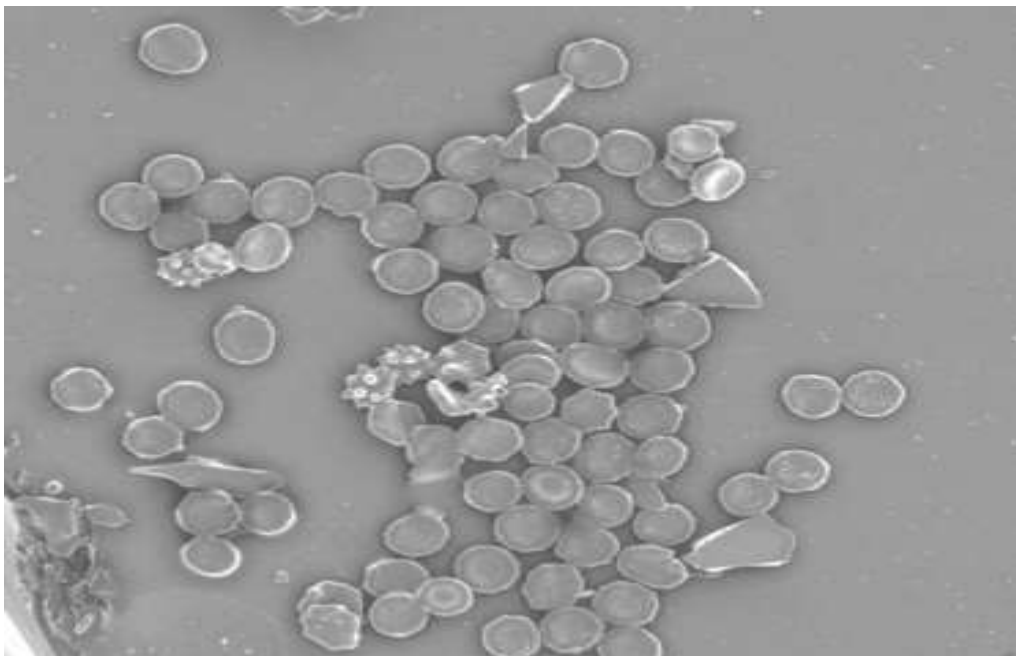




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
Τομέας Ιατρικών Εργαστηρίων

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Χημειοθεραπεία και διαταραχές της αιμόστασης



ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΩΝ (ΑΜ)

Κόνδη Αγγελική Αικατερίνη (62116040)
Τσαβαλά Παναγιώτα (62116042)

