



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

**"ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΜΕΣΟΥ ΟΓΚΟΥ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΩΣ
ΔΕΙΚΤΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΝΟΣΟΥ ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ
COVID-19"**

υπό

ΝΤΑΜΟΤΣΕΒ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥ

Ειδικευόμενου Καρδιολογίας

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διπλώματος Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Θρόμβωση και Αντιθρομβωτική Αγωγή»

Λάρισα, 2023

Επιβλέπων:

Ε. Λευκού- Καθηγήτρια Αιματολογίας, Θεσσαλονίκη.

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. Α. Τσελέπης – Ομότιμος Καθηγητής Βιοχημείας – Κλινικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.
2. Ε. Λευκού – Αιματολόγος Θεσσαλονίκη.
3. Σ. Τσιάρα – Καθηγήτρια Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.

Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:

“Estimation of MPV as disease activity biomarker in COVID-19 patients”

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η συγγραφή της τρέχουσας μεταπτυχιακής εργασίας στοχεύει στην εκτίμηση του ρόλου των αιμοπεταλίων και πιο συγκεκριμένα του MPV στην εκτίμηση της βαρύτητας της νόσου COVID-19. Ελπίζουμε ότι θα συμβάλει στην αύξηση των γνώσεων για την παρούσα νόσο.

Η εργασία εκπονήθηκε στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, στο τμήμα Αιμοδοσίας και στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Παπαγεωργίου. Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο τμήμα Αιμοδοσίας του ΠΓΝΑ.

Η εργασία διαχωρίζεται στα δύο μέρη. Το γενικό ή πρώτο μέρος, που αναφέρεται σε ορισμούς, επιδημιολογικά δεδομένα, και κλινική εικόνα της νόσου COVID-19. Παράλληλα, περιγράφεται αναλυτικά ο ρόλος των αιμοπεταλίων στο COVID-19.

Το ειδικό μέρος, στο οποίο περιγράφεται η μεθοδολογία της έρευνας, το υλικό της, η ανάλυση των αποτελεσμάτων της, η σύγκριση της παρούσας μελέτης με άλλες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στο παρελθόν και τέλος προτείνονται νέα μέτρα.

Στην προσπάθεια εκπόνησης της εργασίας μου είχα την πλήρη στήριξη και την άμεση βοήθεια αρκετών ανθρώπων, τους οποίους οφείλω να ευχαριστήσω.

Στον Καθηγητή Α. Τσελέπη εκφράζω τη βαθύτατη ευγνωμοσύνη μου και τις ευχαριστίες μου για την ανάθεση του θέματος, την επιστημονική καθοδήγηση που μου παρείχε από την αρχή ως την τελική διαμόρφωση της παρούσας μελέτης.

Ευχαριστώ θερμά την Καθηγήτρια Ε. Λευκού μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για την πολύτιμη βοήθειά της κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας μου.

Ευχαριστώ και το τρίτο μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής την Καθηγήτρια Σ. Τσιάρα για την βοήθειά του στην εκπόνηση της παρούσας μελέτης.

Αισθάνομαι ιδιαίτερα την ανάγκη να εκφράσω ευχαριστίες μου στον κο Θ. Κωνσταντινίδη, ιατρό Αιμοδοσίας του ΠΓΝ Αλεξανδρούπολης για την συμπαράσταση, τη βοήθειά του καθ' όλη τη διάρκεια της διεκπεραίωσης και της συγγραφής της μελέτης αυτής. Ευχαριστώ επίσης την Καθηγήτρια Μικροβιολογίας κα. Μαρία Πανοπούλου για τα δεδομένα ταυτοποίησης του ιού.

Τέλος θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην σύζυγό μου Ελένη Τεβелеκίδη, και τη κόρη μου Ανδριανά για την υποστήριξη που μου πρόσφεραν όλα τα χρόνια της φοίτησής μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η οξεία αναπνευστική νόσου, που ονομάζεται «coronavirus disease 2019» (COVID-19) οφειλόμενη στον ιό της SARS CoV-2, έναν εξαιρετικά μεταδοτικό και παθογόνο κοροναϊό εμφανίστηκε για πρώτη φορά στα τέλη του 2019, στη πόλη Ουχάν, της Κίνας. Η ανίχνευση νέων βιοδεικτών μπορεί να βελτιώσει τον έλεγχο, στη αρχική φάση της νόσου και να συμβάλει στον εντοπισμό των περιστατικών που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης επιπλοκών είναι ύψιστης σημασίας. Ο στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να αποσαφηνιστεί η σχέση μεταξύ του αριθμού αιμοπεταλίων, του μέσου όγκου αιμοπεταλίων (MPV) και της βαρύτητας καθώς και της θνησιμότητας της νόσου COVID-19. Το δείγμα μας αποτέλεσαν 205 ασθενείς που νοσηλεύονταν στο νοσοκομείο λόγω λοίμωξης COVID-19. Το 66,4% ήταν άντρες μέσης ηλικίας τα 64,4 έτη. Η πλειοψηφία των ασθενών νοσηλεύονταν στο Τμήμα COVID-19 του νοσοκομείου (56,4%) και η τελική έκβαση της νόσου τους ήταν βελτίωση/ίαση (77,6%). Από τον στατιστικό έλεγχο βρέθηκε διαφοροποίηση μεταξύ των φάσεων λήψης του δείγματος και του MPV ($p < 0.001$). Συγκεκριμένα, ο δείκτης φαίνεται πιο αυξημένος κατά την επιδείνωση (MPV=11,6636fl) και μειώνεται σημαντικά κατά την βελτίωση του ασθενούς (MPV=10,2333fl). Ο αριθμός των αιμοπεταλίων και ιδιαίτερα οι τιμές MPV μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη της βαρύτητας και της θνησιμότητας σε ασθενείς με νόσο COVID-19.

Λέξεις κλειδιά: COVID-19, SARS-CoV-2, RT-PCR, Αιμοπετάλια, MPV.

ABSTRACT

The acute respiratory disease, named "coronavirus disease 2019" (COVID-19) due to the SARS CoV-2 virus, a highly contagious coronavirus first appeared in late 2019, in the city of Wuhan, China. The detection of newest biomarkers that improving control in the early phase of the disease and identify patients at increased risk for developing complications. This study was aimed to investigate the correlation between platelet (PLT) count, mean platelet volume (MPV) and severity and mortality of COVID-19 disease. Our sample consisted of 205 patients who were hospitalized due to this infection. 66.4% were men with an average age of 64.4 years. The majority of patients were hospitalized in the hospital's COVID-19 Department (56.4%) and the final outcome of their disease was improvement/cure (77.6%). From the statistical test, a difference was found between the sampling and MPV phases ($p < 0.001$). Specifically, the index appears more elevated during deterioration (MPV=11.6636fl) and significantly decreases during patient improvement (MPV=10.2333fl). Platelet count and especially MPV values may be used to predict severity and mortality in patients with COVID-19 disease.

Key words: COVID-19; SARS-CoV-2; RT-PCR; platelet; MPV.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	7
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	8
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	9
1.1 COVID-19	9
1.2 Αιμοποιητικό Σύστημα	12
Συστατικά αίματος.....	14
1.3 Φυσιολογία αιμοπεταλίων	16
Ρόλος των αιμοπεταλίων στην ανοσία	20
1.4 COVID-19 και αιμοπετάλια.....	22
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	22
2.1 Σκοπός	22
2.2 Μεθοδολογία	24
2.3 Στατιστική Ανάλυση	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	29
Αποτελέσματα	29
3.1 Περιγραφική Ανάλυση	29
3.2 Επαγωγική Στατιστική	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	47
Συζήτηση.....	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.....	49
Συμπεράσματα	49
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6.....	50
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	50

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ΠΟΥ Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ΠΟΥ

ARDS Acute Respiratory Distress Syndrome

COVID-19 coronavirus disease 19

DAMPs Damage-associated molecular patterns

HETE Hydroxyeicosatetraenoic acids

MPV Mean platelet volume

PAMPs Pathogen-associated molecular patterns

PLT platelets

RBCs Red Blood Cells,

RNA Ribonucleic acid

mRNA messenger RNA

Reverse transcription PCR, RT-PCR

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1 COVID-19

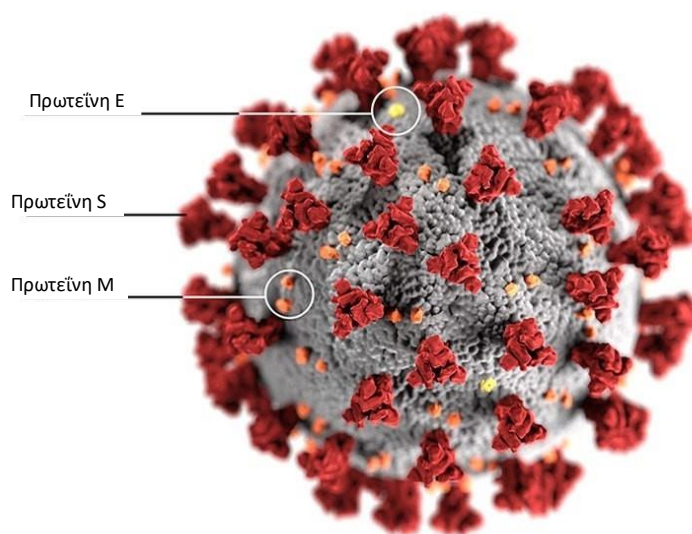
Οι κορωνοϊοί, που ανήκουν στην οικογένεια Corona-viridae, είναι ιοί που προκαλούν αναπνευστική λοίμωξη στα θηλαστικά, και έχουν ανιχνευτεί σε ζώα όπως οι νυχτερίδες, καμήλες καθώς και είδη πτηνών.¹ Στους ανθρώπους, οι κλινικές εκδηλώσεις της λοίμωξης αυτής μπορεί να έχουν μεγάλο φάσμα: από μια ασυμπτωματική λοίμωξη έως και να εκδηλώνεται με πυρετό, βήχα, δύσπνοια και συμπτώματα από το πεπτικό.²

Η νέα νόσος του κορωνοϊού (COVID-19) που οφείλεται στον κορονοϊός και προκαλεί το σοβαρό σύνδρομο προσβολής του αναπνευστικού του τύπου 2, ονομάστηκε (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) αναφέρθηκε αρχικά ως ομάδα κρουσμάτων το Δεκέμβριο του 2019 που ξέσπασε στη Κίνα, στη πόλη Wuhan.³ Στις 30/1/2020, ο ΠΟΥ κήρυξε παγκόσμια κατάσταση έκτακτης ανάγκης λόγω της επιδημίας του νέου στελέχους κοροναϊού στη Γουχάν.⁴ Στις 24 Φεβρουαρίου 2020, ο ΠΟΥ αναγνώρισε ότι ο SARS-CoV-2 έχει τη δυνατότητα να εξαπλωθεί παγκοσμίως και να προκαλέσει ξέσπασμα πανδημίας και στις 11 Μαρτίου του ίδιου έτους, ο ΠΟΥ κήρυξε τον COVID-19 πανδημία.

Η λατινική λέξη Corona, που μεταφράζεται ως «στέμμα», λόγω των προσεκβολών στην επιφάνειά του που μοιάζουν με κορώνα, όπως απεικονίζεται στο μικροσκόπιο, ευθύνεται για την ονομασία της παρούσας οικογένειας ιών (**Εικόνα 1**). Οι κορωνοϊοί περιέχουν το περίβλημα που έχει ένα μη τμηματοποιημένο, μονόκλωνο, θετικό γονιδίωμα RNA περίπου 32 kb, καθιστώντας τον έτσι το μεγαλύτερο γνωστό γονιδίωμα για έναν RNA ιό.⁵ Το νέο στέλεχος SARS-CoV-2 υποτάσσεται στο γένος betacoronavirus με βάση την ανάλυση της αλληλουχίας του γονιδιώματος. Μετά την εισβολή στα κύτταρα του μακροοργανισμού, τα ιικά σωματίδια δρουν ως mRNA για τη μετάφραση των πρωτεϊνών που είναι απαραίτητοι για την αντιγραφή του ιού και τη μόλυνση του οργανισμού.⁶

Ο ιός SARS-CoV-2, όπως όλοι οι ιοί RNA, έχουν υψηλά ποσοστά μεταλλάξεων που οφείλονται στους μηχανισμούς αντιγραφής τους. Οι μεταλλάξεις αποτελούν βασικό

στοιχείο της εξέλιξης, επιτρέποντας τη φυσική επιλογή για την επικράτησή τους, όπως η ενισχυμένη λοιμογόνος δύναμη, η προσαρμοστικότητα και η εξελικτικότητα.⁷ Οι επιστήμονες έχουν διαπιστώσει ότι ο ιός SARS-CoV-2 εξελίσσεται συνεχώς. Στη μελέτη των Tang et al πραγματοποιήθηκε η συγκριτική ανάλυση του ιικού γονιδιώματος του SARS-CoV-2 που απομονώθηκε από τους ασθενείς. Βάση της μελέτης αυτής εντοπίστηκαν 149 θέσεις μετάλλαξης.⁸ Οι ερευνητές έχουν καταλήξει ότι η Spike πρωτεΐνη του κορωνοϊού παίζει κυρίαρχο ρόλο στην προσκόλληση και στην είσοδο του ιού στα κύτταρα του ξενιστή.



