σε κάθε νεογνό που παρουσιάζει ανεξήγητη εγκεφαλική αιμορραγία. [101,102] Εκτός από την ανεπάρκεια FXIII, όλες αυτές οι σπάνιες κληρονομικές ανεπάρκειες είναι πιθανό να οδηγήσουν σε κάποια διαταραχή στη διερεύνηση της αιμόστασης, αν και, όπως και με την αιμορροφιλία, δυσχέρειες με την ερμηνεία των μη φυσιολογικών αποτελεσμάτων από τις συμβατικές εξετάσεις μπορεί να οδηγήσουν σε καθυστερημένη διάγνωση. Απαιτούνται ειδικοί προσδιορισμοί των παραγόντων ώστε να επιβεβαιωθεί η διάγνωση. Η ανεπάρκεια του παράγοντα FXIII, ακόμη και στην πιο σοβαρή της μορφή, σχετίζεται με φυσιολογικό έλεγχο πήξης (συμβατικές δοκιμασίες πήξης) και πρέπει να αξιολογηθεί ειδικά χρησιμοποιώντας είτε μια δοκιμασία προσυμπτωματικού ελέγχου είτε μια δοκιμασία χημικής ανάλυσης του FXIII. Η δοκιμασία προσυμπτωματικού ελέγχου του FXIII είναι ευαίσθητη μόνο στις πιο σοβαρές μορφές ανεπάρκειας και επί του παρόντος υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις αναφορικά με τις βέλτιστες στρατηγικές δοκιμών. Αυτές οι δοκιμασίες δεν είναι ευρέως διαθέσιμες και για αυτό το λόγο συνήθως

χρησιμοποιείται ένα τοπικό κέντρο αναφοράς αυτών των νοσημάτων. Η διαχείριση και αντιμετώπιση των αιμορραγικών επεισοδίων που προκύπτουν από αυτές τις κληρονομούμενες παθήσεις στο νεογνικό πληθυσμό, θα πρέπει να γίνονται με συγκεκριμένο συμπτωκωμένο παράγοντα όπου αυτός είναι διαθέσιμος. Η προφυλακτική θεραπεία θα πρέπει να ξεκινά ευθύς αμέσως μόλις γίνει η διάγνωση της ανεπάρκειας του FXIII και θα πρέπει επίσης να λαμβάνεται υπόψη και στη σοβαρή ανεπάρκεια των παραγόντων FVII και FX, λόγω του υψηλού κινδύνου εγκεφαλικής αιμορραγίας.[80-82]

5.2 Επίκτητες διαταραχές της πήξης

Αιμορραγική νόσος του νεογνού, δευτεροπαθής αιμορραγική νόσος, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη και ηπατική δυσλειτουργία είναι γνωστές οντότητες, οι οποίες συνδυάζονται με αιμορραγική διάθεση στο νεογνό. Η κλασική αιμορραγική νόσος του νεογνού (classic haemorrhagic disease of the newborn -CHDN-) εκδηλώνεται κατά την τρίτη ημέρα ζωής σ' ένα κατά τα άλλα φυσιολογικό νεογνό με αιμορραγίες από τον ομφαλό, τους βλεννογόνους ή ακόμη και εγκεφαλική αιμορραγία. Συνηθέστερα εμφανίζεται σε νεογνά μητέρων χαμηλού κοινωνικοοικονομικού επιπέδου. Οι μητέρες λόγω μη σωστής διατροφής δεν παρέχουν ικανοποιητική ποσότητα βιταμίνης K στο έμβρυο. Η επάρκεια βιταμίνης K και η ωριμότητα του ήπατος αποτελούν τις βασικές προϋποθέσεις για την παραγωγή των βιταμινο-K εξαρτωμένων παραγόντων (FII, FVII, FIX, and FX). Η διαταραχή είναι πιο έκδηλη, όταν το μωρό θηλάζει, δεδομένου ότι το μητρικό γάλα είναι φτωχότερο σε βιταμίνη K απ' ό,τι το κονιοποιημένο. Η συχνότητα της CHDN αναφέρεται σε 5.4 περιπτώσεις / 1.000.000 γεννήσεις. Η προφυλακτική χορήγηση βιταμίνης K σε κάθε νεογέννητο, ανεξάρτητα από το βάρος γέννησης (πρόωρο ή τελειόμηνο), την ηλικία κύησης ή την κλινική του κατάσταση (πάσχον ή υγιές), έχει εξαφανίσει πλέον τη νόσο. Πρώιμη αιμορραγική νόσος του νεογνού (early haemorrhagic disease of the newborn) παρουσιάζεται επίσης στα νεογνά μητέρων που λαμβάνουν αντιπηκτικά ή αντιεπιληπτικά φάρμακα, τα οποία ανταγωνίζονται τη βιταμίνη K. Η αιμορραγία εκδηλώνεται ήδη από τις πρώτες ώρες ζωής. Η θνησιμότητα είναι αρκετά υψηλή, και κυμαίνεται από 10-50%. Επιπλέον συχνά είναι και τα νευρολογικά υπολείμματα οφειλόμενα σε EKA. Γυναίκες υπό αντιεπιληπτική αγωγή, συνιστάται να λαμβάνουν βιταμίνη K κατά το τελευταίο τρίμηνο της κύησης. Αν η μητέρα πρέπει να πάρει αντιπηκτική αγωγή από το στόμα κατά την κύηση, συνιστάται η χορήγηση LMWH (low molecular weight heparin, χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη) κατά το 1ο και 3ο τρίμηνο της κύησης και ενδιάμεσα από του στόματος αντιπηκτική αγωγή ή κατά προτίμηση LMWH σε όλη τη διάρκεια της κύησης καθώς και κατά την περίοδο της λοχείας. Από την άλλη πλευρά, αψώτερη αιμορραγική νόσος (late haemorrhagic disease) εκδηλώνεται σε θηλάζοντα νεογνά που δεν έχουν λάβει βιταμίνη K κατά τον τοκετό. Είναι εξαιρετικά σπάνια σε νεογνά, που πήραν προφύλαξη στη γέννηση. Η EKA (60% των περιπτώσεων)

είναι η συχνότερη εκδήλωση, αλλά και αιμορραγίες από τους βλεννογόνους παρατηρείται επίσης συχνά. [101,102] Τα συμπτώματα εκδηλώνονται από την 3η εβδομάδα ζωής μέχρι και το δεύτερο μήνα ζωής ή ακόμη αργότερα. Παρά ίσως τη διαμάχη των ειδικών που συνεχίζεται ακόμη για τον τρόπο χορήγησης της προφύλαξης, η Αμερικανική Παιδιατρική Εταιρεία συνιστά σταθερά την IM οδό χορήγησης της βιταμίνης Κ. Στην όποια μορφή αιμορραγικής νόσου, ο εργαστηριακός έλεγχος της αιμόστασης αναδεικνύει παράταση του PT, και APTT, αλλά το TT είναι φυσιολογικό. Τα επίπεδα των παραγόντων FII, FVII, FX, FIX καθώς και των φυσικών ανασταλτών PC και PS είναι ελαττωμένα, βιταμίνη Κ-εξαρτώνενοι παράγοντες (vitamin-K dependent). Δευτεροπαθής αιμορραγική νόσος (Secondary haemorrhagic disease) μπορεί επιπρόσθετα να εκδηλωθεί σε διάφορες καταστάσεις που συνοδεύονται από υποβιταμίνωση Κ, όπως παρατεταμένη διάρροια, ανεπάρκεια α1- αντιθριψίνης, κυστική ίνωση, α-β λιποπρωτεϊναιμία, χειρουργική εκτομή του λεπτού εντέρου, ατρησία των χοληφόρων ή πρόσληψη συγκεκριμένων αντιβιοτικών (cyclosporines, b-lactams) και παρεντερική σίτιση. [83-89]

Παρομοίως όσον αφορά στα ηπατικά νοσήματα (Liver disease) είναι γνωστό ότι σχεδόν όλοι οι πλασματικοί παράγοντες εκτός του FVIII παράγονται στο ήπαρ, συνεπώς οποιαδήποτε ηπατική δυσπραγία είναι άμεσα συνδεδεμένη με μείωση των επιπέδων ποικίλων παραγόντων (FII, FVII, FIX, FX, I, FXI, FXII). Τα επίπεδα του FVIII είναι αυξημένα, δεδομένου ότι συντίθεται στο ΔΕΣ. Οι φυσικοί ανασταλτές της αιμόστασης, PC, PS, AT, είναι και αυτοί ελαττωμένοι. Θρομβοπενία και αυξημένα D-dimers μαρτυρούν συνυπάρχουσα μικρού βαθμού DIC. [80,82,102]

Η Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (disseminated intravascular coagulation, DIC) προσθέτως με τα ανωτέρω που αναφέρθηκαν αποτελεί μία δευτεροπαθή οντότητα, που συνήθως σχετίζεται με σοβαρά νοσήματα και καταστάσεις. Ασφυξία, τραύμα, σηψαιμία, σοβαρό ΣΑΔ, Kasabach-Merritt σύνδρομο, κακοήθειες είναι οι πιο συχνές καταστάσεις που συνοδεύονται από διάφορης βαρύτητας DIC.[83-85] Στο σύνδρομο, όλα τα συστήματα της αιμόστασης ενεργοποιούνται και η αυξημένη γένεση θρομβίνης προάγει το σχηματισμό θρόμβων σε διάφορα όργανα. Στη διαδικασία σχηματισμού των θρόμβων, διάφοροι παράγοντες της πήξης καταναλώνονται (I, FVII, FV, FVIII, PC, PS, AT, platelets, increased D-dimers), και ο ασθενής μπορεί να αιμορραγήσει από τα σημεία των φλεβοκεντήσεων ή και τους βλεννογόνους. Η μη έκδηλη DIC (non-overt DIC) είναι δύσκολο να διαγνωσθεί. Ο ακρογωνιαίος λίθος στην αντιμετώπιση της DIC είναι όχι μόνο η θεραπεία της υποκείμενης νόσου που την προκάλεσε αλλά και η ταυτόχρονη θεραπεία υποκατάστασης των παραγόντων που ανεπαρκούν. [85]

5.3 Διαταραχές των αιμοπεταλίων (Platelet disorders)

1) Κληρονομικές θρομβοπενίες (Congenital Thrombocytopenias)

Ως θρομβοπενία (TP) χαρακτηρίζεται κάθε τιμή αιμοπεταλίων $<150 \times 10^9 /L$ (φυσιολογικές τιμές $150-400 \times 10^9 /L$) και τιμές αιμοπεταλίων κάτω από $100 \times 10^9 /L$ οφείλουν να διερευνώνται. Η επίπτωση της TP στον νεογνικό πληθυσμό ανέρχεται σύμφωνα με τη βιβλιογραφία σε 0.7-0.9% και σε ICU (intensive care unit) 20-40%. Περίπου ένα ποσοστό 20-40% των περιπτώσεων TP στα νεογνά είναι άγνωστης αιτιολογίας. Από τα θρομβοπενικά νεογνά, 20% παρουσιάζουν επίπεδα αιμοπεταλίων $<50 \times 10^9 /L$. Η θνησιμότητα καθώς και το ποσοστό νευρολογικών υπολειμμάτων μετά από εγκεφαλική αιμορραγία σε αυτή την ομάδα νεογνών, είναι υψηλά. [100,101]

Ασθενείς με κληρονομική θρομβοπενία μπορεί να παρουσιάζουν μία ή περισσότερες από τις εξής εκδηλώσεις: μακροθρομβοπενία / μικροθρομβοπενία, ανοσολογικές διαταραχές, σκελετικές ανωμαλίες, νοητική υστέρηση, κώφωση / καταρράκτη / αλφισμό, καρδιοπάθεια, νεφρική δυσλειτουργία. Η κληρονομικότητά τους μπορεί να είναι φυλοσύνδετη (σπάνια) ή με αυτοσωματικό - υπολειπόμενο ή επικρατούντα τρόπο. Σύνδρομο Tar (TP, απουσία κερκίδος), σύνδρομο Wiskott Aldrich (TP, μικρός όγκος αιμοπεταλίων, έκζεμα, ανοσολογικό έλλειμμα, φυλοσύνδετος χαρακτήρας μεταβίβασης), αμεγακαρουκυτταρική θρομβοπενία (TP, ανωμαλίες των άκρων) αποτελούν σπάνιες ποσοτικές διαταραχές των αιμοπεταλίων. Αναιμία Fanconi (πανκυτταροπενία, συγγενείς ανωμαλίες, υπολειπόμενη αυτοσωματική κληρονομικότητα), Σύνδρομο Alport (μακροθρομβοπενία, συγγενείς ανωμαλίες, νεφρική δυσλειτουργία), είναι γνωστά συγγενή σύνδρομα. Von Willebrand νόσος τύπου IIb (μακροθρομβοπενία, παθολογική προσκόλληση αιμοπεταλίων και vWF, επικρατούν σωματικός χαρακτήρας μεταβίβασης), Μεσογειακή μακροθρομβοπενία, Mediterranean macrothrombocytopenia, (ήπια TP, μακροθρομβοπενία, επικρατούν αυτοσωματικός χαρακτήρας κληρονομικότητας), σύνδρομο Bernard Soulier (ανεπάρκεια glycoprotein Ib, μακροθρομβοπενία, παθολογική συγκόλληση αιμοπεταλίων με ριπτοσετίνη, επικρατούν σωματικός χαρακτήρας μεταβίβασης), σύνδρομο May-Hegglin anomaly και Sebastian anomaly (επικρατούν σωματικός χαρακτήρας μεταβίβασης) συνδυάζονται με μακροθρομβοπενία. Σύνδρομο Fechtner, σύνδρομο Trousseau, σύνδρομο Chediak-Higashi (TP, θρομβοπάθεια, ανοσολογικό έλλειμμα, αλφισμός, επικρατούν αυτοσωματικός χαρακτήρας μεταβίβασης) αποτελούν ορισμένες ακόμα πιο σπάνιες κληρονομικές διαταραχές. [78,79,90-92] (Πίνακας I)

Πίνακας I: Κληρονομικές θρομβοπενίες
<p>Σύνδρομο Tarr</p> <p>Σύνδρομο Wiskott-Aldrich</p> <p>Αμεγακαρυοκυτταρική θρομβοπενία</p> <p>Σύνδρομο Alport</p> <p>Αναιμία Fanconi</p>
<p>Σύνδρομο Sebastian</p> <p>Σύνδρομο Fechtner</p> <p>Σύνδρομο Trousseau</p> <p>Σύνδρομο Chediak-Higashi</p>
<p>Νόσος von Willebrand τύπος IIb</p> <p>Μεσογειακή μακροθρομβοπενία</p> <p>Σύνδρομο Bernard- Soulier</p> <p>Ανωμαλία May-Hegglin</p>

2) Επίκτητες θρομβοπενίες (Acquired thrombocytopenias)

Τα αίτια της επίκτητης θρομβοπενίας μπορεί να είναι ποικίλα όπως: αποτέλεσμα μειωμένης παραγωγής ή αυξημένης κατανάλωσης, υπερσπληνισμού ή και ενός συνδυασμού αυτών. Μειωμένη σύνθεση μπορεί να είναι αποτέλεσμα της διήθησης του μυελού όπως συμβαίνει σε καταστάσεις όπως είναι το συγγενές νευροβλάστωμα, συγγενής λευχαιμία ή Letterer Siwe. Θρομβοπενία από την άλλη πλευρά η οποία οφείλεται σε αυξημένη καταστροφή των αιμοπεταλίων μπορεί να συμβεί στις εξής καταστάσεις: βακτηριακή / ιογενής / παρασιτική ή λοίμωξη από πρωτόζωα, DIC (disseminated intravascular coagulation), TORCH, νεκρωτική εντεροκολίτιδα, σύνδρομο HELLP, σύνδρομο Kasabach-Merritt, εκλαμψία/ προεκλαμψία κατά την κύηση κ.α. Επίσης καταστάσεις όπως είναι το ΣΑΔ, η φωτοθεραπεία, το HUS (αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο) / TTP (thrombotic thrombocytopenic purpura- θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα), μεταβολικά νοσήματα, η ενδομήτρια καθυστέρηση ανάπτυξης του εμβρύου, μετά από μετάγγιση, σύνδρομο υπεργλοιότητας (συγγενής κυανωτική καρδιοπάθεια), μπορεί να συνοδεύονται από θρομβοπενία. [93-95]

Η TP μπορεί να αποτελεί πρώιμο εργαστηριακό εύρημα στη νεογνική σηψαιμία από Gram- ή Gram+ βακτήρια και η προοδευτική αύξηση των επιπέδων των αιμοπεταλίων (PC) αποτελεί ένδειξη ανταπόκρισης στη θεραπεία. Μεμονωμένη TP μπορεί να αποτελεί επίσης εύρημα στα πλαίσια της DIC. Νεογνική άνοση TP (Neonatal Immune TP) μπορεί να είναι αποτέλεσμα καταστροφής των αιμοπεταλίων στην περιφέρεια, οφειλόμενη σε αυτοάνοσο ή αλλοάνοσο μηχανισμό. Νεογνική

αυτοάνοση TP {Neonatal Autoimmune TP (NATP)} μπορεί να συμβεί, όταν η μητέρα πάσχει από ITP (άνοση TP), SLE (Systemic Lupus Erythimatosous), σύνδρομο Evans (άνοση ΘΠ/άνοση αναιμία) ή φαρμακευτική TP (Πίνακας II). Η μητέρα έχει συνήθως χαμηλά επίπεδα αιμοπεταλίων, ενώ περιγράφονται και περιπτώσεις όπου η μητέρα μπορεί να έχει φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων είτε λόγω λήψης φαρμακευτικής αγωγής, σπληνεκτομής ή ύπαρξης προηγούμενου ιστορικού ITP. Σ' αυτές τις περιπτώσεις, παράγεται μεγάλη ποσότητα αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων τα οποία περνάνε από την κυκλοφορία της μητέρας προς το έμβryo μέσω του πλακούντα, καταστρέφουν τα αιμοπετάλια του και οδηγούν σε θρομβοπενία. Νεογνική αλλοάνοση TP {Neonatal alloimmune TP (NAITP)} προκύπτει από ασυμβατότητα αιμοπεταλιακών αντιγόνων μεταξύ μητέρας και πατέρα στην περίπτωση που το έμβryo κληρονομήσει το γονότυπο του πατέρα. Τα πιο ισχυρά αντιγόνα, υπεύθυνα για NAITP, είναι το HPA1a, το HPA5b, και HLA25. Η μητέρα, αρνητική για το υπεύθυνο αντιγόνο, παράγει αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα, τα οποία περνούν τον πλακούντα και προκαλούν TP στο νεογέννητο. Περίπου το 2.5% των γυναικών είναι αρνητικές για το αντιγόνο HPA1a, ωστόσο 1/20-50 γυναίκες (1:1500 κήσεις) ευαισθητοποιούνται. Ο κίνδυνος για TP ανέρχεται σε 40-50% για την πρώτη εγκυμοσύνη και 80-90% για κάθε επόμενη εγκυμοσύνη. Επιπλέον είναι γνωστή και η Καλοήθης TP κύησης (Gestational benign TP) η οποία συνοδεύεται από ήπια ασυμπτωματική TP (PC: ~ 100X 10⁹/L) και εκδηλώνεται κατά το 3ο τρίμηνο της κύησης σε υγιείς γυναίκες. Δεν ανιχνεύονται αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα, όμως η επιβίωση των αιμοπεταλίων είναι μειωμένη, λόγω ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης. Ο τύπος αυτός TP δεν συνοδεύεται από TP στο νεογέννητο. [96,97]

3) Κληρονομικές θρομβασθένειες (Congenital thrombasthenias)

Οι κληρονομικές θρομβασθένειες, σπάνιες ποιοτικές διαταραχές των αιμοπεταλίων, κατά κανόνα δεν εκφράζονται κατά τη νεογνική περίοδο. Θρομβασθένια Glanzman, σύνδρομο Bernard Soulier και May Hegglin anomaly (μεγάλα αιμοπετάλια) είναι γνωστές οντότητες, παρότι σπάνιες. Ο τρόπος μεταβίβασης είναι υπολειπόμενος σωματικός για τις δύο πρώτες και επικρατούν για την τρίτη. Ο αδρός έλεγχος της αιμόστασης είναι φυσιολογικός, εκτός από το χρόνο ροής και τη συστολή θρόμβου, ωστόσο, η διάγνωση μπαίνει με το χαρακτηριστικό για την κάθε θρομβασθένεια τύπο διαταραχών στις δοκιμασίες συγκολλητικότητας. [98,99]

4) Επίκτητες θρομβασθένειες (Acquired thrombasthenias)

Οι επίκτητες θρομβασθένειες είναι σχετικά συχνές και συνήθως συσχετίζονται με λήψη αντιβιοτικών, αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, αντιϊσταμινικών και ινδομεθακίνης (Πίνακας II). Η ασπιρίνη αντενδείκνυται σε ασθενείς με διαταραχές της αιμόστασης, καθώς είναι γνωστό ότι

παρεμβαίνει στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και επιδεινώνει την αιμορραγική διάθεση.[103]

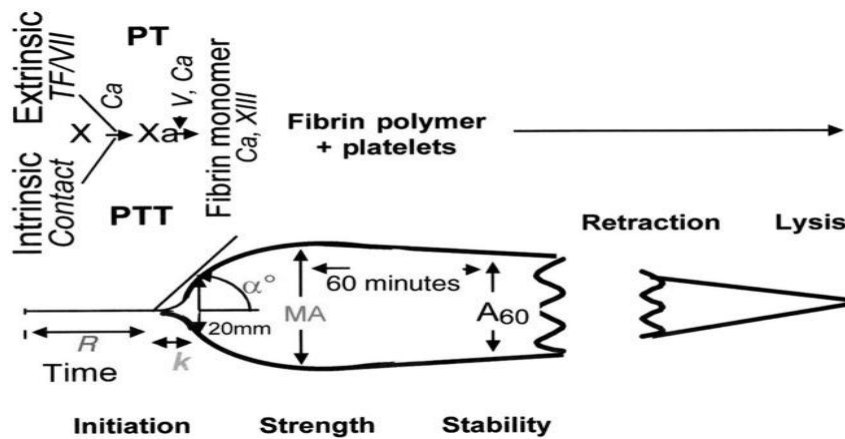
Πίνακας II: Επίκτητες θρομβοπενίες
<p>Συγγενές νευροβλάστωμα</p> <p>Συγγενής λευχαιμία</p> <p>Letterer Swive</p> <p>Λοιμώξεις βακτηριακές/ ιογενείς</p> <p>Λοιμώξεις παρασιτικές /πρωτοζωικές</p>
<p>Νεκρωτική εντεροκολίτιδα</p> <p>Σύνδρομο Kasabach-Merritt</p> <p>Σύνδρομο HELLP</p> <p>Σύνδρομο TORCH</p> <p>ΣΑΔ (Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας)</p> <p>Φωτοθεραπεία</p>
<p>Άνοση θρομβοπενία</p> <p>DIC (διάχυτη ενδαγγειακή πήξη)</p> <p>HUS/TTP (αιμολυτικό ουραιμικό Σύνδρομο/Θρομβωτικής Θρομβοπενικής πορφύρας)</p> <p>Σύνδρομο υπεργλοιότητας του νεογνού (Neonatal hyperviscosity syndrome)</p>
<p>Θρομβοπενία μετά αφαιμαξομετάγγιση</p> <p>Μεταβολικά νοσήματα</p> <p>Ενδομήτρια καθυστέρηση αύξησης</p>

6. Θρομβοελαστογραφία/ Θρομβοελαστομετρία

Η θρομβοελαστογραφία (TEG) η οποία περιγράφηκε αρχικά το 1948, [104] και εξελίχθηκε σημαντικά με το πέρασμα των ετών και η περιστροφική θρομβοελαστομετρία (ROTEM) η οποία αποτελεί μια περαιτέρω εξέλιξη της κλασικής TEG, είναι δύο ιξωδοελαστικές δοκιμασίες που επιτρέπουν την εκτίμηση συνολικά του συστήματος της πήξης από την αρχή του σχηματισμού του θρόμβου ως την ινωδόλυση, συμπεριλαμβάνοντας τόσο τα κυτταρικά συστατικά όσο και τα συστατικά του πλάσματος και ταυτόχρονα επιτρέποντας τη δυναμική αξιολόγηση των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων του θρόμβου μέσω γραφικής αναπαράστασης του σχηματισμού θρομβίνης, του πολυμερισμού του ινώδους και της λύσης του θρόμβου. Λαμβάνουν υπόψη τις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων κυττάρων του αίματος, ενώ παρέχουν

πρόσβαση στο αιμοστατικό προφίλ του ασθενούς σε πραγματικό χρόνο παρά την κλίνη του (point of care). [105]

Αυτές οι τεχνολογίες παρέχουν μια οπτική αξιολόγηση του σχηματισμού του θρόμβου και της επακόλουθης λύσης του υπό συνθήκες χαμηλής διάτμησης (0,1/sec) παρόμοιες με εκείνες που υπάρχουν στην κοίλη φλέβα. Η σχέση μεταξύ των αλληλεπιδράσεων των παραγόντων πήξης, των αναστολέων, των ερυθρών αιμοσφαιρίων, των αιμοπεταλίων και των αντιπηκτικών κατά τη διάρκεια σχηματισμού του θρόμβου και της επακόλουθης ινωδόλυσης όπως καταγράφεται από το ROTEM και το TEG κατά τη διάρκεια αυτού του χρονικού διαστήματος, απεικονίζονται στην Εικ. 10. Επιπλέον, η Εικ. 10 απεικονίζει τη σχέση του ROTEM και του TEG με τις συνήθεις εργαστηριακές δοκιμές της πήξης στο πλάσμα μέσω των κλασικών ενδογενών και εξωγενών οδών χρησιμοποιώντας το χρόνο προθρομβίνης (PT) και τον ενεργοποιημένο χρόνο μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT). [106]

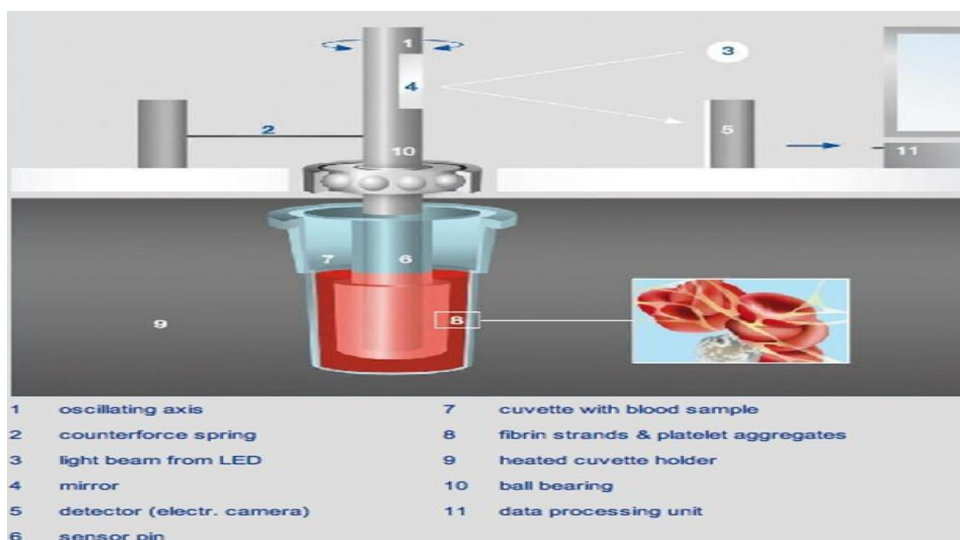


Εικ.10. Απεικονίζεται η σχέση μεταξύ μιας κανονικής εξόδου TEG και των τυπικών δοκιμών πήξης, του PT και του PTT.

6.1 Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου

Τόσο η ROTEM όσο και η TEG αξιολογούν την κινητική και την ισχύ σχηματισμού και ακολούθως την κινητική διάλυσης του θρόμβου μετρώντας και εμφανίζοντας το μέγεθος μιας συνεχώς εφαρμοζόμενης περιστροφικής δύναμης η οποία μεταδίδεται σε ένα σύστημα ηλεκτρομηχανικής μεταγωγής με την ανάπτυξη θρόμβου. Στη δοκιμασία ROTEM το πλήρες αίμα (340 μ l) διοχετεύεται αυτόματα με πιπέτα σε ένα κύπελλο μιας χρήσης το οποίο είναι σταθερό. Στη συνέχεια βυθίζεται ένας κυλινδρικός πείρος στο δείγμα και ταλαντεύεται αρχικά στις 4⁰75' κάθε 6 δευτερόλεπτα σε σταθερή δύναμη. Καθώς η ιξωδοελαστική ισχύς του θρόμβου αυξάνεται, η περιστροφή του άξονα παρεμποδίζεται με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια ισορροπία ανάμεσα στην τάση του ελατηρίου και την τάση του θρόμβου. Τα αποτελέσματα αναλύονται κατόπιν με τη βοήθεια ενός ειδικού λογισμικού. Προκύπτει επομένως μια καμπύλη αντίδρασης, η ανάλυση της οποίας οδηγεί σε

διάφορες αριθμητικές παραμέτρους που αφορούν τη συνοχή, τη λύση του θρόμβου, αλλά και κινητικές παραμέτρους. Παράλληλα, το σύστημα έχει τη δυνατότητα να προλαμβάνει πιθανά σφάλματα που οφείλονται σε μηχανικό ή ηλεκτρονικό θόρυβο με τη βοήθεια εξελιγμένου λογισμικού εξομάλυνσης, ενώ επιπλέον μπορεί να ανιχνευτούν και φάρμακα τα οποία επηρεάζουν την πήξη. Τα αποτελέσματα προσδιορίζονται σε πραγματικό χρόνο και παρουσιάζονται γραφικά υπό τη μορφή γραφικής παράστασης όπου το εύρος της περιστροφής του εμβόλου μετατρέπεται σε γραφικό εύρος. Η περιστροφή ανιχνεύεται οπτικά μέσω μιας κατοπτρικής πλάκας στο άνω άκρο του άξονα, μιας διόδου λυχνίας ως πηγή φωτός και ενός φωτοευαίσθητου αισθητήρα (Εικ.11). [105-107]



Εικ.11. Αρχή της θρομβοελαστομετρίας με το Rotem® delta (26)

Από την άλλη πλευρά στην TEG, ένα δείγμα αίματος (340 µl) διοχετεύεται με πιπέτα χειροκίνητα σε ένα αναλώσιμο κύπελλο και ταλαντεύεται στις 4⁰45' κάθε 5 δευτερόλεπτα. Μια καρφίτσα ασφαλισμένη σε ένα σύρμα στρέψης αιωρείται μέσα στο αίμα και καθώς η ιξωδοελαστική δύναμη αυξάνει κατά τον σχηματισμό του θρόμβου, η κίνηση της καρφίτσας αλλάζει και ανιχνεύεται από καλώδιο το οποίο είναι συνδεδεμένο με έναν μετατροπέα. Ένα ηλεκτρομηχανικό σήμα, μεταδίδεται μέσω μιας διεπαφής υπολογιστή όπου και εμφανίζεται γραφικά η ανάλυση σε πραγματικό χρόνο. Αξίζει να σημειωθεί ότι μια τυπική συσκευή ROTEM είναι ικανή να αναλύει 4 δείγματα ταυτόχρονα ενώ μια τυπική συσκευή TEG μπορεί να αναλύει 2 δείγματα. Επιπλέον, η συσκευή TEG είναι ευαίσθητη σε εξωτερικούς κραδασμούς. [105-108]

Οι δύο συσκευές που διατίθενται σήμερα και χρησιμοποιούν τις αρχές της θρομβοελαστογραφίας είναι:

1. TEG® 500 Haemostatic Analyzer System
2. ROTEM® δέλτα (TEM Innovations GmbH, Munchen)

Και οι δύο εταιρείες έχουν κυκλοφορήσει νεότερους αναλυτές.

Και τα δύο αυτά μηχανήματα είναι συνδεδεμένα με υπολογιστή, ο οποίος με τη χρήση ενσωματωμένου μαθηματικού αλγόριθμου εξάγει πληροφορίες για το αιμοστατικό προφίλ του ασθενούς. Οι παράμετροι που μετρούν και τα δύο είναι παρόμοιες, αλλά έχουν διαφοροποιημένες ονομασίες.

Το TEG5000 χρησιμοποιεί καψίδια (κύπελα+ακίδες/cups and pins) και μεμονωμένα αντιδραστήρια για την κάθε δοκιμασία. Διατίθενται δύο είδη καψιδίων: χωρίς (διάφανα καψίδια) και με ηπαρινάση (μπλέ καψίδια). Οι δοκιμασίες που διενεργούνται στον αναλυτή TEG είναι οι εξής:

A) Kaolin TEG: μια δοκιμασία με ενεργοποιημένη την ενδογενή οδό πήξης, παρόμοια με τον ενεργοποιημένο χρόνο μερικής θρομβοπλαστίνης .

B) Kaolin TEG με προστιθέμενη ηπαρινάση η οποία βρίσκεται μέσα σε cup (μπλε). Ανιχνεύει την παρουσία ηπαρίνης, χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη (LMWH) και πολύ χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη(VLMWH) χρησιμοποιείται μαζί με το kaolin TEG για την εκτίμηση της παρουσίας συστηματικής ηπαρίνης ή ηπαρινοειδών.

Γ) Rapid TEG: μια δοκιμασία με ενεργοποιημένες την ενδογενή και την εξωγενή οδό της πήξης. Παρέχει μια πιο γρήγορη μέτρηση της ισχύς του θρόμβου συγκριτικά με την τυπική kaolin TEG. Χρησιμοποιείται συνήθως σε επείγουσες καταστάσεις όπως είναι το τραύμα.