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΑ

Γεωργατζάκου Χαρά, Ακαδημαϊκή Υπότροφος Πα.Δ.Α

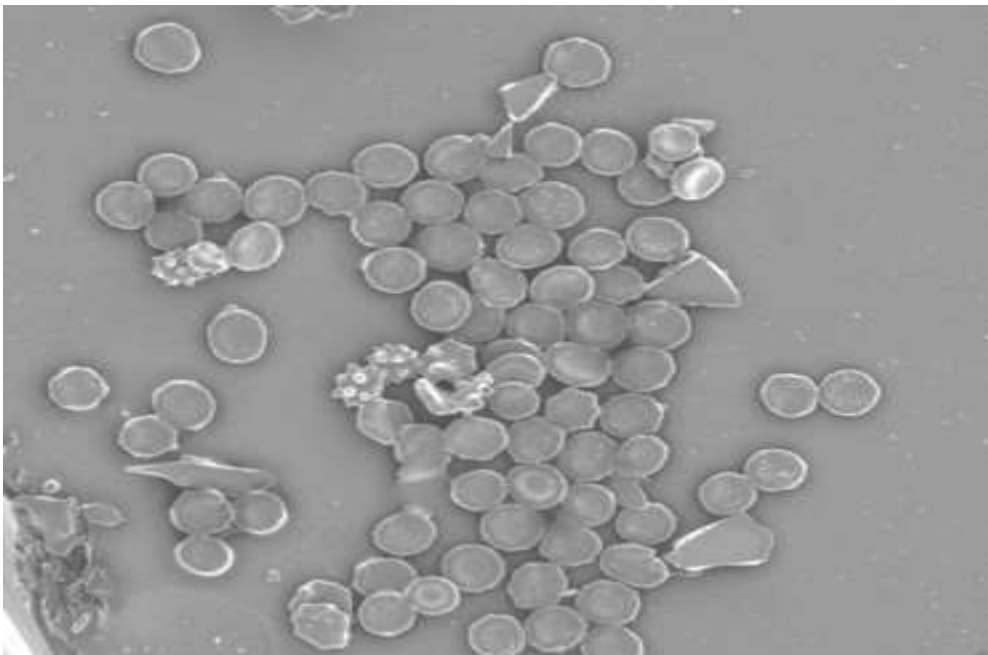
Αιγάλεω 2021



UNIVERSITY OF WEST ATTICA
Faculty of Health and Care Sciences
Department of Biomedical Sciences
Division of Medical Laboratories

DISSERTATION

Chemotherapy and haemostasis disorders



NAME OF STUDENTS (CN)

Kondi Aggeliki Aikaterini (62116040)
Tsavala Panagiwta (62116042)

NAME OF SUPERVISOR

Gewrgatzakou Hara, Academic Fellow

Aigaleo 2021

Πηγή εικόνας εξωφύλλου: Craig EK, Yazer MH, Waters JH. Red blood cell salvage analysis from clotted blood. *Blood Transfus.* 2019 Mar;17(2):146-150.

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένες Κόνδη Αγγελική Αικατερίνη του Νικολάου, με αριθμό μητρώου 62116040 και Τσαβαλά Παναγιώτα του Κωνσταντίνου, με αριθμό μητρώου 62116042 φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Βιοϊατρικών Επιστημών του Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

Οι Δηλούσες,

Κόνδη Αγγελική Αικατερίνη



Τσαβαλά Παναγιώτα



Ευχαριστίες

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά την επιβλέπουσα της παρούσας διπλωματικής εργασίας και Ακαδημαϊκή Υπότροφο του Πα.Δ.Α , κυρία Γεωργατζάκου Χαρά, η οποία όχι μόνο μας έδωσε την ευκαιρία να μελετήσουμε ένα τόσο σημαντικό θέμα, αλλά και μας βοήθησε με τον καλύτερο τρόπο για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μας εργασίας, μέχρι τελευταία στιγμή.

Οφείλουμε ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους καθηγητές μας οι οποίοι κατά τη διάρκεια των φοιτητικών μας χρόνων, είτε άμεσα ή έμμεσα, μας γέννησαν το ενδιαφέρον για την εμβάθυνση σε τέτοια θέματα καθοριστικά για την ζωή.

Τέλος, ευχαριστούμε τις οικογένειές μας, οι οποίες με υποστηρικτική διάθεση και θετική ενέργεια ήταν πάντα στο πλευρό μας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη.....	XI
Abstract.....	XIII
Εισαγωγή.....	1
Κεφάλαιο 1: Πήξη	2
1.1 Σχηματισμός θρόμβου αιμοπεταλίων.....	2
1.2 Διάδοση του καταρράκτη της πήξης	2
1.3 Μηχανισμοί ελέγχου και τερματισμός της πήξης	2
1.4 Αποβολή θρόμβου και ινωδολύση	3
Κεφάλαιο 2: Αιμοπετάλια	4
2.1 Πρόσφυση.....	5
2.2 Συσσωμάτωση.....	5
2.3 Έκκριση.....	5
2.4 Ενεργοποίηση καταρράκτη πήξης.....	6
Κεφάλαιο 3: Παράγοντες πήξης	7
3.1 Προκαλλικρεΐνη ή παράγοντας Fletcher.....	9
3.2 Υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο – ΗΜWΚ ή παράγοντας Fitzgerald.....	10
3.3 Ινωδογόνο.....	12
3.4 Παράγοντας II ή προθρομβίνη.....	14
3.5 Ιστικός παράγοντας (FIII).....	17
3.6 Ασβέστιο (Ca^{2+}).....	18
3.7 Παράγοντας V ή προαξελερίνη.....	18
3.8 Παράγοντας VII ή προκονβερίνη.....	20
3.9 Παράγοντας VIII ή αντιαιμοροφιλικός παράγοντας α.....	21
3.10 Παράγοντας IX ή αντιαιμοροφιλικός παράγοντας β.....	24
3.11 Παράγοντας X ή προθρομβινάση.....	25
3.12 Παράγοντας XI.....	26
3.13 Παράγοντας XII ή παράγοντας Hageman.....	27
3.14 Παράγοντας XIII.....	28
Κεφάλαιο 4: Ο καταρράκτης της πήξης	30
4.1 Εξωγενές μονοπάτι.....	31
4.2 Ενδογενές μονοπάτι.....	32
Κεφάλαιο 5: Αναστολείς της πήξης	34
5.1 Ηπαρίνη.....	34
5.2 Αντιθρομβίνη III.....	35
5.3 Ιρουδίνη.....	37
5.4 Αναστολέας του μονοπατιού του ιστικού παράγοντα (TFPI).....	37
5.5 Πρωτεΐνη C.....	39
5.6 Θρομβομοντουλίνη.....	40
5.7 Πρωτεΐνη S.....	42