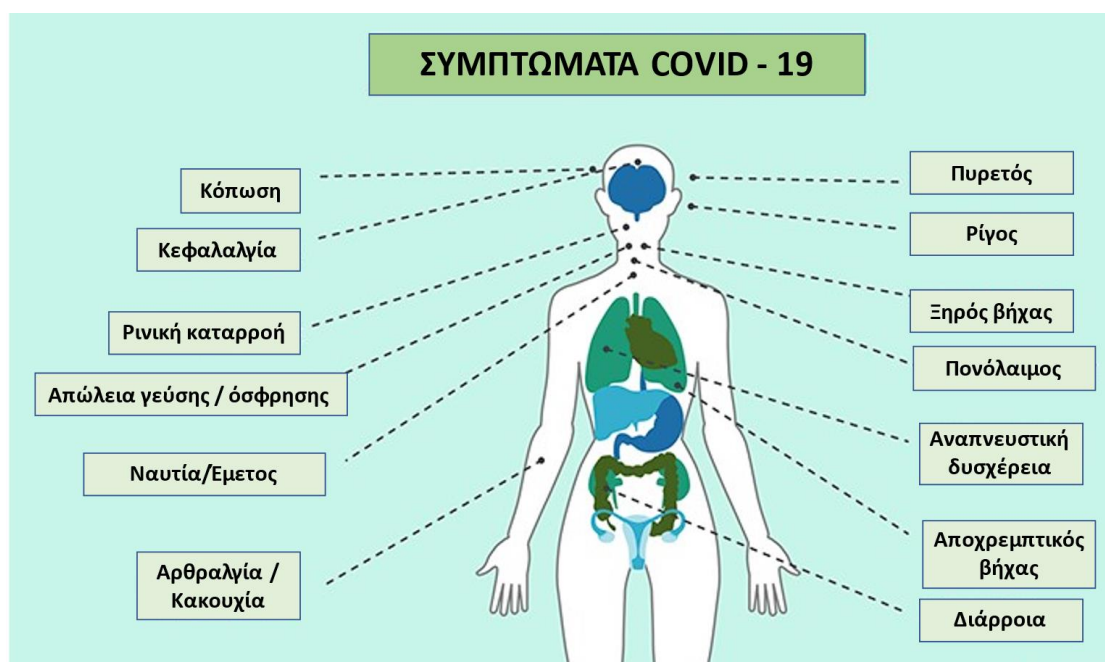
Εικόνα 1. Γραφική δομή του ιού SARS-CoV-2, όπως απεικονίζεται με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. [Αναπαραγωγή από <https://www.thermofisher.com>]

Η νόσηση με COVID-19 προβάλλει κυρίως από το αναπνευστικό και μολονότι η ασθένεια είναι ήπια στους περισσότερους ανθρώπους, μπορεί να εξελιχθεί σε σοβαρή νόσο, όπως πνευμονία, ARDS και πολυοργανική ανεπάρκεια. Σε ασθενείς με συνυπάρχοντα νοσήματα μπορεί να οδηγήσει σε θάνατο.

Τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται συνήθως μετά από πέντε - έξι ημέρες από την εισβολή του ιού στον ανθρώπινο οργανισμό, σύμφωνα με αναφορές του ΠΟΥ.⁹ Τα κοινά συμπτώματα περιλαμβάνουν πυρετό, κόπωση, ξηρό βήχα, πονόλαιμο και δύσπνοια, ενώ έχουν αναφερθεί επίσης, κακουχία, διάρροια, πονοκέφαλος, επιπεφυκίτιδα, απώλεια γεύσης και όσφρησης.¹⁰ Λόγω της προοδευτικά επιδεινούμενης κλινικής κατάστασης των ασθενών με COVID-19, έχει γίνει προσπάθεια ταξινόμησης της νόσου ανάλογα με τη σοβαρότητα και τον κλινικό

φαινότυπο. Σε παγκόσμιο επίπεδο, το 80% των ασθενών αφορούν περιπτώσεις COVID-19 με ήπια αναπνευστικά συμπτώματα, το 15% των περιπτώσεων χρειάστηκε νοσηλεία και το 5% των ασθενών κατέληξαν από τη νόσο.¹¹

Ο συγκεκριμένος ιός επηρεάζει το ανθρώπινο σώμα με διάφορους τρόπους. Αν και ο SARS CoV-2 ιός είναι γνωστός ότι προσβάλλει κυρίως το αναπνευστικό σύστημα. Επιπλέον, μπορεί να επηρεάσει και άλλα συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού, όπως το καρδιαγγειακό, το ΚΝΣ, τα νεφρά, το ήπαρ και το ΓΕΣ (Εικόνα 2). Η έκβαση της νόσου, όπως διαπιστώνεται σε αρκετές επιδημιολογικές μελέτες, διαφέρει μεταξύ ηλικίας, φύλων και της συνοσηρότητας. Εκτός από τους βιολογικούς παράγοντες, οι κοινωνικοοικονομικοί παράγοντες βρέθηκε ότι σχετίζονται με την έκβαση της λοίμωξης.¹²



Εικόνα 2. Συμπτώματα COVID-19. [Αναπαγωγή από <https://www.myhealth1st.com.au/health-hub/>]

Ο κύριος τρόπος διασποράς του ιού μεταξύ των ανθρώπων είναι η επαφή με έναν ασθενή ή φορέα του ιού. Ωστόσο, υπάρχουν μελέτες που έχουν βρει πρόσθετες οδούς μετάδοσης του ιού.¹³ Ο βασικός τρόπος διασποράς του ιού είναι μέσω των σταγονιδίων που αποβάλλονται από ένα προσβεβλημένο άτομο. Επομένως, ο βήχας και το

φτέρνισμα καθιστούν τον SARS-CoV-2 αερομεταφερόμενο, θέτοντας τα μη προσβεβλημένα άτομα σε κίνδυνο να προσβληθούν από τη νόσο. Επιπλέον, οι μελέτες έχουν αναφέρει ότι η μετάδοση του SARS-CoV-2 μπορεί να γίνει με επαφής με μολυσμένα άψυχα αντικείμενα.¹⁴

Η ταυτοποίηση του ιού SARS-CoV-2 γίνεται με τον προσδιορισμό του ιικού RNA μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής (RT-PCR).¹⁵ Η μέθοδος αυτή επέτρεψε την ανάλυση και την επιλογή γονιδίων που είναι ειδικά για τον ιό. Αυτό επιτρέπει τη διενέργεια ακριβών δοκιμών για την επιβεβαίωση της διάγνωσης μολυσμένων ασθενών με τη χρήση σε πραγματικό χρόνο. Με αυτή τη μέθοδο, τα βιολογικά δείγματα όπως σάλιο, ρινικό ή/και φαρυγγικό επίχρισμα, κόπρανα, ο ορός ή το πλάσμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απομόνωση του ιού.

Η ανάπτυξη και η εφαρμογή εμβολίων κατά του ιού αποτέλεσε σημαντικό μονοπάτι για την καταπολέμηση της πανδημίας αυτής. Παγκοσμίως, έχουν αναπτυχθεί >100 εμβόλια.¹⁶

Τα εμβόλια παρεμβαίνουν πριν από την ιογενή προσβολή και στόχος τους είναι να σταθεροποιήσουν τον πληθυσμό στο φάσμα της ανοσολογικής προστασίας. Επίσης, αποτρέπουν από τον διαιωνιζόμενο κύκλο μόλυνσης και επαναμόλυνσης σε όσους έχουν επιτύχει προηγούμενη ανάρρωση. Ωστόσο, ενώ ο ιδανικός στόχος της κυκλοφορίας του εμβολίου για τον COVID-19 ήταν η παγκόσμια ανοσία της αγέλης, ο στόχος δεν κατέστη δυνατόν να επιτευχθεί λόγω των παραλλαγών του ιού. Πρόσθετοι στόχοι του εμβολιασμού είναι η μείωση της θνησιμότητας και ταυτόχρονα της πίεσης που δέχονται τα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης με τη μείωση των νοσηλευόμενων ασθενών.^{17,18}

1.2 Αιμοποιητικό Σύστημα

Το αίμα είναι ένα είδος συνδετικού ιστού σε υγρή μορφή. Είναι ένα μείγμα κυτταρικών στοιχείων, κολλοειδών και κρυσταλλοειδών που ανάλογα με τη λειτουργία τους έχουν διαφορετική σχετική πυκνότητα, ρυθμό ιζήματος και μέγεθος.¹⁹ Η κύρια λειτουργία του αίματος είναι να παρέχει το O₂ και τα θρεπτικά συστατικά στους ιστούς και τα όργανα και να απομακρύνει τα απόβλητα από τα κύτταρα του σώματος. Οι λειτουργίες του αίματος επίσης, περιλαμβάνουν την άμυνα, τη διανομή της θερμότητας και τη συντήρηση της ομοιόστασης.²⁰

Αναλυτικότερα, τα θρεπτικά συστατικά από τα τρόφιμα απορροφώντας από το πεπτικό σύστημα. Τα περισσότερα από αυτά εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος και μεταβαίνουν στο ήπαρ, όπου υποβάλλονται σε επεξεργασία και απελευθερώνονται πίσω στην κυκλοφορία του αίματος για παράδοση στα κύτταρα του σώματος. Ταυτόχρονα, το οξυγόνο δεσμεύεται στην αιμοσφαιρίνη του αίματος και μέσω της κυκλοφορίας μετακινείται από τους πνεύμονες στην καρδιά, η οποία στη συνέχεια το αντλεί προς το υπόλοιπο σώμα. Οι ενδοκρινείς αδένες, που είναι διάσπαρτοι σε όλο το σώμα, απελευθερώνουν τα προϊόντα τους, δηλαδή τις ορμόνες, στην κυκλοφορία του αίματος, για να φτάσουν τελικώς στα απομακρυσμένα κύτταρα-στόχους. Το αίμα συλλέγει επίσης κυτταρικά απόβλητα και υποπροϊόντα και τα μεταφέρει σε διάφορα όργανα για απομάκρυνση από τον οργανισμό. Για παράδειγμα, το αίμα μεταφέρει διοξείδιο του άνθρακα στους πνεύμονες για εκπνοή από το σώμα και διάφορα άχρηστα προϊόντα μεταφέρονται στα νεφρά και στο ήπαρ για απέκκριση από το σώμα με τη μορφή ούρων ή χολής.

Μία επιπλέον, πολύ σημαντική λειτουργία του αίματος είναι η συμμετοχή στην άμυνα του οργανισμού. Πολλοί τύποι λευκών αιμοσφαιρίων προστατεύουν το σώμα από εξωτερικές απειλές, όπως τα παθογόνα βακτήρια και ιοί. Λευκά αιμοσφαίρια επίσης, αναζητούν και καταστρέφουν εσωτερικές απειλές, όπως κύτταρα με μεταλλαγμένο DNA που θα μπορούσαν να πολλαπλασιάζονται για να γίνουν καρκινικά. Βλάβες στα αγγεία που μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα αιμορραγία, επιδιορθώνονται από τα αιμοπετάλια του αίματος, τα οποία αλληλοεπιδρούν με άλλα μόρια για να αναχαιτίσουν τις βλάβες. Η σημαντική συμβολή του αίματος στη διατήρηση της ομοιόστασης, τέλος, οφείλεται στην αύξηση της μεταφοράς αίματος από τον πυρήνα στην περιφέρεια του σώματός σας, για τη διατήρηση της θερμοκρασίας του σώματος. Οι πρωτεΐνες και άλλες ενώσεις στο αίμα δρουν ως ρυθμιστικά διαλύματα, τα οποία βοηθούν έτσι στη ρύθμιση του pH των ιστών του σώματος και στη ρύθμιση της περιεκτικότητας σε νερό των κυττάρων του σώματος συμβάλλοντας στη χημική ισορροπία του οργανισμού.

Τα συστατικά του αίματος είναι το πλάσμα και τα κύτταρα σε αναλογία 55%-45% περίπου. Τα κύτταρα του αίματος είναι τα αιμοπετάλια, τα λευκοκύτταρα, τα ερυθρά αιμοσφαίρια και άλλα κύτταρα. Ο υγιής ενήλικας έχει κατά μέσο όρο 4-5 λίτρα αίματος το οποίο κυκλοφορεί στο σώμα στα αγγεία, ενώ ο συνολικός όγκος αίματος αποτελεί περίπου το 7 έως 8 % του συνολικού ανθρώπινου βάρους.²¹

Συστατικά αίματος

Πλάσμα αίματος

Στο φυγοκεντρημένο αίμα, το πλάσμα έχει ένα ελαφρώς κιτρινωπό υγρό. Αποτελείται από 91% νερό και 9% στοιχεία όπως παράγοντες πήξης, πρωτεΐνες πλάσματος, ηλεκτρολύτες και ανοσοσφαιρίνες. Στους ενήλικες, τα δικτυοενδοθηλιακά κύτταρα στο ήπαρ είναι υπεύθυνα για την παραγωγή πλάσματος. Αυτή η διαδικασία υποβοηθάται από τον μυελό των οστών και τον σπλήνα.²⁰

Το πλάσμα αίματος, λόγω της πληθώρας των παραγόντων που περιέχει, συμμετέχει σε διάφορες ζωτικές λειτουργίες. Περιέχει ινωδογόνο και προπηκτικά όπως θρομβίνη και παράγοντα x, που ευθύνονται για την πήξη του αίματος. Οι ανοσοσφαιρίνες (αντισώματα) που περιέχει παίζουν ρόλο στη διαδικασία ανοσολογικής άμυνας του σώματος, ενώ η παρουσία πρωτεϊνών, όπως η λευκωματίνη, συμβάλλει στη διατήρηση της ισορροπίας της πίεσης του όγκου του αίματος, η οποία διατηρείται περίπου στα 25 mmHg υπό φυσιολογικές συνθήκες. Οι πρωτεΐνες του πλάσματος επίσης, βοηθούν στην οξεοβασική ισορροπία μέσω της ρυθμιστικής δράσης.

Θρεπτικά συστατικά όπως η γλυκόζη, τα αμινοξέα, τα υγρά και οι βιταμίνες μεταφέρονται στο πλάσμα του αίματος από το πεπτικό σύστημα σε διάφορα μέρη του σώματος. Αντίστοιχα, τα απόβλητα από τον κυτταρικό μεταβολισμό μεταφέρονται μέσα στο πλάσμα και απεκκρίνονται μέσω των νεφρών, των πνευμόνων και του δέρματος.²²

Ερυθροκύτταρα

Τα ερυθροκύτταρα, γνωστά ως ερυθρά αιμοσφαίρια (Red Blood Cells, RBCs), είναι αμφίκυρτα δισκοειδή κύτταρα που στερούνται πυρήνα και περιβάλλονται από μια μεμβράνη λιπιδίων και πρωτεϊνών. Περιέχουν αιμοσφαιρίνη, η οποία είναι πρωτεΐνη πλούσια σε σίδηρο που μεταφέρει το O₂ στους ιστούς και τα όργανα. Ο ενήλικας παράγει 119 εκατομμύρια ερυθρά αιμοσφαίρια ανά δευτερόλεπτο, το οποίο αποτελεί το 44% του συνολικού όγκου αίματος. Τα ερυθροκύτταρα παράγονται από το μυελό των οστών μέσω της διαδικασίας ερυθροποίησης.²²

Ο κύκλος ζωής των ερυθροκυττάρων διαρκεί 120 ημέρες και σε αυτή τη διάρκεια, εκτελούν διάφορες λειτουργίες με βασική την παροχή οξυγόνου από τους πνεύμονες στους περιφερικούς ιστούς. Επίσης, συλλέγουν το προϊόν μεταβολισμού CO₂, από τα περιφερικά κύτταρα στους πνεύμονες για να απομακρυνθούν από το σώμα μέσω της

εκπνοής. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν σίδηρο (Fe) που έχει συγγένεια με το οξυγόνο. Όταν φτάσουν σε αποοξυγονωμένα κύτταρα, ο Fe χάνει τη συγγενείά του για το O₂ και αποδεσμεύει το O₂ προς τα κύτταρα.