Δ) Platelet mapping TEG η οποία αξιολογεί τη λειτουργία των αιμοπεταλίων και παρακολουθεί την αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία χρησιμοποιώντας την kaolin TEG του ασθενούς ως μάρτυρα.

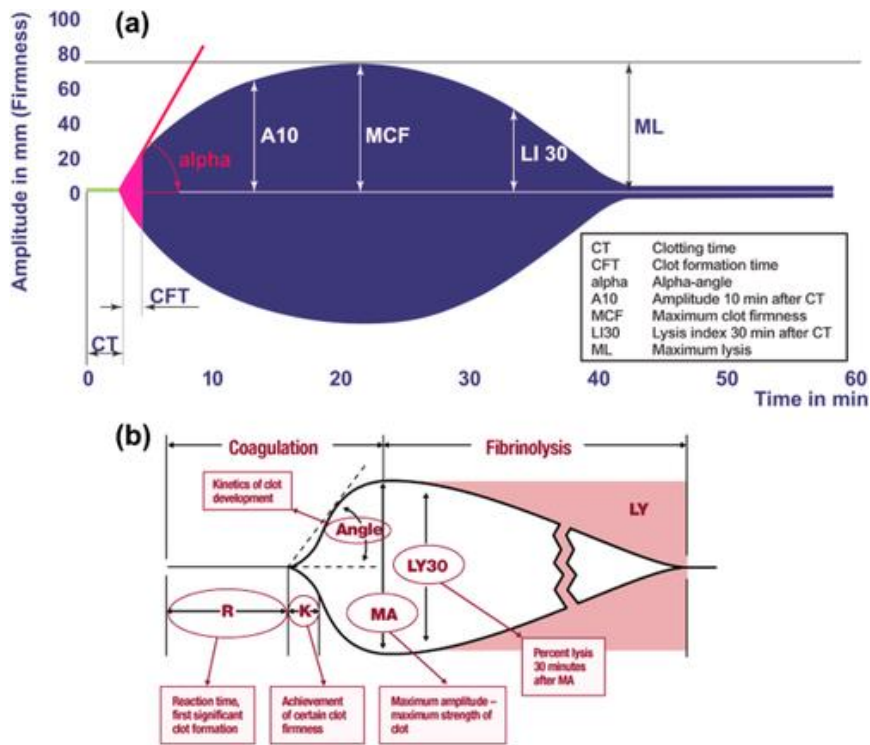
E) Μία ανάλυση TEG με λειτουργικό ινωδογόνο η οποία αποτελεί μια δοκιμασία με ενεργοποιημένη την εξωγενή οδό χρησιμοποιώντας έναν αναστολέα της γλυκοπρωτεΐνης (Gb) IIb/IIIa (abciximab) για να εμποδίσει την αιμοπεταλιακή λειτουργία. Χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την kaolin TEG ώστε να εκτιμηθεί η σχετική συμβολή των αιμοπεταλίων και του ινώδους στην ισχύ του θρόμβου. [109]

Η ROTEM χρησιμοποιεί ένα συνδυασμό έξι δοκιμασιών: [110]

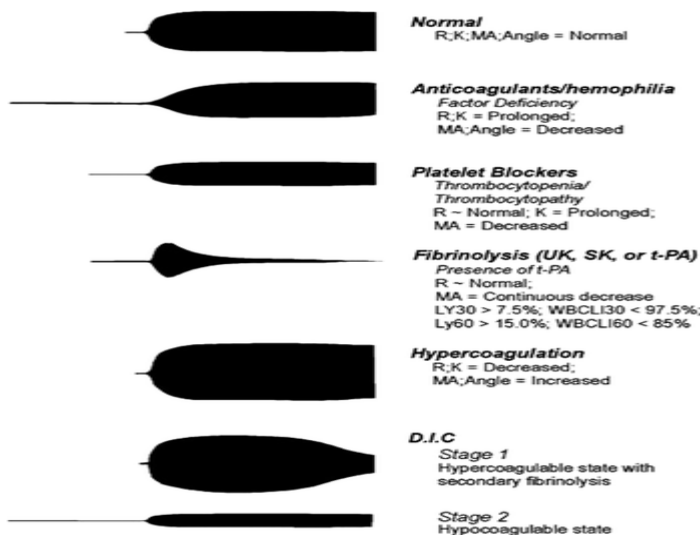
- NATEM: αξιολογεί το σχηματισμό θρόμβου σε ολικό αίμα με κιτρικό προσθέτοντας μόνο CaCl_2 .
- INTEM: αξιολογεί την ενδογενή οδό της πήξης χρησιμοποιώντας καολίνη ή ελαγικό οξύ, παρόμοια με το aPTT.
- EXTEM: εξετάζει την εξωγενή οδό της πήξης μέσω της ενεργοποίησης με ιστικό παράγοντα (TF). Αξιολογούνται οι παράγοντες I, II, V, VII, X, τα αιμοπετάλια και η ινωδόλυση.
- FIBTEM: αναλύει το σχηματισμό ινώδους παρουσία αναστολέα αιμοπεταλίων (κυτοχλασίνη D). Χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το EXTEM.
- HEPTM: αξιολογεί την επίδραση της ηπαρίνης χρησιμοποιώντας ηπαρινάση για την εξουδετέρωση της μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης. Χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το INTEM.
- APTEM: προστίθεται ασβέστιο, ενεργοποιητής της εξωγενούς οδού και απροτινή η οποία εμποδίζει την ινωδόλυση. Το αποτέλεσμα συγκρίνεται με το διάγραμμα του EXTEM.
- ECATEM: περιέχει εκαρίνη που αδρανοποιεί την ιρουδίνη.

6.2 Οι κύριες παράμετροι της μεθόδου

Οι συσκευές ROTEM και TEG παρέχουν ουσιαστικά τις ίδιες πληροφορίες σχετικά με την κινητική και την ισχύ σχηματισμού των θρόμβων. Επιπλέον, οι δύο δοκιμές χρησιμοποιούν διαφορετική ονοματολογία για να περιγράψουν τις ίδιες παραμέτρους. Αυτή η ονοματολογία συνοψίζεται στο Σχ.1. Ο χρόνος πήξης (CT) για τη δοκιμασία ROTEM και ο ρυθμός αντίδρασης (R) για την TEG ορίζονται και οι δύο ως ο χρόνος σε λεπτά που χρειάζεται για να φτάσει το ίχνος σε πλάτος 2 mm. Ο χρόνος σχηματισμού θρόμβου (CFT) και ο χρόνος κινητικής (K) ορίζονται ως ο χρόνος που απαιτείται για να αυξηθεί το πλάτος του θρόμβου από 2 σε 20 mm. Η γωνία (α) προσδιορίζεται με τη δημιουργία μιας εφαπτομένης γραμμής από το σημείο έναρξης του θρόμβου (CT ή R) μέχρι την κλίση της αναπτυσσόμενης καμπύλης. Η μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (MCF) για τη ROTEM και το μέγιστο πλάτος (MA) για την TEG είναι τα μέγιστα πλάτη (δύναμη) του θρόμβου. Για την TEG, το Lysis 30 και το Lysis 60 (LY30 και LY60) είναι οι ποσοστιαίες μειώσεις στην περιοχή κάτω από την καμπύλη TEG, υποθέτοντας ότι το MA παραμένει σταθερό, τα οποία συμβαίνουν 30 και 60 λεπτά μετά την επίτευξη του MA. Για τη ROTEM, ο δείκτης Lysis 30 (LI30) είναι το ποσοστό μείωσης του MCF που υπάρχει όταν το πλάτος μετράται 30 λεπτά μετά την ανίχνευση CT. Τα δείγματα ιχνηλάτησης της TEG φαίνονται στο Σχήμα 2, απεικονίζοντας φυσιολογικά και μη φυσιολογικά αποτελέσματα. [111,112]



Σχ.1. α) Μια απεικόνιση εξόδου ROTEM που δείχνει την έναρξη, τη διάδοση, τη σταθεροποίηση και τη λύση του θρόμβου. (β) Απεικόνιση εξόδου TEG που δείχνει την έναρξη, τη διάδοση, τη σταθεροποίηση και τη λύση του θρόμβου



Σχ.2. Απεικόνιση μιας κανονικής εξόδου TEG σε σύγκριση με την έξοδο που παρατηρείται σε διάφορες πηκτικές καταστάσεις.

1. Χρόνος πήξης R (κατά TEG® 500) και CT/Clotting time CT,(s) κατά ROTEM]

Ο χρόνος πήξης περιγράφει το χρονικό διάστημα από την έναρξη της εξέτασης, έως την έναρξη σχηματισμού του θρόμβου και πιο συγκεκριμένα πόσο γρήγορα ξεκινάει ο σχηματισμός του ινώδους αναφερόμενος στο διάστημα από τη στιγμή της προσθήκης του αντιδραστηρίου μέχρι τη στιγμή που το πλάτος του θρόμβου είναι 2mm. Επηρεάζεται κυρίως από τη συγκέντρωση των παραγόντων πήξης καθώς και από τη λήψη αντιπηκτικών. Η κλινική χρησιμότητα της εξέτασης έγκειται στην καθοδήγηση της απόφασης για την υποκατάσταση παραγόντων πήξης πχ με χρήση φρέσκου κατεψυγμένου πλάσματος, συμπυκνωμένων παραγόντων ή αναστολέων αντιπηκτικών (πρωταμίνη).

Αυξημένος χρόνος R ή CT παρατηρείται σε καταστάσεις όπως:

- I. Ανεπάρκεια παραγόντων πήξης
- II. Σοβαρή υποϊνωδογοναιμία
- III. Χορήγηση αντιπηκτικών

Ενώ μειωμένος χρόνος R ή CT επισυμβαίνει σε καταστάσεις όπως είναι τα σύνδρομα υπερπηκτικότητας και μπορεί να αντανάκλα διαταραχές σε επίπεδο παραγόντων πήξης οι οποίες δε σχετίζονται πάντα με διαταραχές των PT και aPTT. [111,112]

2. Χρόνος σχηματισμού θρόμβου ή σταθερά K (κατά TEG® 500) και CFT (κατά ROTEM)

Είναι ο χρόνος ανάμεσα στο σήμα πλάτους 2mm και 20mm. Περιγράφει την επόμενη φάση της πήξης, την κινητική σχηματισμού ενός σταθερού θρόμβου μέσω της δράσης ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και ινώδους. Αντανάκλα επομένως τον αριθμό των αιμοπεταλίων και τη συμβολή τους στη δημιουργία σταθερού θρόμβου, καθώς και τα επίπεδα του ινωδογόνου και την ικανότητα πολυμερισμού του. Η κλινική της χρησιμότητα έγκειται στην απόφαση λήψης αιμοπεταλίων, ινωδογόνου ή και των δύο. Ένας βραχύς χρόνος K ή CFT είναι ενδεικτικός υπερπηκτικότητας ενώ αυξημένος χρόνος K ή CFT δύναται να συμβεί σε καταστάσεις όπως είναι η ανεπάρκεια παραγόντων πήξης, η θρομβοπενία, η υποϊνωδογοναιμία και οι διαταραχές της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων. [111,112]

3. Γωνία άλφα [α,(°)] και για τις δύο δοκιμασίες

Ως γωνία α ορίζεται η γωνία ανάμεσα στο μέσο άξονα και την εφαπτόμενη της καμπύλης πήξης στο σημείο εύρους 2mm. Περιγράφει την κινητική της πήξης δηλαδή την ταχύτητα σύνθεσης – ενίσχυσης του θρόμβου. Μετρά το ποσοστό του σχηματισμένου θρόμβου σε συγκεκριμένο χρόνο (ίδιος με αυτόν της σταθερά K ή CFT) και έχει φυσιολογικό εύρος τιμών 22° -38° (σε ολικό αίμα) και 53° -67° (σε ολικό αίμα παρουσία καολίνης). Η διαγωνιστική της αξία είναι παρόμοια με της K ή CFT. Συνεπώς μια μειωμένη α γωνία είναι δηλωτική καταστάσεων υποπηκτικότητας όπως

θρομβοπενία ή υποϊνωδογοναιμία ενώ αυξημένες τιμές γωνίας α είναι ενδεικτικές αυξημένης ταχύτητας θρόμβου και ανευρίσκονται συνήθως σε σύνδρομα υπερπηκτικότητας. [111,112]

4. Μέγιστη σταθερότητα θρόμβου MA (κατά TEG® 500) και MCF (κατά ROTEM)

Εκφράζει το μέγιστο πλάτος που έχει λάβει ο θρόμβος προτού αρχίσει να λύεται από τον ινωδολυτικό μηχανισμό και συνεπώς είναι ενδεικτικός της τελικής μέγιστης αντοχής και της ποιότητας του θρόμβου. Επηρεάζεται από τα αιμοπετάλια (κατά 80%) και το ινωδογόνο (κατά 20%). Μια χαμηλή τιμή MA/MCF δηλώνει χαμηλή σταθερότητα του θρόμβου και ενδεχόμενο κίνδυνο αιμορραγίας όπως σε καταστάσεις θρομβοπενίας, μειωμένης λειτουργικότητας αιμοπεταλίων, υποϊνωδογοναιμίας, ενώ από την άλλη πλευρά, μια υψηλή τιμή συνήθως οφείλεται σε σύνδρομα υπερπηκτικότητας. Είναι βοηθητικός δείκτης στην απόφαση χορήγησης υποκατάστατων ινωδογόνου ή αιμοπεταλίων. Είναι σημαντικός ο αποκλεισμός της υπερिनωδύλωσης πριν τη χορήγηση ινωδογόνου γιατί οδηγεί στη δημιουργία ασταθούς θρόμβου σε αυτή την περίπτωση. [111,112]

5. A10, A20 και A30

Είναι το πλάτος μετά από ένα χρονικό διάστημα x από το CT (πχ A30 μετά από 30 min). Αντιπροσωπεύουν τη σταθερότητα του θρόμβου στα 10, 20 και 30 λεπτά αντίστοιχα, μετά από την επίτευξη του CT, επηρεάζονται επίσης από τον αριθμό των αιμοπεταλίων, το ινωδογόνο, και τον παράγοντα XIII και είναι πολύ προβλεπτικοί για την τιμή του MCF. [111,112]

6. Σταθερά G ή MCE

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

7. Lysis Index-(%)

Ο δείκτης λύσης είναι μια παράμετρος που αντιπροσωπεύει την ινωδύλωση σε ένα καθορισμένο χρονικό σημείο και είναι η σχέση του πλάτους προς τη μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (% εναπομένουσα σταθερότητα θρόμβου). Έτσι το LI30%, LI45%, LI60%: μετρά το ποσοστό μείωσης του πλάτους του θρόμβου 30, 45 και 60min αντίστοιχα μετά από το CT ή R.

8. ML (%)

Η μέγιστη λύση είναι μια παράμετρος που περιγράφει το βαθμό ινωδύλωσης σε σχέση με το δείκτη MCF που επιτυγχάνεται κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Μετρά το ποσοστό μείωσης του πλάτους του θρόμβου μετά από MCF/MA σε σχέση την MCF/MA και αντανακλά το βαθμό-ρυθμό της ινωδύλωσης. Αυξημένη τιμή ML σημαίνει υπερινωδύλωση. [111,112]

6.3 Εφαρμογές της θρομβοελαστογραφίας/θρομβοελαστομετρίας

Η θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία πρωτοπεριγράφηκε ως μέθοδος το 1948, ενώ από το 1985 ξεκίνησε να χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της αιμόστασης ασθενών κατά τη διάρκεια χειρουργείων μεταμόσχευσης ήπατος. Το 1995 εισήχθη στην κλινική πράξη η θρομβοελαστομετρία που αποτελεί εξέλιξη της παλαιότερης μεθόδου. [104,105] Εκτός από την αποτελεσματική χρήση της θρομβοελαστογραφίας στην καθοδήγηση για περισσότερο στοχευμένες μεταγγίσεις στις μεταμοσχεύσεις, η μέθοδος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως πολύτιμο εργαλείο στην αναγνώριση των κυκλοφορούντων ηπαραιοειδών τα οποία συσχετίζονται με την κίρρωση, και πιθανόν συμμετέχουν στη διαταραχή της εύθραυστης ισορροπίας του μηχανισμού της πήξης σε ευπαθείς ασθενείς με βακτηριδιακές λοιμώξεις, δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και αιμοδυναμικές διαταραχές λόγω πυλαίας υπέρτασης. Ακόμη, η αξιοποίησή της σε ασθενείς με σταθερή χρόνια ηπατική νόσο, μπορεί να οδηγήσει στην ανίχνευση καταστάσεων υπό ή υπερπηκτικότητας ώστε να υπάρξει πρόληψη για πιθανή αιμορραγία σε περιπτώσεις επεμβατικών πράξεων (όπως βιοψία ήπατος) αφενός ή στην αποφυγή της θρόμβωσης αφετέρου.[113] Επιπλέον με τη θρομβοελαστογραφία δίνεται μια γρήγορη και κλινικά σημαντική εκτίμηση για την αιμόσταση των ασθενών με αιμορραγία σε καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις, [114,115] μετά από τραύμα, [116-118] στον τομέα της μαιευτικής σε περιπτώσεις σημαντικής αιμορραγίας π.χ. μετά από έναν εργώδη τοκετό [119] καθώς και σε ασθενείς με σηψαιμία και πολυοργανική ανεπάρκεια που είναι καταστάσεις με πολύπλοκες και προεξάρχουσες αιμοστατικές διαταραχές, οι οποίες σχετίζονται με αυξημένη θνητότητα. [120,121] Η μέθοδος εκλογής για την αξιολόγηση της αιμόστασης σε αυτές τις περιπτώσεις πρέπει να είναι γρήγορη, αξιόπιστη και στοχευμένη, χαρακτηριστικά τα οποία διαθέτει η θρομβοελαστογραφία. Επίσης η μέθοδος τα τελευταία χρόνια κερδίζει ολοένα και περισσότερους υποστηρικτές, με αποτέλεσμα να διευρύνονται οι τομείς στους οποίους χρησιμοποιείται όπως είναι η γενική χειρουργική, η ορθοπεδική, [168] η νευροχειρουργική [169] και η αναισθησιολογία, ο τομέας της ογκολογίας καθώς η μέθοδος θα μπορούσε να είναι ένας πολύτιμος σύμμαχος στην αναγνώριση των ασθενών με κακοήθεια [170] που βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο θρομβοεμβολικής νόσου προκειμένου να λάβουν προφυλακτική θεραπεία αλλά και στη διαχείριση των ασθενών που χρήζουν συχνών μεταγγίσεων και κατά συνέπεια θα υπήρχε μεγάλο οικονομικό όφελος αφενός, αλλά και μείωση του κινδύνου που ελλοχεύουν οι μεταγγίσεις αφετέρου, αν υπήρχε μια μέθοδος που θα μπορούσε να μειώσει αυτό το ποσοστό όπως είναι η θρομβοελαστογραφία. [121-126]

Επιπλέον οι διαταραχές της αιμόστασης των νεογνών κερδίζουν ολοένα και μεγαλύτερο επιστημονικό ενδιαφέρον τόσο λόγω των βελτιωμένων διαγνωστικών μεθόδων όσο και του αυξημένου ποσοστού επιβίωσης των πρόωρων και των πασχόντων νεογνών. [127] Η αιμόσταση αποτελεί μία δυναμική διαδικασία η οποία ξεκινά ήδη από τη μήτρα. Ο μηχανισμός πήξης-

ινωδόλυσης υπό φυσιολογικές συνθήκες βρίσκεται σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του εμβρύου-νεογνού σε κατάσταση δυναμικής ισορροπίας και αποτελεί ένα πολύπλοκο βιοχημικό δίκτυο, το οποίο εξελίσσεται διαρκώς από τη νεογνική έως και την ενήλικη ζωή. Για τον λόγο αυτό το υγιές νεογνό, πρόωρο ή τελειόμηνο δεν αιμορραγεί ούτε θρομβώνει. Κατά τη γέννηση στο υγιές τελειόμηνο νεογνό παρατηρείται ένα σύνθετο σύστημα αιμόστασης, το οποίο συνίστανται σε ανεπάρκεια των παραγόντων της πήξης, ανεπάρκεια φυσικών ανασταλτών και σε διαταραχές των στοιχείων της ινωδόλυσης. [128,129]

Ωστόσο, παρά τις σύνθετες διαταραχές της αιμόστασης, σε κλινικό επίπεδο, το υγιές τελειόμηνο ή πρόωρο νεογνό δύσκολα κάνει αιμορραγίες ή θρομβώσεις, διότι υπό φυσιολογικές συνθήκες μεταξύ των συστημάτων διατηρείται μία δυναμική ισορροπία, η οποία όμως διαταράσσεται και εκτρέπεται προς την μία (αιμορραγία συχνότερα) ή την άλλη κατεύθυνση (θρόμβωση σπανιότερα), όταν υπάρχουν κληρονομικές ή επίκτητες συνηθέστερα διαταραχές της αιμόστασης ή επιπλέον παθολογικοί παράγοντες όπως είναι οι λοιμώξεις, η ασφυξία κ.ά. Οι διαταραχές αυτές της αιμόστασης αποτελούν καθημερινό και υψίστης σημασίας πρόβλημα ανάμεσα σε εκείνα που προκύπτουν κατά τη νοσηλεία των νεογνών στη μονάδα εντατικής θεραπείας και χρήζουν σαφώς έγκαιρης διάγνωσης και αντιμετώπισης από τον νεογνολόγο. [128,129]

Οι εργαστηριακές δοκιμασίες όπως π.χ. το APTT (χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης), ο προσδιορισμός του χρόνου προθρομβίνης (PT), που εκφράζεται με τον διεθνή δείκτη ομαλοποίησης (INR), είναι συχνά παρατεταμένες συγκριτικά με εκείνες των ενηλίκων, υποδηλώνοντας πιθανή αιμορραγική διάθεση, ενώ από την άλλη πλευρά η μέτρηση μεμονωμένων παραγόντων δεν βοηθά στη διαφορική διάγνωση της διαταραχής του αιμοστατικού μηχανισμού στα νεογνά. [130] Οι εργαστηριακές εξετάσεις αιμόστασης στα νεογνά αποτελούν αρκετά μεγάλη πρόκληση. Αρχικά χρειάζεται ικανοποιητική ποσότητα αίματος, κάτι που ενώ στον ενήλικα είναι συνήθως απλό, στα νεογνά μπορεί να είναι εξαιρετικά δύσκολο, ενώ δεν πρέπει να ξεχνά κανείς ότι τα νεογνίδια έχουν μεγαλύτερο αιματοκρίτη γεγονός που επίσης επηρεάζει τη σχέση ολικού αίματος και αντιπηκτικού στο φιαλίδιο συλλογής. Εκτός από τις παραπάνω δυσκολίες, ο καθορισμός ορίων αναφοράς, που προφανώς πρέπει να είναι διαφορετικά σε σχέση με αυτά των ενηλίκων, είναι επίσης δυσχερής. Τα αντιδραστήρια του κάθε εργαστηρίου διαφέρουν, ενώ είναι δύσκολο να συλλεχθεί αίμα από υγιή νεογνά και παιδιά για να χρησιμοποιηθούν ως μάρτυρες. Ως αποτέλεσμα, τα περισσότερα εργαστήρια αντιστοιχούν τις μετρήσεις των νεογνών με αυτές των ενηλίκων ή τις συγκρίνουν με δημοσιευμένα όρια αναφοράς παιδιών. Για τον κλινικό ιατρό και τον νεογνολόγο οι παραπάνω δυσκολίες είναι πολύ σημαντικές αν σκεφτεί κανείς ότι καλείται συχνά να ερμηνεύσει ένα παθολογικό αποτέλεσμα. Τα πράγματα είναι ακόμη δυσκολότερα αν ο έλεγχος δεν αφορά υγιή νεογνά, αλλά νεογνά με νοσηρότητα, οπότε και διαταράσσεται η λεπτή ισορροπία που προφυλάσσει το νεογνό από αιμορραγία ή θρόμβωση. Κατά συνέπεια οι μεταβολές στον αιμοστατικό μηχανισμό

των νεογνών και η ανεπάρκεια των εξετάσεων ρουτίνας για την ολοκληρωμένη μελέτη της αιμόστασης συχνά οδηγούν σε υπερδιαγνώσεις ή ακόμα και εσφαλμένες διαγνώσεις. Επιπλέον σε ασθενή νεογνά είναι δύσκολη η διάκριση μιας παθολογικής τιμής λόγω ηλικίας ή ασθένειας. Αυτό καταδεικνύει την ανάγκη για περισσότερο αντιπροσωπευτικούς για την ηλικία εργαστηριακούς ελέγχους, ώστε η θεραπευτική αντιμετώπιση να είναι στοχευμένη και αποτελεσματική. Είναι γεγονός ωστόσο, ότι τα τελευταία χρόνια φαίνεται πως έχει αρχίσει να στρέφεται το ενδιαφέρον προς αυτή την κατεύθυνση, με τη θρομβοελαστογραφία/θρομβοελαστομετρία να κερδίζει όλο και περισσότερο έδαφος, με στόχο την θέσπιση ορίων αναφοράς, ενώ παράλληλα μελετώνται και νεογνά με διαφορετικές παθολογίες, όπως τα πρόωρα νεογνά, τα ELBW/VLBW ή SGA νεογνά, νεογνά με υποξία/ περιγεννητική ασφυξία ή νεογνά με ΣΑΔ, νεογνά τα οποία χρήζουν πολλαπλών μεταγίσεων (η χρήση της θρομβοελαστογραφίας/θρομβοελαστομετρίας ακολουθώντας αλγόριθμους θεραπευτικής χορήγησης παραγώγων αίματος, θα μπορούσε να μειώσει σημαντικά τις μεταγίσεις προϊόντων αίματος τόσο στον ενήλικο, όσο και στον παιδιατρικό αλλά και νεογνικό πληθυσμό), και εκείνα με καρδιοαναπνευστική ανεπάρκεια ή σε λοίμωξη, ώστε να διαπιστωθεί αν η μέθοδος μπορεί να συνεισφέρει στην πρόβλεψη της αιμορραγίας ή των θρομβώσεων καθώς επίσης και στην έγκαιρη διάγνωση ποικίλων νοσηροτήτων, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση των σηπτικών νεογνών, και συνεπώς να καθοριστεί εάν έχει θέση στη νεογνολογική μονάδα. [131-137,153-156]

7. Η διαγνωστική-θεραπευτική αξία της Θρομβοελαστογραφικής δοκιμασίας NATEM στον ενήλικο, παιδιατρικό και νεογνικό πληθυσμό

Οι μέθοδοι της θρομβοελαστομετρίας όπως οι EXTEM και INTEM χρησιμοποιούνται συνήθως διαγνωστικά στη διαχείριση της σοβαρής αιμορραγίας. Ωστόσο ορισμένες φορές παρατηρείται αιμορραγία στον ασθενή παρά τις φυσιολογικές τιμές των παραμέτρων EXTEM/ INTEM. Οι μέθοδοι αυτοί χρησιμοποιούνται σε επείγουσες καταστάσεις κυρίως όταν απαιτούνται πληροφορίες σχετικά με τις διαταραχές της αιμόστασης του ασθενούς το συντομότερο δυνατό. Εντούτοις, πρέπει να ληφθεί υπόψιν ότι τα αντιδραστήρια τα οποία χρησιμοποιούνται για την in vitro ενεργοποίηση της πήξης στις ανωτέρω μεθόδους μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. [137-140] Αντιθέτως η δοκιμασία της μη ενεργοποιημένης θρομβοελαστομετρίας NATEM η οποία αποτελεί μια ειδική εξέταση του ROTEM και αξιολογεί τόσο την ενδογενή όσο και την εξωγενή οδό πήξης χωρίς την προσθήκη αντιδραστηρίων για την ενεργοποίηση της πήξης και στην οποία η ενεργοποίηση της πήξης βασίζεται αποκλειστικά στη χορήγηση ασβεστίου, δύναται να αποκαλύψει διαταραχές της αιμόστασης που δεν ανιχνεύονται μέσω των EXTEM/ INTEM όπου

χρησιμοποιούνται ιστικός παράγοντας και ελλαγικό οξύ, αντίστοιχα, προκειμένου να ενεργοποιηθεί η πήξη.

Από μελέτες που έχουν γίνει στους ενήλικες φαίνεται ότι η μέθοδος NATEM είναι πολύ ευαίσθητη στους ενδογενείς ενεργοποιητές της πήξης όπως είναι ο ιστικός παράγοντας, τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα σε καταστάσεις όπως η λοίμωξη, η σηψαιμία, η ηπατική κίρρωση καθώς και σε ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με συσκευές εξωσωματικής υποβοήθησης. Συνεπώς η NATEM μπορεί να είναι χρήσιμη μέθοδος ανίχνευσης μιας παθοφυσιολογικής αλλαγής του μηχανισμού της πήξης που προκαλείται σε πολυτραυματίες ή σε ασθενείς με διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (DIC). Ωστόσο, οι γνώσεις μας σχετικά με τον ρόλο της ανάλυσης NATEM στην ανίχνευση αιμοστατικών διαταραχών είναι περιορισμένη, ειδικά σε ορισμένους πληθυσμούς όπως είναι τα νεογνά και τα παιδιά. [138-141]

Σύμφωνα με μία βιβλιογραφική συστηματική ανασκόπηση [142], στην οποία συμπεριλήφθηκαν συνολικά τριάντα μελέτες σχετικές με τη δοκιμασία της μη ενεργοποιημένης θρομβοελαστομετρίας NATEM κατά τη διάρκεια 12 ετών (από το 2010 έως το 2022) και στην οποία έλαβαν μέρος συνολικά 1477 συμμετέχοντες (ΜΟ ηλικίας 51-81 έτη), μόνο οι δύο αξιολόγησαν τη δοκιμασία NATEM στο νεογνικό πληθυσμό (από την 3^η ημέρα ζωής), ενώ οι υπόλοιπες αφορούσαν τη χρήση της δοκιμασίας NATEM σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Από τις ανωτέρω μελέτες, οι είκοσι πραγματοποιήθηκαν στην Ευρώπη, τρεις μελέτες πραγματοποιήθηκαν στην Ιαπωνία και τις ΗΠΑ, μία μελέτη στην Αυστραλία, μία στη Ρωσία, μία στη Βραζιλία και μια μελέτη έλαβε χώρα στο Ισραήλ. Τα αποτελέσματα από τις 30 συμπεριλαμβανόμενες μελέτες της ανασκόπησης, ομαδοποιήθηκαν σε τέσσερις κατηγορίες: α) πειραματική μελέτη με χρήση της ανάλυσης NATEM (n=7), β) αξιολόγηση της ανάλυσης NATEM σε υγιείς ανθρώπους εθελοντές (n=8), γ) αξιολόγηση της ανάλυσης NATEM μεταξύ ασθενών και υγιών εθελοντών και δ) αξιολόγηση της ανάλυσης NATEM μόνο σε ασθενείς (n = 8). [142]

Μεταξύ των 30 μελετών που συμπεριλήφθηκαν στην ανασκόπηση, οι 23 ήταν μελέτες παρατήρησης (συμπεριλαμβανομένων οκτώ μελετών κοορτής, μίας μελέτης ασθενών-μαρτύρων και δύο μελετών που αφορούσαν σε ασθενείς) ενώ δύο ήταν πιλοτικές μελέτες και επτά ήταν πειραματικές μελέτες in vitro. Σε δύο από αυτές, οι παράμετροι NATEM συγκρίθηκαν μεταξύ πληθυσμών ζώων (μπαμπούνιοι ή πίθηκοι) και ανθρώπων. Δύο μελέτες αξιολόγησαν την επίδραση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την in vitro επαγόμενη από αλβουμίνη αραιωτική πηκτικότητα σε παραμέτρους θρομβοελαστομετρίας χρησιμοποιώντας την ανάλυση NATEM ενώ και δύο μελέτες διερεύνησαν τις επιδράσεις των ομοιοπαθητικών φαρμάκων και σκληρυντικών ουσιών στο σχηματισμό του θρόμβου και της ινωδόλυσης, μέσω της NATEM δοκιμασίας. Επίσης δεκαεπτά συνολικά μελέτες ανέδειξαν τη χρησιμότητα της ανάλυσης NATEM σε διάφορες ομάδες ασθενών

με διαφορετικές ασθένειες, όπως η αιμορροφιλία A, κίρρωση ήπατος με ή χωρίς θρόμβωση της πυλαίας φλέβας, ανεπάρκεια των παραγόντων XI ή VII, πολλαπλούν μυέλωμα, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS), μη ταξινομημένες αιμορραγικές διαταραχές, όγκους εγκεφάλου καθώς και διαταραχές κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Τέλος, η ανασκόπηση συμπεριέλαβε δύο μελέτες οι οποίες αφορούσαν στο νεογνικό πληθυσμό και αξιολόγησαν μέσω της δοκιμασίας NATEM το αιμοστατικό προφίλ και τον μηχανισμό ινωδολύσης του, λαμβάνοντας αίμα ομφαλίου λώρου. [143-152]

Μια ανάλυση NATEM παρέχει μια ολοκληρωμένη εικόνα του αιμοστατικού μηχανισμού και αποτελεί μια ιδιαίτερα ευαίσθητη μέθοδο για την ανίχνευση των ενδογενών ενεργοποιητών πήξης όπως είναι ο ιστικός παράγοντας. Αν και το ενδιαφέρον για τις ιξωδοελαστικές μεθόδους (TEG και ROTEM) διαρκώς αυξάνεται στο πεδίο της αιμόστασης και της θεραπευτικής μετάγγισης σε ενήλικες και νεογνά, εντούτοις είναι περιορισμένα τα βιβλιογραφικά στοιχεία σχετικά με την ικανότητα της NATEM δοκιμασίας στην ανίχνευση αιμοστατικών διαταραχών σε νεογνά ή ενήλικες. Τα δημοσιευμένα στοιχεία όσον αφορά στη NATEM είναι σπάνια σε σύγκριση με τις αναλύσεις INTEM, EXTEM και FIBTEM. Είναι αξιοσημείωτο επίσης, ότι η χρήση της NATEM στα νεογνά εξακολουθεί να είναι περιορισμένη λόγω της έλλειψης καθορισμένων τιμών αναφοράς. Επιπρόσθετα, δεν υπάρχουν συγκριτικές μελέτες που να αποδεικνύουν την υπεροχή της ανάλυσης NATEM έναντι της EXTEM ή INTEM στην πρόγνωση των αιμοστατικών διαταραχών ή/και στην πρόβλεψη της εμφάνισης αιμορραγικών συμβαμάτων.