Κεφάλαιο 6: Καρκίνος	43
6.1: Ιστορική αναδρομή.....	44
6.2: Σχέση μεταξύ φύλου και ηλικίας με τον καρκίνο.....	44
6.3: Διαταραχές αιμόστασης στον καρκίνο.....	46
6.4: Μικροκυστίδια (MVs) και ο ρόλος τους στη θρόμβωση που σχετίζεται με τον καρκίνο.....	48
Κεφάλαιο 7: Χημειοθεραπεία	50
7.1: Η χημειοθεραπεία ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για τη θρόμβωση.....	51
7.2: Παθογένεση θρόμβωσης που προκαλείται από χημειοθεραπεία.....	52
7.3: Επιπτώσεις της χημειοθεραπείας στην αιμόσταση.....	53
Κεφάλαιο 8: Ο καρκίνος του μαστού	54
8.1: Παθογένεση του καρκίνου του μαστού.....	54
8.2: Αντινεοπλασματικοί παράγοντες και καρκίνος του μαστού.....	56
Κεφάλαιο 9: Ο καρκίνος του παγκρέατος	57
9.1: Επιδημιολογία της θρόμβωσης στον καρκίνο του παγκρέατος.....	58
9.2: Ειδικοί παράγοντες μοριακού κινδύνου για τη θρόμβωση στον καρκίνο του παγκρέατος.....	59
9.3: Χημειοθεραπεία για τον καρκίνο του παγκρέατος.....	62
Κεφάλαιο 10: Ο καρκίνος των ωοθηκών	63
10.1: Παθογένεση καρκίνου των ωοθηκών.....	64
10.2: Υπερπηκτικότητα και φλεβικός θρομβοεμβολισμός στον καρκίνο των ωοθηκών.....	64
10.3: Μηχανισμοί παρανεοπλασματικής θρομβοκυττάρωσης στον καρκίνο των ωοθηκών.....	65
10.4: Θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών.....	66
Κεφάλαιο 11: Λευχαιμίες	66
11.1: Λευχαιμίες και διαταραχές της αιμόστασης.....	67
Συμπέρασμα	69
Βιβλιογραφία	69