Λευκοκύτταρα

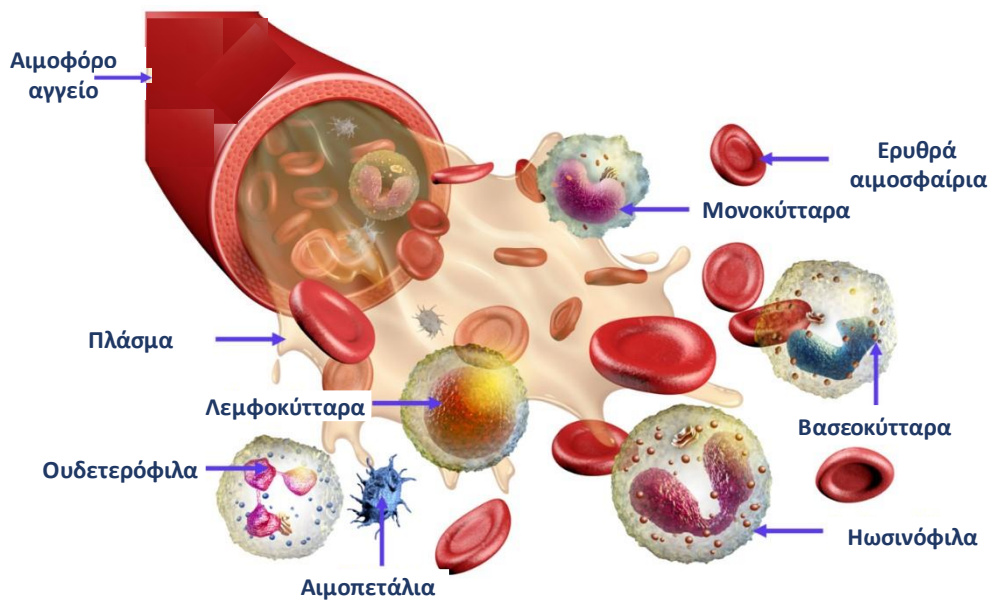
Τα λευκοκύτταρα είναι το κυτταρικό συστατικό του αίματος που είναι γνωστά ως λευκά αιμοσφαίρια (White Blood Cells, WBCs). Τα λευκά αιμοσφαίρια έχουν πυρήνα και στερούνται αιμοσφαιρίνης, ενώ αποτελούν το 1% του συνολικού όγκου αίματος σε υγιείς ενήλικες. Θεωρούνται σημαντικό μέρος του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα λευκοκύτταρα παράγονται στον μυελό των οστών σε μια διαδικασία που ονομάζεται αιμοποίηση και ο φυσιολογικός αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων κυμαίνεται μεταξύ 4.000 και 10.000 κυττάρων.²³

Υπάρχουν διάφοροι τύποι λευκών αιμοσφαιρίων όπως τα πολυμορφοπύρηνα ή ουδετερόφιλα, τα ηωσινόφιλα, τα βασεόφιλα, τα μονοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα (B και T).^{23,24}

Τα ουδετερόφιλα είναι λευκά αιμοσφαίρια που απελευθερώνονται από τον μυελό των οστών. Αντιπροσωπεύουν το 50% του συνολικού αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων. Περίπου 100 δισεκατομμύρια κύτταρα ουδετερόφιλων παράγονται κάθε μέρα και θεωρούνται τα πρώτα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Είναι τα κύρια κύτταρα του ανοσοποιητικού που καταπολεμούν τα παθογόνα που μεταναστεύουν σε σημεία μόλυνσης και στη συνέχεια εντοπίζουν και σκοτώνουν βακτήρια και ιούς²⁵. Τα ουδετερόφιλα στέλνουν επίσης σήματα για να ειδοποιήσουν άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.²⁶

Τα μονοκύτταρα αντιπροσωπεύουν το 5 έως 12 % του συνολικού αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων. Συμβάλλουν στην πολύ σημαντική λειτουργία του καθαρισμού των νεκρών κυττάρων και στην αναγέννηση των ιστών. Τα ηωσινόφιλα αντιπροσωπεύουν λιγότερο από το 5% των συνολικών λευκών αιμοσφαιρίων. Βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στο πεπτικό σύστημα. Τα ηωσινόφιλα παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση βακτηρίων και παρασίτων που εισβάλλουν, όπως τα σκουλήκια. Τα βασεόφιλα αντιπροσωπεύουν το 1% του συνολικού αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων. Αυτά τα κύτταρα συμμετέχουν στην ανοσιακή απάντηση του οργανισμού.²⁷

Ο υποπληθυσμός των B λεμφοκυττάρων ή πλασματοκύτταρα παράγουν αντισώματα που δίνουν διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανοσία, ιδιαίτερα εάν το σώμα εκτεθεί ξανά στην ίδια λοίμωξη.²⁴



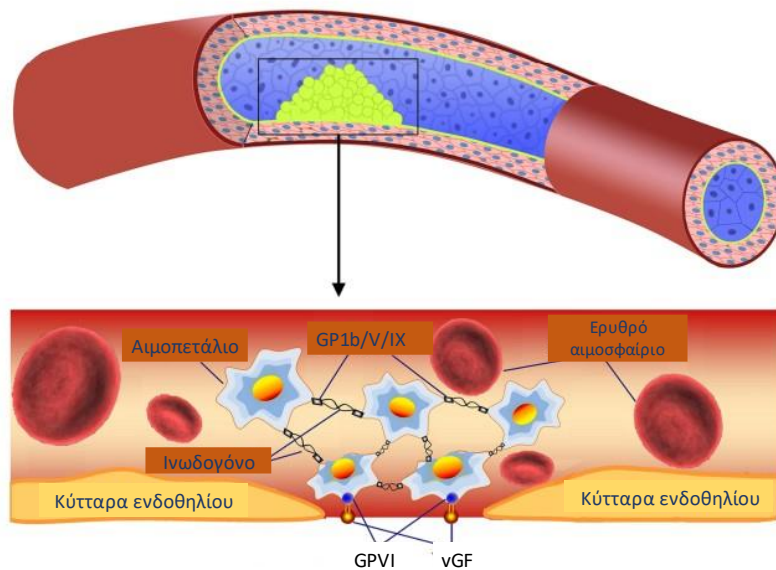
Εικόνα 3. Συστατικά αίματος. [Αναπαραγωγή από <https://www.physio-pedia.com/>]

1.3 Φυσιολογία αιμοπεταλίων

Τα αιμοπετάλια (platelets -PLT) είναι κύτταρα του αίματος με πυρήνα, διαμέτρου 2–4 μm, με σύντομη διάρκεια ζωής περίπου 7-10 ημέρες.²⁸ Η παραγωγή των PLT από μεγακαρυοκύτταρα είναι μια διαδικασία που συμβαίνει είτε στον μυελό των οστών είτε, όπως έχει αποδειχθεί πιο πρόσφατα, στους πνεύμονες.²⁹ Κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής του κυττάρου, τα PLT μειώνονται σε μέγεθος έτσι ώστε τα νεαρά αιμοπετάλια είναι μεγαλύτερα σε όγκο από τα παλαιότερα. Τέλος, τα PLT φαγοκυτταρώνονται από τα ουδετερόφιλα ή τα μακροφάγα και μεταφέρονται στον σπλήνα για την τελική απομάκρυνσή τους.

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει πως τα αιμοπετάλια διαφοροποιούνται σε πολλές λειτουργικές μορφές αιμοπεταλίων κάτω από ορισμένες πειραματικές συνθήκες χρησιμοποιώντας μηχανισμούς μεταγραφής. Ωστόσο, εκτός εργαστηρίου, αυτή η διαδικασία σπάνια έχει παρατηρηθεί και η σημασία της στη φυσιολογική φυσιολογία του αγγείου παραμένει αδιευκρίνιστη.³⁰

Ο κατεξοχήν ρόλος των PLT είναι να συμβάλλει στη διατήρηση της πρωτογενούς αιμόστασης και της ομαλής ροής του αίματος. Προκειμένου να επιτευχθεί αυτός ο στόχος, τα αιμοπετάλια κυκλοφορούν κοντά σε τοίχωμα του αγγείου, φαινόμενο που επιτυγχάνεται λόγω της βιοφυσικής φύσης των συστατικών του αίματος και των δυνάμεων διάτμησης μέσα στο αγγείο. Αυτή η στενή αλληλεπίδραση με το τοίχωμα του αγγείου επιτρέπει την γρήγορη απόκριση των αιμοπεταλίων όταν εμφανίζεται αγγειακή προσβολή ή τραυματισμός. Αυτή η απόκριση συνήθως θεωρείται ότι εμφανίζεται σε διάφορα στάδια ξεκινώντας με την προσκόλληση στην υποενδοθηλιακή εξωκυτταρική μήτρα μέσω της αρχικής αλληλεπίδρασης της μήτρας με συγκεκριμένους υποδοχείς στα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένου του συμπλέγματος GP1b/V/IX που δεσμεύεται με τον παράγοντα Von Willebrand, καθώς και τους υποδοχείς GPVI και αIIb1 στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων που συνδέεται με το συστατικό κολλαγόνου της εξωκυτταρικής μήτρας.²⁸ Μετά από αυτή την αρχική πρόσδεση των αιμοπεταλίων στο τοίχωμα του αγγείου, η επακόλουθη σταθερή προσκόλληση έχει ως αποτέλεσμα τη μεταγωγή σήματος μέσα στα αιμοπετάλια και την ισοπέδωση των αρχικά στρογγυλών αιμοπεταλίων. Μετά τη σταθερή προσκόλληση, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τον αρχικό σχηματισμό θρόμβου, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια που είναι συνδεδεμένα μέσα στον θρόμβο αρχίζουν να ενσωματώνουν νέα αιμοπετάλια από την κυκλοφορία μέσω μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων με τη μεσολάβηση του υποδοχέα ιντεγκρίνης αIIbβ3. Επιπλέον, τα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια και τα χαλαρά συνδεδεμένα αιμοπετάλια θα ενεργοποιηθούν μέσω θετικής ανάδρασης που ξεκινά μέσω του σχηματισμού δευτερογενών σημάτων μέσω των οξυγενασών COX-1 και 12-LOX καθώς που ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια. Ο προκύπτων θρόμβος αιμοπεταλίων αποτελείται επομένως από έναν «πυρήνα» σφιχτά συνδεδεμένων θετικών αιμοπεταλίων που περιβάλλονται από ένα «κέλυφος» χαλαρά συνδεδεμένων αιμοπεταλίων που απαιτούν δευτερεύουσα ανάδραση μέσω διαφόρων υποδοχέων (Εικόνα 4).³¹



Εικόνα 4. Σχηματική αναπαράσταση της προσκόλλησης και συσσώρευσης αιμοπεταλίων γύρω από έναν θρόμβο σε ένα αγγείο.³¹ [Αναπαραγωγή από Ye et al]

Τα αιμοπετάλια περιέχουν 3 τύπους κοκκίων. Ο πρώτος τύπος είναι γνωστός ως πυκνά κοκκία. Πιστεύεται ότι υπάρχουν περίπου 4-6 πυκνά κοκκία σε κάθε αιμοπετάλιο. Τα πυκνά κοκκία περιέχουν >200 μικρά μόρια, όπως ασβέστιο, ATP, ADP, 5-HT και επινεφρίνη. Ακολουθώντας τα αρχικά στάδια της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, τα πυκνά κοκκία συγχωνεύονται με την πλασματική μεμβράνη του αιμοπεταλίου μέσω των συμπλεγμάτων SNARE και απελευθερώνουν το περιεχόμενό του στον εξωκυτταρικό αγγειακό χώρο. Πολλά από αυτά τα μικρά μόρια σηματοδοτούν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω επιφανειακών υποδοχέων. Μία από τις πιο πολύ μελετημένες κατηγορίες υποδοχέων στα αιμοπετάλια που είναι γνωστό ότι ανταποκρίνεται στην πυκνή απελευθέρωση κοκκίων είναι ο πουρινεργικός υποδοχέας (P2Y_x). Το αιμοπετάλιο εκφράζει δύο πουρινεργικούς υποδοχείς, τον P2Y₁ και τον P2Y₁₂, οι οποίοι έχουν αποδειχθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.³²

Ο δεύτερος τύπος κοκκίων είναι γνωστός ως α κοκκία και κάθε αιμοπετάλιο περιέχει περίπου 60-80 τέτοια κοκκία. Τα α κοκκία περιέχουν έναν αριθμό μεγαλύτερων πρωτεϊνών που είτε εκφράζονται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων είτε απελευθερώνονται στην κυκλοφορία μετά την ενεργοποίηση των κυττάρων. Ένας από τους πιο προβλέψιμους δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων που απελευθερώνεται από τα α κοκκία είναι η P-selectin, η οποία προσδένεται στο

εξωτερικό της πλασματικής μεμβράνης του αιμοπεταλίου μετά την έκκριση των α κοκκίων και μπορεί να λειτουργήσει ως συνδετικός κρίκος μεταξύ των αιμοπεταλίων και άλλων κυττάρων.

Ο τρίτος τύπος κοκκίων που περιέχονται στα αιμοπετάλια είναι τα λυσοσωμικά κοκκία που παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποικοδόμηση των πρωτεϊνών. Οι έρευνες έχουν βρει πως η απελευθέρωση των λυσοσωμικών κοκκίων συμβάλλει στη διαδικασία ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και πιθανώς στη στρατολόγηση νέων αιμοπεταλίων σε έναν αναπτυσσόμενο θρόμβο, αλλά και σηματοδοτούν την ενεργοποίηση των γύρω αιμοσφαιρίων, καθώς και το ενδοθήλιο. Αυτό είναι πιθανό να συμβαίνει μετά από τραυματισμό του αγγείου και είναι ένας μηχανισμός που πιθανότατα παίζει ρόλο στην επούλωση του τραύματος μετά την αρχική ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και το σχηματισμό θρόμβου.²⁸

Τα βιοενεργά λιπίδια που σχηματίζονται στα αιμοπετάλια μετά την αρχική ενεργοποίηση παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση του πρωτογενούς σήματος το οποίο ξεκινά μέσω της θρομβίνης και του κολλαγόνου.³³ Η πλειονότητα των λιπιδικών προϊόντων σχηματίζεται από την οξείδωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στις οξειδωμένες δραστικές μορφές τους. Στα αιμοπετάλια, το πιο κοινό λιπαρό οξύ στη μεμβράνη των φωσφολιπιδίων είναι το αραχιδονικό οξύ (AA). Η οξείδωση των λιπαρών οξέων λαμβάνει χώρα κυρίως μέσω δύο ενζύμων, της κυκλοοξυγενάσης-1 (COX-1) και της 12-λιποξυγενάσης (12-LOX). Η COX-1 παράγει έναν αριθμό προσταγλανδινών της σειράς-2, συμπεριλαμβανομένων των PGE2 και TxA2 μετά από οξείδωση AA. Και οι δύο αυτές προσταγλανδίνες έχουν υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνη G (GPCRs) στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων που ενεργοποιούνται επιλεκτικά από τους αντίστοιχους μεταβολίτες τους και παίζουν ρόλο στην ενίσχυση της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Το 12-LOX οξειδώνει τα ελεύθερα λιπαρά οξέα για να σχηματίσει εικοσανοειδή (HETEs), τα οποία έχουν ποικίλες λειτουργίες τόσο στα αιμοπετάλια όσο και σε άλλα κύτταρα στην κυκλοφορία ή σε κύτταρα και ιστούς με δυνατότητα πρόσβασης στα HETEs στην κυκλοφορία. Ενώ το πεδίο των βιοδραστικών μεταβολιτών είναι πολύπλοκο, είναι σαφές ότι πολλοί από τους μεταβολίτες που σχηματίζονται στα αιμοπετάλια, ή σχηματίζονται σε άλλα κύτταρα του αίματος ή στο ενδοθήλιο, παίζουν ρόλο στη ρύθμιση της φυσιολογικής λειτουργίας των αιμοπεταλίων για την αιμόσταση και τη θρόμβωση.