Μια δοκιμασία NATEM όπως αναφέρθηκε παραπάνω, αξιολογεί τόσο την ενδογενή όσο και την εξωτερική οδό πήξης χωρίς κανένα αντιδραστήριο για την ενεργοποίηση της πήξης. Σε αντίθεση με τις δοκιμασίες EXTEM και INTEM, οι οποίες χρησιμοποιούν ιστικό παράγοντα και ελλαγικό οξύ, αντίστοιχα, για την ενεργοποίηση της πήξης, η NATEM περιέχει μόνο ασβέστιο για να αντιστρέψει τη δράση του κιτρικού στο ολικό αίμα του δείγματος. Επομένως, δεδομένου ότι δεν απαιτούνται ενεργοποιητές πήξης στον προσδιορισμό της ανάλυσης NATEM, αυτή η μέθοδος θα μπορούσε ενδεχομένως να παρέχει μια πιο ακριβή απεικόνιση του *in vivo* αιμοστατικού μηχανισμού σε σύγκριση με τις αναλύσεις EXTEM και INTEM. Τέλος, η NATEM είναι φθηνότερη δοκιμασία από τις EXTEM και INTEM, καθώς δεν απαιτείται ενεργοποιητής αντιδραστήριου. Λόγω όλων αυτών των πλεονεκτημάτων της NATEM ανάλυσης, αυτή η εργαστηριακή μέθοδος αποτελεί αναμφίβολα μια ελκυστική επιλογή για μια εύκολη και γρήγορη αξιολόγηση της αιμόστασης, ιδιαίτερα στον νεογνικό πληθυσμό. Ένα μειονέκτημα της ανάλυσης NATEM, ωστόσο, είναι ο μεγαλύτερος χρόνος εκτέλεσης που απαιτείται για τα αποτελέσματα σε σύγκριση με τις άλλες αναλύσεις ROTEM. [153-159]

Παρά το γεγονός ότι τα αποτελέσματα των ενεργοποιημένων αναλύσεων ROTEM, όπως οι INTEM, EXTEM και η ανάλυση FIBTEM, παραμένουν ανεπηρέαστα σε δείγματα αίματος τα οποία αποθηκεύονται για έως και 2 ώρες, οι περισσότερες NATEM παράμετροι, όπως η CT και η CFT, επηρεάζονται σημαντικά από το χρονικό διάστημα μεταξύ της αιμοληψίας και της ανάλυσης του δείγματος. Υποτίθεται ότι αυτό προκαλείται από την αποικοδόμηση του κιτρικού στα ερυθρά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια μέσω του κύκλου του κιτρικού οξέος και την επακόλουθη αύξηση του ασβεστίου και επανενεργοποίηση της πήξης. Ένα άλλο πιθανό αίτιο της επίδρασης του χρόνου αποθήκευσης στις παραμέτρους NATEM είναι η ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού της πήξης μετά από επαφή του παράγοντα πήξης XII με καολίνη ή γυαλί. Ο παράγοντας XIIa ενεργοποιεί τον παράγοντα XI και ακολούθως τον παράγοντα IX, παρουσία ασβεστίου, με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου πήξης. Η συσσώρευση μικροσωματιδίων με προπηκτική ισχύ από ενεργοποιημένα κύτταρα θα μπορούσε επίσης να δικαιολογήσει τις αλλαγές στις NATEM παραμέτρους μετά την αποθήκευση του δείγματος. Επομένως, μια ανάλυση NATEM θα πρέπει να πραγματοποιείται σε πρόσφατα ληφθέν κιτρικό αίμα προκειμένου να είναι πιο αντιπροσωπευτικό της αιμοστατικής κατάστασης των ασθενών. [160-162]

Η ανάλυση NATEM έχει αναφερθεί ως μια πιθανή χρήσιμη εργαστηριακή δοκιμή για την αξιολόγηση της αιμόστασης σε ασθενείς με διάφορες ασθένειες όπως η αιμορροφιλία A [163], η κίρρωση ήπατος με ή χωρίς θρόμβωση της πυλαίας φλέβας [143], το πολλαπλούν μνέλωμα [146] και η προεκλαμψία [148] κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Η NATEM θα μπορούσε επίσης να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση μεταβολών στην πηκτική δραστηριότητα ασθενών που λαμβάνουν αντιπηκτικά φάρμακα. Παρά τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα της ανάλυσης NATEM στην ανίχνευση αιμοστατικών διαταραχών σε διάφορες καταστάσεις, υπήρξαν και ορισμένες μελέτες στις οποίες η ανάλυση NATEM δεν ήταν σε θέση να διακρίνει τους αιμορραγικούς και τους μη αιμορραγικούς ασθενείς, ούτε μπορούσε να προβλέψει τον κίνδυνο αιμορραγίας σε ασθενείς με σοβαρή ανεπάρκεια FXI που υποβάλλονται σε χειρουργική επέμβαση. [164] Πρόσφατα, επίσης η ανάλυση NATEM αναφέρθηκε ως χρήσιμο εργαλείο στην ταξινόμηση μεταξύ βαρέως πασχόντων και μη, ασθενών με COVID-19. [165]

Γενικά, οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες αναλύσεις ROTEM είναι οι EXTEM, INTEM και FIBTEM. Οι δοκιμασίες EXTEM και INTEM παρέχουν πληροφορίες για την εξωγενή και ενδογενή οδό πήξης, αντίστοιχα, καθώς και για την αλληλεπίδρασή τους με τα αιμοπετάλια και αποτελούν τα αρχικά βήματα ενός προσυμπτωματικού ελέγχου. Παράμετροι σταθερότητας του θρόμβου με την ανάλυση FIBTEM όπως είναι οι A5, A10 και ο MCF, καθορίζουν τόσο το επίπεδο ινωδογόνου όσο και τον πολυμερισμό του ινώδους ενώ σε συνδυασμό με τις αντίστοιχες παραμέτρους της EXTEM ανάλυσης, μπορούν επίσης να διαφοροδιαγνώσουν την υποϊνωδογοναιμία από τη μεμονωμένη

θρομβοπενία, καταστάσεις οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στη σταθερότητα και τις ελαστικές ιδιότητες του θρόμβου. Οι παράμετροι της ανάλυσης FIBTEM χρησιμοποιούνται επί του παρόντος σε κλινικούς αλγόριθμους και πρωτόκολλα με στόχο να καθοδηγήσουν και να εξατομικεύσουν τη θεραπεία σε διαταραχές της αιμόστασης μετά από τραύμα καθώς και στην περιεγχειρητική αντιμετώπιση ασθενών. [168] Αξίζει επομένως να σημειωθεί ότι η μέθοδος ROTEM/TEG μπορεί να συμβάλει στην αξιολόγηση της αιμόστασης ασθενών που πρόκειται να υποβληθούν σε κάποια χειρουργική επέμβαση, λαμβάνοντας υπόψη τόσο την αιμορραγία όσο και τον κίνδυνο θρομβώσεων, που αποτελούν αναμφίβολα συχνές επιπλοκές σε ασθενείς που υποβάλλονται σε χειρουργικές επεμβάσεις και η περιεγχειρητική διαχείρισή τους καθώς και εκείνων που βρίσκονται υπό αντιπηκτική αγωγή, αποτελεί σαφώς μία πολύπλοκη διαδικασία. [116-118] Παρά το γεγονός ότι οι αναλύσεις EXTEM και INTEM χρησιμοποιούνται συνήθως σε αλγόριθμους με στόχο τη διαχείριση των μεταγγίσεων και της σοβαρής αιμορραγίας ασθενών, εμφανής ή αυξημένη αιμορραγική διάθεση δύναται να υπάρχει παρά τις φυσιολογικές τιμές των EXTEM ή INTEM. Επιπλέον οι μέθοδοι EXTEM/INTEM χρησιμοποιούνται σε περίπτωση επείγουσας ανάγκης ώστε να δοθούν πληροφορίες για το αιμοστατικό προφίλ του ασθενούς άμεσα. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται για την in vitro ενεργοποίηση της πήξης στις παραπάνω μεθόδους μπορεί να οδηγήσουν σε λανθασμένα αποτελέσματα. [109-111]

Από την άλλη πλευρά, η μέθοδος NATEM, στην οποία η ενεργοποίηση της πήξης βασίζεται αποκλειστικά στη χορήγηση ασβεστίου, μπορεί να αποκαλύψει διαταραχές της πήξης οι οποίες δεν ανιχνεύονται από τις δοκιμασίες EXTEM/INTEM. Η συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αποκάλυψε περιορισμένα στοιχεία υποστηρίζοντας την υπεροχή της NATEM σε σύγκριση με τις EXTEM/INTEM στη διάγνωση και πρόγνωση αιμοστατικών διαταραχών. Ωστόσο, η ανάλυση NATEM φαίνεται να είναι μια ευαίσθητη μέθοδος στην ανίχνευση της υπερινωδόλυσης ενώ ακόμα, in vitro μελέτες έχουν δείξει ότι η ανάλυση NATEM θα μπορούσε να είναι μια χρήσιμη μέθοδος για την παρακολούθηση του βαθμού της ενδοθηλιακής βλάβης και με υψηλή ευαισθησία στην ανίχνευση αλλαγών στο αιμοστατικό προφίλ των ασθενών μετά από χορήγηση PCC. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία η ανάλυση NATEM μπορεί να παρέχει πιο λεπτομερείς πληροφορίες από τις άλλες αναλύσεις ROTEM όσον αφορά στον μηχανισμό αιμόστασης ασθενών με αιμορροφιλία Α που λαμβάνουν προφυλακτική θεραπεία με εμικιζουμάμπη. [142]

Συμπερασματικά, υπάρχουν ενδείξεις ότι η ανάλυση NATEM έχει υψηλή ευαισθησία στην ανίχνευση υπο- ή υπερπηκτικότητας και μπορεί να παρέχει μια λεπτομερή εικόνα για ολόκληρη την αιμοστατική διαδικασία από το σχηματισμό θρόμβου έως και τη διάσπασή του. Θα μπορούσε να είναι μια χρήσιμη μέθοδος για την παρακολούθηση της κατάστασης πήξης όχι μόνο των ενηλίκων, αλλά και των παιδιών ή των νεογνών, ενώ μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την καθοδήγηση

της αιμοστατικής θεραπείας και να προβλέψει ορισμένα κλινικά αποτελέσματα, όπως η θνησιμότητα/νοσηρότητα σε αυτούς τους ασθενείς. Ωστόσο, τα αναφερόμενα δεδομένα σχετικά με τη διαγνωστική/προγνωστική αξία μιας ανάλυσης NATEM σχετικά με διαταραχές της αιμόστασης που επισυμβαίνουν σε διάφορες ασθένειες καθώς και η αποτελεσματικότητά της στην καθοδήγηση της αιμοστατικής θεραπείας ποικίλλουν σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των δημοσιευμένων μελετών. Υπάρχει ανάγκη να καθοριστεί με σαφήνεια το εύρος αναφοράς και τα κατώτατα όρια για τη διάγνωση των διαταραχών αιμόστασης, την πρόβλεψη αυξημένου κινδύνου αιμορραγίας ή θνησιμότητας με στόχο την έγκαιρη και σωστή αντιμετώπιση τόσο του νεογνικού όσο και του ενήλικου πληθυσμού. [166,167]

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ

Πρωτεύον σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της δοκιμασίας της μη ενεργοποιημένης περιστροφικής θρομβοελαστομετρίας (ROTEM) NATEM στην ανίχνευση των διαταραχών αιμόστασης σε πάσχοντα νεογνά.

Δευτερεύον σκοπός ήταν η αξιολόγηση της ευαισθησίας και ειδικότητας των παραμέτρων της δοκιμασίας NATEM στην πρόβλεψη του κινδύνου αιμορραγίας και της έκβασής της σε βαρέως πάσχοντα νεογνά και παράλληλα η σύγκριση των αποτελεσμάτων της και της διακριτικής ισχύος της με εκείνες των παραμέτρων της μεθόδου EXTEM στην ανίχνευση του κινδύνου αιμορραγίας σε βαρέως πάσχοντα νεογνά.

2. ΥΛΙΚΟ

2.1. Σχεδιασμός μελέτης

Διενεργήσαμε μία μελέτη παρατήρησης στη Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών του Γενικού Νοσοκομείου Νίκαιας- Πειραιά «Άγιος Παντελεήμων» κατά τη χρονική περίοδο Ιούλιος 2017- Ιούλιος 2021. Το πρωτόκολλο της μελέτης σχεδιάστηκε, διεξήχθη και ήταν σύμφωνο με τη Διακήρυξη του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Νοσοκομείου (152/2017, 14/04/2017), ενώ έντυπο συγκατάθεσης δινόταν από τους γονείς ή κηδεμόνες πριν την εισαγωγή των νεογνών στη μελέτη.

2.2. Συμμετέχοντες

Στη μελέτη εισάχθηκαν 158 τελειόμηνα και πρόωρα νεογνά τα οποία νοσηλεύτηκαν στη MENN του Νοσοκομείου μας κατά το ανωτέρω χρονικό διάστημα, με την υποψία σήψης, με περιγεννητική υποξία και πρόωρα νεογνά με σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (ΣΑΔ) και ομαδοποιήθηκαν ως βαρέως πάσχοντα νεογνά. [173,174,187-190]

Τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη για τα νεογνά με πιθανή σηψαιμία ήταν τα ακόλουθα:

➤ **Κλινικά σημεία και συμπτώματα τα οποία σχετίζονται με τη σήψη περιλαμβάνουν:** i) θερμική αστάθεια (θερμοκρασία σώματος $>38^{\circ}\text{C}$, ή $<36^{\circ}\text{C}$ ή διαφορά κεντρικής και περιφερικής θερμοκρασίας $>3^{\circ}\text{C}$), ii) διαταραχές της σίτισης, iii) κοιλιακή διάταση, ηπατομεγαλία, iv) άπνοια, ανάγκη χορήγησης οξυγόνου ή μηχανικής υποστήριξης της αναπνοής, v) ταχυ-/ βραδυ-καρδία (ταχυκαρδία ορίζεται ως μέσος καρδιακός ρυθμός >2 τυπικές αποκλίσεις (SD) άνω του φυσιολογικού για την ηλικία απουσία εξωτερικών ερεθισμάτων, χρόνιων ταχυκαρδιακών φαρμάκων ή επώδυνων ερεθισμάτων ή άλλης ανεξήγητης ταχυκαρδίας σε χρονική περίοδο 0,5

έως 4 ωρών, ενώ βραδυκαρδία ορίζεται ως μέσος καρδιακός ρυθμός $<10^\circ$ για την ηλικία εκατοστημόριο, απουσία χορήγησης φαρμάκων όπως β-αναστολείς, συγγενούς καρδιακής νόσου ή άλλης ανεξήγητης επίμονης βραδυκαρδίας), vi) ιστική υποξία, υπόταση (μείωση της αρτηριακής πίεσης $<5^\circ$ για την ηλικία εκατοστημόριο ή συστολική αρτηριακή πίεση $>2SD$ κάτω από το φυσιολογικό για την ηλικία ή ανάγκη για αγγειοδραστικό φάρμακο για τη διατήρηση της αρτηριακής πίεσης σε κανονική κλίμακα), vii) ευερεθιστότητα, λήθαργος, υποτονία, viii) ωχρότητα, αιμορραγικό εξάνθημα, ίκτερος. Στους παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από το περιγεννητικό ιστορικό καταγράφηκαν η πρόωρη και παρατεταμένη ρήξη των μεμβρανών (>18 ώρες), το εμπύρετο της μητέρας κατά τον τοκετό και η χοριοαμνιονίτιδα. [171,172]

➤ **Εργαστηριακά ευρήματα ενδεικτικά σηψαιμίας:** i) μεταβολική οξέωση (έλλειμμα βάσεως $>10\text{mEq/L}$ ή/και αύξηση γαλακτικού οξέως $>2\text{mmol/L}$), ii) λευκοπενία ($\text{WBC}<5000/\text{mm}^3$), iii) απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων $>5400/\text{mm}^3$ ή $<500/\text{mm}^3$, iv) σχέση αώρων/ολικά ουδετερόφιλα (I/T) $>0,2$, v) θρομβοπενία ($\text{PLT}<100.000/\text{mm}^3$), v) αυξημένη CRP (3mg/L).

➤ Η επιβεβαιωμένη σήψη απαιτούσε την απομόνωση βακτηρίων ή μυκήτων σε καλλιέργεια αίματος και/ή εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY). [171,172]

Τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη για τα νεογνά με περιγεννητική υποξία ήταν τα παρακάτω:

➤ **Κλινικά σημεία και συμπτώματα τα οποία σχετίζονται με την περιγεννητική υποξία που έχουν ορίσει AAP και ACOG:** i) PH <7.0 και έλλειμμα βάσης $\geq 12\text{ mmol/L}$ σε δείγμα αίματος από την ομφαλική αρτηρία, ii) Apgar score ≤ 3 για περισσότερο από 5 λεπτά ή ≤ 5 στο 10^ο λεπτό ενώ είναι ακόμα αναγκαία η αναζωογόνηση, iii) σύνδρομο πολυοργανικής δυσλειτουργίας τις πρώτες 72 ώρες ζωής, iv) κλινική εικόνα εγκεφαλοπάθειας: υποτονία, παθολογικές κινήσεις οφθαλμών, ασθενές ή απόν αντανακλαστικό θηλασμού, άπνοια, υπέρπνοια ή κλινικά έκδηλοι σπασμοί που δεν μπορούν να αποδοθούν σε υπογλυκαιμία, ηλεκτρολυτικές διαταραχές, μεταβολικό νόσημα, γενετικές ή συγγενείς νευρολογικές διαταραχές, φαρμακευτική δράση. [173,174]

Τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη για τα πρόωρα νεογνά με σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (RDS) ήταν τα ακόλουθα:

➤ **Για τον ορισμό του ΣΑΔ, χρησιμοποιήθηκε ο Vermont Oxford ορισμός για τα πρόωρα νεογνά:** i) Μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα (PaO_2) $<50\text{mmHg}$ και κεντρική κυάνωση σε ατμοσφαιρικό αέρα, ii) ανάγκη χορήγησης οξυγόνου για διατήρηση $\text{PaO}_2 > 50\text{mmHg}$ ή κορεσμό παλμικής οξυμετρίας $> 85\%$, iii) Χαρακτηριστικά απεικονιστικά ευρήματα στην ακτινογραφία τις πρώτες 24 ώρες ζωής. [175,176]

Αναφορικά με τον ορισμό ΣΑΔ στα τελειόμηνα νεογνά χρησιμοποιούνται ευρέως τα κριτήρια των Liu και συν.: i) Οξεία εμφάνιση αναπνευστικής δυσχέρειας, ii) περιγεννητικό συμβάν όπως περιγεννητική ασφυξία, περιγεννητικό stress, εκλεκτική καισαρική τομή, πλην της πρώιμης σήψης, iii) προοδευτική αναπνευστική δυσχέρεια σύντομα μετά τη γέννηση, με συνοδό γογγυσμό, εισολκές κατά την εισπνοή, κυάνωση και μειωμένους ή απόντες αναπνευστικούς ήχους, iv) χαρακτηριστικά ακτινογραφικά ευρήματα στην ακτινογραφία θώρακος. [176]

Αιμορραγία στα σημεία φλεβοκέντησης, ενδοκοιλιακή ή περικοιλιακή αιμορραγία, πνευμονική αιμορραγία, δερματική, ουρολογική, γαστρεντερική, χειρουργική και οποιαδήποτε άλλη αιμορραγία που οδηγεί σε αιμοδυναμική αστάθεια καταγράφηκαν ως αιμορραγικά συμβάντα. Το εργαλείο αξιολόγησης της νεογνικής αιμορραγίας (NeoBAT) χρησιμοποιήθηκε για την καταγραφή και αξιολόγηση των κλινικών αιμορραγικών συμβάντων την ημέρα της ανάλυσης ROTEM. Για τη διάγνωση της Διάχυτης Ενδαγγειακής Πήξης (DIC), χρησιμοποιήθηκαν τα νεογνικά διαγνωστικά κριτήρια της Ιαπωνικής Εταιρείας Μαιευτικής, Γυναικολογικής και Νεογνικής Αιματολογίας (JSOGNH) (Πίv.1) [177]

Νεογνά με συμπτώματα που ήταν συμβατά με σηψαιμία όπως η αστάθεια της θερμοκρασίας, οι διακυμάνσεις του καρδιακού ρυθμού, οι άπνοιες, συμπτώματα από το γαστρεντερικό σύστημα ή εργαστηριακά ευρήματα τα οποία υποδείκνυαν σήψη, ταξινομήθηκαν ως νεογνά ύποπτα για σήψη. Η επιβεβαιωμένη σήψη απαιτούσε την απομόνωση βακτηρίων ή μυκήτων από καλλιέργεια αίματος ή/και εγκεφαλονωτιαίου υγρού.[187,188] Η περιγεννητική υποξία ορίστηκε με βάση τα κριτήρια που περιγράφηκαν προηγουμένως [173,174,189].

Πίνακας 1: Κριτήρια Διάχυτης Ενδαγγειακής Πήξης

Classification of type	Basic		Hematopoetic Disorder		Infectious	
Platelet count (x10 ⁴ /μl)	>12	0 p			>12	0 p
	8<-	1 p			8<-	1 p
	≤12				≤12	
	5<-≤8	2 p			5<-≤8	2 p
	≤5	3 p			≤5	3 p
	≥30 % decrease w/in 24 h	+1p			≥30 % decrease w/in 24 h	+1p
FDP (μg/ml)	<10	0 p	<10	0 p	<10	0 p
	10≤-	1 p		1 p	10 ≤-	1 p

	<20		10≤- <20		<20	
	20≤- <40	2 p	20≤- <40	2 p	20≤- <40	2 p
	≥40	3 p	≥40	3 p	≥40	3 p
Fibrinogen (mg/dl)	>150	0 p	>150	0 p		
	100<- ≤150	1 p	100<- ≤150	1 p		
	≤100	2 p	≤100	2 p		
Prothrombin time ratio	<1.25	0 p	<1.25	0 p	<1.25	0 p
	1.25≤- <1.67	1 p	1.25≤- <1.67	1 p	1.25≤- <1.67	1 p
	≥1.67	2 p	≥1.67	2 p	≥1.67	2 p
Antithrombin (%)	>70	0 p	>70	0 p	>70	0 p
	≤70	1 p	≤70	1 p	≤70	1 p
TAT, SF or F ₁₊₂	<2-fold of normal upper limit	0 p	<2-fold of normal upper limit	0 p	<2-fold of normal upper limit	0 p
	≥2-fold of normal upper limit	1 p	≥2-fold of normal upper limit	1 p	≥2-fold of normal upper limit	1 p
Liver failure (*2)	No	0 p	No	0 p	No	0 p
	Yes	-3p	Yes	-3p	Yes	-3p
DIC diagnosis	≥6 p		≥4 p		≥6 p	

Τα νεογνά τα οποία είχαν προηγουμένως μεταγγιστεί με φρέσκο καταψυγμένο πλάσμα ή αιμοπετάλια και εκείνα με συγγενείς δυσπλασίες, αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Επίσης τα νεογνά που διαγνώστηκαν με ενδοκοιλιακή αιμορραγία (IVH) με το υπερηχογράφημα εγκεφάλου τουλάχιστον 24 ώρες πριν από την ανάλυση ROTEM, αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

3. ΜΕΘΟΔΟΣ

Σε όλα τα νεογνά της μελέτης ελήφθη διεξοδικό οικογενειακό, μαιευτικό, περιγεννητικό και νεογνικό ιστορικό ενώ καταγράφηκαν και τα δημογραφικά στοιχεία των νεογνών αλλά και τα αποτελέσματα των εξετάσεων που διενεργήθηκαν.

3.1. Ιστορικό

-Οικογενειακό ιστορικό: κληρονομικά και χρόνια νοσήματα, συμπεριλαμβανομένων των διαταραχών της πήξης όπως είναι η θρομβοφιλία ή η αιμορραγική νόσος. (λήψη από τους γονείς)

-Μαιευτικό ιστορικό και ιστορικό παρούσας κύησης: ηλικία της μητέρας, αμβλώσεις, προηγούμενες κυήσεις ή τοκετοί, είδος τοκετού, επιπλοκές κατά την κύηση όπως αιμορραγία, συσπάσεις, εκλαμψία και προεκλαμψία, σακχαρώδης διαβήτης της κύησης, καρδιαγγειακές/νεφρικές ή παθήσεις του θυρεοειδούς αδένος, λοιμώδη νοσήματα (HSV, HBV, HIV, σύφιλη, CMV κ.ά.), ιστορικό θρομβοφιλίας της μητέρας, προγεννητική χορήγηση αντιπηκτικών ή άλλων φαρμάκων στη μητέρα, κάπνισμα, αλκοόλ, λήψη ναρκωτικών ουσιών. (λήψη από τους γονείς)

-Περιγεννητικό ιστορικό: είδος κύησης (απλή, δίδυμη, πολύδυμη) και διάρκεια της κύησης, είδος τοκετού (φυσιολογικός ή καισαρική τομή), χρόνος ρήξης και χρώση εμβρυϊκών υμένων, είδος αναισθησίας της επιτόκου και δείκτες λοίμωξης, εκτίμηση Apgar Score και ανάγκη ανάνηψης του νεογνού και το είδος αυτής. (λήψη από τον/την μαιευτήρα, τη μαία ή τον νεογνολόγο που ήταν παρόντες στον τοκετό)

3.2. Δημογραφικά χαρακτηριστικά

Σε όλα τα νεογνά της μελέτης καταγράφηκαν τα εξής:

-Φύλο

-Εθνικότητα

-Βάρος γέννησης (ΒΓ)

-Ηλικία κύησης (ΗΚ) (σε συμπληρωμένες εβδομάδες) η οποία προκύπτει με βάση την τελευταία έμμηνο ρύση (ΤΕΡ), το U/S- υπερηχογράφημα στην αρχή της κύησης (ανάμεσα στην 8^η και 14^η εβδομάδα κύησης) και επιβεβαιώνεται με τη βαθμολογία κατά Ballard.

3.3. Κλινική εξέταση νεογνού

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

Σε όλα τα νεογνά που νοσηλεύτηκαν στη MENN καταγράφηκαν οι εξής κλινικές παράμετροι:

- Βαθμός προωρότητας του νεογνού
- Διάφορα συμβάματα κατά τον τοκετό όπως κάταγμα κλείδας, κεφαλαιμάτωμα κ.ά.
- Επίπεδο εγρήγορσης του νεογνού
- Χρώμα και χρώση του δέρματος ή του ομφαλικού κολοβώματος με μηκόνιο
- Ανάγκη για αναπνευστική υποστήριξη, χορήγηση οξυγόνου
- Διάρκεια αερισμού και οξυγονοθεραπείας
- SGA νεογνό (μικρό για την ηλικία κύησης). Νεογνό με $BG < 10^{th} E\Theta$
- IUGR νεογνό (νεογνό με ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης)
- Παροδική ταχύπνοια-Καλοήθης αυτοπεριοριζόμενη κατάσταση αναπνευστικής δυσχέρειας όψιμων πρόωρων και τελειόμηνων νεογνών που σχετίζεται με καθυστέρηση της αποβολής του πνευμονικού υγρού.
- ΣΑΔ (Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας του νεογνού)
- NEK (Νεκρωτική εντεροκολίτιδα)
- IVH (Ενδοκοιλιακή/εγκεφαλική αιμορραγία)
- Περιγεννητική ασφυξία-για τον ορισμό της χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια των AAP (American Academy of Pediatrics) και ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists): α) Apgar score 0-3 για πάνω από 5 λεπτά, β) μεταβολική ή μικτή οξέωση με PH ομφαλίου λώρου (ομφαλική αρτηρία) πρώτης ώρας ζωής < 7 και έλλειμμα βάσης > 12 , γ) κλινικά σημεία νεογνικής εγκεφαλοπάθειας (υποτονία, σπασμοί, κώμα), δ) δυσλειτουργία πολλών οργάνων στην άμεση περιγεννητική περίοδο.
- BPD (Βρογχοπνευμονική δυσπλασία)

- Άλλες κλινικές νοσηρότητες: Σύνδρομα διαφυγής αέρα, Παραμένουσα πνευμονική υπέρταση, πνευμονική αιμορραγία, ατελεκτασία, νεογνική εγκεφαλοπάθεια.
- Γενετικά/μεταβολικά σύνδρομα
- Συγγενείς διαμαρτίες
- Αιμορραγικά ή θρομβωτικά επεισόδια
- Ημέρα εγκατάστασης πλήρους εντερικής σίτισης του νεογνού
- Θνητότητα
- Διάρκεια νοσηλείας των νεογνών στη MENN

Καταγράφηκαν επίσης κλινικά σημεία ή/και εργαστηριακά αποτελέσματα που υποδηλώνουν σηψαιμία η οποία απαιτεί την έναρξη αντιβιοτικών.

Τρόπος αιμοληψίας

Σε όλα τα νεογνά της μελέτης η αιμοληψία γινόταν μέσω αρτηριοκέντησης περιφερικής αρτηρίας με βελόνα φλεβοκέντησης με πτερύγια-‘πεταλούδα’-μεγέθους G23.

3.4 Εργαστηριακές και απεικονιστικές εξετάσεις

Στα πάσχοντα νεογνά, οι αναλύσεις ROTEM πραγματοποιήθηκαν κατά την έναρξη της νόσου (πρώτη ημέρα) και παράλληλα με τον ενδεικνυόμενο έλεγχο.

Σε όλα τα πάσχοντα νεογνά της μελέτης ο ενδεικνυόμενος έλεγχος περιελάμβανε:

-Γενική αίματος: ο προσδιορισμός του αριθμού και του τύπου των λευκών αιμοσφαιρίων και του αριθμού των αιμοπεταλίων, γινόταν στον αιματολογικό αναλυτή Sysmex XE-2100(Roche, IL,USA),και εν συνεχεία εξεταζόταν επίχρισμα αίματος μετά από προετοιμασία με χρώση Giemsa, σε οπτικό μικροσκόπιο, ώστε να προσδιοριστούν τα εμπύρηννα ερυθρά αιμοσφαίρια και οι άωρες μορφές ουδετερόφιλων (μυελοκύτταρα, μεταμυελοκύτταρα, ραβδοκύτταρα) και να υπολογιστεί ο δείκτης άωρων προς ολικά ουδετερόφιλα (I/T ratio).

-Βιοχημικός έλεγχος: όλες οι βιοχημικές παράμετροι (γλυκόζη, ουρία, κρεατινίνη, τρανσαμινάσες, ηλεκτρολύτες, χολερυθρίνη, λευκωματίνη κ.ά.) μετρήθηκαν σε αναλυτή EXL DIMENSION (SIEMENS, Healthcare Diagnostics, Newark, DE, USA), ενώ η CRP μετρήθηκε με νεφελομετρική μέθοδο ανοσοπροσδιορισμού, ενισχυμένη με σωματίδια (PETIA-Particle Enhanced Turbidimetric Immunoassay Technique, Gentian Diagnostics ASA, Norway).

-Οξοβασική ισορροπία: γινόταν προσδιορισμός PH, ελλείμματος βάσεως και γαλακτικού οξέος, PaO₂/FIO₂ στο περιφερικό αρτηριακό αίμα.

Επιπρόσθετα σε όλα τα πάσχοντα νεογνά λαμβάνονταν καλλιέργειες αίματος, ούρων και εγκεφαλονωτιαίου υγρού ή άλλων βιολογικών υγρών ανάλογα με την κλινική εικόνα του νεογνού, ενώ επίσης γινόταν απεικονιστικός έλεγχος (ακτινογραφίες ή υπερηχογραφήματα) επί κλινικής ένδειξης. Όλα τα νεογνά παρακολούθηθηκαν μέχρι την έξοδό τους από τη MENN.