Περίληψη

Σκοπός της ακόλουθης πτυχιακής εργασίας είναι η μελέτη της σχέσης δύο ζητημάτων ζωτικής σημασίας για τον ανθρώπινο οργανισμό, συγκεκριμένα της πήξης του αίματος και το πώς αυτή επηρεάζεται από την επίδραση της χημειοθεραπείας. Η πήξη αποτελεί μια υψηλά συντηρημένη διαδικασία η οποία προκύπτει ύστερα από τραυματισμό κάποιου αιμοφόρου αγγείου και καταλήγει στην αιμόσταση. Κατά τη διαδικασία της πήξης, το αίμα μετατρέπεται σε μια μαλακή, ημίρρευστη γέλη στην οποία παγιδεύονται κυτταρικά συστατικά του αίματος, συμπεριλαμβανομένων των ερυθρών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων με ακόλουθο αποτέλεσμα την αποτροπή εξαγγείωσης του αίματος. Τα γεγονότα της πήξης είναι απολύτως ελεγχόμενα χάρη σε όλα τα μόρια που λαμβάνουν μέρος στον λεγόμενο “καταρράκτη της πήξης” και έτσι η πορεία της διαδικασίας λειτουργεί ομαλά. Όμως, σε περιπτώσεις ασθενών οι οποίοι αντιμετωπίζουν κάποια μορφή καρκίνου, τα δεδομένα αλλάζουν. Μελέτες έχουν γνωστοποιήσει ότι ο εκάστοτε όγκος, κατά τη διάρκεια της παθογένεσης, της εξέλιξης και της μετάστασής του, εκκρίνει ουσίες οι οποίες επηρεάζουν τον καταρράκτη της πήξης καθώς και τις γενικότερες διαδικασίες που σχετίζονται με την αιμόσταση. Σημαντικό είναι και το αντίκτυπο της χημειοθεραπείας στις άνωθεν διαδικασίες, καθώς πολλά χημειοθεραπευτικά παράγωγα αντιδρούν και μεταβάλλουν τις ποσότητες των ουσιών που συμμετέχουν στην πήξη. Στην ακόλουθη εργασία, λοιπόν, αναλύεται διεξοδικά η δομή και η λειτουργία πολλαπλών πρωτεϊνών του συστήματος της πήξης και παρουσιάζονται αναλυτικά τέσσερις τύποι καρκίνου καθώς και η επίδραση αυτών στην αιμόσταση.

Abstract

The aim of the following dissertation is the assessment of two issues of vital importance for the human organism; blood clotting along with the way it is affected by chemotherapy treatment. Coagulation is a highly conserved process occurring after an injury to a blood vessel and resulting in hemostasis. More specifically, during the coagulation process, blood plasma is converted to a soft, viscous gel in which cellular components of the blood are trapped, including red blood cells and platelets, thus preventing blood extravasation. Coagulation events are completely controlled due to all the molecules that take part in the so-called "coagulation cascade", thus the course of the process works smoothly. However, in cancer patients discrepancies occur. Studies have shown that tumors, during their pathogenesis, development and metastasis, secrete substances that affect the coagulation cascade as well as the general procedures related to hemostasis. The impact of chemotherapy on the above procedures is also important, as many chemotherapeutic derivatives react and alter the amounts of substances involved in coagulation. The present dissertation, therefore, presents the structure and function of multiple proteins of the coagulation system in detail, along with the effects of four types of cancers on coagulation process and hemostasis.