Ρόλος των αιμοπεταλίων στην ανοσία

Τα αιμοπετάλια είναι γνωστά ως βασικοί μεσολαβητές της αιμόστασης και της θρόμβωσης. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια, τα αιμοπετάλια έχουν αναγνωρισθεί για τις φλεγμονώδεις λειτουργίες τους, οι οποίες ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση κατά τη διάρκεια μολυσματικών ασθενειών. Τα αιμοπετάλια περιέχουν διάφορους ανοσοϋποδοχείς που τους επιτρέπουν να ενεργούν ως φρουροί για την αναγνώριση των ενδοαγγειακών παθογόνων. Κατά την ενεργοποίηση, τα αιμοπετάλια περιορίζουν άμεσα την ανάπτυξη των παθογόνων μέσω της απελευθέρωσης αντιμικροβιακών πρωτεϊνών (AMPs) και εξασφαλίζουν την άμυνα έναντι του παθογόνου μέσω της ενεργοποίησης των κυττάρων του ανοσοποιητικού.³⁴

Παρόμοια με τα κύτταρα του ανοσοποιητικού, τα αιμοπετάλια περιέχουν υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs) που αναγνωρίζουν διαφορετικά συστατικά που αυξάνονται κατά τη διάρκεια της μόλυνσης. Τα συστατικά αυτά μπορεί να είναι μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με το παθογόνο (PAMPs) ή συστατικά προερχόμενα από τον ξενιστή γνωστά ως μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με βλάβη (DAMPs). Διαφορετικές οικογένειες PRRs εκφράζονται σε αιμοπετάλια, όπως υποδοχείς τύπου Toll (TLRs), υποδοχείς λεκτίνης τύπου C (CLRs) και υποδοχείς που μοιάζουν με νουκλεοτίδια ολιγομερισμού (NOD). Η εμπλοκή αυτών των υποδοχέων οδηγεί στην ενεργοποίηση αιμοπεταλίων, στην απελευθέρωση κοκκίων και την αλληλεπίδραση τους με λευκά αιμοσφαίρια, επιτρέποντας στα αιμοπετάλια να δρουν τόσο ως θρομβωτικά όσο και ως κύτταρα του ανοσοποιητικού.³⁵

Από τους TLR υποδοχείς που έχουν ανιχνευθεί στα ανθρώπινα αιμοπετάλια, μόνο τα TLR1,-2,-3,-4,-6,-7 και -9 έχουν βρεθεί να έχουν λειτουργικότητα στα αιμοπετάλια.³⁶ Οι TLR4 και TLR2 είναι οι καλύτερα χαρακτηρισμένοι υποδοχείς των αιμοπεταλίων, οι οποίοι αναγνωρίζουν δομικά συστατικά των παθογόνων, ιδιαίτερα των βακτηρίων. Οι TLR4 είναι ειδικοί για τον λιποπολυσακχαρίτη (LPS) του αρνητικού κατά Gram βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος, ενώ η ενεργοποίηση του TLR4 των αιμοπεταλίων συνδέεται με διαφορετικές πτυχές της παθογένεσης της σήψης.³⁷ Το TLR2 δεσμεύει πεπτιδία από Gram-αρνητικά ή Gram-θετικά βακτήρια, σε συνδυασμό με TLR1 ή TLR6, αντίστοιχα.³⁶

Πρόσφατες μελέτες ανέδειξαν ότι η εμπλοκή του TLR των PLT δεν περιορίζεται αποκλειστική στη βακτηριακή λοίμωξη, αλλά μπορούν να ενεργοποιηθούν και σε ιογενείς λοιμώξεις.³⁸

Οι CLR's υποδοχείς είναι μια μεγάλη οικογένεια επιφανειακών υποδοχέων που ειδικεύονται στην αναγνώριση των γλυκανών. Η DC-SIGN (ειδική ιντεγκρίνη δεδνδριτικών κυττάρων) και ο CLR τύπου λεκτίνης 2 (CLEC-2) είναι η πιο καλά μελετημένοι CLR των αιμοπεταλίων. Η DC-SIGN αναγνωρίζει γλυκάνες υψηλής μαννόζης που συνδέονται σε πρωτεΐνες ιών. Ο CLEC-2 στα αιμοπετάλια δεσμεύεται από τους ιούς, συμμετέχοντας στη συνολική φλεγμονώδη απόκριση, ειδικά κατά τη διάρκεια της λοίμωξης.³⁹

Οι υποδοχείς NOD είναι κυτταροπλασματικά PRR που ρυθμίζουν τις φλεγμονώδεις και αποπτωτικές αποκρίσεις. Εκτός από τα PRR, τα ανθρώπινα αιμοπετάλια εκφράζουν επίσης τον υποδοχέα Fcγ IIa (FcγRIIa), ο οποίος είναι ο μόνος υποδοχέας στα αιμοπετάλια που αναγνωρίζει το σταθερό θραύσμα (Fc) της ανοσοσφαιρίνης (Ig)G, το οποίο επιτρέπει τη δέσμευση των ανοσοσυμπλεγμάτων IgG.⁴⁰

Τα αιμοπετάλια είναι επίσης ικανά να επεξεργάζονται παθογόνα αντιγόνα μέσω ενός συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας (MHC) που ενεργοποιεί το επίκτητο ανοσοποιητικό σύστημα. Τέλος, τα αιμοπετάλια εκφράζουν ένα ευρύ φάσμα υποδοχέων που είναι ειδικό για τα αιμοπετάλια και τα μεγακαρυοκύτταρα. Εκτός από τους καθιερωμένους ρόλους τους στην αιμόσταση και τη θρόμβωση, αυτοί οι υποδοχείς ανιχνεύουν και αλληλεπιδρούν με παθογόνα για να ρυθμίσουν τη μόλυνση.⁴¹

Η αναγνώριση των PAMP ή DAMP από διαφορετικούς υποδοχείς αιμοπεταλίων έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την απελευθέρωση των α-κοκκίων. Οι αντιμικροβιακές πρωτεΐνες (AMPs) είναι αποθηκευμένες στα κοκκία αυτά, και δρουν επί μολυσματικών ασθενειών. Η κινোসιδίνη, που είναι η πιο γνωστή AMP, σηματοδοτεί τη διάσπαση των ανιονικών μικροβιακών κυτταρικών μεμβρανών και στη θανάτωση ενδοερυθροκυτταρικών παρασίτων.⁴²

Ως μέρος του ανοσοποιητικού συστήματος, τα αιμοπετάλια αναγνωρίζουν παθογόνα από όλες τις κύριες κατηγορίες μικροοργανισμών. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις έχουν ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την έκκριση ενός ευρέος φάσματος πεπτιδίων, τα οποία σχηματίζουν μια άμυνα πρώτης γραμμής έναντι της μόλυνσης. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια απελευθερώνουν επίσης χημειοκίνες και

εκφράζουν υποδοχείς για να ενεργοποιήσουν τα λευκοκύτταρα προκειμένου να πυροδοτήσουν τόσο την έμφυτη όσο και την επίκτητη ανοσοαπόκριση.

1.4 COVID-19 και αιμοπετάλια

Η θρομβοπενία είναι ένα κοινό εύρημα σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς και σχετίζεται με κακή κλινική έκβαση, συμπεριλαμβανομένου του θανάτου.⁴³ Σε ασθενείς που νοσηλεύονται με COVID-19 έχει περιγραφεί θρομβοπενία και ο χαμηλότερος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με χειρότερα κλινικά αποτελέσματα. Σε μετα-ανάλυση 31 πρωτογενών μελετών με 7.613 συμμετέχοντες, βρέθηκε χαμηλότερος αριθμός αιμοπεταλίων σε σοβαρή λοίμωξη COVID-19 και συσχετίστηκε με τριπλάσια αύξηση του κινδύνου εμφάνισης σοβαρού COVID-19.⁴⁴

Άλλοι δείκτες αιμοπεταλίων, συμπεριλαμβανομένου του μεγέθους των αιμοπεταλίων και της ωριμότητας των αιμοπεταλίων, σχετίζονται με αυξημένη ανοσιακή δραστηριότητα και κλινικά συμβάντα.⁴⁵ Τα μεγαλύτερα αιμοπετάλια είναι πιο μεταβολικά ενεργά και έχουν μεγαλύτερο προθρομβωτικό δυναμικό και ο αυξημένος μέσος όγκος αιμοπεταλίων (MPV) σχετίζεται με αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 Σκοπός

Ο σκοπός της μελέτης αυτής ήταν η εκτίμηση του μέσου όγκου των αιμοπεταλίων ως δείκτη ενεργότητας νόσου στους ασθενείς με COVID-19.

Πιο συγκεκριμένα, οι ερευνητικές υποθέσεις που διερευνήθηκαν ήταν:

EY1. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με το φύλο των ασθενών.

EY2. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με τη φάση λήψης του δείγματος.

EY3. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με την έκβαση της νόσου.

EY4. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με τον δείκτη ενεργότητας της νόσου.

- EY5. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με τον δείκτη λοίμωξης CRP
- EY6. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με το φύλο των ασθενών.
- EY7. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με τη φάση λήψης του δείγματος.
- EY8. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με την έκβαση της νόσου.
- EY9. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με τον δείκτη ενεργότητας της νόσου.
- EY10. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με τον δείκτη λοίμωξης CRP
- EY11. Ο Δείκτης ενεργότητας νόσου COVID-19 κατά Bennouar et al σχετίζεται με τον δείκτη λοίμωξης CRP

2.2 Μεθοδολογία

Για τον σκοπό της μελέτης χρησιμοποιήθηκε δείγμα ασθενών με διαγνωσμένη λοίμωξη από τον ίο SARS-CoV-2 που νοσηλεύονταν στα τμήματα του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αλεξανδρούπολης τη χρονική περίοδο 2021- 2022. Για την εκπόνηση της τρέχουσας μελέτης και τη διαφύλαξη των προσωπικών τους δεδομένων σύμφωνα με τον Γενικό Κανονισμό για την Προστασία των Δεδομένων (GDPR) είχε χορηγηθεί άδεια από την Επιστημονική Επιτροπή του Νοσοκομείου (Αριθμός Άδειας: 17240/5-6-2020).

Οι ασθενείς υπέγραψαν την φόρμα συγκατάθεσης.

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί ο εργαστηριακός έλεγχος, λήφθηκε αίμα από περιφερική φλέβα με αιμοληψία που πραγματοποιήθηκε στις 8:00πμ σε όλους τους ασθενείς.

Η περαιτέρω επεξεργασία των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο του Νοσοκομείου, όπως περιγράφεται παρακάτω για κάθε εξέταση.

2.2.1 Ανίχνευση αντι- SARS CoV-2 αντισωμάτων

Η δοκιμασία πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο μικροσωματιδιακής ανόσοχημειοφωταύγειας (CMIA), στον αναλυτή Architect της εταιρείας Abbott. Χρησιμοποιείται για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων τάξεως IgG έναντι της ακίδας (anti nucleocapsid) του SARS CoV-2 ιού σε ανθρώπινο πλάσμα ή ορό.

Αντιδραστήρια:

- Μικροσωματίδια (6.6mL): Μικροσωματίδια επικαλυμμένα με SARS CoV-2 Ag σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS
- Συζευκτικό διάλυμα - Conjugate (5.9 mL): Αντίσωμα IgG του ποντικού συζευγμένο με ακριδίνιο σε ρυθμιστικό διάλυμα MES.
- Ρυθμιστικό διάλυμα TRIS με σταθεροποιητή πρωτεϊνών(10mL).
- Ρυθμιστικό διάλυμα και απορρυπαντικό TRIS. Συντηρητικά: ProClin 950
- Πλυστικό ρυθμιστικό διάλυμα με αζίδιο του νατρίου (sodium azide)

Ερμηνεία Αποτελεσμάτων

The cutoff is 1.4 Index (S/C).

< 1.4 αρνητικό

≥ 1.4 θετικό

2.2.2 Ανίχνευση SARS Cov2 RNA

Η ανίχνευση του SARS Cov2-RNA πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο με τη μέθοδο RT-PCR.

Η διαδικασία της εξέτασης περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

Εξαγωγή RNA

Η εξαγωγή του ιϊκού RNA από ρινοφαρυγγικά δείγματα (nasopharyngeal samples NPS) RNA έγινε με το kit Viral RNA DNA Nucleospin Virus, της εταιρίας Macherey-Nagel. Χρησιμοποιήθηκαν τα εξής διαλύματα:

- 96-100% αιθανόλη
- Lysis Buffer VL
- Wash Buffer VW1
- Wash Buffer VW2
- RNase-free H₂O
- Carrier RNA (lyophilized)
- Πρωτεΐνωση K
- NucleoSpin® Virus Columns (light red rings, plus Collection Tubes)

Καθώς και ο παρακάτω εργαστηριακός εξοπλισμός

- Θάλαμος νηματικής ροής
- Αναδευτήρας σωληναρίων
- Μικροφυγόκεντρος
- Πιπέτες
- Επωαστήρας
- Αποστειρωμένα σωληνάρια πολυπροπυλενίου
- Γάντια μίας χρήσεως
- Δοχείο απόρριψης βιολογικών υλικών
- Καταψύκτης

Τα στάδια της διαδικασίας εξαγωγής του RNA που ακολουθήθηκαν, βάσει των οδηγιών της κατασκευάστριας εταιρίας ήταν τα ακόλουθα:

➤ Αρχική επεξεργασία ή (προετοιμασία) δειγμάτων

Σε σωληνάρια τύπου Eppendorf προστέθηκε 5μL υγρή πρωτεΐνωση K, 200μL ρινοφαρυγγικού δείγματος και 200μL ρυθμιστικού λύσης VL. Ακολούθησε ανάδευση για 10 δευτερόλεπτα. Κατόπιν προστέθηκαν 5,6μL Carrier RNA και

5μL ειδικού HCV-εσωτερικού μάρτυρα, που θα χρειαστεί για την ανίχνευση του HCV-RNA και επώαστηκε το μείγμα για 3 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.