3.5. Τεχνική Θρομβοελαστομετρίας

Θρομβοελαστομετρία ROTEM πραγματοποιήθηκε σε όλα τα νεογνά της μελέτης κατά την έναρξη της νόσου (πρώτη ημέρα), με τη χρήση της συσκευής «περιστροφικής θρομβοελαστομετρίας» 4 καναλιών (ROTEM® Whole Blood Haemostasis System Rotation Thromboelastography Tem Innovations GmbH, Munich, Germany). Πριν από την κάθε ανάλυση TEM γινόταν λήψη αρτηριακού αίματος από περιφερική αρτηρία του νεογνού με βελόνα 23-gauge και 0,6mm και το δείγμα ολικού αίματος τοποθετούνταν με σύστημα κενού σε σωληνάριο που περιείχε αντιπηκτικό (0.109 mol/L κιτρικού νάτριου με αναλογία όγκου αίματος/αντιπηκτικού 9:1) και αποθηκεύονταν σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να διεξαχθεί η μέτρηση. Το δείγμα 300μL αίματος με αντιπηκτικό, επωαζόταν σε θερμοκρασία 37° C για 2-5 λεπτά και έπειτα σε χρονικό διάστημα συντομότερο των 60 λεπτών από την αιμοληψία διενεργείτο η ανάλυσή του στη συσκευή ROTEM®. Η εξέταση ήταν σύμφωνη με τις οδηγίες του κατασκευαστή χρησιμοποιώντας τυποποιημένα αντιδραστήρια τα οποία περιείχαν ιστικό παράγοντα και φωσφολιπίδια (ex-TEM reagent). Ο σχηματισμός θρόμβου προκλήθηκε από την ενεργοποίηση της οδού πήξης χρησιμοποιώντας 20μl διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου (CaCl₂) 0,2M (αντιδραστήριο star-TEM) για τον προσδιορισμό της δοκιμασίας NATEM και την ανάμειξη 20μl CaCl₂ (0,2M) αντιδραστηρίου star-TEM με 20μl αντιδραστηρίου ex-TEM, για τη δοκιμασία EXTEM, εντός μιας πλαστικής κυβέτας. Κατόπιν, αφού τα αντιδραστήρια αναμειγνύονταν επαρκώς, τα 300μL κιτρικού ολικού αίματος προστίθεντο στην κυβέτα και η εξέταση TEM «έτρεχε» για τουλάχιστον 60 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της λύσης θρόμβου στα 30 λεπτά. Η εξέταση ex-TEM ολοκληρωνόταν εντός 2 ωρών από τη συλλογή του δείγματος ολικού αίματος. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε όλα τα δείγματα γινόταν προσεκτικά έλεγχος για θρόμβους ινώδους και στην περίπτωση παρουσίας μικροθρόμβων, το δείγμα απορριπτόταν.

Διενεργήθηκαν οι δοκιμασίες NATEM (για την αξιολόγηση του σχηματισμού θρόμβου ολικού αίματος σε κιτρικό προσθέτοντας μόνο CaCl₂) και η EXTEM (για τον έλεγχο της εξωγενούς οδού πήξης).

Οι μεταβλητές NATEM και EXTEM που αξιολογήθηκαν ήταν: ο χρόνος πήξης (CT, σε δευτερόλεπτα) ο οποίος περιγράφει πόσο γρήγορα ξεκινάει ο σχηματισμός του ινώδους αναφερόμενος στο διάστημα από τη στιγμή της προσθήκης του αντιδραστηρίου μέχρι τη στιγμή που το πλάτος της ταλάντωσης είναι 2mm, ο χρόνος σχηματισμού θρόμβου (CFT, σε δευτερόλεπτα), το

μέγεθος-πλάτος του θρόμβου που καταγράφηκε στα 10,20 και 30 λεπτά (A10,A20 και A30 αντίστοιχα), η α-γωνία (α°) που αντανακλά την κινητική σχηματισμού του θρόμβου, η μέγιστη σταθερότητα του θρόμβου (MCF, σε mm) η οποία υποδεικνύει την τελική αντοχή του θρόμβου, η μέγιστη ελαστικότητα του θρόμβου (MCE) υπολογισμένη ως $MCE = (100 \times MCF) / (100 - MCF)$ που επίσης αντιπροσωπεύει τη σταθερότητα του θρόμβου και ο δείκτης λύσης του θρόμβου στα 60 λεπτά (LI60%) που υποδεικνύει την ταχύτητα της ινωδόλυσης.

4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση περιελάμβανε περιγραφικά στατιστικά δεδομένα για τα δημογραφικά στοιχεία, τις κλινικές παραμέτρους και τα εργαστηριακά ευρήματα του πληθυσμού της μελέτης. Χρησιμοποιήθηκαν απόλυτες και ποσοστιαίες τιμές για κατηγορικές μεταβλητές και μέσες τιμές (Means) με σταθερή απόκλιση (Standard deviation-SD) ή αριθμητικοί μέσοι (Medians) με ενδοτεταρτημοριακό εύρος (Interquartile range-IQR) ανάλογα με την κανονικότητα ή μη της κατανομής της εκάστοτε αριθμητικής μεταβλητής. Το Shapiro-Wilk test χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της κανονικότητας των αριθμητικών μεταβλητών. Έγινε σύγκριση των δημογραφικών στοιχείων, των κλινικών παραμέτρων, των συμβατικών εργαστηριακών ευρημάτων και των παραμέτρων ROTEM ανάμεσα στα νεογνά με και χωρίς αιμορραγικές εκδηλώσεις, χρησιμοποιώντας το μη παραμετρικό Wilcoxon-Mann-Whitney test και το Chi Square test για συνεχείς και κατηγορικές μεταβλητές ανάλογα την περίπτωση.

Για την αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ των ευρημάτων ROTEM και των κλινικών αιμορραγικών επεισοδίων στα νεογνά της μελέτης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης αφού προηγήθηκε έλεγχος για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες όπως η ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης και το φύλο του νεογνού. Επιπλέον, διενεργήθηκε ανάλυση των χαρακτηριστικών λειτουργίας δέκτη (ROC) και υπολογίστηκε η περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) ώστε να εκτιμηθεί και να ποσοτικοποιηθεί η προγνωστική ικανότητα των παραμέτρων ROTEM για τα κλινικά αιμορραγικά συμβάντα. Οι βέλτιστες ‘cut-off’ τιμές για τις κλινικές αιμορραγικές εκδηλώσεις προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας τον δείκτη Youden.

Τέλος, για την εκτίμηση της προγνωστικής ικανότητας ανάμεσα στις παραμέτρους των NATEM και EXTEM δοκιμασιών, που αφορά στην πρόβλεψη των αιμορραγικών συμβαμάτων, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Hanley και McNeil [194]. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο Stata 15.0 (Stata Corp., College Station, TX, ΗΠΑ) ενώ για όλα τα τεστ, ως σημείο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε το $p\text{-value} < 0.05$.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν συνολικά 158 πάσχοντα νεογνά. Συγκεκριμένα, υπήρχαν 96 (60.8%) νεογνά με ύποπτη σήψη, η οποία επιβεβαιώθηκε σε 43 (27.2%) νεογνά. Συμπεριλήφθηκαν επίσης 51 (32.2%) νεογνά με περιγεννητική υποξία και 11 (6.9%) νεογνά με ΣΑΔ. Είκοσι ένα (13.2%) νεογνά ανέπτυξαν κλινικά αιμορραγικά επεισόδια. Το βάρος γέννησης ήταν χαμηλότερο στα νεογνά με αιμορραγικά επεισόδια (διάμεση τιμή ΒΓ:1899gr συγκριτικά με τα νεογνά που δεν παρουσίασαν αιμορραγικό επεισόδιο-διάμεση τιμή ΒΓ: 2437gr, $p=0.017$), ενώ η Διάχυτη Ενδαγγειακή Πήξη (DIC) ήταν επίσης πιο συχνή σε αυτά τα νεογνά ($p<0.001$). Οι κλινικές παράμετροι καταγράφηκαν κατά τη νοσηλεία των νεογνών στη MENN τα οποία κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο ομάδες-σε εκείνα που εκδήλωσαν αιμορραγικό επεισόδιο κατά την έναρξη της νόσου ή/και εντός των επόμενων 24 ωρών από την ανάλυση ROTEM και στα νεογνά τα οποία δεν παρουσίασαν αιμορραγία. Τα κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά των νεογνών με και χωρίς αιμορραγία παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά των νεογνών της μελέτης

	Νεογνά μελέτης (n=158)	Νεογνά χωρίς αιμορραγία (n=137)	Νεογνά με αιμορραγία (n=21)	p-value
Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	34.9±4.4,	35.1±4.1,	32.9± 5.6,	0.08
Median (IQR)	37.0 (31.0-38.0)	37.0 (32.0-38.0)	37.0 (28.0-38.0)	
ΒΓ (γρ)	2372.2 ±947.6,	2437.4±910.2,	1899.7±1109.1,	0.017
Median (IQR)	2510.0 (1465.0- 3220.0)	2580.0 (1500.0- 3220.0)	1465.0 (940.0- 2880.0)	
Είδος τοκετού				
Καισαρική τομή%	115 (72.7)	97 (70.8)	18 (85.7)	0.15
IVH>2ου βαθμού	16 (10.1)	8 (5.8)	5 (23.8)	0.016

ΔΕΠ	11 (6.9)	3 (2.1)	8 (38.1)	0.001
IUGR	23 (14.2)	19 (13.8)	4 (19.0)	0.53
NEK	5 (3.1)	4 (2.9)	1 (4.7)	0.20
ΟΝΑ	11 (6.9)	9 (6.5)	2 (9.5)	0.62
<u>Νόσος</u>				
Σηψαιμία	43 (27.2)	31 (22.6)	12 (5.7)	0.001
Υποξία σηψαιμίας	53 (33.5)	50 (36.5)	3 (14.2)	0.034
Περιγεννητική υποξία	51 (32.2)	45 (32.8)	6 (28.5)	0.45
ΣΑΔ	11 (6.9)	11 (8.0)	0 (0.0)	0.19

Συντομογραφίες: ΗΚ: ηλικία κύησης, ΒΓ: Βάρος γέννησης, ΙVΗ: Intraventricular hemorrhage/ενδοκοιλιακή αιμορραγία, ΔΕΠ: Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, ΝΕΚ: Νεκρωτική εντεροκολίτιδα, ΟΝΑ: Οξεία νεφρική ανεπάρκεια, IUGR: Intrauterine Growth Restriction/ Ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης, ΣΑΔ: Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας. Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως εκατοστιαίες αναλογίες, μέσες τιμές (\pm SD), διάμεσες τιμές (medians) και IQR: Interquartile range/ενδοτεταρτημοριακό εύρο. Χρησιμοποιήθηκαν το μη- παραμετρικό Wilcoxon rank sum test και το chi square test.

➤ Συμβατικές εργαστηριακές παράμετροι

Τα νεογνά με κλινικά αιμορραγικά επεισόδια είχαν συγκρίσιμη ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, αμινοτρανσφεράση της αλανίνης, ουρία αίματος και κρεατινίνη, συγκριτικά με τα νεογνά της μελέτης τα οποία δεν εμφάνισαν κλινική αιμορραγία. Ωστόσο, η ομάδα των νεογνών που παρουσίασε αιμορραγικό συμβάν είχε σημαντικά χαμηλότερο αριθμό αιμοπεταλίων και επίπεδα

λευκωματίνης σε σύγκριση με τα νεογνά χωρίς κλινική αιμορραγία. Τα αποτελέσματα των συμβατικών εργαστηριακών ευρημάτων παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2**.

Πίνακας 2. Εργαστηριακά ευρήματα των νεογνών της μελέτης

Εργαστηριακές παράμετροι	Νεογνά μελέτης (n=158)	Νεογνά χωρίς αιμορραγία (n=137)	Νεογνά με αιμορραγία (n=21)	p-value
AST (IU/L)	94.0±167.1 57.0 (32.0-92.0)	87.8±132.0 57.0 (32.0-92.0)	140.0±321.5 58.5 (28.5-86.5)	0.57
ALT (IU/L)	43.7±110.4 17.5 (12.0-34.0)	38.8±77.7 17.0 (12.0-35.0)	77.9±236.7 22.0 (12.5-29.5)	0.57
BUN (mg/dl)	32.2±18.7 28.0 (20.0-40.0)	31.4±16.9 28.0 (20.0-39.0)	38.4±27.1 30.0 (20.0-51.0)	0.39
Creatinine (mg/dl)	0.6±0.3 0.6 (0.4-0.8)	0.6±0.3 0.6 (0.4-0.8)	0.5±0.2 0.5 (0.4-0.7)	0.52
Albumin (g/dl)	2.5±0.4 2.6 (2.3-2.8)	2.6±0.4 2.6 (2.4-2.9)	2.3±0.3 2.3 (2.0-2.6)	0.006
Platelets (count x 10 ³ /ml)	217.5±111.7 225.0(131.0-286.0)	232.5±10 239.0(166.0-295.0)	109.0±76.4 78.0 (48.0-176.0)	<0.001
Hemoglobin (g/dl)	13.8±2.4 13.6 (12.2-15.3)	13.7±2.1 13.6 (12.2-15.2)	14.9±3.7 13.9 (11.6-19.1)	0.32

Συντομογραφίες: AST:Aspartate aminotransferase/ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, ALT:Alanine aminotransferase/αμινοτρανσφεράση της αλανίνης, BUN: Blood urea nitrogen/ ουρία αίματος, creatinine/κρεατινίνη αίματος, Albumin/αλβουμίνη, Platelets/Αιμοπετάλια, Hemoglobin/Αιμοσφαιρίνη. Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως εκατοστιαίες αναλογίες, μέσες τιμές (±SD), διάμεσες τιμές (medians)και IQR:Interquartile range/ενδοτεταρτημοριακό εύρος. Χρησιμοποιήθηκαν το μη- παραμετρικό Wilcoxon rank sum test και το chi square test.

➤ **Παράμετροι ROTEM**

Αρκετές παράμετροι ROTEM διέφεραν μεταξύ των νεογνών με και χωρίς κλινικά αιμορραγικά επεισόδια, υποδεικνύοντας μία κατάσταση υπο-πηκτικότητας στα νεογνά με κλινική αιμορραγία. Οι διάμεσες τιμές και το ενδοτεταρτημοριακό εύρος για όλες τις παραμέτρους των EXTEM και NATEM μεταξύ των δύο ομάδων νεογνών της μελέτης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3**. Συγκεκριμένα, σε σύγκριση με τα νεογνά της μελέτης που δεν παρουσίασαν κανένα κλινικό αιμορραγικό επεισόδιο, τα νεογνά με αιμορραγία βρέθηκε ότι είχαν παρατεταμένο CT στη δοκιμασία EXTEM, παρατεταμένο CFT τόσο στην EXTEM όσο και στη NATEM ανάλυση, υψηλότερο EXTEM και NATEM LI60, ενώ και οι τιμές A10,A20,A30, MCF, α-γωνία και MCE ήταν σημαντικά χαμηλότερες στα νεογνά με κλινική αιμορραγία, στις δοκιμασίες EXTEM και NATEM.

Πίνακας 3. Σύγκριση των παραμέτρων ROTEM μεταξύ των νεογνών με και χωρίς αιμορραγία

	EXTEM			NATEM		
ROTEM Παράμετροι	Νεογνά χωρίς αιμορραγία (n=137)	Νεογνά με αιμορραγία (n=21)	p-value	Νεογνά χωρίς αιμορραγία (n=137)	Νεογνά με αιμορραγία (n=21)	p-value
CT(sec)	62.4±76.2 53.0(47.0-61.0)	92.2±60.1 64.0(53.0-48.0)	0.001	478.3±456.9 430.0(320.0-565.0)	498.2±246.4 513.0(347.0-693.0)	0.19
CFT(sec)	104.7±74.1 90.0(70.0-122.0)	493.6±771.2 167.5(105.5-380.0)	<0.001	158.7±131.9 121.0(101.0-175.0)	471.0±388.0 267.0(172.0-728.0)	<0.001
A10 (mm)	50.3±11.1 51.0(44.0-57.0)	36.0±16.6 38.0(23.0-46.0)	<0.001	47.4±11.2 48.0(43.0-54.0)	31.5±13.4 33.0(18.0-41.0)	<0.001
A20 (mm)	55.5±10.6 56.0(50.0-61.0)	42.1±17.0 45.0(29.0-53.0)	<0.001	53.7±8.7 54.0(50.0-59.0)	39.2±13.3 38.5(27.0-49.0)	<0.001
A30 (mm)	55.6±10.0 55.5(51.0-61.5)	43.8±16.0 48.0(32.0-54.0)	<0.001	53.9±8.1 54.0(50.5-59.0)	41.4±12.7 42.0(30.0-51.5)	<0.001
MCF (mm)	56.3±10.1	44.5±15.8	<0.001	53.1±11.6	40.5±14.4	<0.001

	56.0(51.0-62.0)	48.0(32.0-55.0)		54.0(50.5-59.0)	43.0(28.0-51.0)	
Alpha-angle	71.9±8.1 73.0(68.0-78.0)	55.6±22.9 64.0(43.0-76.0)	0.001	63.7±11.4 67.0(58.0-71.0)	44.1±15.7 48.0(29.0-58.0)	<0.001
LI60%	92.9±5.5 94.0(91.5-96.0)	96.9±5.3 99.0(97.0-100.0)	<0.001	91.8±5.4 93.0(90.0-95.0)	91.5±21.6 98.0(93.5-100.0)	<0.001
MCE	140.4±53.9 129.0(104.0-160.0)	95.9±59.7 91.0(48.0-123.0)	<0.001	123.3±44.5 117.0(102.5-142.5)	77.7±43.3 75.0(39.0-106.0)	<0.001
G	39.9±136.5 7.1(5.7-8.1)	6.1±2.9 5.9(4.4-7.6)	0.22	60.2±142.0 6.5(4.9-8.4)	38.6±94.3 5.6(4.2-7.7)	0.29

Συντομογραφίες:CT: Clotting time/χρόνος πήξης, CFT: Clot formation time/χρόνος σχηματισμού θρόμβου, MCF: Maximum clot firmness/μέγιστη σταθερότητα θρόμβου, A10,A20,A30: Clot amplitude at 10 min, 20 min, 30 min respectively/σταθερότητα του θρόμβου στα 10,20,30 λεπτά αντίστοιχα, LI60:Lysis index at 60 min/ δείκτης λύσης του θρόμβου στα 60 λεπτά (αντιπροσωπεύει την ινωδόλυση σε ένα καθορισμένο χρονικό σημείο και είναι η σχέση του πλάτους προς τη μέγιστη σταθερότητα του θρόμβου), MCE: Maximum clot elasticity/μέγιστη ελαστικότητα του θρόμβου (αντιπροσωπεύει τη συνολική ισχύ του θρόμβου). Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως εκατοστιαίες αναλογίες, μέσες τιμές (±SD), διάμεσες τιμές (medians) και (IQR):Interquartile range/ενδοτεταρτημοριακό εύρος. Χρησιμοποιήθηκε το μη- παραμετρικό Wilcoxon rank sum test για τη σύγκριση των δύο ομάδων της μελέτης.

Επιπλέον, η ισχυρή συσχέτιση μεταξύ μιας υπο-πηκτικής κατάστασης, όπως αυτή αντικατοπτρίζεται από τις παραμέτρους NATEM και EXTEM, και των αιμορραγικών επεισοδίων που παρουσίασαν τα νεογνά της μελέτης, αποκαλύφθηκε μέσα από τα αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης (**Πίνακας 4**). Η ανάλυση επιβεβαίωσε ότι η ανωτέρω συσχέτιση δεν επηρεάζεται από την ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης ή το φύλο του πληθυσμού της μελέτης.

Πίνακας 4. Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση για την κλινική αιμορραγία ως εξαρτημένη μεταβλητή, με τις παραμέτρους ROTEM, την ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης και το φύλο του νεογνού ως ανεξάρτητες μεταβλητές.

Παράμετροι ROTEM	Κλινικά αιμορραγικά επεισόδια		
	OR	95%CI	p-value
EXTEM			
CFT (sec)	1.007	1.001–1.012	0.009
A10 (mm)	0.92	0.88–0.96	<0.001
A20 (mm)	0.92	0.89–0.96	<0.001
A30 (mm)	0.93	0.89–0.97	0.001
MCF (mm)	0.93	0.89–0.96	0.001
Alpha angle	0.92	0.88–0.95	<0.001
LI60 (%)	1.32	1.11–1.58	0.002
MCE	0.98	0.97–0.99	0.003
NATEM			
CFT (sec)	1.004	1.002–1.007	<0.001
A10 (mm)	0.92	0.88–0.95	<0.001
A20 (mm)	0.89	0.84–0.94	<0.001
A30 (mm)	0.89	0.84–0.94	<0.001
MCF (mm)	0.94	0.91–0.98	0.002
Alpha angle	0.91	0.88–0.95	<0.001
LI60 (%)	0.99	0.95–1.04	0.88
MCE	0.97	0.96–0.99	<0.001

Συντομογραφίες: OR:odds ratio, CI: Confidence interval, CT:clotting time/χρόνος πήξης, CFT: clot formation time/ χρόνος σχηματισμού θρόμβου, A10: clot amplitude at 10 min, A20: clot amplitude at 20 min, A30: clot amplitude at 30 min/ σταθερότητα του θρόμβου στα 10,20,30 λεπτά αντίστοιχα, MCF: maximum clot firmness/ μέγιστη σταθερότητα θρόμβου, LI60: lysis index at 60 min/ δείκτης λύσης του θρόμβου στα 60 λεπτά (αντιπροσωπεύει την ινωδόλυση σε ένα καθορισμένο χρονικό σημείο και είναι η σχέση του πλάτους προς τη μέγιστη σταθερότητα του θρόμβου), MCE: maximum clot elasticity/ μέγιστη ελαστικότητα του θρόμβου (αντιπροσωπεύει τη συνολική ισχύ του θρόμβου).

Οι τιμές AUC (area under curve/περιοχή κάτω από την καμπύλη) των EXTEM και NATEM δοκιμασιών σχετικά με την προγνωστική τους ικανότητα όσον αφορά στην εκδήλωση επεισοδίου αιμορραγίας, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 5**. Η παράμετρος της NATEM ανάλυσης με την υψηλότερη προγνωστική ικανότητα ήταν ο CFT (clot formation time/χρόνος σχηματισμού

θρόμβου) (AUC=0.864, 95% CI:0.793-0.936), ενώ η παράμετρος EXTEM με την υψηλότερη προγνωστική ικανότητα ήταν ο δείκτης LI60 (lysis index at 60 min/δείκτης λύσης του θρόμβου στα 60 λεπτά) (AUC=0.813,CI:0.689-0.937). Οι παράμετροι NATEM που είχαν συγκρίσιμη προγνωστική απόδοση με τις παραμέτρους της EXTEM ανάλυσης ήταν οι εξής: CT (p=0.21), CFT (p=0.26), A10 (p=0.08), MCF (p=0.10), LI60 (p=0.16), MCE (p=0.15).

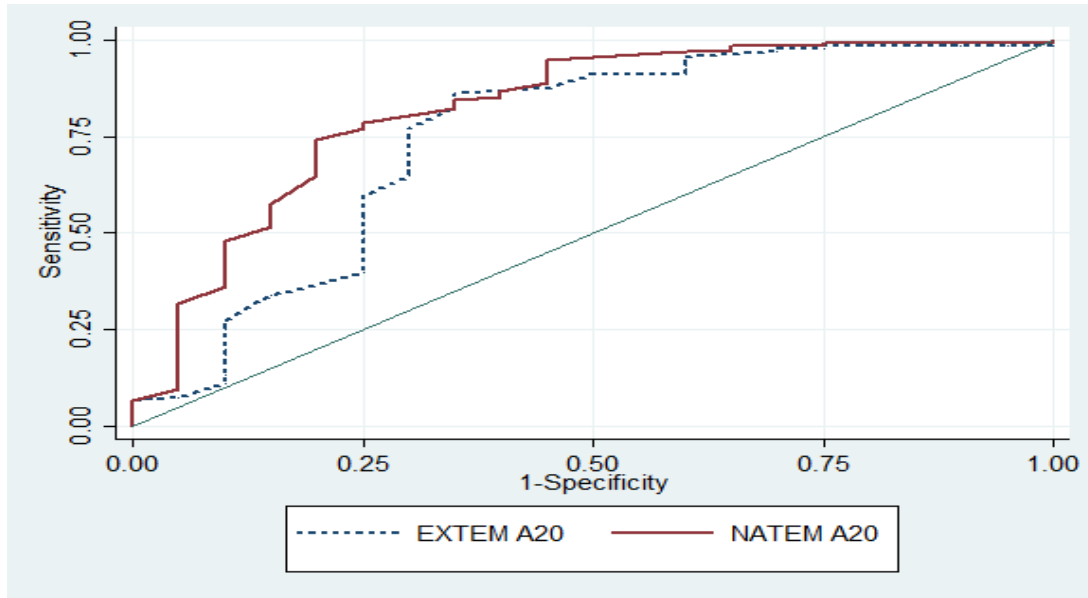
Ωστόσο,βρέθηκε ότι οι NATEM παράμετροι A20,A30 και α-γωνία είχαν καλύτερη προγνωστική ικανότητα από τις αντίστοιχες παραμέτρους της δοκιμασίας EXTEM (p=0.037, p=0.028 και p=0.014) (Σχήματα 1,2,3).

Πίνακας 5. Προγνωστική ικανότητα των EXTEM και NATEM παραμέτρων για κλινικά αιμορραγικά επεισόδια

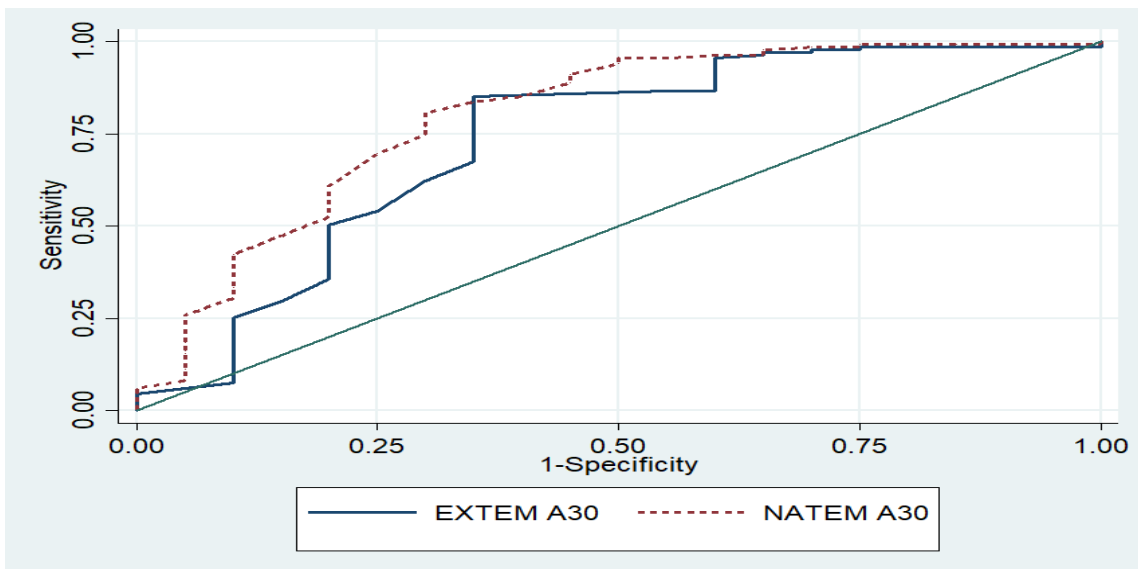
Παράμετροι	EXTEM	NATEM	
	AUC (95% CI)	AUC (95% CI)	p-value
CT	0.724 (0.599–0.848)	0.588 (0.439–0.737)	0.21
CFT	0.797 (0.669–0.924)	0.864 (0.793–0.936)	0.26
A10	0.751 (0.621–0.880)	0.814 (0.706–0.923)	0.08
A20	0.729 (0.597–0.860)	0.802 (0.683–0.920)	0.037
A30	0.712 (0.581–0.843)	0.784 (0.662–0.905)	0.028
MCF	0.712 (0.582–0.842)	0.772 (0.656–0.888)	0.10
LI60	0.813 (0.689–0.937)	0.741 (0.595–0.887)	0.16
Alpha angle	0.705 (0.568–0.841)	0.842 (0.755–0.929)	0.014
MCE	0.711 (0.579–0.844)	0.766 (0.646–0.886)	0.15

Συντομογραφίες: AUC:area under curve, CI:confidence interval, CT:clotting time, CFT:clot formation time, A10:clot amplitude at 10 min, A20:clot amplitude at 20 min, A30:clot amplitude at 30 min, MCF: maximum clot firmness, LI60: lysis index at 60 min, MCE:maximum clot elasticity.

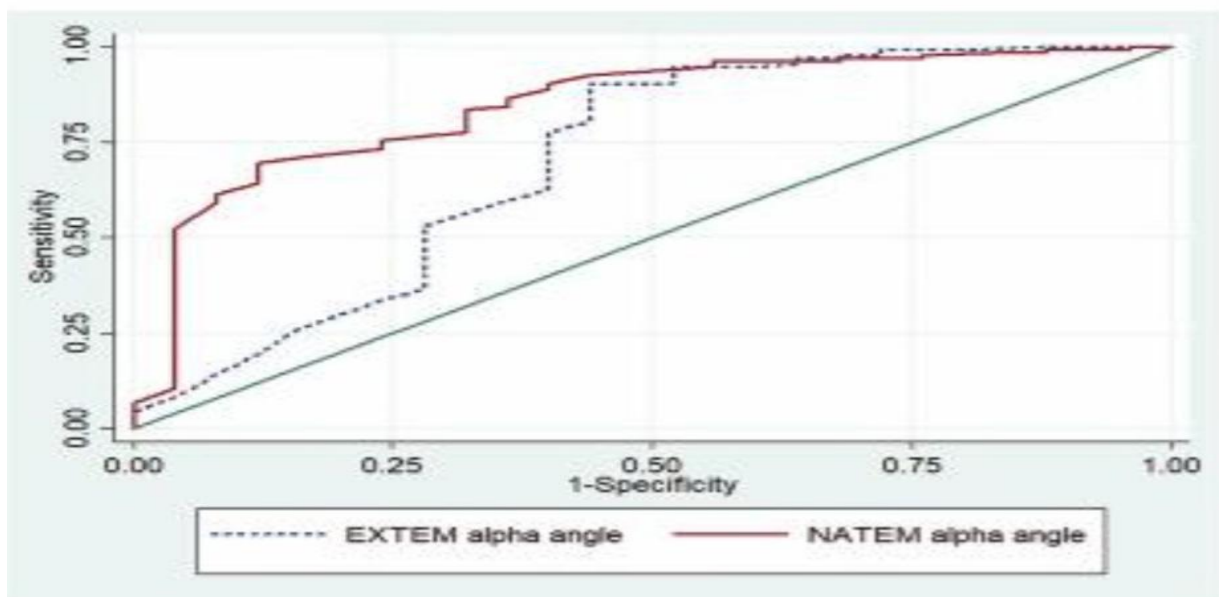
Σχήμα 1. Σύγκριση της προγνωστικής ικανότητας των EXTEM A20 και NATEM A20 για τα αιμορραγικά συμβάντα.



Σχήμα 2. Σύγκριση της προγνωστικής ικανότητας των EXTEM A30 και NATEM A30 για τα αιμορραγικά συμβάντα.



Σχήμα 3. Σύγκριση της προγνωστικής ικανότητας των EXTEM α-γωνία και NATEM α-γωνία για τα αιμορραγικά συμβάντα.



Από την άλλη πλευρά, στον **Πίνακα 6** παρουσιάζονται οι βέλτιστες cut-off τιμές και αντίστοιχα η ευαισθησία και ειδικότητα των παραμέτρων της δοκιμασίας NATEM στην πρόβλεψη των κλινικών αιμορραγικών επεισοδίων των νεογνών της μελέτης. Ο NATEM CFT ≥ 147 sec παρουσίασε ευαισθησία 95.2% (95% CI:76.1%-99.8%) και 65.6% ειδικότητα (95% CI:57.1%-73.5%) στην ανίχνευση νεογνών με κλινική αιμορραγία, ενώ ο δείκτης NATEM A10 ≤ 42 mm είχε 80.8% ευαισθησία (95% CI: 71.8%–85.9%) και 76.0% ειδικότητα (95 % CI: 52.8%–91.7%) στην ανίχνευση νεογνών με κλινικά αιμορραγικά επεισόδια.

Πίνακας 6. Ευαισθησία και Ειδικότητα των παραμέτρων NATEM στην πρόγνωση κλινικών αιμορραγικών επεισοδίων.

Παράμετροι NATEM	Κλινικά αιμορραγικά επεισόδια			
	AUC (95% CI)	Optimal cut-off	Sensitivity (%)	Specificity (%)
CFT (sec)	0.864 (0.793–0.936)	≥ 147	95.2	65.6
A10 (mm)	0.814 (0.706–0.923)	≤ 42	80.8	76.0
A20 (mm)	0.802 (0.683–0.920)	≤ 49	78.6	75.0
A30 (mm)	0.784 (0.662–0.905)	≤ 49	80.8	70.8
Alpha angle (°)	0.842 (0.755–0.929)	≤ 62	68.8	88.0

Συντομογραφίες: AUC:area under curve, CI: confidence interval, CFT:clot formation time, A10:clot amplitude at 10 min, A20:clot amplitude at 20 min, A30: clot amplitude at 30 min, MCF:maximum clot firmness, LI60: lysis index at 60 min, MCE: maximum clot elasticity.