Εισαγωγή

Το αίμα αποτελεί ένα υγρό το οποίο κυκλοφορεί υπό πίεση μέσω του αγγειακού συστήματος. Κατά τον τραυματισμό ενός αγγείου, είναι απαραίτητο να αποφευχθεί η εξαγγείωση αίματος, κάτι το οποίο επιτυγχάνεται μέσω της μετατροπής αυτού σε πήκτωμα (θρόμβος), με σκοπό την κάλυψη της οπής και της απώλειας περαιτέρω αίματος. Το πλάσμα του αίματος, περιλαμβάνει μια πληθώρα από διαλυτές πρωτεΐνες οι οποίες δρουν μαζί σε έναν καταρράκτη ενεργοποίησης ενζύμων, με βασικό σκοπό τον σχηματισμό θρόμβου ινώδους [1]. Η αιμόσταση [2-4] είναι μια διαδικασία κατά την οποία τα αιμοφόρα αγγεία σφραγίζονται μέσω μιας ελεγχόμενης φυσιολογικής διαδικασίας και έτσι αποτρέπεται η επικίνδυνη εξαγγείωση του αίματος. Κάτι τέτοιο πραγματοποιείται συνήθως στην επαφή των αιμοφόρων αγγείων και του εξωαγγειακού ιστού. Δύο είναι τα κύρια συστατικά που λαμβάνουν μέρος στην αιμόσταση: οι παράγοντες πήξης και τα αιμοπετάλια. Όσον αφορά τον καρκίνο, θεωρείται μια αινιγματική και τρομακτική ασθένεια ή σύνολο ασθενειών. Τύποι καρκίνων έχουν πλήξει πολυκύτταρους ζωντανούς οργανισμούς για περισσότερα από 200 εκατομμύρια χρόνια και υπάρχουν ενδείξεις καρκίνου ανάμεσα σε προγόνους των σύγχρονων ανθρώπων πριν από 1.000.000 χρόνια. Σε αντίθεση με τις μολυσματικές ασθένειες, τα παράσιτα και πολλές περιβαλλοντικές ασθένειες, ο καρκίνος δεν προκαλείται κατά κύριο λόγο από κάποια οντότητα που είναι ξένη για τον οργανισμό μας. Οι παράγοντες καταστροφής που διαθέτει είναι επί της ουσίας τα ανθρώπινα κύτταρα τα οποία έχουν ξεφύγει από την πορεία τους, έχουν στρατολογηθεί, και σε κάποιο βαθμό έχουν μετατραπεί είτε σε παθολογικούς οργανισμούς ή σε δομικά στοιχεία των όγκων [5]. Πιο συγκεκριμένα, ο καρκίνος είναι μια ετερογενής ασθένεια και οι διαφορετικοί τύποι αυτού καθώς και τα στάδια, πρέπει να λαμβάνονται υπ'όψιν όταν γίνεται προσδιορισμός του κινδύνου εμφάνισης φλεβικής θρόμβωσης. Επιπλέον, αρκετοί παράγοντες που σχετίζονται με τους ασθενείς ή και την θεραπεία, είναι γνωστό ότι αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης θρόμβωσης [6]. Λαμβάνοντας υπ'όψιν τις αναμενόμενες αυξήσεις στη συχνότητα εμφάνισης καθώς και στον επιπολάσμο του καρκίνου, είναι πιθανό οι ιατροί να αντιμετωπίσουν ασθενείς οι οποίοι είναι υπό την λήψη χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Τα τελευταία χαρακτηρίζονται από τεράστιο εύρος και δυστυχώς, οι δυσμενείς επιπτώσεις που προκαλούν είναι αρκετά συχνές. Δεδομένου της πολυπλοκότητας της νόσου του καρκίνου, οι πλειονότητα των ασθενών λαμβάνουν σχήματα πολλαπλών φαρμάκων. Ωστόσο, το να γίνει διάκριση της παθολογίας που οφείλεται στην ασθένεια από τις ανεπιθύμητες επιπτώσεις που προξενεί η χημειοθεραπεία, παραμένει αρκετά δύσκολο. Η διακοπή της έκθεσης στο φάρμακο είναι συχνά απαραίτητη για τη διαχείριση της σοβαρής επικείμενης τοξικότητας [7]. Προκύπτει, λοιπόν, ότι οι παρενέργειες της χημειοθεραπείας εξαρτώνται κατά κύριο λόγο από τους τύπους φαρμάκων, τις δόσεις τους και τη διάρκεια της θεραπείας [8].

Κεφάλαιο 1 : Πήξη

Η διαδικασία της αιμόστασης χαρακτηρίζεται ως πολύπλοκη και δυναμική. Χωρίζεται στις εξής τέσσερις φάσεις: την έναρξη και το σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου, τη διάδοση του καταρράκτη της πήξης, την ολοκλήρωση της διαδικασίας μέσω αντιθρομβωτικών μηχανισμών ελέγχου και τέλος την απομάκρυνση του θρόμβου μέσω ινωδόλυσης (Εικόνα 1) [9].