➤ **Σύνδεση του ιικού RNA**

Προστέθηκαν 200μl 96% αιθανόλης και ακολούθησε επώαση 5 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου. Η συνολική ποσότητα του δείγματος (≈610μL) τοποθετήθηκε σε στήλη με φίλτρο κατακράτησης με σωλήναριο συλλογής Eppendorf, και φυγοκεντρήθηκε σε 4000 rpm για 3 λεπτά. Αφαιρέθηκε το παλιό σωλήναριο συλλογής και η στήλη με το φίλτρο τοποθετήθηκε σε νέο Eppendorf.

➤ **Πλύση**

Προστέθηκαν 400μL του πλυστικού διαλύματος VW1, ακολούθησε φυγοκέντρηση σε 11.000 rpm για 30 δευτερόλεπτα και τοποθέτηση του φίλτρου σε νέο Eppendorf. Προστέθηκαν 400μL από το διάλυμα VW2 και φυγοκεντρήθηκε στους 11.000 rpm για 30 δευτερόλεπτα και τοποθετήθηκε το φίλτρο σε νέο Eppendorf. Προστέθηκαν 200μL από VW2 και φυγοκεντρήθηκε σε 20.000 rpm για 5 λεπτά. Τοποθετήθηκε η στήλη φίλτρο σε νέο Eppendorf και επώαστηκε στους 56⁰ C για 5 λεπτά.

➤ **Έκλυση RNA**

Προστέθηκαν 30μL νερό ελεύθερο RNAάσης και ακολούθησε επώαση για 3 λεπτά και στη συνέχεια φυγοκέντρηση για 3 λεπτά στις 20.000 x g. Το έκλουμα που συλλέχθηκε μετά την τελευταία φυγοκέντρηση περιλαμβάνει το SARS CoV2 RNA και είναι αυτό που θα εξεταστεί με τη δοκιμασία RT-PCR.

Μοριακή ανίχνευση με qRT-PCR

Ο προσδιορισμός qRT-PCR πραγματοποιήθηκε με κιτ RT-PCR της εταιρίας (Primerdesign Ltd, UK) και εκτελέστηκε από το SaCycler-96 Real Time PCR System (Sacace Biotechnologies, Ιταλία).

2.2.3 Η εξέταση γενικής αίματος

Η γενική αίματος πραγματοποιήθηκε σε δείγμα ολικού αίματος με EDTA σε πλήρη αυτοματοποιημένο αναλυτή Sysmex® XT-2000i, 21 παραμέτρων.

Οι βασικοί παράμετροι που αναλύθηκαν ήταν ο συνολικός αριθμός των αιμοπεταλίων (Platelets- PLT) και ο Μέσος Όγκος Αιμοπεταλίων (Mean platelet volume-MPV)

Οι φυσιολογικές τιμές των αιμοπεταλίων είναι 150-400 K/μl, ενώ οι φυσιολογικές τιμές του MPV είναι 6-11 fl.

2.2.4 Δείκτης ενεργότητας νόσου COVID-19

Προκειμένου να ποσοτικοποιήσουμε την ενεργότητα της νόσου COVID-19 στους ασθενείς, χρησιμοποιήσαμε τον Δείκτη ενεργότητας νόσου κατά Bennouar et al.⁴⁶ Σύμφωνα με τους δημιουργούς, ο Δείκτης παρέχει μια χρήσιμη βαθμολογία κινδύνου με βάση 7 βιολογικών παραμέτρων ρουτίνας που αξιολογούνται σε ασθενείς με COVID-19. Ο συγκεκριμένος Δείκτης μπορεί να δείξει με αξιοπιστία τη σοβαρότητα όσο και της βραχυπρόθεσμη θνησιμότητας του COVID-19. Στον Πίνακα 1 παρουσιάζεται ο δείκτης ενεργότητας νόσου κατά Bennouar et al.

Πίνακας 1. Παράμετροι αξιολόγησης και υπολογισμός δείκτη ενεργότητας νόσου COVID-19 κατά Bennouar et al.

Παράμετρος	Ταξινόμηση	Βαθμολογία
Ηλικία	<60ετών	0
	≥60ετών	1
Νάτριο ορού αίματος	<133,6 mmol/l	1
	≥133,6 mmol/l	0
CRP	<42 mg/l	0
	≥42 mg/l	1
Ουρία ορού αίματος	<8.0 mmol/l	0
	≥8.0 mmol/l	1
NLR	<7.99	0
	≥7.99	1
LDH	<367 UI/l	0
	≥367 UI/l	1
Αλβουμίνη ορού αίματος	<33.5 g/l	1
	≥33.5 g/l	0

NLR: ουδετερόφιλα/πολυμορφοπύρηνα

2.3 Στατιστική Ανάλυση

Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS (Statistical Package for the Social Science) v.26. Για τα περιγραφικά δεδομένα του ερωτηματολογίου υπολογίστηκαν η συχνότητα μέσος όρος και η τυπική απόκλιση. Για την απάντηση των ερευνητικών υποθέσεων της μελέτης κατόπιν υπολογισμού του Δείκτη ενεργότητας της νόσου COVID-19, πραγματοποιήθηκε στατιστικός έλεγχος ANOVA, και υπολογισμός του συντελεστή Pearson, σε επίπεδο σημαντικότητάς 5%.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Αποτελέσματα

3.1 Περιγραφική Ανάλυση

3.1.1 Δημογραφικά Χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

Το δείγμα μας αποτέλεσαν 205 ασθενείς που νοσηλεύονταν στο νοσοκομείο λόγω λοίμωξης COVID-19. Το 66,4% ήταν άντρες μέσης ηλικίας τα 64,4 έτη.

Η πλειοψηφία των ασθενών νοσηλεύονταν στο Τμήμα COVID-19 του νοσοκομείου (56,4%) και η τελική έκβαση της νόσου τους ήταν βελτίωση/ίαση (77,6%).

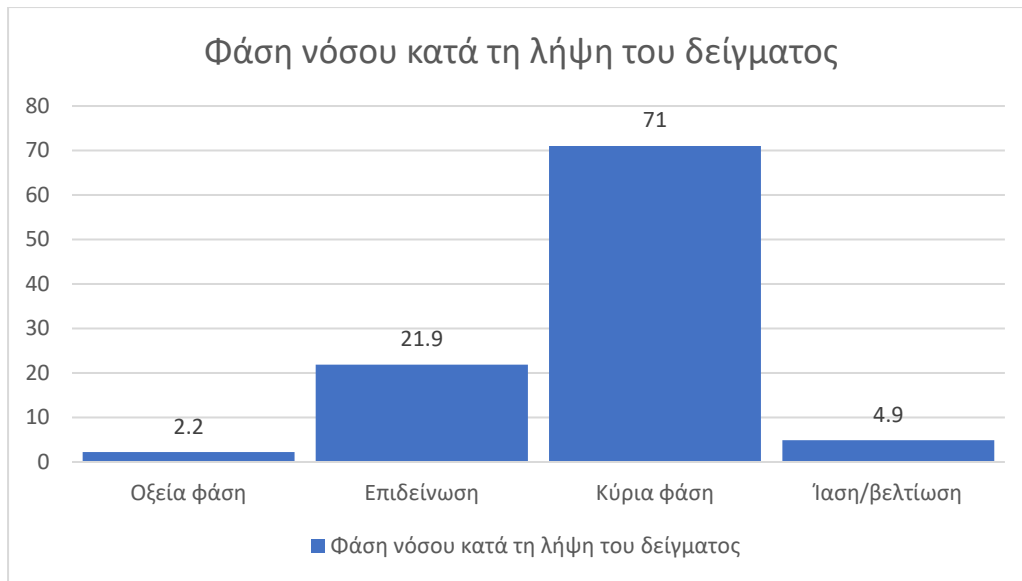
Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών φαίνονται στον **Πίνακα 2**.

Πίνακας 2. Δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης.

Μεταβλητή	Κατηγορίες	Ποσοστό (%)
Φύλο	Άνδρας	78,0
	Γυναίκα	22,0
Τμήμα νοσηλείας	ΜΕΘ	25,1
	ΒΠΧΚ	0,5
	ΜΕΛ	17,4
	Τμήμα COVID-19	56,4
	Άλλο	0,5
Έκβαση	Βελτίωση/ίαση	77,6
	Θάνατος	22,4
Ηλικία: Μ.Ο. 64,4, SD= 11.95, Max=86, Min=23		

3.1.2 Εργαστηριακά ευρήματα

Η λήψη των εργαστηριακών πραγματοποιήθηκε κυρίως κατά τη διάρκεια της κυρίας φάσης της νόσου, όπως φαίνεται στο **Γράφημα 1**.



Γράφημα 1. Κατανομή συχνοτήτων φάση νόσου κατά την οποία λήφθηκε ο εργαστηριακός έλεγχος των ασθενών.

Στον παρακάτω πίνακες (**Πίνακα 3Α και 3Β**) φαίνονται συνοπτικά τα αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε στους ασθενείς. Πιο αναλυτικά, στο πίνακα 3Α παρουσιάζονται τα αποτελέσματα βιοχημικού ελέγχου, ενώ στον πίνακα 3Β τα αποτελέσματα ορολογικού ελέγχου για τα αντισώματα έναντι του ιού SARS CoV2.

Πίνακας 3Α. Αποτελέσματα εργαστηριακού ελέγχου ασθενών.

Εργαστηριακή εξέταση	Μονάδα Μέτρησης	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
PT	Sec	10,20	76,60	15,4288	7,23259
INR		,87	10,50	1,3740	,95300
APTT	Sec's	21,20	149,70	42,1735	20,74264
Fibrinogen	mg/dl	69,80	780,00	411,3556	151,10832
D- Dimers		143,20	7088,00	1047,9635	1371,37823
Ferritine	µg/L	53,78	8349,00	1544,0769	1435,54139
WBC	k/µl	,60	31,75	11,3029	6,17112
Neutro	k/µl	29,70	98,20	82,1044	11,99218
Lempho	k/µl	,70	56,00	11,3617	9,37479
RBC	M/µl	2,14	5,62	4,0480	,69052
Ht	%	7,50	27,40	12,1405	2,53067
PLT	k/µl	,00	577,00	256,5805	126,39597
MPV	fl	8,30	14,20	11,0032	1,04291
Urea	mg/dL	4,00	368,00	79,6176	64,19405
Crea	mg/dL	,50	11,00	1,4947	1,60732
eGFR		4,00	128,00	72,4398	31,16145
Ast	U/L	12,00	1825,00	95,5517	220,29301
Alt	U/L	6,00	636,00	53,1257	65,46295
LDH	U/L	150,00	2183,00	530,4942	275,07431
CK	U/L	1,00	12996,00	551,0287	1960,51013
Tp	g/dL	2,60	7,40	5,9282	,95299
Albumin	g/dL	1,60	35,00	3,6176	2,83632
Alp	U/L	23,00	241,00	68,5417	38,60031
γ-GT	U/L	12,00	496,00	86,8333	90,13892
Phoc	mg/dL	1,80	10,20	3,5932	1,49097
CRP	mg/dL	2,51	3417,00	949,9574	902,72439
Trop<14	mg/dL	3,00	302,60	40,6412	48,05465
proBMP<125	mg/dL	37,70	35000,00	3259,4833	7014,77304
Procalcitonin	mg/dL	,00	5,10	,7469	1,12536
Glu	mg/dL	53	1911	168,52	183,538
K	mmol/L	3	7	4,28	,652
N	mmol/L	118	152	138,55	5,250
UA	mg/dL	1	65	6,40	7,409
Amy	U/L	4	173	61,41	37,635
Fe	µg/dL	18	141	69,26	32,440
Ca 8.5-10.5	mg/dL	6	10	8,25	,761
Mg 1.3-2.7	mg/dL	2	4	2,25	,391

Πίνακας 3B. Αποτελέσματα εργαστηριακού ελέγχου ασθενών (αντι SARS CoV αντισώματα)

Εργαστηριακή εξέταση	Μονάδα Μέτρησης	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Ig G ELISA	S/SO	,00	1,00	,6842	,47757
Ig G CMIA	S/SO	,00	1,00	,7351	,44275
Τίτλος		0	10	4,77	3,208
Ig M POC		0	0	,00	,000
Ig G POC		0	1	,60	,516

3.1.3 Ενεργότητα Νόσου

Για τον δείκτη ενεργότητας νόσου χρησιμοποιήσαμε τον δείκτη κατά Bennouar et al, όπως περιεγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο. Στον **Πίνακα 4** φαίνεται η κατανομή συχνοτήτων για τις 7 παραμέτρους ενεργότητας νόσου που αξιολογεί ο Δείκτης.

Πίνακας 4. Κατανομή συχνοτήτων παραμέτρων δείκτη ενεργότητας νόσου κατά Bennouar et al για το δείγμα ασθενών.

Παράμετρος		%
Ηλικία	<60ετών	32,7
	≥60ετών	67,3
Νάτριο ορού αίματος	<133,6 mmol/l	12,3
	≥133,6 mmol/l	87,7
CRP	<42 mg/l	9,4
	≥42 mg/l	90,6
Ουρία ορού αίματος	<8.0 mmol/l	6
	≥8.0 mmol/l	99,4
NLR	<7.99	36,6
	≥7.99	63,4
LDH	<367 UI/l	28,8
	≥367 UI/l	71,2
Αλβουμίνη ορού αίματος	<33.5 g/l	99,2
	≥33.5 g/l	0,8

NLR: ουδετερόφιλα/πολυμορφοπύρηνα

Η μέση τιμή του δείκτη για το σύνολο των ασθενών υπολογίστηκε ίση με 4.50 (SD=1.21) (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Υπολογισμός δείκτη ενεργότητας νόσου κατά Bennouar et al για το δείγμα ασθενών.

	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΝΡΓΟΤΗΤΑΣ ΝΟΣΟΥ	1,00	6,00	4,5055	1,21448

3.2 Επαγωγική Στατιστική

ΕΥ1. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με το φύλο των ασθενών.