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η κατανόηση του μηχανισμού της πήξης αποτελεί προϋπόθεση για τη διάγνωση και αντιμετώπιση των διαταραχών της αιμόστασης. Οι συμβατικές δοκιμασίες πήξης (PT, APTT, INR), δεν παρέχουν πληροφορίες για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και την ινωδόλυση, ενώ παρουσιάζουν περιορισμούς στην εκτίμηση της ποιότητας και σταθερότητας του θρόμβου, στην πρόληψη της αιμορραγίας και στη μετέπειτα ιατρική αντιμετώπιση στα πάσχοντα νεογνά. Η θρομβοελαστομετρία (TEM), αποτελεί μία διαγνωστική μέθοδο εκτίμησης της αιμοστατικής κατάστασης των ασθενών με την οποία επιτυγχάνεται η παρακολούθηση του πηκτικού μηχανισμού και της ινωδόλυσης, αξιόπιστα και γρήγορα, ενώ επιπρόσθετα επιτρέπει την έγκαιρη ιατρική παρέμβαση όταν αυτή κρίνεται απαραίτητη. Η εξέταση διενεργείται 'δίπλα' στον ασθενή και τα αποτελέσματα είναι διαθέσιμα σε σύντομο χρονικό διάστημα [183,184]. Συνεπώς, αντιλαμβάνεται κανείς ότι η θρομβοελαστογραφία/ θρομβοελαστομετρία θα μπορούσε να αποτελέσει ένα εξαιρετικά χρήσιμο εργαλείο για την πρόβλεψη και διαχείριση της θεραπείας των νεογνών που εμφανίζουν αιμορραγική διάθεση ή κάποια άλλη διαταραχή της αιμόστασης. Σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία, μόνο λίγες είναι οι μελέτες που αξιολογούν τη νεογνική αιμόσταση με βάση τη χρήση της TEM.

Η παρούσα μελέτη αξιολογεί για πρώτη φορά την απόδοση ισχύος των παραμέτρων της ανάλυσης NATEM στην πρόβλεψη του κινδύνου αιμορραγίας σε βαρέως πάσχοντα νεογνά. Βάσει των ευρημάτων της μελέτης μας, οι περισσότερες παράμετροι NATEM είχαν ανάλογη προγνωστική ικανότητα με τις μεταβλητές EXTEM. Εντούτοις, οι NATEM παράμετροι A20, A30 και α-γωνία αποδείχθηκαν ισχυρότεροι προγνωστικοί παράγοντες για αιμορραγία σε βαρέως πάσχοντα νεογνά σε σύγκριση με τις αντίστοιχες EXTEM παραμέτρους.

Η νεογνική αιμορραγία αποτελεί μία συχνή και επείγουσα κατάσταση, ιδιαίτερα μεταξύ των πρόωρων και βαρέως πασχόντων νεογνών, που απαιτεί αναμφίβολα όχι μόνο έγκαιρη και ακριβή διάγνωση αλλά και άμεση αντιμετώπιση. Το αιμοστατικό σύστημα περιλαμβάνει πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ αγγείων, κυτταρικών συστατικών και πρωτεϊνών του πλάσματος [178]. Η αιμόσταση είναι μία δυναμική διαδικασία η οποία εξελίσσεται σταδιακά από τα πρώιμα εμβρυϊκά στάδια μέχρι την ώριμη μορφή της στην παιδική και ενήλικη ζωή [179]. Το σύστημα της αιμόστασης είναι μερικώς ανεπτυγμένο στα νεογνά, τα οποία γεννιούνται με ένα σύμφυτο αιμοστατικό έλλειμμα, σχετιζόμενο άμεσα με την ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης και το βαθμό ωρίμανσης της ηπατικής λειτουργίας. Παρά τις ποσοτικές και ποιοτικές διαφορές, το σύστημα αιμόστασης στα υγιή πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά φαίνεται να είναι λειτουργικό και ισορροπημένο, χωρίς προδιάθεση για αιμορραγία ή θρόμβωση [180]. Ωστόσο, αυτή η ευαίσθητη ισορροπία διαταράσσεται σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της σήψης, της περιγεννητικής υποξίας ή ασφυξίας και του ΣΑΔ [180]. Μετά από ένα υποξικό ή ισχαιμικό

επεισόδιο στα νεογνά, παρατηρείται διαταραχή του αιμοστατικού μηχανισμού λόγω κατανάλωσης των παραγόντων πήξης, καταστολής του μυελού των οστών και ηπατικής δυσλειτουργίας [195]. Η σηψαιμία οδηγεί σε μη κατάλληλη παραγωγή θρομβίνης, ανεπαρκή αντιπηκτικό μηχανισμό, διαταραχή του μηχανισμού της πήξης καθώς και του ινωδολυτικού μηχανισμού [196]. Η ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού της πήξης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση του ΣΑΔ και πιθανότατα είναι συνδεδεμένη με τη σοβαρότητα της νόσου [197]. Οι διαταραχές της αιμόστασης αποτελούν ένα καθημερινό και κρίσιμο πρόβλημα για τα νοσηλευόμενα νεογνά στην εντατική και είναι απαραίτητη η έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία από τον νεογνολόγο. Οι εργαστηριακές εξετάσεις, όπως ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστικής (APTT), ο χρόνος προθρομβίνης (PT) και ο διεθνής δείκτης κανονικοποίησης (INR), συχνά παρατείνονται στα νεογνά σε σύγκριση με τις τιμές των ενηλίκων, υποδεικνύοντας πιθανή προδιάθεση για αιμορραγία [181]. Επίσης η μέτρηση των συμβατικών αυτών εργαστηριακών εξετάσεων δεν παρέχει πληροφορίες για την ινωδόλυση ή τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και επομένως, δε συμβάλλει στη διαφορική διάγνωση μιας αιμοστατικής διαταραχής στα νεογνά. Κατά συνέπεια, οι αλλαγές στον αιμοστατικό μηχανισμό των νεογνών και η έλλειψη εξετάσεων ρουτίνας για μία ολοκληρωμένη μελέτη της αιμόστασης συχνά οδηγούν σε υπερδιάγνωση ή και λανθασμένη διάγνωση.

Επιπλέον, η «παράταση» του PT και του APTT σε ένα νεογέννητο θα μπορούσε να αποδοθεί είτε στην ηλικία είτε σε κάποια ασθένεια. Ως εκ τούτου, απαιτούνται εργαστηριακές εξετάσεις με τιμές αναφοράς ανάλογες με την ηλικιακή ομάδα, προκειμένου η διαχείριση να είναι στοχευμένη και αποτελεσματική [181,182].

Οι αναλύσεις ολικού αίματος, συμπεριλαμβανομένης της θρομβοελαστογραφίας, βασίζονται στο μοντέλο της κυτταρικής αιμόστασης. Γνωστές ως ιξωδοελαστικές δοκιμασίες Θρομβοελαστογραφίας (TEG) και Περιστροφικής Θρομβοελαστομετρίας (ROTEM), επικεντρώνονται στο ρόλο των αιμοπεταλίων στην παραγωγή θρομβίνης και στην ποιότητα του παραχθέντος θρόμβου [183,184]. Επίσης, καταγράφουν αλλαγές στο ιξώδες και την ελαστικότητα του ολικού αίματος κατά τον σχηματισμό θρόμβου και στη συνέχεια τη διάλυσή του. Οι αναλύσεις ROTEM επιτρέπουν τη δυναμική αξιολόγηση των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων του θρόμβου μέσω γραφικής αναπαράστασης σχηματισμού θρομβίνης, πολυμερισμού ινώδους και λύσης θρόμβου, λαμβάνοντας υπόψη τις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαφορετικών κυττάρων αίματος και παρέχοντας πρόσβαση σε πραγματικό χρόνο στο αιμοστατικό προφίλ του ασθενούς [185].

Οι δοκιμασίες θρομβοελαστομετρίας, όπως η εξωγενώς ενεργοποιημένη δοκιμασία ROTEM (EXTEM) και η ενδογενώς ενεργοποιημένη δοκιμασία ROTEM (INTEM) χρησιμοποιούνται συνήθως διαγνωστικά σε περίπτωση σοβαρής αιμορραγίας. Ωστόσο, ορισμένες φορές εμφανίζεται αιμορραγία στον ασθενή παρά τις φυσιολογικές τιμές των παραμέτρων EXTEM/INTEM

[138,157,186]. Μελέτες σε ενήλικες έχουν δείξει ότι η μη ενεργοποιημένη περιστροφική ανάλυση ROTEM (NATEM), στην οποία η ενεργοποίηση της πήξης βασίζεται αποκλειστικά στην προσθήκη ασβεστίου, μπορεί να ανιχνεύσει διαταραχές πήξης οι οποίες δεν ανιχνεύονται από τις EXTEM/INTEM [138,186]. Επιπλέον, η ανάλυση EXTEM, έχει μελετηθεί σε νεογνά με σήψη, περιγεννητική υποξία και ΣΑΔ, αποκαλύπτοντας ένα υποπηκτικό προφίλ συγκριτικά με τα υγιή νεογνά [174,198-200].

Πρόσφατα αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε προσωρινά μια προγνωστική βαθμολογία αιμορραγίας η οποία περιλαμβάνει τις EXTEM μεταβλητές A10 και LI60, τον αριθμό των αιμοπεταλίων και τα επίπεδα κρεατινίνης στο πλάσμα [155,156]. Αυτή η βαθμολογία Κινδύνου Νεογνικής Αιμορραγίας (Neonatal Bleeding Risk (NeoBRis), παρέχει μια ολοκληρωμένη εικόνα της αιμοστατικής κατάστασης των νεογνών που βρίσκονται σε κρίσιμη κατάσταση [185]. Επιπλέον, οι παράμετροι της ανάλυσης EXTEM που ποσοτικοποιούν την ελαστικότητα του θρόμβου ή τα συστατικά των αιμοπεταλίων, φαίνεται να είναι ακριβείς προγνωστικοί δείκτες αιμορραγίας σε νεογνά με θρομβοπενία, με την παράμετρο EXTEM A10 να παρουσιάζεται ως η ισχυρότερη μεταξύ αυτών [201].

Το αυξημένο LI60 ($\geq 98\%$) στις EXTEM και NATEM δοκιμασίες, το οποίο υποδηλώνει αναστολή του μηχανισμού της ινωδόλυσης, βρέθηκε ότι είναι ένας προγνωστικός δείκτης κλινικής αιμορραγίας στον πληθυσμό της μελέτης μας [202]. Η διακοπή της ινωδόλυσης υποδεικνύει είτε την αναστολή της ινωδόλυσης μετά την αρχική ενεργοποίησή της, είτε την πρωτογενή καταστολή της ινωδόλυσης. Αν και η διακοπή της ινωδόλυσης θα έπρεπε λογικά να συνδέεται με μία υπερπηκτική κατάσταση, εντούτοις, ορισμένοι ασθενείς παρουσιάζουν αυξημένα προϊόντα αποδόμησης του ινώδους και επακόλουθες αιμορραγικές επιπλοκές, υποδηλώνοντας ουσιαστικά μια προηγηθείσα έντονη ινωδολυτική δραστηριότητα [203]. Σε ενήλικες σηπτικούς και τραυματίες ασθενείς, η διακοπή του ινωδολυτικού μηχανισμού έχει αναφερθεί ως δείκτης σοβαρότητας της νόσου και προγνωστικός δείκτης αιμορραγικού κινδύνου [202,203]. Ομοίως, η διακοπή της ινωδόλυσης η οποία αποδεικνύεται μέσω της αύξησης του LI60, φαίνεται να παρουσιάζει προγνωστική αξία για τον κίνδυνο αιμορραγίας σε πάσχοντα νεογνά [155,156,199].

Αν και οι παράμετροι EXTEM έχουν μελετηθεί σε βαρέως πάσχοντα νεογνά, τα αντίστοιχα δεδομένα για τη δοκιμασία NATEM, επί του παρόντος είναι ανεπαρκή. Η ανάλυση NATEM αξιολογεί τόσο την ενδογενή όσο και την εξωγενή οδό πήξης και συνεπώς μπορεί να παρέχει πιο σαφή εικόνα του αιμοστατικού μηχανισμού σε σύγκριση με τις EXTEM και INTEM [141,186]. Επίσης, σε αντίθεση με τις δοκιμασίες EXTEM και INTEM οι οποίες χρησιμοποιούν ιστικό παράγοντα και ελλαγικό οξύ αντίστοιχα για την ενεργοποίηση της πήξης, η ανάλυση NATEM αξιολογεί τον σχηματισμό θρόμβου στο ολικό αίμα σε κιτρικό, μόνο με την προσθήκη ασβεστίου (CaCl), ενώ παράλληλα είναι

εξαιρετικά ευαίσθητη στην ανίχνευση ενδογενών ενεργοποιητών της πήξης όπως είναι ο ιστικός παράγοντας. Θα μπορούσε να είναι χρήσιμη στις περιπτώσεις διαταραχών της αιμόστασης οι οποίες σχετίζονται με τη σήψη, όπου ο ιστικός παράγοντας εκφράζεται κυρίως μέσα από τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα [142,186]. Επιπλέον, η ανάλυση NATEM φαίνεται να αποτελεί πιο ευαίσθητη μέθοδο από τις EXTEM και INTEM δοκιμασίες στην ανίχνευση της ινωδόλυσης [138], είναι σαφώς πιο οικονομική καθώς δεν απαιτούνται αντιδραστήρια για την πραγματοποίησή της, απαιτείται ωστόσο μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για την ολοκλήρωσή της σε σχέση με τις υπόλοιπες αναλύσεις ROTEM.

Η ανάλυση NATEM έχει αναφερθεί ως μια πιθανή χρήσιμη εργαστηριακή δοκιμασία για την αξιολόγηση της πηκτικότητας σε ασθενείς με διάφορες ασθένειες όπως η αιμορροφιλία A [163], η κίρρωση ήπατος με ή χωρίς θρόμβωση της πυλαίας φλέβας [204], το πολλαπλούν μυέλωμα [146] και η προεκλαμψία κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης [148]. Η NATEM θα μπορούσε επίσης να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση μεταβολών της αιμοστατικής κατάστασης ασθενών που λαμβάνουν αντιπηκτικά φάρμακα. Ωστόσο, μόνο δύο είναι οι δημοσιευμένες μελέτες οι οποίες εξετάζουν την ανάλυση NATEM στο νεογνικό πληθυσμό. Οι Sidlik et al [135] εξέτασαν τη λειτουργική ικανότητα ινωδόλυσης των νεογνών λαμβάνοντας δείγματα αίματος από τον ομφάλιο λώρο, ενώ οι Sulaj et al [153], πρότειναν τιμές αναφοράς για τις παραμέτρους NATEM χρησιμοποιώντας δείγματα αίματος ομφαλίου λώρου από υγιή τελειόμηνα νεογνά.

Η μελέτη μας ήταν η πρώτη που αξιολόγησε τις παραμέτρους της ανάλυσης NATEM σε βαρέως πάσχοντα νεογνά. Οι NATEM μεταβλητές CT, CFT, A10, MCF, LI60 και MCE αποδείχθηκε ότι έχουν συγκρίσιμη προγνωστική ικανότητα όσον αφορά στον κίνδυνο αιμορραγίας, με τις αντίστοιχες EXTEM μεταβλητές. Η μελέτη μας αποκάλυψε ότι οι NATEM μεταβλητές A20, A30 και άλφα-γωνία, είχαν υψηλότερη προγνωστική απόδοση από τις EXTEM A20, A30 και άλφα-γωνία αντίστοιχα, όπως προέκυψε από τη σύγκριση των προγνωστικών τους τιμών για αιμορραγία χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Hanley και McNeil. Σε αντίθεση με τα αποτελέσματά μας, αρκετές μελέτες σε ενήλικες ασθενείς απέτυχαν να επιδείξουν τη διακριτική ικανότητα της δοκιμασίας NATEM στην ανίχνευση του κινδύνου αιμορραγίας [143,152,164]. Παρά το γεγονός ότι EXTEM, INTEM και FIBTEM αναλύσεις συνήθως χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη και έγκαιρη αντιμετώπιση επεισοδίου σοβαρής αιμορραγίας, εντούτοις είναι δυνατό να συμβεί αιμορραγικό επεισόδιο ακόμα και με φυσιολογικές τιμές των παραμέτρων EXTEM και INTEM [138,157,186]. Η δοκιμασία NATEM θα μπορούσε να συμβάλλει στην ανίχνευση διαταραχών της αιμόστασης σε αυτές τις περιπτώσεις, καθώς έχει φανεί ότι έχει σημαντικά υψηλότερη προγνωστική ικανότητα σε σύγκριση με τις υπόλοιπες δοκιμασίες ROTEM [138,142,165]. Πρόσφατα, επίσης η ανάλυση

NATEM αναφέρθηκε ως χρήσιμο εργαλείο στην ταξινόμηση της βαρύτητας της κατάστασης ασθενών με νόσο COVID-19 [165].

Επιπρόσθετα, τα ευρήματα της μελέτης μας, δείχνουν ότι η NATEM αποτελεί μια ευαίσθητη μέθοδο όσον αφορά στην πρόβλεψη του κινδύνου αιμορραγίας στα νεογνά, με αρκετές παραμέτρους να επιδεικνύουν υψηλότερη ευαισθησία σε σχέση με τη δοκιμασία EXTEM. Αυτό το εύρημα, θα μπορούσε σαφώς να υποστηρίξει και την εφαρμογή των παραμέτρων NATEM ως προγνωστικών δεικτών αιμορραγίας, είτε μεμονωμένα είτε στο πλαίσιο ενός μοντέλου πρόγνωσης στα νεογνά.

Ο υπολογισμός του μεγέθους του δείγματος δεν έχει διεξαχθεί στη μελέτη μας, λόγω της έλλειψης σχετικών δημοσιευμένων δεδομένων. Ένας επιπλέον περιορισμός ήταν ότι οι συμβατικές δοκιμασίες πήξης δεν πραγματοποιήθηκαν ταυτόχρονα με τις δοκιμασίες ROTEM ώστε να γίνει σύγκριση. Από την άλλη πλευρά, ο σχετικά μεγάλος εγγεγραμμένος πληθυσμός, συμπεριλαμβανομένων των 158 νοσούντων νεογνών, αποτελεί το πλεονέκτημα αυτής της μελέτης η οποία είναι ταυτόχρονα και η πρώτη μελέτη που συγκρίνει τη διακριτική ικανότητα των μεταβλητών EXTEM και NATEM στην πρόγνωση της αιμορραγίας σε βαρέως πάσχοντα νεογνά.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τη μελέτη μας προέκυψε ότι η ανάλυση NATEM έχει ισχυρή προγνωστική αξία όσον αφορά στην πρόβλεψη της αιμορραγίας σε πάσχοντα νεογνά ενώ αποδείχθηκε ότι υπερτερεί σημαντικά έναντι συγκεκριμένων παραμέτρων της EXTEM δοκιμασίας. Η ενσωμάτωση των παραμέτρων NATEM σε προγνωστικά μοντέλα της αιμορραγίας στο νεογνικό πληθυσμό φαίνεται πολλά υποσχόμενη. Παρέχοντας μια ολοκληρωμένη και λεπτομερή εικόνα για την όλη διαδικασία της αιμόστασης, η NATEM αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο παρακολούθησης και εκτίμησης του αιμοστατικού προφίλ στα νεογνά, ενώ παράλληλα μπορεί να συμβάλλει στη σωστή καθοδήγηση της αιμοστατικής θεραπείας και αντιμετώπισης των πάσχοντων νεογνών. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες προκειμένου να αποδειχθεί η αξιοπιστία της δοκιμασίας NATEM τόσο ως διαγνωστικού μέσου των διαταραχών αιμόστασης όσο και ως θεραπευτικού οδηγού στο νεογνικό πληθυσμό.

8. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Το αιμοστατικό σύστημα περιλαμβάνει πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αγγείων, των κυτταρικών συστατικών και των πρωτεϊνών του πλάσματος. Το σύστημα πήξης εξελίσσεται προοδευτικά με την πάροδο του χρόνου από την αιμόσταση του εμβρύου στη νεογνική, παιδιατρική και ενήλικη αιμόσταση. Ένας πολύπλοκος αιμοστατικός μηχανισμός παρατηρείται σε ένα υγιές τελειόμηνο νεογνό, που χαρακτηρίζεται από ανεπάρκεια παραγόντων πήξης, έλλειψη φυσικών αναστολέων και διαταραχή της ινωδόλυσης. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του εμβρύου και του νεογνού, ο μηχανισμός πήξης-ινωδόλυσης βρίσκεται σε κατάσταση δυναμικής ισορροπίας και συνεχώς εξελίσσεται μέχρι την ενηλικίωση. Ωστόσο, παρά την ιδιαιτερότητα και τις διαφορές της νεογνικής αιμόστασης, σε κλινικό επίπεδο, ένα υγιές τελειόμηνο ή πρόωρο νεογνό δεν είναι επιρρεπές σε αιμορραγία ή θρομβωτικά επεισόδια, καθώς διατηρείται μια λεπτή ισορροπία μεταξύ αυτών των καταστάσεων. Αυτή η ισορροπία διαταράσσεται και εκτρέπεται προς αιμορραγία, πιο συχνά ή σπανιότερα θρόμβωση, ειδικά όταν υπάρχουν κληρονομικές ή επίκτητες διαταραχές της αιμόστασης ή συνακόλουθοι παθολογικοί παράγοντες, όπως λοιμώξεις, ασφυξία κ.λπ. Οι διαταραχές της αιμόστασης είναι ένα καθημερινό και κρίσιμο πρόβλημα για τα νοσηλεύόμενα νεογνά στην εντατική και είναι απαραίτητη η έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία από τον νεογνολόγο. Οι εργαστηριακές εξετάσεις, όπως ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT), ο χρόνος προθρομβίνης (PT) και ο διεθνής δείκτης κανονικοποίησης (INR), συχνά παρατείνονται στα νεογνά σε σύγκριση με τις τιμές των ενηλίκων, υποδεικνύοντας πιθανή προδιάθεση για αιμορραγία. Από την άλλη πλευρά, Η μέτρηση αυτών των συμβατικών εργαστηριακών παραμέτρων δεν παρέχει πληροφορίες για την ινωδόλυση ή τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και επομένως, δεν βοηθά στη διαφορική διάγνωση μιας αιμοστατικής διαταραχής στα νεογνά. Κατά συνέπεια, οι αλλαγές στον αιμοστατικό μηχανισμό των νεογνών και η έλλειψη εξετάσεων ρουτίνας για την ολοκληρωμένη μελέτη της αιμόστασης συχνά οδηγούν σε υπερδιάγνωση ή και λανθασμένη διάγνωση.

Επιπλέον, η «παράταση» του PT και του APTT σε ένα νεογέννητο θα μπορούσε να αποδοθεί είτε στην ηλικία είτε σε κάποια ασθένεια. Ως εκ τούτου, απαιτούνται εργαστηριακές εξετάσεις με τιμές αναφοράς ανάλογες με την ηλικιακή ομάδα, προκειμένου η διαχείριση να είναι στοχευμένη και αποτελεσματική.

Οι αναλύσεις ολικού αίματος, συμπεριλαμβανομένης της θρομβοελαστογραφίας, βασίζονται στο μοντέλο της κυτταρικής αιμόστασης. Γνωστές ως ιξωδοελαστικές δοκιμασίες Θρομβοελαστογραφίας (TEG) και Περιστροφικής Θρομβοελαστομετρίας (ROTEM), επικεντρώνονται στο ρόλο των αιμοπεταλίων στην παραγωγή θρομβίνης και στην ποιότητα της θρομβίνης. Επίσης, καταγράφουν αλλαγές στο ιξώδες και την ελαστικότητα του ολικού αίματος κατά τον σχηματισμό θρόμβου και στη συνέχεια τη διάλυσή του. Οι αναλύσεις ROTEM επιτρέπουν

τη δυναμική αξιολόγηση των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων του θρόμβου μέσω γραφικής αναπαράστασης σχηματισμού θρομβίνης, πολυμερισμού ινώδους και λύσης θρόμβου, λαμβάνοντας υπόψη τις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαφορετικών κυττάρων του αίματος και παρέχοντας πρόσβαση σε πραγματικό χρόνο στο αιμοστατικό προφίλ του ασθενούς.

Οι δοκιμασίες θρομβοελαστομετρίας, όπως η τυπική εξωγενώς ενεργοποιημένη δοκιμασία ROTEM (EXTEM) και η ενδογενώς ενεργοποιημένη δοκιμασία ROTEM (INTEM) χρησιμοποιούνται συνήθως διαγνωστικά σε περίπτωση σοβαρής αιμορραγίας. Ωστόσο, ορισμένες φορές εμφανίζεται αιμορραγία στον ασθενή παρά τις φυσιολογικές τιμές των παραμέτρων EXTEM/INTEM. Μελέτες σε ενήλικες έχουν δείξει ότι η μη ενεργοποιημένη περιστροφική ανάλυση ROTEM (NATEM), στην οποία η ενεργοποίηση της πήξης βασίζεται αποκλειστικά στην προσθήκη ασβεστίου, μπορεί να ανιχνεύσει διαταραχές της πήξης οι οποίες δεν ανιχνεύονται από τις EXTEM/INTEM.

Επιπλέον, η ανάλυση NATEM έχει αναφερθεί ότι είναι πολύ ευαίσθητη σε ενδογενείς ενεργοποιητές της πήξης, όπως ο ιστικός παράγοντας και τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα, σε ασθενείς με λοίμωξη, σήψη, κίρρωση ήπατος ή εξωσωματικές συσκευές. Ο ρόλος της ανάλυσης NATEM στην ανίχνευση διαταραχών αιμόστασης σε βαρέως πάσχοντα νεογνά δεν έχει διερευνηθεί στη βιβλιογραφία.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνήσουμε πρωτίστως την πιθανή ικανότητα της ανάλυσης NATEM να αξιολογήσει την αιμοστατική κατάσταση των βαρέως πασχόντων νεογνών, καθώς και να μελετήσουμε την ευαισθησία και την ειδικότητα των παραμέτρων NATEM στην πρόβλεψη του κινδύνου αιμορραγίας σε αυτά τα νεογνά. Επιπλέον, επιδιώξαμε να συγκρίνουμε τη διακριτική ισχύ των παραμέτρων NATEM με αυτή των παραμέτρων της δοκιμασίας EXTEM αναφορικά με την πρόβλεψη του κινδύνου αιμορραγίας σε βαρέως πάσχοντα νεογνά.

Υλικό και Μέθοδος: Αυτή η μελέτη κοορτής περιελάμβανε 158 τελειόμηνα και πρόωρα νεογνά τα οποία νοσηλεύτηκαν στην MENN του Γενικού Νοσοκομείου Νίκαιας «Άγιος Παντελεήμων» από τον Ιούλιο του 2017 έως και τον Ιούλιο του 2021, με την υποψία σήψης, με περιγεννητική υποξία καθώς και πρόωρα νεογνά με σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (ΣΑΔ) και ομαδοποιήθηκαν ως βαρέως πάσχοντα νεογνά. Οι δοκιμασίες EXTEM και NATEM πραγματοποιήθηκαν την πρώτη ημέρα έναρξης της νόσου. Ένα εργαλείο αξιολόγησης της νεογνικής αιμορραγίας χρησιμοποιήθηκε για την καταγραφή και αξιολόγηση τυχόν κλινικών αιμορραγικών επεισοδίων την ημέρα διενέργειας της ανάλυσης ROTEM.

Αποτελέσματα: Αρκετές παράμετροι των αναλύσεων EXTEM και NATEM διέφεραν μεταξύ των νεογνών με κλινική αιμορραγία και εκείνων χωρίς κλινικά αιμορραγικά επεισόδια, υποδεικνύοντας μια κατάσταση υπο-πηκτικότητας στα νεογνά με κλινική αιμορραγία. Οι παράμετροι NATEM CT, CFT, A10, MCF, LI60 και MCE είχαν παρόμοια προγνωστική ισχύ για κλινικά αιμορραγικά συμβάντα συγκριτικά με τις αντίστοιχες παραμέτρους EXTEM ($p > 0,05$). Ωστόσο, οι NATEM παράμετροι A20, A30 και άλφα γωνία επέδειξαν υψηλότερη προγνωστική ικανότητα από τις αντίστοιχες A20, A30 και άλφα γωνία της EXTEM ανάλυσης ($p < 0,05$). Η NATEM παράμετρος CFT ≥ 147 s παρουσίασε ευαισθησία 95,2% (95% CI: 76,1%–99,8%) και 65,6% ειδικότητα (95% CI: 57,1%–73,5%) στην ανίχνευση νεογνών με κλινική αιμορραγία, ενώ αντίστοιχα η NATEM A10 ≤ 42 mm παρουσίασε 80,8% ευαισθησία (95% CI: 71,8%–85,9%) και 76,0% ειδικότητα (95% CI: 52,8%–91,7%).

Συμπεράσματα: Η ανάλυση NATEM φαίνεται να αποτελεί ένα αξιοσημείωτα ευαίσθητο προγνωστικό εργαλείο της αιμορραγίας σε βαρέως πάσχοντα νεογνά, υπερτερώντας της δοκιμασίας EXTEM σε ορισμένες παραμέτρους. Η ενσωμάτωση των παραμέτρων της NATEM σε προγνωστικά μοντέλα νεογνικής αιμορραγίας φαίνεται πολλά υποσχόμενη και θα μπορούσε να συμβάλει στην καλύτερη εκτίμηση της αιμόστασης στα νεογνά. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες προκειμένου να αποδειχθεί η αξιοπιστία της δοκιμασίας NATEM τόσο ως διαγνωστικού μέσου των διαταραχών της αιμόστασης όσο και ως θεραπευτικού οδηγού στο νεογνικό πληθυσμό.

9. ABSTRACT

Introduction: The hemostatic system encompasses complex interactions between the vasculature, cellular components, and plasma proteins. The coagulation system develops progressively over time from fetal to neonatal, pediatric, and adult hemostasis. A complex hemostatic mechanism is observed in a healthy full-term newborn, which is characterized by insufficiency of coagulation factors, lack of natural inhibitors and impaired fibrinolysis. Under normal conditions, in all stages of development of the fetus-newborn, the mechanism of coagulation-fibrinolysis is in a state of dynamic balance, constantly evolving until adulthood. However, despite the differences of neonatal hemostasis, on a clinical level, a healthy term or premature newborn is not prone to bleeding or thrombotic events, as a delicate balance is maintained between these conditions. This balance is disturbed and diverted towards bleeding, most often, or less commonly thrombosis, especially when there are hereditary or acquired disorders of hemostasis or concomitant pathological factors, such as infections, asphyxia, etc. Disorders of hemostasis are a daily and critical problem for hospitalized newborns in the intensive care unit and early diagnosis and treatment by the neonatologist is necessary. Laboratory tests, such as activated partial thromboplastin time (APTT) and prothrombin time (PT) are often prolonged in neonates compared to adults' values, indicating a possible predisposition to bleeding. These conventional tests do not provide information on fibrinolysis or platelet functionality and therefore, do not help in the differential diagnosis of a hemostatic disorder in newborns. Consequently, changes in the hemostatic mechanism of newborns and the lack of routine tests for the comprehensive study of hemostasis often lead to over-diagnosis or even misdiagnosis. Additionally, the "prolongation" of the PT and APTT in a newborn could be attributed either to age or disease. Therefore, age-appropriate reference values for laboratory tests are required, for the treatment to be targeted and effective.

Whole blood assays, including thromboelastography, are based on the cellular hemostasis model. Known as viscoelastic tests, they focus on the role of platelets in thrombin production and thrombin quality. Thromboelastography (TEG) and Rotational Thrombelastometry (ROTEM) methods record changes in the viscosity and elasticity of whole blood during clot formation, and subsequently, its dissolution. ROTEM tests allow the dynamic evaluation of the viscoelastic properties of the clot through graphical representation of thrombin formation, fibrin polymerization and clot lysis, considering the complex interactions between different blood cells, and providing real-time access to the patient's hemostatic profile.

Thromboelastometry assays, such as standard extrinsically activated ROTEM assay (EXTEM) and intrinsically activated ROTEM assay (INTEM) are commonly used diagnostically in case of severe bleeding. However, sometimes bleeding occurs in the patient despite the normal values of

EXTEM/INTEM parameters. Studies in adults have shown that non-activated rotational ROTEM assay (NATEM) assay, in which coagulation activation relies exclusively on calcium addition, can detect coagulation disorders that are not detected by EXTEM/INTEM tests.

Additionally, NATEM assay has been reported to be very sensitive to endogenous coagulation activators, such as tissue factor and circulating monocytes, in patients with infection, sepsis, liver cirrhosis, or extracorporeal devices. The role of NATEM assay in the detection of hemostasis disorders in critically ill neonates has not been investigated in the literature.

Objective: In the current study, we aimed to primarily explore the potential ability of NATEM assay to evaluate the haemostatic status of critically ill neonates, and also to study the sensitivity and specificity of NATEM parameters in predicting risk of bleeding in these neonates. Moreover, we aimed to compare the discriminative power of NATEM parameters with that of EXTEM parameters in predicting the risk of bleeding in critically ill neonates.

Material and Methods: Critically ill neonates (term and preterm), hospitalized in the neonatal intensive care unit (NICU) of General Hospital of Nikea, Piraeus, Greece, over a period of 4 years (07/2017 – 07/2021), were included in the study. Neonates with presumed sepsis, neonates with perinatal hypoxia and preterm neonates with respiratory distress syndrome (RDS), were grouped as critically ill neonates. The ROTEM extrinsically activated (EXTEM) and NATEM assays were performed on the first day of disease onset. The neonatal bleeding assessment tool was used to record and assess clinical bleeding events on the day of ROTEM analysis.

Results: Several EXTEM and NATEM ROTEM parameters differed between neonates with and without clinical bleeding events, indicating a hypo-coagulable state in neonates with clinical bleeding. NATEM parameters had comparable predictive performance for clinical bleeding events with EXTEM parameters for CT, CFT, A10, MCF, LI60 and MCE ($p > 0.05$). However, NATEM A20, A30 and alpha angle demonstrated better predictive ability than EXTEM A20, A30 and alpha angle, respectively ($p < 0.05$). A NATEM CFT value ≥ 147 s presented 95.2% sensitivity (95% CI: 76.1%–99.8%) and 65.6% specificity (95% CI: 57.1%–73.5%) to detect neonates with clinical bleeding, while a NATEM A10 value ≤ 42 mm had 80.8% sensitivity (95% CI: 71.8%–85.9%) and 76.0% specificity (95% CI: 52.8%–91.7%) to detect neonates with clinical bleeding events.