1.1 Σχηματισμός θρόμβου αιμοπεταλίων

Η επένδυση των αιμοφόρων αγγείων του κυκλοφορικού μας συστήματος αποτελείται από ένα μόνο στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα τελευταία, στη φυσιολογική τους κατάσταση παράγουν αντιπηκτικές ουσίες οι οποίες εμποδίζουν τα αιμοπετάλια να προσκολληθούν στα τοιχώματα των αγγείων, με την παραγωγή νιτρικού οξειδίου και προστακυκλίνης, που συμβάλλουν στη διατήρηση του αίματος σε ρευστή μορφή. Στην περίπτωση που προκύψει τραυματισμός ενός αγγείου, η λειτουργία των παραπάνω διαταράσσεται και τα κύτταρα υφίστανται αλλαγές οι οποίες είτε μετατρέπουν μια αντιπηκτική κατάσταση σε προπηκτική, ή αναγκάζουν τα κύτταρα να απομακρυνθούν με αποτέλεσμα να εκτεθεί το τοίχωμα του αγγείου. Κάτι τέτοιο οδηγεί στην εξαγγείωση του αίματος και τελικά στην επαφή του με τα θρομβογόνα στοιχεία του υποενδοθηλιακού αγγείου, όπως είναι μικροϊνίδια, βλεννοπολυσακχαρίτες, λαμινίνες, ινονεκτίνη, vWF, θρομβοσπονδίνη και κολλαγόνο. Η επαφή με τέτοιου είδους στοιχεία προκαλεί την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων τα οποία με τη σειρά τους εκκρίνουν ή απορρίπτουν το περιεχόμενο των κοκκίων τους, συμπεριλαμβανομένων επιπρόσθετων ενεργοποιητών αιμοπεταλίων [9].

1.2 Διάδοση του καταρράκτη της πήξης

Το πλάσμα του αίματος των θηλαστικών αποτελείται από έναν καταρράκτη ενεργοποίησης ενζύμων, στον οποίο οι πρωτεάσες σερίνης ενεργοποιούν τις πρωτεΐνες (δηλαδή τα προένζυμα και τους προπαράγοντες) στο ακόλουθο βήμα του καταρράκτη μέσω ελεγχόμενης πρωτεόλυσης. Το αποτέλεσμα στο οποίο καταλήγει είναι ο πολυμερισμός του ινώδους και η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων που αποσκοπεί στο σχηματισμό του θρόμβου [1].

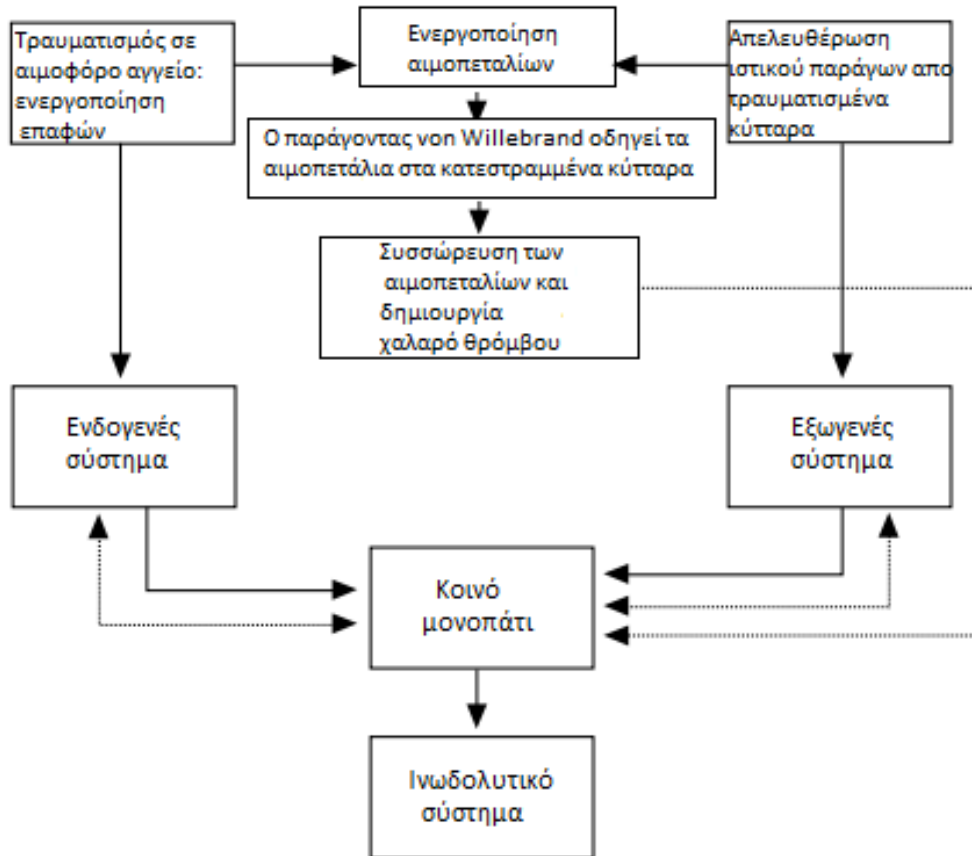
1.3 Μηχανισμοί ελέγχου και τερματισμός της πήξης