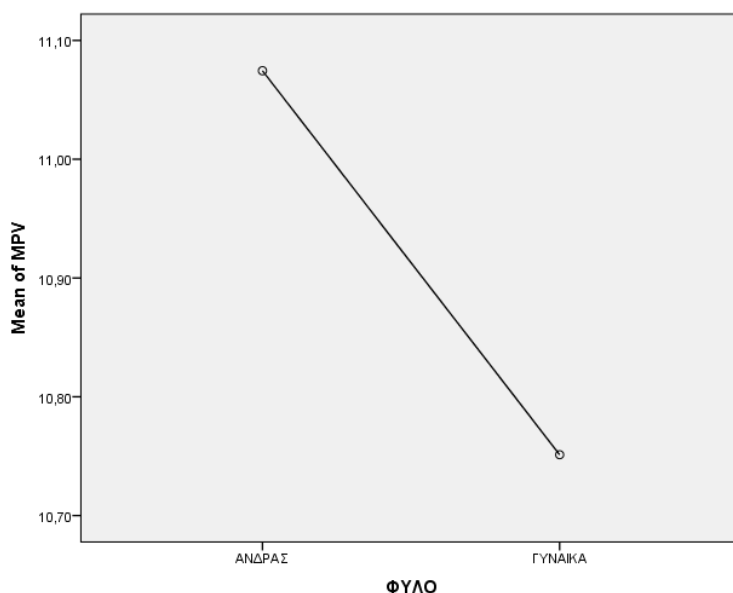
Πίνακας 6: Έλεγχος ANOVA με ανεξάρτητη μεταβλητή το φύλο των ασθενών και εξαρτημένη τον MPV.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3,340	1	3,340	3,106	,080
Within Groups	197,878	184	1,075		
Total	201,218	185			

Από τον στατιστικό έλεγχο δεν προέκυψε συσχέτιση του φύλου και του MPV. Οι γυναίκες κατά μέσο όρο είχαν MPV 10.75fL, ενώ οι άνδρες μέσο όρο 11.07fL.

Πίνακας 7: Μέσοι όροι MPV σε σχέση με το φύλο των ασθενών.

MPV – Φύλο ασθενών	N	Mean	Std. Deviation
Άντρες	145	11,0745	1,03955
Γυναίκες	41	10,7512	1,02789
Total	186	11,0032	1,04291



Γράφημα 1: Μέσοι όροι MPV σε σχέση με το φύλο των ασθενών.

ΕΥ2. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με τη φάση λήψης του δείγματος.

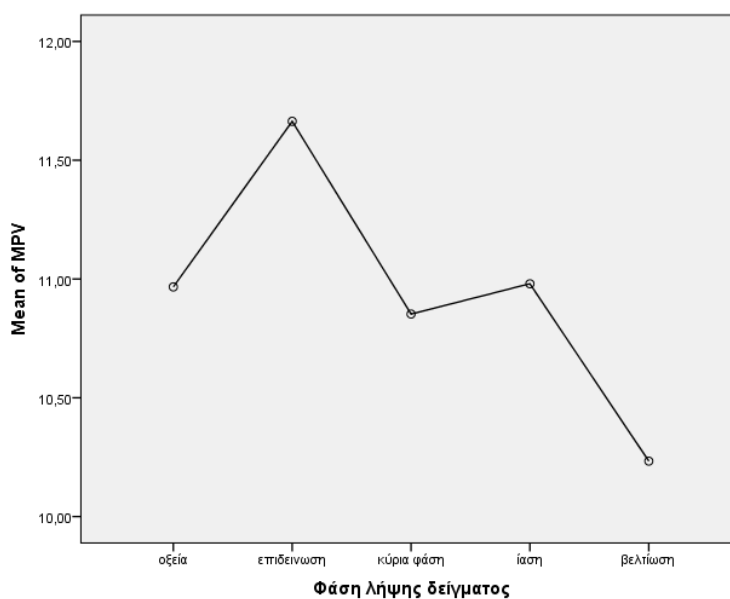
Πίνακας 8: Έλεγχος ANOVA με ανεξάρτητη μεταβλητή τη φάση λήψης του δείγματος και εξαρτημένη τον MPV.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18,946	4	4,737	4,721	,001
Within Groups	161,542	161	1,003		
Total	180,488	165			

Από τον στατιστικό έλεγχο βρέθηκε διαφοροποίηση μεταξύ των φάσεων λήψης του δείγματος και του MPV ($p < 0.001$). Συγκεκριμένα, ο δείκτης φαίνεται πιο αυξημένος κατά την επιδείνωση (MPV=11,6636fl) και μειώνεται σημαντικά κατά την βελτίωση του ασθενούς (MPV=10,2333fl), όπως φαίνεται από τα στοιχεία που παρατίθεται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9: Μέσοι όροι MPV σε σχέση με τη φάση λήψης του δείγματος.

MPV – τη φάση λήψης του δείγματος	N	Mean	Std. Deviation
Οξεία	3	10,9667	,92916
Επιδείνωση	33	11,6636	1,22291
Κύρια φάση	122	10,8525	,94512
Ίαση	5	10,9800	,78549
Βελτίωση	3	10,2333	,83865
Total	166	11,0084	1,04588



Γράφημα 2: Μέσοι όροι MPV σε σχέση με τη φάση λήψης του δείγματος.

EY3. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με την έκβαση της νόσου.

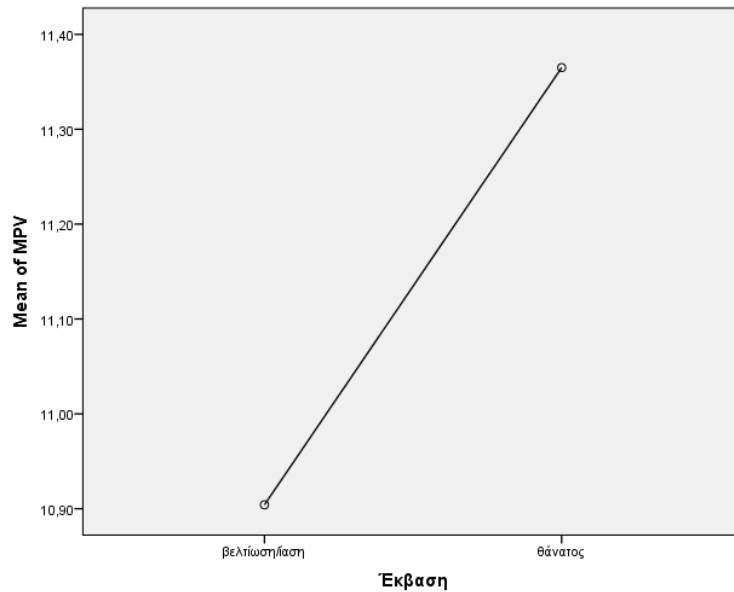
Πίνακας 10: Έλεγχος ANOVA με ανεξάρτητη μεταβλητή την έκβαση της νόσου και εξαρτημένη τον MPV.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6,670	1	6,670	6,308	,013
Within Groups	194,549	184	1,057		
Total	201,218	185			

Από τον στατιστικό έλεγχο βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκβασης της νόσου και του MPV ($p=0.013$). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι ασθενείς, οι οποίοι τελικά κατέληξαν, είχαν σημαντικά μεγαλύτερο MPV σε σχέση με εκείνους που βελτιώθηκαν ή/και ιάθηκαν πλήρως ($MPV_{\text{θάνατος}}=11,3650$ vs $MPV_{\text{ίαση}}=10,9041$).

Πίνακας 11: Μέσοι όροι MPV σε σχέση με την έκβαση της νόσου.

MPV – την έκβαση της νόσου	N	Mean	Std. Deviation
Βελτίωση/ίαση	146	10,9041	,99474
Θάνατος	40	11,3650	1,14434
Total	186	11,0032	1,04291



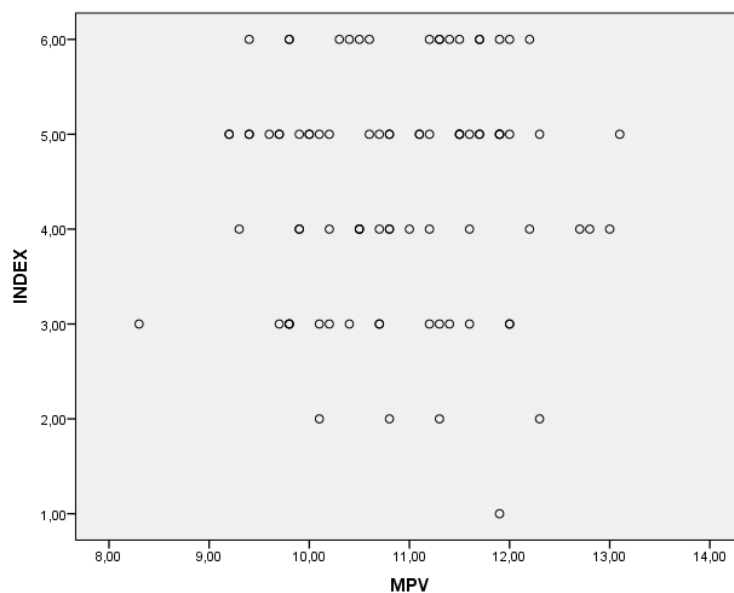
Γράφημα 3: Μέσοι όροι MPV σε σχέση με την έκβαση της νόσου.

ΕΥ4. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με τον δείκτη ενεργότητας της νόσου.

Πίνακας 12: Συντελεστής συσχέτισης Pearson μεταξύ MPV και Δείκτη ενεργότητας COVID-19 κατά Bennouar et al.

		Συντελεστής Pearson r	p
MPV	Δείκτης ενεργότητας COVID-19 κατά Bennouar et al	,023	0,834

Από τον στατιστικό έλεγχο, δεν προέκυψε συσχέτιση μεταξύ του MPV και του Δείκτη ενεργότητας νόσου για το συγκεκριμένο δείγμα ασθενών. Στο γράφημα διασποράς (**Γράφημα 4**), δεν υπάρχουν ενδείξεις καμπύλης σχέσης μεταξύ των δύο μεταβλητών.



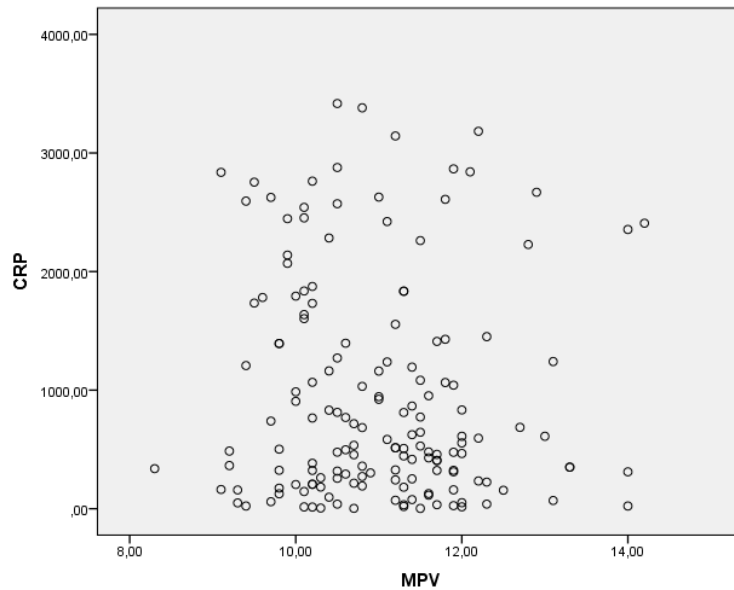
Γράφημα 4. Γράφημα διασποράς MPV και Δείκτη ενεργότητας COVID-19 κατά Bennouar et al..

EY5. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων σχετίζεται με τον δείκτη λοίμωξης CRP

Πίνακας 13: Συντελεστής συσχέτισης Pearson μεταξύ MPV και δείκτη λοίμωξης CRP

		Συντελεστής Pearson r	p
MPV	Δείκτης λοίμωξης CRP	-,062	0,437

Από τον στατιστικό έλεγχο, δεν προέκυψε συσχέτιση μεταξύ του MPV και του δείκτη λοίμωξης CRP για το συγκεκριμένο δείγμα ασθενών. Στο γράφημα διασποράς (Γράφημα 5), δεν υπάρχουν ενδείξεις καμπύλης σχέσης μεταξύ των δύο μεταβλητών.



Γράφημα 5. Γράφημα διασποράς MPV και δείκτη λοίμωξης CRP.

ΕΥ6. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με το φύλο των ασθενών.

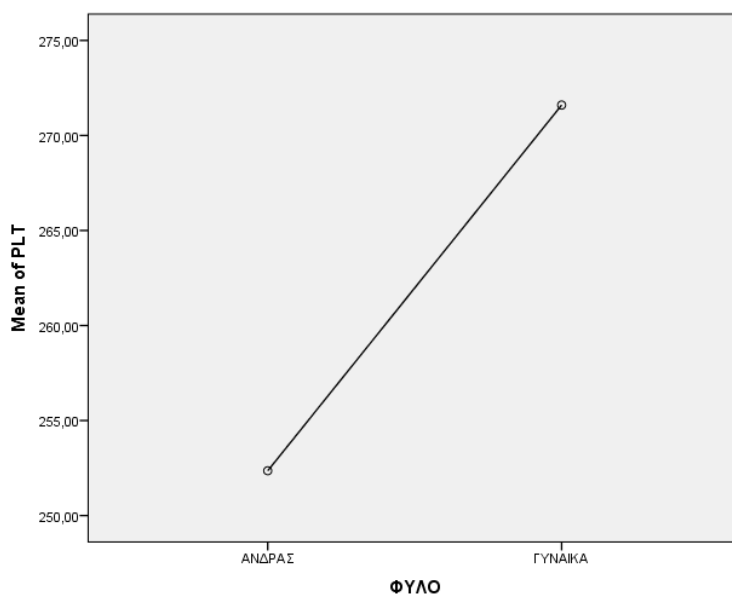
Πίνακας 14: Έλεγχος ANOVA με ανεξάρτητη μεταβλητή το φύλο των ασθενών και εξαρτημένη τον απόλυτο αριθμό αιμοπεταλίων.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13006,428	1	13006,428	,813	,368
Within Groups	3246085,494	203	15990,569		
Total	3259091,922	204			

Από τον στατιστικό έλεγχο δεν προέκυψε συσχέτιση του φύλου των ασθενών και του απόλυτου αριθμού αιμοπεταλίων. Οι γυναίκες κατά μέσο όρο είχαν 271.60 PLT, ενώ οι άνδρες μέσο όρο 252.35, διαφορά που δεν βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.368$).

Πίνακας 15: Μέσοι όροι PLT σε σχέση με το φύλο των ασθενών.

PLT – Φύλο ασθενών	N	Mean	Std. Deviation
Άντρες	160	252,3563	129,11827
Γυναίκες	45	271,6000	116,31782
Total	205	256,5805	126,39597



Γράφημα 6: Μέσοι όροι PLT σε σχέση με το φύλο των ασθενών.