Conclusions: The NATEM assay has shown remarkable sensitivity in predicting bleeding in critically ill neonates, exceeding EXTEM performance in some selected parameters. The incorporation of NATEM test parameters in predictive models for neonatal hemorrhage seems promising and could also contribute to a better assessment of hemostasis in newborns. Further

studies are necessary to demonstrate the reliability of the NATEM assay not only as a diagnostic tool for hemostasis disorders but also as a therapeutic guide in the neonatal population.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Austin K. Steven. Haemostasis. *Medicine*, 2017;45(4):204-208.
2. Sira J, Eyre L. Physiology of hemostasis. *Anaesth Int Care Med*, 2016;17(2):79-82.
3. Virchow R. Cellular pathology. As based upon physiological and pathological histology. Lecture XVI--Atheromatous affection of arteries. 1858. *Nutr Rev*, 1989; 47(1): 23-5.
4. Leung, L.L. An overview of hemostasis 2018.
5. Hinsbergh W.M. Victor. The endothelium: Vascular control of haemostasis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2001;95(2):198-201.
6. Verhamme P, Hoylaerts MF. The Pivotal Role of Endothelium in Haemostasis and Thrombosis. *Acta Clin Belg*, 2006;61(5):213-9.
7. Chaudhry R, Muhammad Usama S., et al. Physiology, Coagulation Pathways. *StatPearls*, 2021.
8. Tousoulis D., Kampoli A.M., Tentolouriw K., et al. The Role of Nitric Oxide on Endothelial Function. *Curr. Vasc. Pharmacol*, 2012;10:4–18.
9. Moncada S., Higgs E., Vane J. Human Arterial and Venous Tissues Generate Prostacyclin (Prostaglandin X), a Potent Inhibitor of Platelet Aggregation. *Lancet*, 1977;309:18–21.
10. Krüger-Genge A. et al. Vascular Endothelial Cell Biology: An Update. *Int. J. Mol. Sci*, 2019;20:4411.
11. Jobling L, Lorna E. Haemostasis, blood platelets and coagulation. *Anaesth Int Care Med*, 2013;14(2):51-53.
12. Zucker-Franklin D. Megakaryocyte and platelet structure in thrombocytopoiesis: the effect of cytokines. *Stem Cells*, 1996. 14 Suppl 1: 1-17.
13. Ruggeri Z.M. The role of von Willebrand factor in thrombus formation. *Thromb Res*, 2007; 1: 5-9.
14. Varga-Szabo D., I. Pleines and B. Nieswandt. Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008; 28(3): 403-12.
15. Goto S., Ikeda Y., Saldivar E. et al. Distinct mechanisms of platelet aggregation as a consequence of different shearing flow conditions. *J Clin Invest*, 1998. 101(2): 479-86.
16. Ren Q., Ye S. and Whiteheart S.W.. The platelet release reaction: just when you thought platelet secretion was simple. *Curr Opin Hematol*, 2008; 15(5):537-41.
17. Kehrel B. Platelet receptors for collagens. *Platelets*, 1995.6(1):11-6.
18. Sakariassen K.S., Fressinaud E., Girma JP, et al. Role of platelet membrane glycoproteins and von Willebrand factor in adhesion of platelets to subendothelium and collagen. *Ann N Y Acad Sci*, 1987. 516: 52-65.
19. Clemetson K J. Platelets and primary haemostasis. *Thromb Res*, 2012; 129(3):220-4.

20. Palta S., Saroa R and Palta A. Overview of the coagulation system. *Indian J Anaesth*, 2014; 58(5): 515-23.
21. Dahlback B., Blood coagulation. *Lancet*, 2000;355(9215): 1627-32.
22. Monagle P, Massicotte P. Developmental haemostasis: secondary haemostasis. *Seminars in fetal & neonatal medicine*,2011;16(6): 294-300.
23. Broze G. J.Jr, Warren L A, Novotny W F, et al. The lipoprotein-associated coagulation inhibitor that inhibits the factor VII-tissue factor complex also inhibits factor Xa: Insight into its possible mechanism of action. *Blood*,1988; 71: 335-43.
24. Furie B. and B.C. Furie. Molecular and cellular biology of blood coagulation. *N Engl J Med*, 1992; 326(12): 800-6.
25. Falati S, Gross P, Merrill-Skoloff G et al. Real-time in vivo imaging of platelets, tissue factor and fibrin during arterial thrombus formation in the mouse. *Nat Med*, 2002; 8(10): 1175-81.
26. Renne T, Schmeier AH, Nickel KF et al. In vivo roles of factor XII. *Blood*, 2012; 120(22):4296-303.
27. Zogg T. and Brandstetter H. Activation mechanisms of coagulation factor IX. *Biol Chem*, 2009; 390(5-6):391-400.
28. Price G.C, Thompson SA, and Kam PC. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor. *Anaesthesia*, 2004; 59(5): 483-92.
29. Dahm A.E., Sandset P.M. and Rosendaal F.R. The association between protein S levels and anticoagulant activity of tissue factor pathway inhibitor type 1. *J Thromb Haemost*, 2008; 6(2): 393-5.
30. Dahlbäck B. and Villoutreix B.O. The anticoagulant protein C pathway. *FEBS Letters*, 2005; 579(15): 3310-3316.
31. Chapin J.C. and Hajjar K.A. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev*, 2015; 29(1): 17-24.
32. Gabriela Cesarman-Maus, K.A.H. Molecular mechanisms of fibrinolysis. *British Journal of Haematology*, 2005:129.
33. Pinheiro M.B., Gomes K.B. and Dusse L.M.S. Fibrinolytic system in preeclampsia. *Clinica Chimica Acta*, 2013; 416:67-71.
34. Paniccia R,Priora R, Alessandrelo Liotta A, et al. Platelet function tests: a comparative review. *Vasc Health Risk Manag*, 2015; 11:133-48.
35. Pati H.P. and Jain S. Flow cytometry in hematological disorders. *Indian J Pediatr*, 2013; 80(9): 772-8.
36. Carubbi C. et al. Cytofluorimetric platelet analysis. *Semin Thromb Hemost*, 2014; 40(1):88-98.

37. Quick A.J. The bleeding time as a test of hemostatic function. *Am J Clin Pathol*, 1975; 64(1): 87-94.
38. Edison E, Konkle B.A., and Goodeve A.C. Genetic Analysis of Bleeding Disorders. *PMC*,2016;22(5): 79-83.
39. Trapani L. Thromboelastography: Current Applications, Future Directions. *Open J of Anesthesiology*, 2013(3):23-27.
40. Favaloro E.J. Clinical application of the PFA-100. *Curr Opin Hematol*, 2002; 9(5): 407-15.
41. Hayward C.P, Harrison P, Cattaneo M, et al. Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. *J Thromb Haemost*, 2006; 4(2):312-9.
42. Thiruvankatarajan V, Pruet A and Adhikary SD. Coagulation testing in the perioperative period. *Indian J Anaesth*, 2014; 58(5): 565-72.
43. Kamal A.H., Tefferi A and Pruthi RK. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc*, 2007; 82(7): 864-73.
44. Eriksson E, Ranby M, Gyzander E, et al. Determination of plasminogen activator inhibitor in plasma using t-PA and a chromogenic single-point poly-D-lysine stimulated assay. *Thromb Res*, 1988; 50(1):91- 101.
45. Chandler W.L, Loo S.C, Ngyen S.V, et al. Standardization of methods for measuring plasminogen activator inhibitor activity in human plasma. *Clin Chem*, 1989; 35(5): 787-93.
46. Attard C, Van der Straaten T, Karlaftiw V, et al. Developmental hemostasis: age-specific differences in the levels of hemostatic proteins. *J Thromb Haemost*, 2013; 11(10): 1850- 1854.
47. Bleyer WA, Hakami N, Shepard TH. The development of hemostasis in the human fetus and newborn infant. *The Journal of pediatrics*, 1971;79(5): 838-853.
48. Jaffray J, Young G. Developmental hemostasis: clinical implications from the fetus to the adolescent. *Pediatr Clin North Am*, 2013; 60(6): 1407- 1417.
49. Favaloro EJ, Lippi G. Translational aspects of developmental hemostasis: infants and children are not miniature adults and even adults may be different. *Ann Transl Med*, 2017; 5(10): 212.
50. Nowak-Gottl U, Limperger V, Kenet G, et al. Developmental hemostasis: a lifespan from neonates and pregnancy to the young and elderly adult in a European white population. *Blood Cells Mol Dis*, 2017; 67: 2- 13.
51. Andrew M, Paes B, Milner R, et al. Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood*,1987; 70(1):165-72.
52. Andrew M, Paes B, Milner R, et al. Development of the human coagulation system in the healthy premature infant. *Blood*,1988; 72(5):1651-7.

53. Andrew M, Vegh P, Johnston M, et al. Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood*, 1992; 80(8): 1998-2005.
54. Parmar N, Albisetti M, Berry L.R, et al. The fibrinolytic system in newborns and children. *Clin Lab*, 2006;52:115.
55. 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;506–11.
56. Strauss T, Sidlik-Muskatel R, Kenet G. Developmental hemostasis: primary hemostasis and evaluation of platelet function in neonates. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2011;16: 301–4.
57. Stuart MJ, Dusse J, Clark DA, et al. Differences in thromboxane production between neonatal and adult platelets in response to arachidonic acid and epinephrine. *Pediatr Res*, 1984;18:823–6.
58. Suarez CR, Gonzalez J, Menendez C, et al. Neonatal and maternal platelets: activation at time of birth. *Am J Hematol*, 1988; 29:18–21.
59. Kühne T, Imbach P. Neonatal platelet physiology and pathophysiology. *Eur J Pediatr*, 1998;157:87–94.
60. Israels SJ, Rand ML, Michelson AD. Neonatal platelet function. *Semin Thromb Hemost*, 2003;29:363–72.
61. Kristina M. Haley, Michael Recht, Owen J.T. McCarty. Neonatal Platelets: mediators of primary hemostasis in the developing hemostatic system. *Pediatric Research*, 2014;76:230-237.
62. Venkatesh V et al. A novel approach to standardized recording of bleeding in a high-risk neonatal population. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2013; 98:260–3.
63. Patricia Davenport and Martha Sola-Visner. Hemostatic Challenges in Neonates. *Front Pediatr*, 2021;9:627715.
64. Wiedmeier SE et al. Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47,000 patients in a multihospital healthcare system. *J Perinatol*, 2009; 29:130–6.
65. Urban D et al. Decreased numbers of dense granules in fetal and neonatal platelets. *Haematologica*, 2017;102:36–8.
66. Roberts I, Murray NA. Neonatal thrombocytopenia: causes and management. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2003;88:359–64.
67. Waller AK et al. Flow cytometry for near-patient testing in premature neonates reveals variation in platelet function: a novel approach to guide platelet transfusion. *Pediatric Res*, 2019; 85:874–84.
68. Pal S, Curley A, Stanworth SJ. Interpretation of clotting tests in the neonate. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2015; 100:270–4.

69. Christensen RD, Baer VL, Lambert DK, et al. Reference intervals for common coagulation tests of preterm infants (CME). *Transfusion*, 2014; 54:627–32.
70. Neary E, McCallion N, Kevane B, Cotter M, Egan K, Regan I, et al. Coagulation indices in very preterm infants from cord blood and postnatal samples. *J Thromb Haemost*, 2015; 13:2021–30.
71. Chalmers E A. Neonatal coagulation problems. *Arch Dis Neonatal Ed*, 2004; 89:475-478.
72. Danielle M Townsley. Hematologic complications of pregnancy. *Semin Hematol*, 2013;50(3): 221-31.
73. El Hasbaoui B, Karboubi L, et al. Newborn haemorrhagic disorders: about 30 cases. *Pan Afr Med*, 2017; 28:150.
74. Kulkarni R, Lusher J. Perinatal management of neonates with haemophilia. *Br J Haematol*, 2001;112:264–74.
75. Hay CRM, Nissen F and Pipe SW. Mortality in congenital hemophilia A- a systematic literature review. *J Thromb Haemost*, 2021;19:6-20.
76. Chalmers EA. Haemophilia and the newborn. *Blood Reviews*, 2004; 18: 85-92.
77. UKHCDO. Guideline for the selection and use of therapeutic products to treat haemophilia and other hereditary bleeding disorders. *Haemophilia*, 2003;9:1–23.
78. Sadler JE. A revised classification of von Willebrand disease. *Thromb Haemost*, 1994;71:520–5.
79. Peyvandi F, Mannucci PM. Rare coagulation disorders. *Thromb Haemost*, 1999;82:1207–14.
80. Williams MD, Chalmers EA, Gibson BES. Guideline: the investigation and management of neonatal haemostasis and thrombosis. *Br J Haematol*, 2002;119:295–309.
81. Perry DJ. Factor VII deficiency. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 2003;14:47-54.
82. Anvar R, Miloszewski KJ. Factor XIII deficiency. *BJH*, 1999; 107: 468-484.
83. Taylor FB, Toh CH, et al. Towards definition, clinical and laboratory criteria and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*, 2001;86: 1327–30.
84. Shunsuke A, Shinichi T, Makoto O, et al. Incidence and In-Hospital Mortality of Neonatal Disseminated Intravascular Coagulation in Japan: An Observational Study of a Nationwide Hospital Claims Database. *J UOEH*, 2019; 41(3): 295-302.
85. Squizzato A, Gallo A, Levi M, et al. Underlying disorders of disseminated intravascular coagulation: Communication from the ISTH SSC Subcommittees on Disseminated Intravascular Coagulation and Perioperative and Critical Care Thrombosis and Hemostasis. *J Thromb Haemost*, 2020; 18(9):2400-2407.
86. Sutor AH, Von Kries R, Cornelissen EA, et al. Vitamin K deficiency bleeding in infancy. *Thromb Haemost*, 1999; 81: 456-461.

87. Von Kries R, Hachmeister A, Gobel U. Oral mixed micellar vitamin k for the prevention of late vitamin K deficiency bleeding. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2003;88:109–12.
88. Tandoi F, Mosca F, Agosti M. Vitamin K prophylaxis: Leaving the old route for the new one? *Acta Paediatrica*, 2005; 94 (449): 125-128.
89. Araki S and Shirahata A. Vitamin K Deficiency Bleeding in Infancy. *Nutrients*, 2020; 12(3):780.
90. Hall JG, Levin JK, Kuhn JP, et al: Thrombocytopenia with absent radius (TAR). *Medicine*, 1969; 48: 411-439.
91. Giampietro PF, Verlander PC, Davis JG, et al. Diagnosis of Fanconi anaemia in patients without congenital malformations: an international Fanconi Anaemia Registry. *Amer J Dis Child*, 1997; 68: 58-61.
92. King S, Germeshausen M, Strauss G, et al: Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia; a retrospective clinical analysis of 20 patients. *BJH*, 2005; 636-644.
93. Kenet G: Bleeding in neonates. *Thrombosis Research*, 2005; 115 suppl 1: 41-44.
94. Bussel JB: Immune thrombocytopenia in pregnancy; Autoimmune and alloimmune. *J Reprod Immunol*, 1997;37:35.
95. Moiseiwitch N and Brown AC. Neonatal coagulopathies: A review of established and emerging treatment. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2021; 246(12): 1447-1457.
96. Wynn JL and Wong HR. Pathophysiology and treatment of septic shock in neonates. *Clin Perinatol*, 2010; 37(2): 439-79.
97. Davoren A, Curtis BR, Aster RH, et al. Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion*, 2004; 44:1220-1225.
98. George JN, Caen JP, Nurden AT. Glanzmann's thrombasthenia; The spectrum of clinical disease. *Blood*, 1990; 75:1383.
99. Hayasi T, Suzuki K. Molecular pathogenesis of Bernard-Soulier syndrome. *Semin Thromb Hemost*, 2000;26:53.
100. Poryo M, Boeckh JC, Gortner L, et al. Ante-, peri- and postnatal factors associated with intraventricular hemorrhage in very premature infants. *Early Hum Dev*, 2018;116:1–8.
101. Handley SC, Passarella M, Lee HC, et al. Incidence Trends and Risk Factor Variation in Severe Intraventricular Hemorrhage across a Population Based Cohort. *J Pediatr*, 2018; 200:24–9.
102. Hudson IRB, Gibson BES, Brownlie J, et al. Increased concentrations of D-Dimers in newborn infants. *Arch Dis Child*, 1990;65:383–9.
103. Alan T. Nurden. Acquired Glanzmann thrombasthenia: From antibodies to anti-platelet drugs. *Blood Rev*, 2019;36:10-22.

104. Hartert H. Blood coagulation studies using thromboelastography, a new evaluation technique (in German). *Klin Wochenschr*, 1948; 26: 577– 583.
105. Nielsen VG. A comparison of the thrombelastography and the ROTEM. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2007; 18: 247– 252.
106. Shankarraman V, Davis-Gorman G, Copeland JG, et al. Standardized methods to quantify thrombogenicity of blood-contacting materials via thromboelastography. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, 2012; 100: 230– 238.
107. Wasowicz M, Srinivas C, Meineri M, et al. Technical report: Analysis of citrated blood with thromboelastography: comparison with fresh blood samples. *Can J Anaesth*, 2008; 55: 284– 289.
108. Gilman EA, Koch CD, Santrach PJ, et al. Fresh and citrated whole-blood specimens can produce different thromboelastography results in patients on extracorporeal membrane oxygenation. *Am J Clin Pathol*, 2013; 140: 165– 169.
109. Larsen OH, Fenger-Eriksen C, Christiansen K, et al. Diagnostic performance and therapeutic consequence of thromboelastometry activated by kaolin versus a panel of specific reagents. *Anesthesiology*, 2011; 115: 294– 302.
110. Solomon C, Sørensen B, Hochleitner G, et al. Comparison of whole blood fibrin-based clot tests in thrombelastography and thromboelastometry. *Anesth Analg*, 2012; 114: 721– 730.
111. Crochemore T, Maia de Toledo Piza F, Dos Reis Rodrigues R, et al. A new era of thromboelastometry. *Einstein (Sao Paulo)*, 2017. 15(3): 380-385.
112. David Whiting and James A. DiNardo. TEG and ROTEM: Technology and clinical applications. *Am J Hematol*, 2014; 89(2):228-32.
113. Trautman C L et al. Thromboelastography as a Predictor of Outcomes Following Liver Transplantation. *Transplant Proc*, 2017; 49(9): 2110-2116.
114. Görlinger K, Dirkmann D, Hanke AA. Potential value of transfusion protocols in cardiac surgery. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2013; 26: 230– 243.
115. Meesters MI, Burtman D, Van de Ven PM Boer C. Prediction of Postoperative Blood Loss Using Thromboelastometry in Adult Cardiac Surgery: Cohort Study and Systematic Review. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2018; 32(1):141-150.
116. Abdelfattah K. and M.W. Cripps, Thromboelastography and Rotational Thromboelastometry use in trauma. *International Journal of Surgery*, 2016; 33: 196-201.
117. Gonzalez E, Pieracci FM, Moore EE, Kashuk JL. Coagulation abnormalities in the trauma patient: the role of point of care thromboelastography. *Semin Thromb Hemost*, 2010; 36(7):723-37.
118. Ives C, Inaba K, Branco BC, et al. Hyperfibrinolysis elicited via thromboelastography predicts mortality in trauma. *J Am Coll Surg*, 2012; 215(4):496-502.

119. Karlsson O, Jeppsson A, Hellgren M. Major obstetric haemorrhage: monitoring with thromboelastography, laboratory analyses or both? *Int J Obstet Anesth*, 2014;23(1):10-7.
120. Muller MC, Meijers JCM, Vroom MB, et al. Utility of thromboelastography and/or thromboelastometry in adults with sepsis: a systematic review. *Crit Care*, 2014; 18(1):R30.
121. Brenner T, Schmidt K, Delang M, et al. Viscoelastic and aggregometric point-of-care testing in patients with septic shock-crosslinks between inflammation and haemostasis. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2012;56(10):1277-90.
122. Bollinger D, Seeberger MD and Tanaka KA. Principles and Practice of Thromboelastography in Clinical Coagulation Management and Transfusion Practice. *Transfusion Medicine Reviews*, 2012;26(1):1-13.
123. Schochl H, Nienbarer U, Hofer G, et al. Goal-directed coagulation management of major trauma patients using thromboelastometry (ROTEM)-guided administration of fibrinogen concentrate and prothrombin complex concentrate. *Crit Care*, 2010;14(2):R 55.
124. Madsen DE, Ingerslev J, Sidelmann JJ, et al. Intraoperative blood loss during orthognathic surgery is predicted by thromboelastography. *J Oral Maxillofac Surg*, 2012;70(10):547-52.
125. Toukh M, Siemens DR, Black A, et al. Thromboelastography identifies hypercoagulability and predicts thromboembolic complications in patients with prostate cancer. *Thromb Res*, 2014;133(1):88-95.
126. Wikkelsoe AJ, Afshari A, Wetterslev J, et al. Monitoring patients at risk of massive transfusion with thrombelastography or thromboelastometry: A systematic review. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2011; 55: 1174– 1189.
127. Radicioni M, Mezzetti D, Del Vecchio A, et al. Thromboelastography : might work in neonatology too? *J Matern Fetal, Neonatal Med*, 2012;25(4):18-21.
128. Sokou R, Konstantinidi A, Stefanaki C, Tsantes AG, et al. Thromboelastometry: studying hemostatic profile in small for gestational age neonates-a pilot observational study. *Eur j Pediatr*, 2019.
129. Schott NJ, Emery SP, Garbee C, et al. Thromboelastography in term neonates. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2018;31(19):2599-2604.
130. Oswald E, Stalzer B, Heitz E, et al., Thromboelastometry (ROTEM) in children: age-related reference ranges and correlations with standard coagulation tests. *Br J Anaesth*, 2010; 105(6): 827-35.
131. Sokou R, Giallouros G, Konstantinidi A, Pantavou A, et al. Thromboelastometry for diagnosis of neonatal sepsis-associated coagulopathy: an observational study. *Eur J Pediatr*, 2018;177(3):355-362.

132. Girelli G, Antoncechi S, Casadei AM, et al. Recommendations for transfusion therapy in neonatology. *Blood Transfus*, 2015. 13(3): 484-97.
133. Konstantinidi A, Sokou R, Tsantes AG, et al. Thromboelastography and coagulation profile in neonates with perinatal hypoxia-asphyxia. *Journal of neonatal Perinatal Medicine*, 2017; 10:209-231.
134. Ghirardello S, Raffaelli G, Scalabrino E, et al. The intra-assay reproducibility of thromboelastography in very low birth weight infants. *Early Hum Dev*, 2018;127:48-52.
135. Sidlik R, Strauss T, Morag I, et al. Assessment of Functional Fibrinolysis in Cord Blood Using modified Thromboelastography. *Pediatr Blood Cancer*, 2016;63(5):839-843.
136. Mirabella L, Cotoia A, Colacicco G, Tullo L, Salatto P, Mollica G, Mariano K, Dambrosio M and Cinnella G. Reference values for coagulation assessment in full-term newborns. *Minerva Anestesiologica*, 2017;83(4):369-74.
137. Sewell EK, Forman KR, Wong ECC, et al. Thromboelastography in term neonates: an alternative approach to evaluating coagulopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2017;102(1):79-84.
138. Durila M. Nonactivated thromboelastometry able to detect fibrinolysis in contrast to activated methods (EXTEM, INTEM) in a bleeding patient. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 2016;27:828–830.
139. Honickel M. and Grottko O. Rotational thromboelastometry for the diagnosis of coagulation disorders. *Med. Klin. Intensivmed. Und Notf*, 2018;113:542–551.
140. Bugaev N, Como JJ, Golani G, Freeman JJ, et al. Thromboelastography and rotational thromboelastometry in bleeding patients with coagulopathy: Practice management guideline from the Eastern Association for the Surgery of Trauma. *J. Trauma Acute Care Surg*, 2020;89: 999–1017.
141. Simurda T, Asselta R, Zolkova J, et al. Congenital Afibrinogenemia and Hypofibrinogenemia: Laboratory and Genetic Testing in Rare Bleeding Disorders with Life-Threatening Clinical Manifestations and Challenging Management. *Diagnostics*, 2021; 11:2140.
142. Georgiadou P, Sokou R, Tsantes A.G. et al. The Non-Activated Thromboelastometry (NATEM) Assay's Application among Adults and Neonatal/Pediatric Population: A Systematic Review. *Diagnostics*, 2022;12:658.
143. Rossetto V. et al. Whole blood rotation thromboelastometry (ROTEM®) profiles in subjects with non-neoplastic portal vein thrombosis. *Thromb. Res*, 2013;132:131–134.
144. Schöchl H. et al. Similarities in thromboelastometric (ROTEM®) findings between humans and baboons. *Thromb. Res*, 2012; 130: 107–112.
145. Zipperle J. et al. A novel coagulation assay incorporating adherent endothelial cells in thromboelastometry. *Thromb. Haemost*, 2013; 109:869–877.

146. Trelinski J, Misiewicz M, Robak et al. Assessment of rotation thromboelastometry (ROTEM) parameters in patients with multiple myeloma at diagnosis. *Thromb. Res*, 2014; 133: 667–670.
147. Elvstam O, Berntorp E and Schott U. ROTEM monitoring of activated and non-activated prothrombin complex concentrate correction of dilutional coagulopathy. *Scand. J. Clin. Lab. Investig*, 2016; 76:202–207.
148. Spiezia L, Bogana G, Campello E, Maggiolo S, et al. Whole blood thromboelastometry profiles in women with preeclampsia. *Clin. Chem. Lab. Med*, 2015; 53: 1793–1798.
149. Bagge A, Schött U. and Kander T. Effects of naturopathic medicines on Multiplate and ROTEM: A prospective experimental pilot study in healthy volunteers. *BMC Complementary Altern. Med*, 2016; 16:64.
150. Spiezia L, Bertini D, Boldrin M, et al. Reference values for thromboelastometry (ROTEM®) in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Thromb. Res*, 2010; 126:294–297.
151. Parsi K., Exner T., Low J. et al. In vitro effects of detergent sclerosants on clot formation and fibrinolysis. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg*, 2011; 41:267–277.
152. Livnat T, Shenkman B, Martinowitz U, Zivelin A, et al. The impact of thrombin generation and rotation thromboelastometry on assessment of severity of factor XI deficiency. *Thromb. Res*, 2015; 136:465–473.
153. Sulaj A, Tsaousi M, Karapati E, Pouliakis A, Iliodromiti Z, Boutsikou T, Valsami S, Iacovidou N, Politou M, Sokou R. Reference Values of Thromboelastometry Parameters in Healthy Term Neonates Using NATEM in Cord Blood Samples. *Children*, 2022; 9:47.
154. Sokou R, Tsantes AG, Konstantinidi A, et al. Rotational Thromboelastometry in Neonates Admitted to a Neonatal Intensive Care Unit: A Large Cross-sectional Study. *Semin. Thromb. Hemost*, 2021; 47:875–884.
155. Sokou R, Piovani D, Konstantinidi A, Tsantes AG, et al. A Risk Score for Predicting the Incidence of Hemorrhage in Critically Ill Neonates: Development and Validation Study. *Thromb. Haemost*, 2021; 121:131–139.
156. Sokou R, Piovani D, Konstantinidi A, Tsantes AG, et al. Prospective Temporal Validation of the Neonatal Bleeding Risk (NeoBRis) Index. *Thromb. Haemost*, 2021; 121:1263–1266.
157. Durila M, Sevcikova S and Vymazal T. Stability of Non-Activated Rotational Thromboelastometry Assay in Time of Citrated Blood (Appropriate Time Interval for Analysis). *Clin. Lab*, 2016; 62:2145–2148.
158. Toulon P. Developmental hemostasis: Laboratory and clinical implications. *Int. J. Lab. Hematol*, 2016; 38 (1):66–77.

159. Toulon P, Berruyer M, Francois MB, et al. Age dependency for coagulation parameters in paediatric populations. Results of a multicentre study aimed at defining the age-specific reference ranges. *Thromb. Haemost*,2016; 116: 9–16.
160. Meesters M.I, Koch A, Kuiper G, et al. Instability of the non-activated rotational thromboelastometry assay (NATEM) in citrate stored blood. *Thromb. Res*,2015; 136: 481–483.
161. Oda T, Tamura N, Shen Y, Kohmura-Kobayashi Y, et al. Amniotic fluid as a potent activator of blood coagulation and platelet aggregation: Study with rotational thromboelastometry. *Thromb. Res*,2018;172:142–149.
162. Lancé M.D, Kuiper G.J.A.J., Sloep M, et al. The effects of pneumatic tube system transport on ROTEM analysis and contact activation assessed by thrombin generation test. *Thromb. Res*,2012;130:147–150.
163. Yada K, Nogami K, Ogiwara K. et al. Global coagulation function assessed by rotational thromboelastometry predicts coagulation-steady state in individual hemophilia A patients receiving emicizumab prophylaxis. *Int. J. Hematol*, 2019;110: 419–430.
164. MacDonald S, Wright A, Beuche F, Downes K, et al. Characterization of a large cohort of patients with unclassified bleeding disorder; clinical features, management of haemostatic challenges and use of global haemostatic assessment with proposed recommendations for diagnosis and treatment. *Int. J. Lab. Hematol*, 2020;42:116–125.
165. Aires R.B., Soares A.A.d.S.M., Gomides A.P.M., Nicola A.M. et al. Thromboelastometry demonstrates endogenous coagulation activation in nonsevere and severe COVID-19 patients and has applicability as a decision algorithm for intervention. *PLoS ONE* 2022;17: 0262600.
166. Theodoraki M, Sokou R, Valsami S, Iliodromiti Z, Pouliakis A, Parastatidou S, Karavana G, Ioakeimidis G, Georgiadou P, Iacovidou N. et al. Reference Values of Thrombolastometry Parameters in Healthy Term Neonates. *Children*, 2020; 7:259.
167. Sokou R, Foudoulaki-Paparizos L, Lytras T, Konstantinidi A, Theodoraki M, Lambadaridis I, et al. Reference ranges of thromboelastometry in healthy full-term and pre-term neonates. *Clin. Chem. Lab. Med*, 2017; 55:1592–1597.
168. Brearton C, Rushton A, Parker J, Martin H, et al. Performance Evaluation of a New Point of Care Viscoelastic Coagulation Monitoring System in Major Abdominal, Orthopaedic and Vascular Surgery Platelets, 2020;31:1052–1059.
169. Silverberg E, Tornqvist F, Kander T, Bengzon J, et al. Comparison of citrated and fresh whole blood for viscoelastic coagulation testing during elective neurosurgery. *Thromb. Res*, 2017; 156: 73–79.
170. Tsantes A.G, Trikoupi I.G, Papadopoulos D.V, Goumenos S., Piovani D., Nikolopoulos G.K. et al. The Safety and Efficacy of Tranexamic Acid in Oncology Patients Undergoing

Endoprosthetic Reconstruction and a ROTEM-Based Evaluation of Their Hemostatic Profile: A Pilot Study. *Cancers*, 2021;13:3951.

171. Molloy EJ, Wynn JL, Bliss J, Koenig JM, Keij FM, et al. Neonatal sepsis: need for consensus definition, collaboration and core outcomes. *Pediatric Research*, 2020; 88:2-4.

172. Wynn JL. Defining neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr*, 2016; 28(2):135-140.

173. Hankins GD, Speer M. Defining the pathogenesis and pathophysiology of neonatal encephalopathy and cerebral palsy. *Obstetrics and gynecology*, 2003; 102 (3):628-636.

174. Konstantinidi A, Sokou R, Tsantes AG, Parastatidou S, Bonovas S, et al. Thromboelastometry Variables in Neonates with Perinatal Hypoxia. *Semin Thromb Hemost*, 2020; 46(04):428-434.

175. Gomella TL, Eyal FG, Bany-Mohamed F, editors. Respiratory distress syndrome. In: Gomella's Neonatology. 8th edition. New York Chicago San Francisco Athens London Madrid Mexico City Milan New Delhi Singapore Sydney Toronto:McGraw Hill;2020:1043-1050.

176. Liu J, Shi Y, Dong J, Zheng T, et al. Clinical characteristics, diagnosis and management of respiratory distress syndrome in full-term neonates. *Chin Med J(Engl)*,2010;123(19):2640-2644.

177. Asakura H, Takahashi H, Uchiyama T, Eguchi Y, et al. Proposal for new diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thromb J*, 2016;14:42.

178. Jaffray J, Young G. Developmental hemostasis: clinical implications from the fetus to the adolescent. *Pediatric clinics of North America*. Dec 2013;60(6):1407-1417.

179. Andrew M, Paes B, Johnston M. Development of the Hemostatic System in the Neonate and Young Infant. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 1990;12(1):95-104.

180. Attard C, van der Straaten T, Karlaftis V, Monagle P, Ignjatovic V. Developmental hemostasis: age-specific differences in the levels of hemostatic proteins. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. Oct 2013;11(10):1850-1854.

181. Monagle P, Barnes C, Ignjatovic V, et al. Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories. *Thrombosis and haemostasis*. Feb 2006;95(2):362-372.

182. Sokou R, Parastatidou S, Konstantinidi A, Tsantes AG, Iacovidou N, Doxani C, Piovani D, Bonovas S, Stefanidis I, Zintzaras E, Tsantes AE. Fresh frozen plasma transfusion in the neonatal population: A systematic review. *Blood Rev*. 2022 Apr 11:100951. Epub ahead of print.

183. Konstantinidi A, Sokou R, Parastatidou S, et al. Clinical Application of Thromboelastography/Thromboelastometry (TEG/TEM) in the Neonatal Population: A Narrative Review. *Semin Thromb Hemost*. Jul 2019;45(5):449-457.