ΕΥ7. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με τη φάση λήψης του δείγματος.

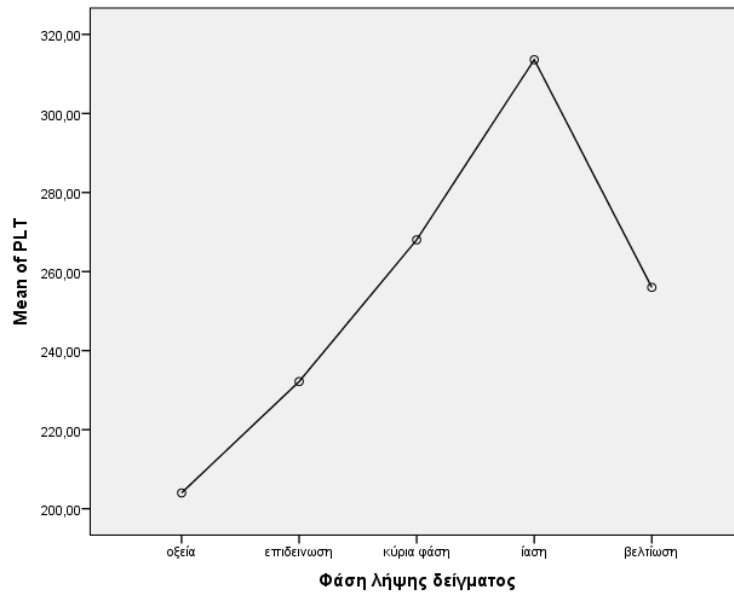
Πίνακας 16: Έλεγχος ANOVA με ανεξάρτητη μεταβλητή τη φάση λήψης του δείγματος και εξαρτημένη τον απόλυτο αριθμό αιμοπεταλίων.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	66333,474	4	16583,369	1,017	,400
Within Groups	2901313,783	178	16299,516		
Total	2967647,257	182			

Από τον στατιστικό έλεγχο δεν βρέθηκε διαφοροποίηση μεταξύ των φάσεων λήψης του δείγματος και του απόλυτου αριθμού PLT ($p=0.40$). Σύμφωνα με τον **Πίνακα 17**, δεν φαίνεται να παρουσιάζεται κάποια σαφής διαφορά μεταξύ ασθενών που βρίσκονται στην οξεία φάση ή σε επιδείνωση και των ασθενών που βελτιώνονται.

Πίνακας 17: Μέσοι όροι PLT σε σχέση με τη φάση λήψης του δείγματος.

PLT – φάση λήψης του δείγματος	N	Mean	Std. Deviation
Οξεία	4	204,0000	48,57983
Επιδείνωση	40	232,1750	131,06191
Κύρια φάση	130	268,0385	127,11348
Ιαση	5	313,6000	99,74618
Βελτίωση	4	256,0000	182,72384
Total	183	259,7814	127,69399



Γράφημα 7: Μέσοι όροι PLT σε σχέση με τη φάση λήψης του δείγματος.

EY8. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με την έκβαση της νόσου.

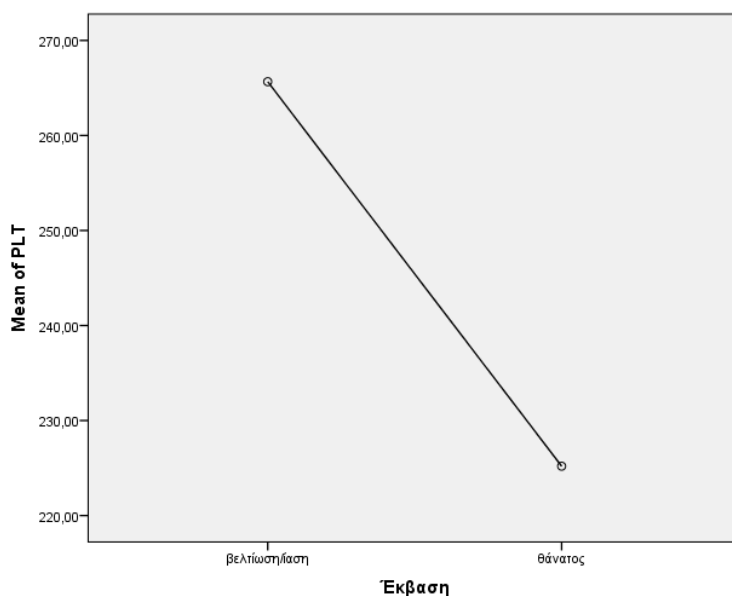
Πίνακας 18: Έλεγχος ANOVA με ανεξάρτητη μεταβλητή την έκβαση της νόσου και εξαρτημένη τον απόλυτο αριθμό αιμοπεταλίων.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	58419,022	1	58419,022	3,705	,056
Within Groups	3200672,900	203	15766,862		
Total	3259091,922	204			

Από τον στατιστικό έλεγχο δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκβασης της νόσου και του αριθμού PLT ($p=0.056$). Ωστόσο, φαίνεται μία μεταβολή στον αριθμό και συγκεκριμένα, σύμφωνα με τον Πίνακα 19, οι ασθενείς που τελικώς κατέληξαν είχαν μικρότερο αριθμό αιμοπεταλίων σε σχέση με τους ασθενείς που βελτιώθηκαν ή/και ιάθηκαν ($PLT_{\theta\acute{\alpha}\nu\alpha\tau\omicron\varsigma}=225,1957$ vs $PLT_{\acute{\iota}\alpha\sigma\eta}=265,6604$). Η διαφορά αυτή όμως, βρέθηκε μεγαλύτερη από το επίπεδο σημαντικότητας κι επομένως δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 19: Μέσοι όροι PLT σε σχέση με την έκβαση της νόσου.

PLT – την έκβαση της νόσου	N	Mean	Std. Deviation
Βελτίωση/ίαση	159	265,6604	123,01553
Θάνατος	46	225,1957	134,13817
Total	205	256,5805	126,39597



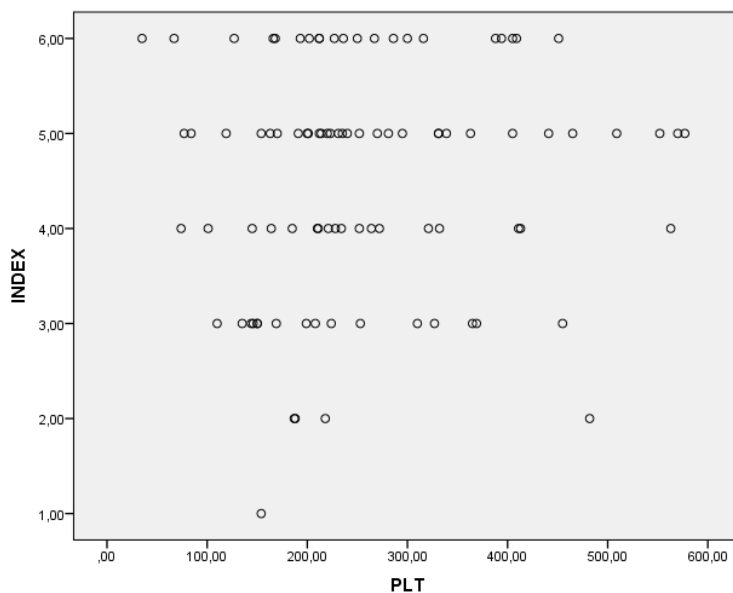
Γράφημα 8: Μέσοι όροι PLT σε σχέση με την έκβαση της νόσου.

ΕΥ9. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με τον δείκτη ενεργότητας της νόσου.

Πίνακας 20: Συντελεστής συσχέτισης Pearson μεταξύ PLT και Δείκτη ενεργότητας COVID-19 κατά Bennouar et al.

		Συντελεστής Pearson r	p
PLT	Δείκτης ενεργότητας COVID-19 κατά Bennouar et al	,089	0,400

Από τον στατιστικό έλεγχο, δεν προέκυψε συσχέτιση μεταξύ του PLT και του Δείκτη ενεργότητας νόσου για το συγκεκριμένο δείγμα ασθενών. Στο γράφημα διασποράς (Γράφημα 9), δεν υπάρχουν ενδείξεις καμπύλης σχέσης μεταξύ των δύο μεταβλητών.



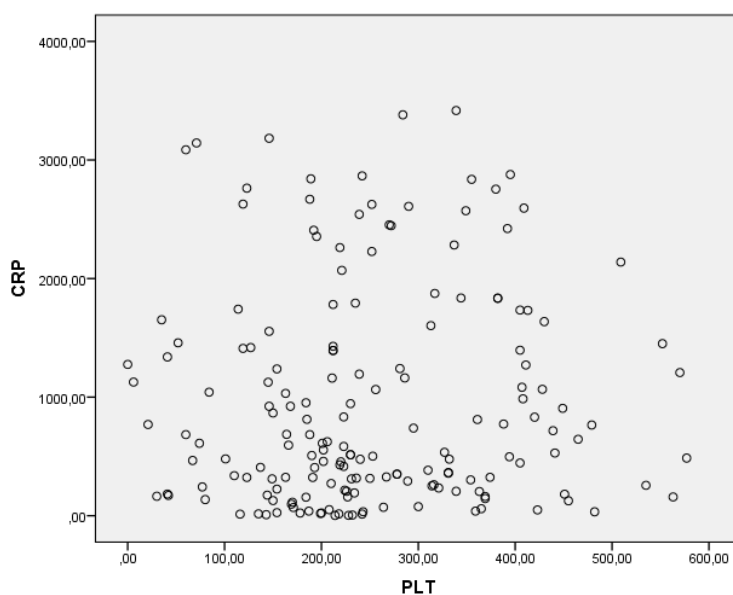
Γράφημα 9. Γράφημα διασποράς PLT και Δείκτη ενεργότητας COVID-19 κατά Bennouar et al.

EY10. Ο απόλυτος αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με τον δείκτη λοίμωξης CRP

Πίνακας 21: Συντελεστής συσχέτισης Pearson μεταξύ PLT και δείκτη λοίμωξης CRP

		Συντελεστής Pearson r	p
PLT	Δείκτης λοίμωξης CRP	,040	0,603

Από τον στατιστικό έλεγχο, δεν προέκυψε συσχέτιση μεταξύ του PLT και του δείκτη λοίμωξης CRP για το συγκεκριμένο δείγμα ασθενών. Στο γράφημα διασποράς (Γράφημα 10), δεν υπάρχουν ενδείξεις καμπύλης σχέσης μεταξύ των δύο μεταβλητών.



Γράφημα 10. Γράφημα διασποράς PLT και δείκτη λοίμωξης CRP.

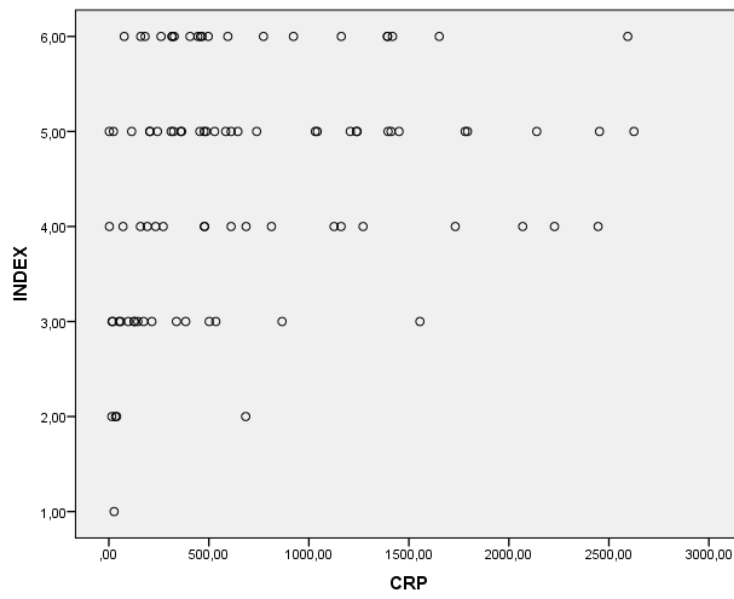
EY11. Ο Δείκτης ενεργότητας νόσου COVID-19 κατά Bennouar et al σχετίζεται με τον δείκτη λοίμωξης CRP

Πίνακας 22: Συντελεστής συσχέτισης Pearson μεταξύ δείκτη ενεργότητας νόσου COVID-19 και δείκτη λοίμωξης CRP

		Συντελεστής Pearson r	p
Δείκτης ενεργότητας νόσου COVID-19	Δείκτης λοίμωξης CRP	,257	0,014

Ο στατιστικός έλεγχος έδειξε στατιστικά σημαντική θετική σχέση μεταξύ δείκτη ενεργότητας νόσου COVID-19 και δείκτη λοίμωξης CRP ($\rho=0,257$, $Df=91$, $\mathbf{p=0,014}$). Οι ασθενείς δηλαδή, με αυξημένο δείκτη ενεργότητας, έχουν αυξημένη CRP σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο. Το εύρημα απεικονίζεται στο Γράφημα διασποράς (**Γράφημα 11**), που δείχνει τη μικρή διασπορά των σημείων, ενδεικτική υψηλής συσχέτισης.

Γράφημα 11. Γράφημα διασποράς PLT και δείκτη λοίμωξης CRP.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Συζήτηση

Το αιμοπετάλιο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου COVID-19.⁴⁷ Η θρόμβωση αποδεδειγμένα θεωρήθηκε ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου στη λοίμωξη. Ο παρατηρούμενος υπερβολικός σχηματισμός θρόμβων οφείλεται στην υπερενεργοποίηση των αιμοπεταλίων που προκαλείται από τη μόλυνση. Διάφοροι παράγοντες έχουν προταθεί για την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων στον COVID-19, όπως η υποξία, η βλάβη των αγγείων, οι φλεγμονώδεις παράγοντες, η NETosis, η αλληλεπίδραση SARS-CoV-2, οι αυτοάνοσες αντιδράσεις και η αυτοκρινή ενεργοποίηση.⁴⁷⁻⁴⁹

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν τη διαφοροποίηση μεταξύ των φάσεων λήψης του δείγματος και του MPV ($p < 0.001$). Συγκεκριμένα, ο δείκτης φαίνεται πιο αυξημένος κατά την επιδείνωση (MPV=11,6636fl) και μειώνεται σημαντικά κατά την βελτίωση του ασθενούς (MPV=10,2333fl). Τα αποτελέσματά της μελέτης αυτής επιβεβαιώνονται από τη διεθνή βιβλιογραφία. Οι Shankaralingappa και συν., διαπίστωσαν ότι ο αριθμός του MPV, μεταβάλλεται σημαντικά στη μόλυνση από COVID-19 και ως εκ τούτου, οι συγγραφείς επισημάνουν ότι ο δείκτης αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως βιοδείκτης στον COVID-19. (PMID: 35382491).⁵⁰ Επιπλέον οι Quispe-Parí και συν., επιδεικνύουν ότι ο προσδιορισμός του MPV την πρώτη εβδομάδα της νόσου μπορεί να προβλέψει τη σοβαρότητα σε ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με COVID-19.⁵¹ Παράλληλα, η μελέτη των Güçlü και συν, αναφέρει ότι ο κορεσμός οξυγόνου κατά την εισαγωγή και η διαφορά MPV μεταξύ της πρώτης και τρίτης ημέρας νοσηλείας ήταν σημαντικές παράμετροι σε ασθενείς με COVID-19 για την πρόβλεψη της θνησιμότητας.⁵² Επίσης, ο λόγος μέσου όγκου αιμοπεταλίων/αριθμού αιμοπεταλίων (mean volume/platelet count ratio - MPR) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για σοβαρή πνευμονία σε ασθενείς με COVID-19.⁵³

Παρόλου που από τον στατιστικό έλεγχο δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκβασης της νόσου και του αριθμού PLT ($p=0.056$), φαίνεται μία μεταβολή στον αριθμό και συγκεκριμένα, οι ασθενείς που τελικώς κατέληξαν είχαν μικρότερο αριθμό αιμοπεταλίων σε σχέση με τους ασθενείς που βελτιώθηκαν ή/και ιάνθηκαν. Η διαφορά αυτή όμως, βρέθηκε μεγαλύτερη από το επίπεδο σημαντικότητας κι επομένως δεν είναι στατιστικά σημαντική. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν δείξει και οι άλλες

μελέτες. Αρκετές μελέτες έχουν εντοπίσει μια σχέση μεταξύ των ασθενών με σοβαρή μορφή της νόσου COVID-19 και του συστήματος πήξης, ειδικότερα του υψηλού επιπέδου D-διμερούς, του παρατεταμένου χρόνου προθρομβίνης και του χαμηλού αριθμού PLT.⁵⁴ Βάσει αυτά, προτείνεται μια σύνδεση μεταξύ της θρομβοπενίας και της σοβαρότητας ή της θνησιμότητας του COVID-19.⁵⁵ Παράλληλα, η μελέτη των Boccattonda και συν, δείχνει ότι σε ασθενείς με COVID-19, ο αριθμός αιμοπεταλίων συσχετίστηκε με τα επίπεδα aO₂, με τις τιμές PaO₂, με τις τιμές PCO₂ και με τις τιμές pH.⁵⁶ Οι Yang και συν, περιγράφουν μια συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των αιμοπεταλίων και της ενδονοσοκομειακής θνησιμότητας βρέθηκε στους ασθενείς με COVID-19.⁵⁷ Ο βέλτιστος αριθμός αιμοπεταλίων που σχετίζεται με τον χαμηλότερο κίνδυνο ενδονοσοκομειακής θνησιμότητας βάσει μελέτης αυτής ήταν $370 \times 10^9/L$.

Κυριότερος περιορισμός της μελέτης αυτής θα μπορούσε να αναφερθεί ο μικρός αριθμός του πληθυσμού της μελέτης σε σχέση με τον επιπολασμό της λοίμωξης στην ελληνική επικράτεια. Επιπλέον, ως σημαντικός περιορισμός της παρούσας μελέτης θα μπορούσε να αναφερθεί η αδυναμία παρακολούθησης ασθενών. Παράλληλα, η οριακή στατιστική σημαντικότητα ως προς τον αριθμό των αιμοπεταλίων που έχει παρατηρηθεί δεν επιτρέπει να εξάγουμε σίγουρα συμπεράσματα σχετικά με το ρόλο της παραμέτρου αυτής με τη κλινική πορεία των ασθενών.

Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται προκειμένου να αποσαφηνιστεί ο ρόλος των αιμοπεταλίων και MPV στη λοίμωξη SARS CoV2. Χρήσιμη θα ήταν η μελέτη των αιμοπεταλίων και MPV σε σχέση με τις νέες παραλλαγές του ιού SARS CoV2.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, όλες οι δράσεις του αιμοπεταλίου στην παθοφυσιολογία λοιμωδών νοσημάτων δεν έχουν πλήρες κατανοηθεί. Οι πολυάριθμες μελέτες δείχνουν αρκετές φορές αντιφατικά αποτελέσματα για το ρόλο του αριθμού αιμοπεταλίων καθώς και των διαφόρων δεικτών ενεργοποίησης των κυττάρων αυτών στη ιογενή λοίμωξη.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι το αιμοπετάλιο ενεργοποιείται κατά τη διάρκεια της SARS CoV2 λοίμωξης, το γεγονός που επιβεβαιώνεται από την αύξηση του MPV. Η μεταβολή του αριθμού των αιμοπεταλίων στη COVID-19 μπορεί να οφείλεται στην αυξημένη κατανάλωσης των κυττάρων καθώς και στην καταστολή ενεργοποίησης των μεγακαριοκυττάρων. Η θρομβοπενία και η αύξηση του MPV σε συνδυασμό με την ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξεως είναι ο «ακρογωνιαίος λίθος» στην εμφάνιση θρομβωτικών επεισοδίων στη COVID-19.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. de Wit, E., van Doremalen, N., Falzarano, D. & Munster, V. J. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* **14**, 523–534 (2016).
2. Chen, N. *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* **395**, 507–513 (2020).
3. Zhu, N. *et al.* A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* **382**, 727–733 (2020).
4. International Health Regulations Emergency Committee on novel coronavirus in China. <https://www.who.int/news-room/events/detail/2020/01/30/default-calendar/international-health-regulations-emergency-committee-on-novel-coronavirus-in-china>.
5. Zhang, T., Wu, Q. & Zhang, Z. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Curr Biol* **30**, 1346-1351.e2 (2020).
6. Sawicki, S. G., Sawicki, D. L. & Siddell, S. G. A contemporary view of coronavirus transcription. *J Virol* **81**, 20–29 (2007).
7. Duffy, S. Why are RNA virus mutation rates so damn high? *PLoS Biol* **16**, e3000003 (2018).
8. Tang, X. *et al.* On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review* **7**, 1012–1023 (2020).
9. Li, Q. *et al.* Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *N Engl J Med* **382**, 1199–1207 (2020).
10. Wang, D. *et al.* Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* **323**, 1061–1069 (2020).
11. Bialek, S., Boundy, E., Bowen, V. & COVID, C. and R. Team. Severe Outcomes Among Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) - United States, February 12-March 16, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **69**, 343–346 (2020).

12. Brosnahan, S. B., Jonkman, A. H., Kugler, M. C., Munger, J. S. & Kaufman, D. A. COVID-19 and Respiratory System Disorders: Current Knowledge, Future Clinical and Translational Research Questions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **40**, 2586–2597 (2020).
13. Durai, P., Batool, M., Shah, M. & Choi, S. Middle East respiratory syndrome coronavirus: transmission, virology and therapeutic targeting to aid in outbreak control. *Exp Mol Med* **47**, e181–e181 (2015).
14. Cai, J. *et al.* Indirect Virus Transmission in Cluster of COVID-19 Cases, Wenzhou, China, 2020. *Emerg Infect Dis* **26**, 1343–1345 (2020).
15. Corman, V. M. *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* **25**, 2000045 (2020).
16. COVID-19 vaccine tracker and landscape.
<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>.
17. Yap, C. *et al.* Comprehensive literature review on COVID-19 vaccines and role of SARS-CoV-2 variants in the pandemic. *Ther Adv Vaccines Immunother* **9**, 25151355211059790 (2021).
18. Konstantinidis, T. G. *et al.* Levels of Produced Antibodies after Vaccination with mRNA Vaccine; Effect of Previous Infection with SARS-CoV-2. *J Clin Med* **10**, 2842 (2021).
19. Basu, D. & Kulkarni, R. Overview of blood components and their preparation. *Indian J Anaesth* **58**, 529–537 (2014).
20. Alkire, K. & Collingwood, J. Physiology of blood and bone marrow. *Semin Oncol Nurs* **6**, 99–108 (1990).
21. Pietruszka, M. A. Dynamic entropy of human blood. *Sci Rep* **11**, 7587 (2021).
22. Hand, H. Blood and the classification of anaemia. *Nurs Stand* **15**, 45–53; quiz 54–55 (2001).
23. Kim, B., Choi, Y. J., Seo, H., Shin, E.-C. & Choi, S. Deterministic Migration-Based Separation of White Blood Cells. *Small* **12**, 5159–5168 (2016).

24. Hoffman, W., Lakkis, F. G. & Chalasani, G. B Cells, Antibodies, and More. *Clin J Am Soc Nephrol* **11**, 137–154 (2016).
25. Iliadi, V. *et al.* The Emerging Role of Neutrophils in the Pathogenesis of Thrombosis in COVID-19. *Int J Mol Sci* **22**, 5368 (2021).
26. Mayadas, T. N., Cullere, X. & Lowell, C. A. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol* **9**, 181–218 (2014).
27. Cromheecke, J. L., Nguyen, K. T. & Huston, D. P. Emerging role of human basophil biology in health and disease. *Curr Allergy Asthma Rep* **14**, 408 (2014).
28. Holinstat, M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev* **36**, 195–198 (2017).
29. Lefrançais, E. *et al.* The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. *Nature* **544**, 105–109 (2017).
30. Thon, J. N. & Italiano, J. E. Does size matter in platelet production? *Blood* **120**, 1552–1561 (2012).
31. Ye, T., Shi, H., Phan-Thien, N. & Lim, C. T. The key events of thrombus formation: platelet adhesion and aggregation. *Biomech Model Mechanobiol* **19**, 943–955 (2020).
32. Welsh, J. D. *et al.* A systems approach to hemostasis: 1. The interdependence of thrombus architecture and agonist movements in the gaps between platelets. *Blood* **124**, 1808–1815 (2014).
33. Yeung, J., Hawley, M. & Holinstat, M. The expansive role of oxylipins on platelet biology. *J Mol Med (Berl)* **95**, 575–588 (2017).
34. Portier, I. & Campbell, R. A. Role of Platelets in Detection and Regulation of Infection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **41**, 70–78 (2021).
35. Guo, L. & Rondina, M. T. The Era of Thromboinflammation: Platelets Are Dynamic Sensors and Effector Cells During Infectious Diseases. *Front Immunol* **10**, 2204 (2019).
36. Hamzeh-Cognasse, H. *et al.* Platelet toll-like receptors are crucial sensors of infectious danger moieties. *Platelets* **29**, 533–540 (2018).
37. Rondina, M. T. *et al.* The septic milieu triggers expression of spliced tissue factor mRNA in human platelets. *J Thromb Haemost* **9**, 748–758 (2011).

38. Carestia, A. *et al.* Functional responses and molecular mechanisms involved in histone-mediated platelet activation. *Thromb Haemost* **110**, 1035–1045 (2013).
39. Sung, P.-S., Huang, T.-F. & Hsieh, S.-L. Extracellular vesicles from CLEC2-activated platelets enhance dengue virus-induced lethality via CLEC5A/TLR2. *Nat Commun* **10**, 2402 (2019).
40. Qiao, J., Al-Tamimi, M., Baker, R. I., Andrews, R. K. & Gardiner, E. E. The platelet Fc receptor, FcγRIIa. *Immunol Rev* **268**, 241–252 (2015).
41. Hu, H. *et al.* GPVI and GPIba mediate staphylococcal superantigen-like protein 5 (SSL5) induced platelet activation and direct toward glycans as potential inhibitors. *PLoS One* **6**, e19190 (2011).
42. Lawrence, N. *et al.* Defense Peptides Engineered from Human Platelet Factor 4 Kill Plasmodium by Selective Membrane Disruption. *Cell Chem Biol* **25**, 1140-1150.e5 (2018).
43. Barrett, T. J. *et al.* Platelets contribute to disease severity in COVID-19. *J Thromb Haemost* **19**, 3139–3153 (2021).
44. Jiang, S.-Q., Huang, Q.-F., Xie, W.-M., Lv, C. & Quan, X.-Q. The association between severe COVID-19 and low platelet count: evidence from 31 observational studies involving 7613 participants. *Br J Haematol* **190**, e29–e33 (2020).
45. Jung, H., Jeon, H.-K., Kim, H.-J. & Kim, S.-H. Immature platelet fraction: establishment of a reference interval and diagnostic measure for thrombocytopenia. *Korean J Lab Med* **30**, 451–459 (2010).
46. Bennouar, S. *et al.* Usefulness of biological markers in the early prediction of corona virus disease-2019 severity. *Scand J Clin Lab Invest* **80**, 611–618 (2020).
47. Rohlfing, A.-K., Rath, D., Geisler, T. & Gawaz, M. Platelets and COVID-19. *Hamostaseologie* **41**, 379–385 (2021).
48. Amgalan, A. & Othman, M. Hemostatic laboratory derangements in COVID-19 with a focus on platelet count. *Platelets* **31**, 740–745 (2020).

49. Skendros, P. *et al.* Complement and tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis. *J Clin Invest* **130**, 6151–6157 (2020).
50. Shankaralingappa, A., Tummididi, S. & Arun Babu, T. Diagnostic value of platelet indices in COVID 19 infection: a case-control study from a single tertiary care center. *Egypt J Intern Med* **34**, 35 (2022).
51. Quispe-Pari, J. F. *et al.* Mean Platelet Volume as a Predictor of COVID-19 Severity: A Prospective Cohort Study in the Highlands of Peru. *Diseases* **10**, 22 (2022).
52. Güçlü, E. *et al.* Effect of COVID-19 on platelet count and its indices. *Rev Assoc Med Bras (1992)* **66**, 1122–1127 (2020).
53. Zhong, Q. & Peng, J. Mean platelet volume/platelet count ratio predicts severe pneumonia of COVID-19. *J Clin Lab Anal* **35**, e23607 (2021).
54. Salamanna, F., Maglio, M., Landini, M. P. & Fini, M. Platelet functions and activities as potential hematologic parameters related to Coronavirus Disease 2019 (Covid-19). *Platelets* **31**, 627–632 (2020).
55. Smęda, M., Hosseinzadeh Maleki, E., Pelesz, A. & Chłopicki, S. Platelets in COVID-19 disease: friend, foe, or both? *Pharmacol Rep* **74**, 1182–1197 (2022).
56. Boccatonda, A. *et al.* Platelet Count in Patients with SARS-CoV-2 Infection: A Prognostic Factor in COVID-19. *J Clin Med* **11**, 4112 (2022).
57. Yang, Q., Gao, J., Zeng, X., Chen, J. & Wen, D. Relationship Between Platelet Count and In-hospital Mortality in Adult Patients With COVID-19: A Retrospective Cohort Study. *Frontiers in Medicine* **9**, (2022).