184. Katsaras GN, Sokou R, Tsantes AG, et al. The use of thromboelastography (TEG) and rotational thromboelastometry (ROTEM) in neonates: a systematic review. *European journal of pediatrics*. Dec 2021;180(12):3455-3470.

185. Görlinger K, Pérez-Ferrer A, Dirkmann D, et al. The role of evidence-based algorithms for rotational thromboelastometry-guided bleeding management. *Korean journal of anesthesiology*. Aug 2019;72(4):297-322.
186. Görlinger K, Dirkmann D, Hanke AA. Rotational Thromboelastometry (ROTEM®). In: Gonzalez E, Moore HB, Moore EE, eds. *Trauma Induced Coagulopathy*. Cham: Springer International Publishing; 2016:267-298.
187. Network. CN. The_Canadian_Neonatal_Network 2015. 2015; http://www.canadianneonatalnetwork.org/portal/Portals/0/CNN%20Manuals/CNN%20Manual_20150814.pdf. Accessed October 29, 2021.
188. McGovern M, Giannoni E, Kuester H, et al. Challenges in developing a consensus definition of neonatal sepsis. *Pediatric research*. Jul 2020;88(1):14-26.
189. Gravett C, Eckert LO, Gravett MG, et al. Non-reassuring fetal status: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine*. 2016;34(49):6084-6092.
190. Martin R. Pathophysiology, clinical manifestations, and diagnosis of respiratory distress syndrome in the newborn. In: Garcia-Prats JA, ed. *UpToDate Vol 2020*. UpToDate. Waltham, MA, (Accessed on November 30, 2020.)2020.
191. Venkatesh V, Curley A, Khan R, 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*. May 2013;98(3):F260-263.
192. Go H, Ohto H, Nollet KE, et al. Risk factors and treatments for disseminated intravascular coagulation in neonates. *Ital J Pediatr*. 2020;46(1):54. Published 2020 Apr 29. doi:10.1186/s13052-020-0815-7
193. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Critical care medicine*. Apr 2003;31(4):1250-1256.
194. Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology*. Sep 1983;148(3):839-843.
195. Sweetman D, Kelly LA, Zareen Z, et al. Coagulation Profiles Are Associated With Early Clinical Outcomes in Neonatal Encephalopathy. *Frontiers in Pediatrics*. 2019-October-01 2019;7.
196. Leviton A, Dammann O. Coagulation, Inflammation, and the Risk of Neonatal White Matter Damage. *Pediatric research*. 2004/04/01 2004;55(4):541-545.
197. Buyukinan M, Yilmaz D, Yalaz M, et al. Long-term ongoing coagulopathy in premature infants with respiratory distress syndrome. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official*

journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis. Sep 2013;19(5):535-540.

198. Sokou R, Giallouros G, Konstantinidi A, et al. Thromboelastometry for diagnosis of neonatal sepsis-associated coagulopathy: an observational study. *European Journal of Pediatrics*. 2018/03/01 2018;177(3):355-362.

199. Lampridou M, Sokou R, Tsantes AG, et al. ROTEM diagnostic capacity for measuring fibrinolysis in neonatal sepsis. *Thrombosis research*. Aug 2020;192:103-108.

200. Katsaras GN SR, Tsantes AG, Konstantinidi A, Gialamprinou D, Piovani D, Bonovas S, Kriebardis AG, Mitsiakos G, Kokoris S, Tsantes AE. Thromboelastometry in Neonates with Respiratory Distress Syndrome: A Pilot Study. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*. Oct 27 2021;11(11).

201. Parastatidou S, Sokou R. The role of ROTEM variables based on clot elasticity and platelet component in predicting bleeding risk in thrombocytopenic critically ill neonates. *Feb 2021;106(2):175-183*.

202. Schmitt FCF, Manolov V, Morgenstern J, et al. Acute fibrinolysis shutdown occurs early in septic shock and is associated with increased morbidity and mortality: results of an observational pilot study. *Ann Intensive Care*. 2019;9(1):19-19.

203. Moore HB, Moore EE, Neal MD, et al. Fibrinolysis Shutdown in Trauma: Historical Review and Clinical Implications. *Anesthesia and analgesia*. Sep 2019;129(3):762-773.

204. Shalaby S, Simioni P, Campello E, et al. Endothelial Damage of the Portal Vein is Associated with Heparin-Like Effect in Advanced Stages of Cirrhosis. *Thrombosis and haemostasis*. Aug 2020;120(8):1173-1181.

III. ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ



Systematic Review

The Non-Activated Thromboelastometry (NATEM) Assay's Application among Adults and Neonatal/Pediatric Population: A Systematic Review

Petroula Georgiadiou ^{1,†}, Rozeta Sokou ^{1,*,†}, Andreas G. Tsantes ², Stavroula Parastatidou ¹, Aikaterini Konstantinidi ¹, Dimitra Houhoula ², Styliani Kokoris ², Nicoletta Iacovidou ³ and Argirios E. Tsantes ²

¹ Neonatal Intensive Care Unit, "Agios Panteleimon" General Hospital of Nikea, 18454 Piraeus, Greece; petroulag@yahoo.gr (P.G.); stavroula.parastatidou@gmail.com (S.P.); kmaronia@gmail.com (A.K.)

² Laboratory of Haematology and Blood Bank Unit, "Attiko" Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, 12462 Athens, Greece; andreas.tsantes@yahoo.com (A.G.T.); dhouhoula@uniwa.gr (D.H.); stelkok19@gmail.com (S.K.); atsantes@yahoo.com (A.E.T.)

³ Neonatal Department, Medical School, Aretaiosio Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, 11528 Athens, Greece; nicia58@gmail.com

* Correspondence: sokourozeta@yahoo.gr; Tel: +30-213-207-7340 or +30-694-510-7498

† These authors contributed equally to this work.



Citation: Georgiadiou, P.; Sokou, R.; Tsantes, A.G.; Parastatidou, S.; Konstantinidi, A.; Houhoula, D.; Kokoris, S.; Iacovidou, N.; Tsantes, A.E. The Non-Activated Thromboelastometry (NATEM) Assay's Application among Adults and Neonatal/Pediatric Population: A Systematic Review. *Diagnostics* **2022**, *12*, 658. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12030658>

Academic Editor: Gerjan J. Driessen

Received: 4 February 2022

Accepted: 3 March 2022

Published: 8 March 2022

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



Copyright: © 2022 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 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The non-activated thromboelastometry (NATEM) assay is a point-of-care assay that can provide a comprehensive insight into the actual hemostatic mechanism. However, there are very limited data about its use in clinical practice. The aim of this study was to systematically review the literature for any data regarding the use of NATEM in several clinical settings. A systematic review of PubMed and Scopus databases was conducted through 20 January 2022 for studies evaluating the use of the NATEM assay in different clinical settings. The literature search yielded a total of 47 publications, 30 of which met the eligibility criteria for this review. Evaluation of NATEM's detecting ability for hemostasis disorders is limited in the literature. The results of the included studies indicate that NATEM seems to be a sensitive method for the detection of hyperfibrinolysis and may have an advantage in the diagnosis of hemostatic disorders. It could be more informative than the other ROTEM assays for detecting changes in coagulation parameters in patients who receive anticoagulants. However, the reported outcomes are highly varying among the included studies. NATEM has a high sensitivity to detect hypo- or hypercoagulability and provides a detailed insight into the whole hemostatic process from clot formation to clot breakdown. It could be a useful technique in variable fields of medicine, not only in adults, but also in pediatric and neonatal populations, to guide different hemostatic treatments and predict coagulation disorders or mortality/morbidity; this issue remains to be further investigated.

Keywords: thromboelastometry; non-activated thromboelastometry; NATEM; ROTEM; hemostasis; neonates

1. Introduction

Rotational thromboelastometry (ROTEM) is a point-of-care monitoring tool that provides a comprehensive overview of the coagulation process. It is used nowadays in many hospitals worldwide, while over the past years there has been a great interest in its efficacy to guide hemostatic therapy in various clinical settings. Viscoelastic tests such as thromboelastography (TEG) and ROTEM can detect changes in the viscosity and elasticity of whole blood samples during coagulation, from clot formation until clot breakdown, in order to provide diagnostic or prognostic information about any thrombotic or bleeding disorder [1–3].

ROTEM was the second viscoelastic test that was developed following thromboelastography. This assay allows the dynamic visualization of the viscoelastic properties of

blood through a graphical representation of thrombin formation, fibrin polymerization and clot lysis, while it takes into account the complex interactions among different cellular populations, providing a point of care and a detailed evaluation of the patient's hemostatic profile [4]. Existing evidence supports the utility of ROTEM assays in the diagnosis of bleeding conditions and in the prediction of mortality in critically ill patients as well as in predicting and guiding transfusion therapy [4–8]; the non-activated thromboelastometry (NATEM) assay is a particular test of ROTEM and evaluates both the intrinsic and the extrinsic coagulation pathways without the addition of any reagents for activation of coagulation. Hence, compared to the EXTEM and INTEM assays where tissue factor and ellagic acid are used, respectively; in order to activate coagulation, a NATEM assay may more accurately depict the hemostatic mechanism *in vivo* [4]. The NATEM assay evaluates the endogenous activation of hemostasis with a high sensitivity to detect any hyper- or hypocoagulation activity in the tested blood sample [3,4,9–11]. Therefore, NATEM could be a useful method to detect any changes in the hemostatic mechanism caused by multiple injuries, or in patients with diffuse intravascular coagulation (DIC). However, our knowledge regarding the role of the NATEM assay in the detection of hemostatic disorders is limited, especially in certain populations such as neonates and children.

We conducted a systematic review of the literature aiming to map the NATEM assay's applications in various fields of medicine and to assess its role in detecting or predicting hemostasis disorders, or to guide hemostatic treatment. Another goal was to define the evidence-based reference range for the NATEM assay to diagnose hemostasis disorders in critically ill patients, especially in neonates with diseases, and to provide the sensitivity and specificity of its parameters.

2. Methods—Material

In order to perform this systematic review, a stepwise approach specified in the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses guidelines (PRISMA) was used [12].

2.1. Search Strategy

We systematically searched PubMed and Scopus databases through 20 January 2022. The keywords utilized were “Thromboelastometry”, “non-activated Thromboelastometry”, “NATEM”, “ROTEM”, in combination with Boolean logical operators (AND, OR). In addition, a manual electronic search of the references of the selected studies and of previous relevant systematic reviews was performed in order to fully cover the literature and to minimize the risk of missing a study.

2.2. Selection Criteria

We included all studies in English, evaluating the use of the NATEM assay in adults (patients or healthy volunteers) or in neonatal/pediatric populations.

2.3. Data Collection and Analysis

Reviewers were not blinded to the author or publication source of studies. The collected data for each study included the author, study design, year of the study, duration of the study, country, population characteristics, sample size, study objective and outcomes. We also retrieved information regarding the accuracy of NATEM parameters (sensitivity and specificity) to diagnose coagulopathies, to predict hemostasis disorders or mortality rate, and its use to guide hemostatic treatment. After duplicates were removed using the default settings in EndNote X7, the screening of titles and abstracts was performed by two team members (P.G. and R.S.). A.G.T and P.G. independently reviewed the full text of eligible studies in depth. Discrepancies in data extraction were resolved through a consensus and a third author had the decisive vote to resolve the disagreements (R.S). Furthermore, a manual search for any additional relevant articles was performed by two team members (S.P. and A.K). Due to the extreme methodological heterogeneity (in populations,

methods/interventions and conditions being studied) of eligible studies, meta-analysis was deemed not feasible.

3. Results

After the removal of duplicates, our initial screen identified forty-six eligible studies in total. Seventeen studies were excluded after further in-depth reviewing of the studies because they did not include the evaluation of the NATEM assay, or they were not related to the aim of our search. The flowchart showing the search and study selection strategy is presented in Figure 1.

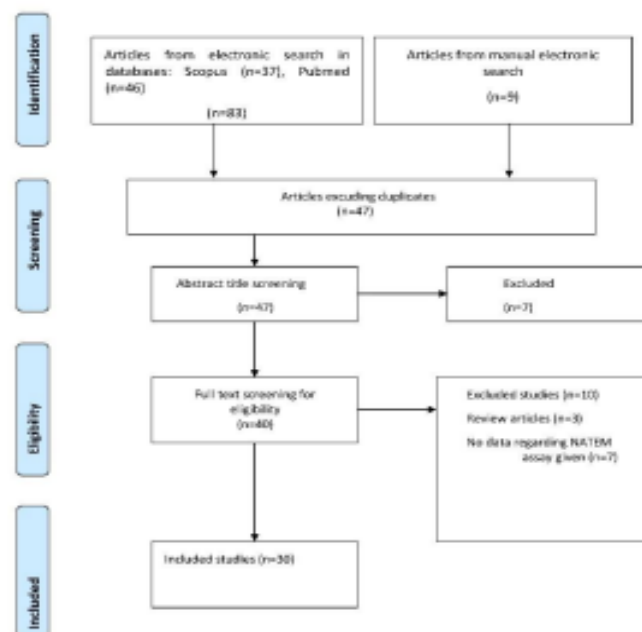


Figure 1. Flowchart of the literature review process.

3.1. Study Characteristics

A total of 30 NATEM articles (1477 participants) from 2010 to 2022 were included. Twenty studies were conducted in Europe [13–32], three studies were conducted in Japan [33–35] and the USA [36–38], one study in Australia [39], one in Russia [40], one in Brazil [41] and one study was conducted in Israel [42]. The outcomes from the 30 included studies were grouped into four categories: experimental study using NATEM assay ($n = 7$), evaluation of NATEM assay in healthy human volunteers ($n = 8$), in patients versus healthy volunteers ($n = 7$) and in patients only ($n = 8$). All studies involved adults except from two studies that evaluated the NATEM assay in the neonatal population [32,42]. The median age of patients that was included in the studies ranged from neonatal age—three days of life—to 66 ± 15 years. All studies provided information related to the NATEM method in various fields of medicine.

Among the 30 studies included in the review, 23 were observational studies (including eight cohort studies, one case–control study and two case reports) whereas two were pilot studies and seven were in vitro experimental studies. There were no randomized control trials identified in our study. Seven studies enrolled a generally healthy population, while in two of them, the NATEM parameters were compared between animal (baboons or monkeys) and human populations [15,24]. Two studies assessed the impact of endothelial cells and in vitro albumin-induced dilutional coagulopathy on thromboelastometry parameters

using the NATEM assay [16,18]. Two studies investigating the effects of naturopathic medicines on ROTEM and the effects of detergent sclerosants on clot formation and fibrinolysis, using ROTEM assays, were included in our study [23,39]. Seventeen studies evaluated the NATEM assay in various patient groups with different diseases, such as hemophilia A, cirrhosis with or without portal vein thrombosis, factor XI or VII deficiency, multiple myeloma, acute respiratory distress syndrome (ARDS), unclassified bleeding disorders, brain tumors, and disorders during pregnancy [14,17,19–22,26,27,33–35,37,40]. Only two studies enrolled neonates and the assessment of hemostatic profile and fibrinolysis in cord blood using NATEM [32,42].

3.2. Outcomes

3.2.1. NATEM Assay Application in Experimental Studies

Seven studies focused on the NATEM assay application in experimental research (Table 1).

Table 1. Non-activated rotational thromboelastometric (NATEM) assay in experimental studies.

Author, Publication Year, Country	Study Design, Centers, Time Period	Study Population	Objective	Results/Conclusions
Oda, 2018 Japan [34]	In vitro experimental	21 (pregnant women with amniotic fluid infection)	NATEM in pregnant women with amniotic fluid infection	Based on the results that came from the NATEM and FIBTEM assay application, the authors came to the conclusion that amniotic fluid enhanced blood coagulation, by induced thrombin generation and activated platelet aggregation, without changes to fibrin formation and stability.
Bar, 2017 USA [37]	Single center, prospective, experimental pilot	8 (adult patients)	NATEM in patients receiving Rivaroxaban	The NATEM test could detect changes in coagulation parameters induced by hemostatic agents in patients receiving Rivaroxaban/chitosan or kaolin-based hemostatic agents may be effective in improving these patients' hemostasis profile.
Bagge, 2016 Sweden [23]	Single center, prospective, pilot, experimental	35 (healthy adults)	Effects of naturopathic medicines on NATEM	Standard intake of 1260 mg Ω-3 of polyunsaturated fatty acids (fish oil) daily may decrease platelet aggregation and clot formation.
Elvstam, 2016 Sweden [18]	Single center, experimental	10 (healthy adults)	NATEM and dilutional coagulopathy	The NATEM assay has been described as the most sensitive protocol for detecting endogenous tissue factors, and it may be preferred for monitoring the Prothrombin complex concentrate (PCC) effects of dilutional coagulopathy.
Zipperle, 2013 Austria [16]	In vitro experimental	Healthy adult volunteers	NATEM and adherent endothelial cells	Adherent endothelial cells participate in the process of hemostasis and fibrinolysis and could be incorporated into ROTEM assays via coated microbeads. In the NATEM assay, only a significant reduction in CT value was observed in the presence of unstimulated Endothelial cells, while on the other hand, CFT, a-angle, A30 and MCF values did not show any difference.
Scharbert, 2012 Austria [29]	Experimental	10 (healthy adults)	NATEM and heparin-induced effects of prothrombin complex	Heparin effect was significant in thromboelastometry at clinically relevant PCC concentrations.
Parsi, 2011 Australia [39]	Single center, experimental	Healthy adults	NATEM and sclerosants	Detergent sclerosants indicated a trimodal reaction on clot formation, initiating strong clots at low concentrations, weak clots at midrange concentrations and preventing clot formation at higher concentrations.

Abbreviations: non-activated rotational thromboelastometric (NATEM); prothrombin complex concentrate (PCC), clotting time (CT); clot formation time (CFT); maximum clot firmness (MCF); amplitude at 10, 20 min (A10,20).

Bar et al. [37] performed a prospective experimental pilot study in order to assess coagulation by a NATEM assay in eight patients who received Rivaroxaban anticoagulant treatment, using chitosan or kaolin-based hemostatic agents. They revealed that the NATEM test could detect changes in coagulation parameters induced by hemostatic agents in patients receiving Rivaroxaban; generally, the study suggests that chitosan or kaolin-based hemostatic agents may be effective in improving these patients' hemostasis profile. Bagge et al. [23] studied the effect of naturopathic medicines on hemostasis and demonstrated that the recommended standard intake of 1260 mg Ω -3 of polyunsaturated fatty acids (fish oil) daily may decrease platelet aggregation and clot formation. On the other hand, Parsi et al. [39] planned to investigate the *in vitro* effect of detergent sclerosants sodium tetradecyl sulphate (STS) and polidocanol (POL) on clot formation and fibrinolysis using the NATEM assay. Detergent sclerosants demonstrated a trimodal reaction on clot formation, initiating strong clot formation at low concentrations, weak clot formation at midrange concentrations and preventing clot formation at higher concentrations. Neither of the studied agents had fibrinolytic activity. Zipperle et al. [16] reported that adherent endothelial cells play a significant role in hemostasis and fibrinolysis and the evaluation of their contribution could be incorporated into a ROTEM assay by using coated microbeads. In a NATEM assay, only a significant reduction in clotting time (CT) value was observed in the presence of unstimulated endothelial cells, while on the other hand, clot formation time (CFT), α -angle, amplitude at 30 min (A30) and maximum clot firmness (MCF) values did not show any difference. Elvstam et al. [18] studied the ability of ROTEM to evaluate the effect of a four-factor Prothrombin complex concentrate (PCC) on an albumin-induced dilutional coagulopathy, and the effect of protamine to block the heparin activity. The authors concluded that since the NATEM assay is the most sensitive assay for detecting endogenous tissue factors, it may be the preferable method for monitoring the effect of PCC on dilutional coagulopathy. In another study by Scharbert et al. [29], the authors aimed to evaluate the heparin effect of PCC at clinically relevant and lower concentrations in whole blood samples of healthy adults using the NATEM assay. They assumed that heparin-free PCC has no heparin effect and came to the conclusion that the heparin effect was significant in thromboelastometry parameters, at clinically relevant PCC concentrations. Another study by Oda et al. [34] intended to evaluate the effects of amniotic fluid on fibrinolysis and blood coagulation using thromboelastometry NATEM parameters in 21 term-singleton pregnant women with an amniotic fluid infection. ROTEM may demonstrate all hemostatic changes caused by whole blood contamination with amniotic fluid. Based on the results that came from the NATEM and fibrin-based extrinsically activated test by using tissue factors and the platelet inhibitor cytochalasin D (FIBTEM) FIBTEM assays application, such as shortened CT in NATEM and FIBTEM and increased clot firmness parameters A10 and MCF only in NATEM, the authors came to the conclusion that amniotic fluid enhanced the blood coagulation by induced thrombin generation and activated platelet aggregation without changes to fibrin formation and stability.

3.2.2. NATEM Assay Application in Healthy Human Volunteers

There were eight studies regarding the NATEM assay application in a healthy human population (Table 2).

Schneider et al. [31] assessed thrombin generation in 132 healthy adults and its correlation to ROTEM parameters. The authors found that the age-related changes in calibrated automated thrombogram (CAT) and in ROTEM variables among adults are not linear. There was a positive correlation between age and maximum clot firmness and alpha angle, but a negative correlation between age and clotting time. There was a significant correlation, although with a moderate slope, but further studies are required. Schöchl et al. [15] conducted an observational study and revealed a similar coagulation profile in thromboelastometric measurements between humans and baboons. The major difference between the species appeared to be a higher resistance of the clot to fibrinolytic breakdown in baboons, as reflected by the NATEM parameters. Furthermore, Spiezia et al. [24] aimed to

study the application of whole blood ROTEM between humans and cynomolgus monkeys in order to evaluate the characteristics of clot formation between these two species. ROTEM was found to demonstrate a hypercoagulable profile in monkeys compared to humans, which could consequently lead to a more difficult xenotransplantation in monkeys than in humans.

Table 2. Non-activated rotational thromboelastometric (NATEM) assay in healthy human volunteers.

Author, Publication Year, Country	Study Design, Centers, Time Period	Study Population	Objective	Results/Conclusions
Sulaj, 2021, Greece [32]	Single center, prospective, observational, March 2021–November 2021	189 healthy-term neonates	NATEM parameters in cord blood samples of healthy-term neonates.	Demonstrate reference ranges for healthy-term neonates in NATEM assay
Getrajdman, 2021 USA [36]	Single center, prospective, observational, July 2019–February 2021	120 (healthy pregnant women)	NATEM in healthy pregnant women	NATEM method could be useful in monitoring anticoagulant treatment in pregnant women
Lechien, 2021 Germany [30]	Observational	40 (30 full term pregnant women vs. 10 healthy non pregnant women)	NATEM and tranexamic acid in Postpartum hemorrhage	Pregnant women have a higher fibrinolytic potential compared with nonpregnant women
Jilma-Stohlawetz, 2017 Austria [25]	Single center, observational	42 (healthy adults) –10 healthy, BMI 23 ± 3 kg/m ² –17 healthy, BMI > 30 kg/m ² –15 healthy (12 Male /3 Female)	Circadian variation, BMI evaluation and effect of LMWH and recombinant antithrombin on coagulation and fibrinolysis	A high daily fluctuation and an influence of high BMI on clotting parameters was found. NATEM assay is sensitive to the prothrombotic phenotype in obese individuals, as well as the within one day changes of hemostatic profile of healthy adults which reflect the circadian variability of components involved in hemostasis.
Sidlik, 2016 Israel [42]	Single center, prospective, cohort	124 (101 neonates and 23 healthy adults)	NATEM in neonatal population	Lysis parameters such as lysis index at 30 min (LI30) and time to lysis (TTL), tested with increased tPA-concentration, were found significantly lower in neonate's cord blood fibrinolysis was more rapid in the newborns
Schneider, 2015 Germany [31]	Single center, observational	132 (healthy adults)	NATEM and healthy adults	The age-related changes in calibrated automated thrombogram (CAT) and in ROTEM variables among adults are not linear
Schöchl, 2012 Austria/Germany [15]	Observational	46 (25 baboons and 21 human volunteers)	NATEM between baboons and humans	Similarities in thromboelastometric measurements between humans and baboons/a higher resistance of the baboon clot to fibrinolytic breakdown measured in NATEM
Spiezia, 2010 Italy [24]	Observational	93 (43 monkeys vs. 50 healthy adults)	Reference values for NATEM in monkeys	A hypercoagulable profile in monkeys as compared to humans/probably more difficult is xenotransplantation in monkeys than in humans

Abbreviations: Non-activated rotational thromboelastometric (NATEM); Body mass index (BMI); Low-molecular-weight heparins (LMWHs); Clotting Time (CT); Clot Formation Time (CFT).

In addition, Jilma-Stohlawetz et al. [25] aimed to examine the circadian variation and the between- and within- subject variation in ten healthy adults within an 8-week period using the NATEM assay, as well as the influence of elevated body mass index (BMI) and the effect of antithrombin and low molecular weight, on the formation of the clot. They found a high daily variation and a significant impact of high BMI on clotting parameters; however, these findings have a minor clinical relevance in emergency situations. NATEM assay is sensitive to the prothrombotic phenotype in obese individuals, as well as the within one day changes of hemostatic profile of healthy adults which reflect the circadian variability of components involved in hemostasis.

Moreover, Getrajdman et al. [36] aimed to define the normal values for non-activated thromboelastometry parameters among 120 healthy pregnant women, through a prospective observational study. This was the first study reporting the reference ranges for NATEM assay with or without heparinase in non-laboring pregnant women, indicating that NATEM method could be useful in monitoring anticoagulant treatment in pregnant women. Last, Lechien's et al. [30] conducted an observational study in order to determine the tranexamic acid (TXA) concentration that is required to inhibit 95% (EC95) of tissue-type plasminogen activator (t-PA)-induced fibrinolysis in healthy pregnant and non-pregnant women. The outcomes of this study indicate that pregnant women have a higher fibrinolytic potential compared with nonpregnant women.

Furthermore, Sidlik et al. [42] aimed to examine the functional fibrinolytic capacity of newborn's cord blood using NATEM. Lysis parameters such as lysis index at 30 min (LI30) and time to lysis (TTL), tested with increased t-PA-concentration, were found significantly lower in neonate's cord blood. This was the first study regarding the functional fibrinolysis in cord blood, and the findings indicated that neonatal fibrinolysis is increased compared to adults. Sulajet et al. [32] reported reference ranges for NATEM parameters in healthy-term neonates using cord blood samples and showed that the gestational age had a positive correlation with lysis index at 30 and 60 min; these results are in accordance with other studies performed in healthy neonates using intrinsically activated test with ellagic acid (INTEM) and extrinsically activated test with tissue factor (EXTEM) assays [43,44]. Moreover, female neonates appear to have a more hypercoagulable profile compared to males, manifested with faster CT and higher clot amplitude at 20 min (A20) and MCF; a finding which can be attributed to the increased levels of coagulation factors that females present [45].

3.2.3. Comparison of NATEM Parameters between Healthy Adult Volunteers and Patients

Seven studies comparing healthy adults and patients were identified (Table 3).

Meesters et al. [13] investigated the correlation of NATEM results between healthy adults and patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) and found that in citrated blood samples, NATEM results are modified over time and, consequently, a NATEM test should be carried out directly after blood sampling, as opposed to activated ROTEM assays such as INTEM/EXTEM/FIBTEM. Furthermore, Trelifski et al. [17] evaluated ROTEM parameters in patients with multiple myeloma (MM) in order to identify those with the highest risk of developing thrombotic events and revealed that a NATEM test could identify a prothrombotic situation in patients with MM. Additionally, Spiezia et al. [20], through a case-control study, assessed the coagulation profile of 30 pregnant women with preeclampsia and 60 healthy pregnant women using NATEM and they found that pregnant women with preeclampsia are in a prothrombotic state not only due to a higher clot stability, but also due to a decrease in fibrinolysis. Livnat et al. [40], in a study enrolling 25 patients with severe FXI deficiency and 16 healthy adult volunteers, used a NATEM assay and found that it was improper to identify patients at increased risk of bleeding following a surgical procedure. Lastly, Furukawa et al. [35] evaluated a monitoring protocol using NATEM in patients with hemophilia A (HA) with inhibitors on bypassing treatment, and concluded that NATEM could offer a promising strategy concerning bypassing therapy in HA patients receiving inhibitors. Additionally, Rossetto et al. [14] analyzed the whole blood ROTEM values between cirrhotic and non-cirrhotic patients with portal vein thrombosis (PVT) and

a group of healthy volunteers. NATEM and traditional coagulative parameters (i.e., platelet count, prothrombin time/international normalized ratio (PT/INR), activated partial thromboplastin time (aPTT), and fibrinogen) were assessed on blood samples from each group; no significant differences were found between the control group and PVT patients, both with and without cirrhosis. Recently, Aires et al. [41] have evaluated the hemostatic status of COVID-19 patients using ROTEM EXTEM, INTEM, FIBTEM and NATEM assays. The authors evaluated the ROTEM parameters of nonsevere and severe forms of COVID-19 patients compared to healthy controls and reported that the altered NATEM-CT would represent a thromboelastometric parameter useful as a predictor of disease severity.

Table 3. Comparison of NATEM parameters between healthy adult volunteers and patients.

Author, Publication Year, Country	Study Design, Centers, Time Period	Study Population	Objective	Results/Conclusions
Rossetto, 2013 Italy [14]	Single center, observational, January 2010–September 2012	63 (49 cirrhotic or non-cirrhotic patients with or without PVT and 14 healthy adults)	NATEM in patients with PVT cirrhotic or non-cirrhotic	There were no significant differences in NATEM assays and in traditional coagulative parameters between the two groups.
Trelifski, 2014 Poland [17]	Single center, observational	46 (26 patients with MM and 20 healthy adults)	NATEM and patients with multiple myeloma	A NATEM test could contribute to identify a prothrombotic situation in patients with MM.
Spiezia, 2015 Italy [20]	Single center, case-control, December 2013–September 2014	90 (30 pregnant with preeclampsia vs. 60 pregnant healthy women)	NATEM in pregnant women with preeclampsia	A prothrombotic state in pregnant women with preeclampsia was found compared to healthy pregnant women.
Meesters, 2015 Netherlands/Germany [13]	Multicenter, cohort	44 (14 healthy adults and 30 patients admitted to ICU)	NATEM in citrate stored blood	A NATEM test should be carried out directly after blood sampling.
Livnat, 2015 Russia [40]	Cohort, January 2013–February 2014	41 (25 patients vs. 16 healthy adults)	NATEM and patients with FXI deficiency	A NATEM assay was incapable of predicting bleeding predisposition of the patients.
Furukawa, 2015 Japan [35]	Single center, cohort	28 (8 patients vs. 20 healthy adults)	NATEM and hemophilia A	A NATEM could offer a promising strategy concerning bypassing therapy in HA patients receiving inhibitors.
Aires, 2022 Brazil [41]	Single center, observational, 1 August and 30 September 2020	61 (41 patients with COVID-19 and 20 healthy adults)	NATEM and patients with COVID-19	The altered NATEM-CT would represent a thromboelastometric parameter useful as a predictor of disease severity.

Abbreviations: non-activated rotational thromboelastometric (NATEM); multiple myeloma (MM); portal vein thrombosis (PVT); clotting time (CT).

3.2.4. NATEM Assay Application in Different Clinical Settings

Finally, regarding our fourth group of articles (NATEM assay application in patients) we revealed eight studies (Table 4).

In a large cohort study, Shalaby et al. [19] aimed to assess the coagulation and endothelial damage in the portal vein in 45 cirrhotic patients with portal hypertension by using NATEM method. The indications of damaged glycocalyx, in combination with increased concentrations of endothelial microparticles (MPs), glycosaminoglycans (GAGs), and endotoxemia levels (lipopolysaccharide (LPS)), suggest an important alteration of the endothelium in the portal vein compared to peripheral veins; as a result, this endothelial damage could be indicative of a significant local risk factor in the pathogenesis of portal vein thrombosis.

Brearton et al. [21] aimed to examine the performance of the viscoelastic coagulation monitoring system (VCM) by comparing it to the ROTEM testing device among 86 patients undergoing a planned major abdominal, orthopedic or vascular surgery. They revealed that the VCM system is not only an easy-to-use method, but also capable of making measurements of patients' coagulation system. A good correlation between the most VCM and NATEM parameters (CT, A10, A20 and MCF) was reported. Moreover, Silverberg's [22] goal was to compare citrated and fresh whole blood by using a NATEM assay and Sonoclot tests in 38 patients during elective neurosurgery. They showed that the citrated blood induced a hypercoagulable response, as compared to the fresh whole blood parameters, in NATEM clot formation time and α -angle, Sonoclot platelet function and clot rate.

A case report by Durila et al. [26] demonstrated that non-activated thromboelastometry was capable of demonstrating fibrinolysis in a bleeding patient, in contrast to activated assays. In addition, Lancé et al. [28] studied the influence of pneumatic tube system (PTS) transport on ROTEM results and its contribution to investigating the activation evaluated by thrombin generation (TG). They reached the conclusion that, among the ROTEM analysis, NATEM methods are the most sensitive tool to reflect small changes in the coagulation system. Rapid transport in pneumatic systems may influence the reliability of results by platelet activation and/or contact activation, as a NATEM assay revealed it was expressed with a shortened CT, which reflects the initiation of clot formation. Ultimately, Yeom et al. [38] aimed to examine the use of thromboelastometry assays in testing coagulation disorders and its contribution in factor replacement in congenital FVII deficiency, and showed that NATEM analysis indicated a normal coagulation condition in a 22-year-old woman with an FVII:C of 8%; however, she received activated recombinant FVII (rFVIIa), which most probably led to thrombosis of the radial artery. Yada et al. [33] assessed the coagulation status of seven patients with hemophilia A using NATEM. The authors found that there was a significant dose-dependent shortening of CT and CT + CFT times following emicizumab administration in these patients and they concluded that NATEM could be used to evaluate hemostasis in patients with hemophilia A receiving emicizumab. Nevertheless, in a large cohort study by MacDonald et al. [27] of patients with an unclassified bleeding disorder, a NATEM assay was not able to contribute to the classification of hemorrhagic patients. Similarly, in a study by Livnat et al. [40] including 25 patients with severe FXI deficiency and 16 healthy adult volunteers, a NATEM assay was incapable of predicting bleeding diathesis in such patients undergoing a surgical procedure. Additionally, Rossetto et al. [14] analyzed the whole blood ROTEM values between cirrhotic and non-cirrhotic patients with portal vein thrombosis (PVT) and a group of healthy volunteers. No significant differences were found on NATEM parameters and conventional coagulation tests between control group and PVT patients, both with and without cirrhosis.

Table 4. NATEM assay application in different clinical settings.

Author, Publication year, Country	Study Design, Centers, Time Period	Study Population	Objective	Results/Conclusions
Yeom, 2021 USA [38]	Case report	1 (patient female with severe FVII deficiency)	NATEM and patient with FVII deficiency	NATEM analysis indicated a normal coagulation condition.
Shalaby, 2020 Italy [19]	Single center, cohort	45 (cirrhotic patients with PVT)	NATEM and PVT in cirrhotic patients	NATEM assay highlighted the presence of a heparin-like effect in portal blood reflecting the endothelial dysfunction in the portal vein.
MacDonald, 2019 UK [27]	Large cohort, Single center, 2001–October 2018	124 (patients with unclassified bleeding disorder)	NATEM and patients with unclassified bleeding disorder	NATEM assay was not able to contribute to the classification of hemorrhagic patients.
Yada, 2019 Japan [33]	Single center, cohort, May 2013–February 2016	7 (adult patients with HA receiving emicizumab)	NATEM in patients with hemophilia A who received emicizumab	NATEM could be useful for the evaluation of hemostasis status in patients with Hemophilia A receiving emicizumab.
Brearton, 2019 UK [21]	Single center, observational	86 (patients undergoing abdominal, orthopedic or vascular surgery)	Comparison of NATEM and VCT	VCM system is not only an easy-to-use method but also capable of making measurements of patients' coagulation system. There was reported a good correlation between the most VCM and NATEM parameters (CT, A10, A20 and MCF).
Silverberg, 2017 Sweden/Austria [22]	Prospective, unblinded observational cohort, September–December 2015	38 (patients undergoing elective brain tumor resection/biopsy)	NATEM and comparison of citrated and fresh whole blood during elective neurosurgery	The citrated blood indicated a hypercoagulable response as compared to the fresh whole blood parameters.
Durila, 2016 Prague [26]	Case report	1 (patient with ards and infection)	NATEM and detection of bleeding disorder in a patient with arSD	NATEM was capable of distinguishing fibrinolysis in a bleeding patient, in contrast to activated assays.
Lancé, 2012 Netherlands [28]	Observational	44 (patients scheduled for elective cardiothoracic surgery)	NATEM and pneumatic tube system (PTS)	Among the ROTEM analysis, NATEM methods is the most sensitive tool to reflect small changes in the coagulation system. The rapid transport in pneumatic systems may influence reliability of results by platelet activation and/or contact activation as it expressed with a shortened CT revealed in NATEM assay, which reflects the initiation of clot forming.

Abbreviations: non-activated rotational thromboelastometric (NATEM); multiple myeloma (MM); portal vein thrombosis (PVT); viscoelastic coagulation test (VCT); acute respiratory distress syndrome (Ards); pneumatic tube system (PTS).

4. Discussion

A NATEM assay provides a comprehensive insight into the hemostatic mechanism and is a highly sensitive method to detect endogenous coagulation activators such as the tissue factor. Although the interest in viscoelastic methods (TEG and ROTEM) has recently grown in the fields of hemostasis and therapeutic transfusion in adults and neonates, there is only limited evidence in the literature regarding the detecting ability of NATEM assays for hemostatic disorders in neonates or adults [46–48]. The published data on NATEM are scarce compared to INTEM, EXTEM, and FIBTEM assays. It is noteworthy that use in neonates is still limited due to the lack of established reference values. Additionally, there are no comparative studies demonstrating the superiority of NATEM over EXTEM or INTEM in the prognosis of hemostatic disorders and/or in predicting the occurrence of bleeding events.

A NATEM assay evaluates both the intrinsic and the extrinsic coagulation pathways without any reagents for the activation of coagulation. As opposed to the EXTEM and INTEM assays, which use tissue factor and ellagic acid, respectively, to activate coagulation, NATEM only contains calcium to reverse the action of citrate in the sample tubing.

Therefore, since no coagulation activators are required in the NATEM assay, this method could potentially provide a more precise depiction of the in vivo hemostatic mechanism compared to EXTEM and INTEM assays. Finally, NATEM is cheaper than EXTEM and INTEM, since no reagent activator is required. Due to all these advantages of the NATEM assay, this laboratory method is an attractive option for an easy and rapid evaluation of hemostasis, especially in the neonatal population. A disadvantage of the NATEM assay, however, is the longer running time that is required for results compared to the other ROTEM assays.

Although the results of the activated ROTEM assays, such as INTEM, EXTEM and FIBTEM assays, remain unaffected in blood samples stored for up to 2 h, most NATEM parameters, such as CT and CFT, are significantly affected by the time interval between the blood draw and sample analysis [49,50]. It is hypothesized that this is caused by the degradation of citrate in red blood cells and platelets via the citric acid cycle and the subsequent increase in calcium and coagulation reactivation [51,52]. Another possible cause of the storage time impact on NATEM parameters is the activation of the intrinsic coagulation pathway following contact of coagulation factor XII with kaolin or glass. Factor XIIa leads to the activation of factor XI and consequent activation of factor IX, in the presence of calcium, resulting in clotting time reduction [53]. The accumulation of microparticles with procoagulant potency from activated cells could also justify alterations in the NATEM parameters after sample storage [54,55]. Therefore, a NATEM assay should be performed in freshly drawn citrated blood in order to prevent bias by different initiation times and be more representative of patients' hemostatic status [13].

A NATEM assay has been reported as a potential useful laboratory test to evaluate coagulopathy in patients with various diseases such as hemophilia A [33], cirrhosis with non-neoplastic portal vein thrombosis [19], multiple myeloma [17] and preeclampsia during pregnancy [20]. NATEM could also be used to detect changes in the coagulation activity of patients taking anticoagulant medications. Despite the promising results of the NATEM assay in detecting hemostatic disorders, there were some studies in which a NATEM assay was not able to distinguish bleeders and non-bleeders, nor could it predict hemorrhagic risk in patients with severe FXI deficiency undergoing surgery. In addition, in other studies, NATEM could not classify the hemorrhagic risk and identify coagulation disorders [16,29,42]. Recently, a NATEM assay was reported as a useful tool in the differentiation between severe and nonsevere COVID-19 patients [41].

In general, the most frequently used ROTEM assays are EXTEM, INTEM, and FIBTEM. The EXTEM and INTEM assays provide information on the extrinsic and intrinsic coagulation pathway, respectively, as well as on their interaction with platelets, and constitute the initial steps of screening. FIBTEM clot firmness parameters such as A5, A10, and MCF determine the fibrinogen level and fibrin polymerization; in combination with the corresponding EXTEM parameters, they can also delineate the hypofibrinogenemia from isolated thrombocytopenia, both of which contribute as key players to a clot's rigidity and elastic properties. The FIBTEM parameters are currently used in clinical algorithms and protocols aiming to guide and individualize goal-directed therapy in several clinical settings such as in trauma-induced coagulopathy and in demanding perioperative management. Taking into account both the bleeding and the thrombotic risk, common complications in patients undergoing surgery, the perioperative management of hypofibrinogenemic patients or those receiving anticoagulants is complicated, and an assessment of the patient's hemostatic status is required. ROTEM and TEG can assist in perioperative coagulation management [48,56,57]. Although EXTEM and INTEM assays are commonly used in algorithms to guide transfusion for the management of severe bleeding, increased bleeding diathesis can be evident despite normal EXTEM or INTEM values. EXTEM/INTEM methods are used in an emergency setting when information on the patient's hemostatic profile is required promptly. However, it should be noted that the reagents used for in vitro activation of coagulation in the above methods may provide erroneous results. In fact, although activation of the extrinsic system by tissue factor resembles the natural

process, several issues emerge. Different sources of tissue factor and its physiologically varying biologic potency in different lots create variability. Additionally, the extent of the involvement of the contact system also contributes to the variability of results [9,58–60]. On the contrary, the NATEM method, in which coagulation activation relies solely on calcium administration, can reveal coagulation disorders that are not detected by EXTEM/INTEM [4,26]. Our systematic review of the literature revealed limited evidence supporting the superiority of NATEM compared to EXTEM/INTEM in the diagnosis and prognosis of hemostatic disorders. However, NATEM seems to be a sensitive method for the detection of hyperfibrinolysis [26,42] and may have an advantage in the diagnosis of those hemostatic disorders in which dysfunctional fibrinolysis is mainly involved. In vitro studies have demonstrated that the NATEM assay could be a useful method to monitor the degree of endothelial damage and has a high sensitivity to detect changes in the coagulation status of patients following PCC administration [16,19]. Moreover, it was shown that a NATEM assay can provide more detailed information than the other ROTEM assays about the coagulation status of patients with hemophilia A who receive prophylactic treatment with emicizumab [33].

5. Conclusions

NATEM has high sensitivity to detect hypo- or hypercoagulability and might provide a detailed insight onto the whole hemostatic process from clot formation to clot breakdown. It could be a useful method to monitor the coagulation status not only of adults, but children and neonates as well, while it might also be used to guide hemostatic therapy and predict certain clinical outcomes such as mortality/morbidity in those patients. However, the reported data regarding the diagnostic/predictive value of a NATEM assay for coagulopathies and its efficacy to guide hemostatic therapy are highly varying among the published studies. There is a need to clearly define its reference range and thresholds to diagnose hemostasis disorders, predict increased bleeding or mortality rate, and guide the hemostatic resuscitation in a neonatal or adult population.

Author Contributions: Conceptualization, R.S., P.G. and A.E.T.; methodology, R.S., P.G., A.G.T. and A.E.T.; data curation, R.S., P.G., A.G.T., S.P., A.K., D.H., N.I. and S.K.; formal analysis, P.G., R.S. and A.G.T.; investigation, R.S., P.G., A.G.T. and A.E.T.; writing—original draft preparation, R.S., P.G., A.G.T., S.P. and A.E.T.; writing—review and editing, N.I., S.K., D.H. and A.K.; visualization, A.E.T.; supervision, R.S. and A.E.T.; project administration, A.E.T. and R.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

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

References

1. Honickel, M.; Grottkle, O. Rotational thromboelastometry for the diagnosis of coagulation disorders. *Med. Klin. Intensivmed. Und Notf.* **2018**, *113*, 542–551. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Bugaev, N.; Como, J.J.; Golani, G.; Freeman, J.J.; Sawhney, J.S.; Vatsaas, C.J.; Yorkgitis, B.K.; Kreiner, L.A.; Garcia, N.M.; Aziz, H.A.; et al. Thromboelastography and rotational thromboelastometry in bleeding patients with coagulopathy: Practice management guideline from the Eastern Association for the Surgery of Trauma. *J. Trauma Acute Care Surg.* **2020**, *89*, 999–1017. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Da Luz, L.T.; Nascimento, B.; Shankarakutty, A.K.; Rizoli, S.; Adhikari, N.K. Effect of thromboelastography (TEG[®]) and rotational thromboelastometry (ROTEM[®]) on diagnosis of coagulopathy, transfusion guidance and mortality in trauma: Descriptive systematic review. *Crit. Care* **2014**, *18*, 518. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Görlinger, K.; Dirkmann, D.; Hanke, A.A. Rotational Thromboelastometry (ROTEM[®]). In *Trauma Induced Coagulopathy*; Gonzalez, E., Moore, H.B., Moore, E.E., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2016; pp. 267–298. [[CrossRef](#)]

5. Simurda, T.; Asselta, R.; Zolkova, J.; Brunclikova, M.; Dobrotova, M.; Kolkova, Z.; Loderer, D.; Skornova, I.; Hudecek, J.; Lasabova, Z.; et al. Congenital Afibrinogenemia and Hypofibrinogenemia: Laboratory and Genetic Testing in Rare Bleeding Disorders with Life-Threatening Clinical Manifestations and Challenging Management. *Diagnostics* **2021**, *11*, 2140. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Sokou, R.; Piovani, D.; Konstantinidi, A.; Tsantes, A.G.; Parastatidou, S.; Lampridou, M.; Ioakeimidis, G.; Gounaris, A.; Iacovidou, N.; Kriebardis, A.G.; et al. A Risk Score for Predicting the Incidence of Hemorrhage in Critically Ill Neonates: Development and Validation Study. *Thromb. Haemost.* **2021**, *121*, 131–139. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Sokou, R.; Piovani, D.; Konstantinidi, A.; Tsantes, A.G.; Parastatidou, S.; Lampridou, M.; Ioakeimidis, G.; Iacovidou, N.; Bonovas, S.; Tsantes, A.E. Prospective Temporal Validation of the Neonatal Bleeding Risk (NeoBRIS) Index. *Thromb. Haemost.* **2021**, *121*, 1263–1266. [[CrossRef](#)]
8. Sokou, R.; Tsantes, A.G.; Konstantinidi, A.; Ioakeimidis, G.; Lampridou, M.; Parastatidou, S.; Theodoraki, M.; Piovani, D.; Iliodromiti, Z.; Boutsikou, T.; et al. Rotational Thromboelastometry in Neonates Admitted to a Neonatal Intensive Care Unit: A Large Cross-sectional Study. *Semin. Thromb. Hemost.* **2021**, *47*, 875–884. [[CrossRef](#)]
9. Duría, M.; Sevcikova, S.; Vymazal, T. Stability of Non-Activated Rotational Thromboelastometry Assay in Time of Citrated Blood (Appropriate Time Interval for Analysis). *Clin. Lab.* **2016**, *62*, 2145–2148. [[CrossRef](#)]
10. Toukon, P. Developmental hemostasis: Laboratory and clinical implications. *Int. J. Lab. Hematol.* **2016**, *38* (Suppl. S1), 66–77. [[CrossRef](#)]
11. Toukon, P.; Berruyer, M.; Brionne-François, M.; Grand, F.; Lasne, D.; Telion, C.; Arcizet, J.; Giacomello, R.; De Pooter, N. Age dependency for coagulation parameters in paediatric populations. Results of a multicentre study aimed at defining the age-specific reference ranges. *Thromb. Haemost.* **2016**, *116*, 9–16. [[CrossRef](#)]
12. Moher, D.; Shamseer, L.; Clarke, M.; Ghersi, D.; Liberati, A.; Petticrew, M.; Shekelle, P.; Stewart, L.A. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst. Rev.* **2015**, *4*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Meesters, M.L.; Koch, A.; Kuiper, G.; Zacharowski, K.; Boer, C. Instability of the non-activated rotational thromboelastometry assay (NATEM) in citrate stored blood. *Thromb. Res.* **2015**, *136*, 481–483. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Rossetto, V.; Spiezia, L.; Senzolo, M.; Rodriguez-Castro, K.I.; Maggiolo, S.; Simioni, P. Whole blood rotation thromboelastometry (ROTEM®) profiles in subjects with non-neoplastic portal vein thrombosis. *Thromb. Res.* **2013**, *132*, e131–e134. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Schöchl, H.; Solomon, C.; Laux, V.; Heitmeier, S.; Bahrami, S.; Redl, H. Similarities in thromboelastometric (ROTEM®) findings between humans and baboons. *Thromb. Res.* **2012**, *130*, e107–e112. [[CrossRef](#)]
16. Zipperle, J.; Schlimp, C.J.; Holthöner, W.; Husa, A.M.; Nürnberger, S.; Redl, H.; Schöchl, H. A novel coagulation assay incorporating adherent endothelial cells in thromboelastometry. *Thromb. Haemost.* **2013**, *109*, 869–877. [[CrossRef](#)]
17. Trelinski, J.; Misiewicz, M.; Robak, M.; Smolewski, P.; Chojnowski, K. Assessment of rotation thromboelastometry (ROTEM) parameters in patients with multiple myeloma at diagnosis. *Thromb. Res.* **2014**, *133*, 667–670. [[CrossRef](#)]
18. Elvstam, O.; Berntorp, E.; Schött, U. ROTEM monitoring of activated and non-activated prothrombin complex concentrate correction of dilutional coagulopathy. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* **2016**, *76*, 202–207. [[CrossRef](#)]
19. Shalaby, S.; Simioni, P.; Campello, E.; Spiezia, L.; Gavasso, S.; Bizzaro, D.; Cardin, R.; D'Amico, F.; Gringeri, E.; Cillo, U.; et al. Endothelial Damage of the Portal Vein is Associated with Heparin-Like Effect in Advanced Stages of Cirrhosis. *Thromb. Haemost.* **2020**, *120*, 1173–1181. [[CrossRef](#)]
20. Spiezia, L.; Bogana, G.; Campello, E.; Maggiolo, S.; Pelizzaro, E.; Carbonare, C.D.; Gervasi, M.T.; Simioni, P. Whole blood thromboelastometry profiles in women with preeclampsia. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2015**, *53*, 1793–1798. [[CrossRef](#)]
21. Brearton, C.; Rushton, A.; Parker, J.; Martin, H.; Hodgson, J. Performance Evaluation of a New Point of Care Viscoelastic Coagulation Monitoring System in Major Abdominal, Orthopaedic and Vascular Surgery. *Platelets* **2020**, *31*, 1052–1059. [[CrossRef](#)]
22. Silverberg, E.; Tornqvist, F.; Kander, T.; Bengzon, J.; Solomon, C.; Bonnevier, J.; Schött, U. Comparison of citrated and fresh whole blood for viscoelastic coagulation testing during elective neurosurgery. *Thromb. Res.* **2017**, *156*, 73–79. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Bagge, A.; Schött, U.; Kander, T. Effects of naturopathic medicines on Multiplate and ROTEM: A prospective experimental pilot study in healthy volunteers. *BMC Complementary Altern. Med.* **2016**, *16*, 64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Spiezia, L.; Bertini, D.; Boldrin, M.; Radu, C.; Bulato, C.; Gavasso, S.; Cozzi, E.; Simioni, P. Reference values for thromboelastometry (ROTEM®) in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Thromb. Res.* **2010**, *126*, e294–e297. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Jilma-Stohlawetz, P.; Fritsche-Polanz, S.; Quehenberger, P.; Schörgenhofer, C.; Bartko, J.; Risl, R.; Jilma, B. Evaluation of between-, within- and day-to-day variation of coagulation measured by rotational thromboelastometry (ROTEM). *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* **2017**, *77*, 651–657. [[CrossRef](#)]
26. Duría, M. Nonactivated thromboelastometry able to detect fibrinolysis in contrast to activated methods (EXTEM, INTEM) in a bleeding patient. *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2016**, *27*, 828–830. [[CrossRef](#)]
27. MacDonald, S.; Wright, A.; Beuche, F.; Downes, K.; Besser, M.; Symington, E.; Kelly, A.; Thomas, W. Characterization of a large cohort of patients with unclassified bleeding disorder; clinical features, management of haemostatic challenges and use of global haemostatic assessment with proposed recommendations for diagnosis and treatment. *Int. J. Lab. Hematol.* **2020**, *42*, 116–125. [[CrossRef](#)]
28. Lancé, M.D.; Kuiper, G.J.; Sloep, M.; Spronk, H.M.; van Oerle, R.; ten Cate, H.; Marcus, M.A.; Henskens, Y.M. The effects of pneumatic tube system transport on ROTEM analysis and contact activation assessed by thrombin generation test. *Thromb. Res.* **2012**, *130*, e147–e150. [[CrossRef](#)]

29. Scharbert, G.; Thaler, U.; Weinhöck, C.; Wetzler, L.; Kozek-Langenecker, S. Heparin-induced effects of prothrombin complex concentrates in thromboelastometry. *Wien. Klin. Wochenschr.* **2012**, *124*, 320–325. [\[CrossRef\]](#)
30. Lechien, A.; Faraoni, D.; Van der Linden, P. Effective tranexamic acid concentration for 95% inhibition of tissue-type plasminogen activator-induced hyperfibrinolysis in full-term pregnant women: A prospective interventional study. *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2021**, *32*, 186–193. [\[CrossRef\]](#)
31. Schneider, T.; Siegemund, T.; Siegemund, R.; Petros, S. Thrombin generation and rotational thromboelastometry in the healthy adult population. *Hemostaseologie* **2015**, *35*, 181–186. [\[CrossRef\]](#)
32. Sulaj, A.; Tsacusi, M.; Karapati, E.; Poulakis, A.; Iliodromiti, Z.; Boutsikou, T.; Valsami, S.; Iacovidou, N.; Politou, M.; Sokou, R. Reference Values of Thromboelastometry Parameters in Healthy Term Neonates Using NATEM in Cord Blood Samples. *Children* **2022**, *9*, 47. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Yada, K.; Nogami, K.; Ogiwara, K.; Shida, Y.; Furukawa, S.; Yaoi, H.; Takeyama, M.; Kasai, R.; Shima, M. Global coagulation function assessed by rotational thromboelastometry predicts coagulation-steady state in individual hemophilia A patients receiving emicizumab prophylaxis. *Int. J. Hematol.* **2019**, *110*, 419–430. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Oda, T.; Tamura, N.; Shen, Y.; Kohmura-Kobayashi, Y.; Furuta-komura, N.; Yaguchi, C.; Uchida, T.; Suzuki, K.; Itoh, H.; Kanayama, N. Amniotic fluid as a potent activator of blood coagulation and platelet aggregation: Study with rotational thromboelastometry. *Thromb. Res.* **2018**, *172*, 142–149. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Furukawa, S.; Nogami, K.; Ogiwara, K.; Yada, K.; Minami, H.; Shima, M. Systematic monitoring of hemostatic management in hemophilia A patients with inhibitor in the perioperative period using rotational thromboelastometry. *J. Thromb. Haemost.* **2015**, *13*, 1279–1284. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Getrajdman, C.; Shin, D.W.; Sison, M.; Katz, D. Baseline parameters for non-activated rotational thromboelastometry tests with and without heparinase in healthy pregnant women at term gestation. *J. Clin. Anesth.* **2021**, *75*, 110484. [\[CrossRef\]](#)
37. Bar, J.; David, A.; Khader, T.; Mulcare, M.; Tedeschi, C. Assessing Coagulation by Rotational Thromboelastometry (ROTEM) in Rivaroxaban-Anticoagulated Blood Using Hemostatic Agents. *Prehospital Disaster Med.* **2017**, *32*, 580–587. [\[CrossRef\]](#)
38. Yeom, R.S.; Wang, X.A.; Elia, E.; Yoon, U. Severe Congenital Factor VII Deficiency with Normal Perioperative Coagulation Profile Based on ROTEM Analysis in a Hepatectomy. *Am. J. Case Rep.* **2021**, *22*, e930245. [\[CrossRef\]](#)
39. Parsi, K.; Exner, T.; Low, J.; Fung Ma, D.D.; Joseph, J.E. In vitro effects of detergent sclerosants on clot formation and fibrinolysis. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* **2011**, *41*, 267–277. [\[CrossRef\]](#)
40. Livnat, T.; Shenkman, B.; Martinowitz, U.; Zivelin, A.; Dardik, R.; Tamarin, I.; Marsharov, R.; Budnik, I.; Salomon, O. The impact of thrombin generation and rotation thromboelastometry on assessment of severity of factor XI deficiency. *Thromb. Res.* **2015**, *136*, 465–473. [\[CrossRef\]](#)
41. Aires, R.B.; Soares, A.A.d.S.M.; Gomides, A.P.M.; Nicola, A.M.; Teixeira-Carvalho, A.; da Silva, D.L.M.; de Góis, E.T.; Xavier, F.D.; Martins, F.P.; Santos, G.P.J.; et al. Thromboelastometry demonstrates endogenous coagulation activation in nonsevere and severe COVID-19 patients and has applicability as a decision algorithm for intervention. *PLoS ONE* **2022**, *17*, e0262600. [\[CrossRef\]](#)
42. Sidlik, R.; Strauss, T.; Morag, I.; Shenkman, B.; Tamarin, I.; Lubetsky, A.; Livnat, T.; Kenet, G. Assessment of Functional Fibrinolysis in Cord Blood Using Modified Thromboelastography. *Pediatric Blood Cancer* **2016**, *63*, 839–843. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Theodoraki, M.; Sokou, R.; Valsami, S.; Iliodromiti, Z.; Poulakis, A.; Parastatidou, S.; Karavana, G.; Ioakeimidis, G.; Georgiadou, P.; Iacovidou, N.; et al. Reference Values of Thromboelastometry Parameters in Healthy Term Neonates. *Children* **2020**, *7*, 259. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Sokou, R.; Foudoulaki-Papazizos, L.; Lytras, T.; Konstantinidi, A.; Theodoraki, M.; Lambadaridis, I.; Gounaris, A.; Valsami, S.; Politou, M.; Gialeraki, A.; et al. Reference ranges of thromboelastometry in healthy full-term and pre-term neonates. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2017**, *55*, 1592–1597. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Van Der Weerd, N.; van Os, H.J.; Ali, M.; Schoones, J.W.; van den Maagdenberg, A.M.; Kruijt, N.D.; Siegerink, B.; Wermer, M.J. Sex Differences in Hemostatic Factors in Patients With Ischemic Stroke and the Relation With Migraine—A Systematic Review. *Front. Cell. Neurosci.* **2021**, *15*, 711604. [\[CrossRef\]](#)
46. Tsantes, A.G.; Papadopoulos, D.V.; Trikoupi, I.G.; Tsante, K.A.; Mavrogenis, A.F.; Koulouvaris, P.; Piovani, D.; Kriebardis, A.G.; Gialeraki, A.; Nikolopoulos, G.K.; et al. Rotational Thromboelastometry Findings Are Associated with Symptomatic Venous Thromboembolic Complications after Hip Fracture Surgery. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2021**, *479*, 2457–2467. [\[CrossRef\]](#)
47. Tsantes, A.G.; Trikoupi, I.G.; Papadopoulos, D.V.; Tsante, K.A.; Mavrogenis, A.F.; Koulouvaris, P.; Savvidou, O.D.; Kontogeorgakos, V.A.; Piovani, D.; Kriebardis, A.G.; et al. Higher coagulation activity in hip fracture patients: A case-control study using rotational thromboelastometry. *Int. J. Lab. Hematol.* **2021**, *43*, 477–484. [\[CrossRef\]](#)
48. Tsantes, A.G.; Papadopoulos, D.V.; Trikoupi, I.G.; Tsante, K.A.; Mavrogenis, A.F.; Koulouvaris, P.; Vaipoulos, A.G.; Piovani, D.; Nikolopoulos, G.K.; Kokoris, S.I.; et al. The Prognostic Performance of Rotational Thromboelastometry for Excessive Bleeding and Increased Transfusion Requirements in Hip Fracture Surgeries. *Thromb. Haemost.* **2021**. [published online ahead of print.](#) [\[CrossRef\]](#)
49. Lang, T.; Bauters, A.; Braun, S.L.; Pöttsch, B.; von Pape, K.W.; Kolde, H.J.; Lakner, M. Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry. *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2005**, *16*, 301–310. [\[CrossRef\]](#)
50. Theusinger, O.M.; Nürnberg, J.; Asmis, L.M.; Seifert, B.; Spahn, D.R. Rotation thromboelastometry (ROTEM) stability and reproducibility over time. *Eur. J. Cardio-Thorac. Surg.* **2010**, *37*, 677–683. [\[CrossRef\]](#)
51. Vavrecla, M.; Petrasek, R.; Komarkova, A. Citrate metabolism in human erythrocytes; preliminary report. *Českoslov. Gastroenterol. Výchova* **1957**, *11*, 383–384.

52. Karpatkin, S. Studies on human platelet glycolysis. Effect of glucose, cyanide, insulin, citrate, and agglutination and contraction on platelet glycolysis. *J. Clin. Investig.* **1967**, *46*, 409–417. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Davie, E.W.; Fujikawa, K. Basic mechanisms in blood coagulation. *Annu. Rev. Biochem.* **1975**, *44*, 799–829. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Van Der Meijden, P.E.; Van Schilfgaarde, M.; Van Oerle, R.; Renné, T.; ten Cate, H.; Spronk, H.M. Platelet- and erythrocyte-derived microparticles trigger thrombin generation via factor XIIIa. *J. Thromb. Haemost.* **2012**, *10*, 1355–1362. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Ayers, L.; Kohler, M.; Harrison, P.; Sargent, I.; Dragovic, R.; Schaap, M.; Nieuwland, R.; Brooks, S.A.; Ferry, B. Measurement of circulating cell-derived microparticles by flow cytometry: Sources of variability within the assay. *Thromb. Res.* **2011**, *127*, 370–377. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Simurda, T.; Casini, A.; Stasko, J.; Hudecek, J.; Skornova, I.; Vilar, R.; Neerman-Arbez, M.; Kubisz, P. Perioperative management of a severe congenital hypofibrinogenemia with thrombotic phenotype. *Thromb. Res.* **2020**, *188*, 1–4. [[CrossRef](#)]
57. Tsantes, A.G.; Trikoupi, I.G.; Papadopoulos, D.V.; Goumenos, S.; Piovani, D.; Nikolopoulos, G.K.; Gialeraki, A.; Bonovas, S.; Papagelopoulos, P.J.; Kontogeorgakos, V.A.; et al. The Safety and Efficacy of Tranexamic Acid in Oncology Patients Undergoing Endoprosthetic Reconstruction and a ROTEM-Based Evaluation of Their Hemostatic Profile: A Pilot Study. *Cancers* **2021**, *13*, 3951. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Mittermayr, M.; Margreiter, J.; Velik-Salchner, C.; Klingler, A.; Streif, W.; Fries, D.; Innerhofer, P. Effects of protamine and heparin can be detected and easily differentiated by modified thrombelastography (Rotem®): An in vitro study. *Br. J. Anaesth.* **2005**, *95*, 310–316. [[CrossRef](#)]
59. Kuiper, G.J.A.J.M.; Kleinegris, M.-C.F.; van Oerle, R.; Spronk, H.M.H.; Lancé, M.D.; ten Cate, H.; Henskens, Y.M.C. Validation of a modified thromboelastometry approach to detect changes in fibrinolytic activity. *Thromb. J.* **2016**, *14*, 1. [[CrossRef](#)]
60. Chithur, M.; Rivard, G.E.; Lillicrap, D.; Mann, K.; Shima, M.; Young, G. Recommendations for performing thromboelastography/thromboelastometry in hemophilia: Communication from the SSC of the ISTH. *J. Thromb. Haemost.* **2014**, *12*, 103–106. [[CrossRef](#)]

✓ *Semin Thromb Hemost.* 2023 Mar;49(2):182-191. doi: 10.1055/s-0042-1753513. Epub 2022 Sep 2.

The Utility of NATEM Assay in Predicting Bleeding Risk in Critically Ill Neonates

Rozeta Sokou ¹, Petroula Georgiadou ¹, Andreas G Tsantes ², Stavroula Parastatidou ¹, Aikaterini Konstantinidi ¹, Georgios Ioakeimidis ¹, Athanasia Makrogianni ¹, Martha Theodoraki ¹, Styliani Kokoris ², Nicoletta Iacovidou ³, Anastasios G Kriebardis ⁴, Daniele Piovani ^{5 6}, Stefanos Bonovas ^{5 6}, Argirios E Tsantes ²

Affiliations + expand

PMID: 36055275 DOI: 10.1055/s-0042-1753513

Abstract

We aimed to investigate the hemostatic status of diseased neonates using nonactivated rotational thromboelastometry (ROTEM) assay (NATEM) assay and, in addition, to evaluate the discriminative power of NATEM parameters in predicting the risk of bleeding in critically ill neonates and compare it to that of EXTEM (extrinsically activated ROTEM) parameters. This cohort study included 158 consecutive, critically ill neonates with presumed sepsis, perinatal hypoxia, or respiratory distress syndrome. The EXTEM and NATEM assays were performed on the first day of disease onset. The neonatal bleeding assessment tool was used to record and assess clinical bleeding events on the day of ROTEM analysis. Several EXTEM and NATEM ROTEM parameters differed between neonates with and without clinical bleeding events, indicating a hypo-coagulable state in neonates with clinical bleeding. NATEM parameters had comparable predictive performance for clinical bleeding events with EXTEM parameters for clotting time, clot formation time (CFT), A10 (clot amplitude at 10minutes), maximum clot firmness, lysis index at 60minutes, and maximum clot elasticity ($p>0.05$). However, NATEM A20, A30, and α angle demonstrated better predictive ability than EXTEM A20, A30, and α angle, respectively ($p<0.05$). A NATEM CFT value ≥ 147 seconds presented 95.2% sensitivity (95% confidence interval [CI]: 76.1-99.8%) and 65.6% specificity (95% CI: 57.1-73.5%) to detect neonates with clinical bleeding, while a NATEM A10 value ≤ 42 mm had 80.8% sensitivity (95% CI: 71.8-85.9%) and 76.0% specificity (95% CI: 52.8-91.7%) to detect neonates with clinical bleeding events. The NATEM assay has shown remarkable sensitivity in predicting bleeding in critically ill neonates, exceeding EXTEM performance in some selected parameters. The incorporation of NATEM test parameters in predictive models for neonatal hemorrhage seems promising.