Με την έναρξη της διαδικασίας της πήξης, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ του καταρράκτη και των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, οδηγούν, όπως έχει αναφερθεί, στην παραγωγή θρόμβου ο οποίος είναι ιδανικά εντοπισμένος και

σχηματίζεται εξαιρετικά γρήγορα [9]. Για το λόγο αυτό, είναι υψίστης σημασίας να τεθεί υπό έλεγχο μια τέτοια διαδικασία, προκειμένου να αποφευχθούν τυχόν αγγειακές φλεγμονές, θρομβώσεις ή ιστικές βλάβες. Η αραίωση των προπηκτικών παραγόντων στο κυκλοφορούν αίμα, η απομάκρυνση του ενεργοποιημένου παράγοντα μέσω του συστήματος ενδορρυθμισμού και ο έλεγχος των ενεργοποιημένων προπηκτικών και αιμοπεταλίων από φυσικά αντιθρομβωτικά μονοπάτια, είναι παραδείγματα για το πώς συμβαίνει αυτό [10,11]. Κατά τη φάση τερματισμού της αιμόστασης, συμμετέχουν δύο αναστολείς κυκλοφορούντων ενζύμων, η αντιθρομβίνη και ο TFPI, ενώ λαμβάνει χώρα και μια ανασταλτική διαδικασία που προκύπτει μέσω της οδού της πρωτεΐνης C. Το οξείδιο του αζώτου, η προστακυκλίνη και TXA₂, είναι επίσης ικανά να ρυθμίσουν την αντιδραστικότητα των αγγείων και των αιμοπεταλίων, και όλα συμβάλλουν στον περιορισμό της δημιουργίας θρόμβου.

1.4 Αποβολή θρόμβου και ινωδόλυση

Μετά την ολοκλήρωση της αιμόστασης και της επούλωσης του τραυματισμού, η ύπαρξη ενός μηχανισμού λύσης του θρόμβου (βλ. παρακάτω Εικόνα 24) είναι ζωτικής σημασίας ώστε να αποφευχθεί η υπερβολική πήξη ή η πλήρης θρόμβωση ενός αγγείου. Αυτό επιτυγχάνεται από το πρωτεολυτικό ένζυμο πλασμίνη σε συνδυασμό με την επούλωση της πληγής και της αναδιαμόρφωσης του ιστού. Το πλασμινογόνο, το οποίο είναι το πρόδρομο μόριο, δεσμεύει το ινώδες και τον ενεργοποιητή ιστικού πλασμινογόνου (tPA) και μετατρέπεται σε δραστική πρωτεολυτική πλασμίνη. Η πλασμίνη μπορεί να διασπάσει τους πολυμερισμένους κλώνους του ινώδους, απελευθερώνοντας προϊόντα αποδόμησης ινώδους (d-dimers): μπορεί να διασπάσει το ινωδογόνο και μια ποικιλία πρωτεϊνών πλάσματος και παραγόντων πήξης. Αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα ρυθμίζουν την δραστηριότητα της πλασμίνης μέσω έκκρισης ενεργοποιητών πλασμινογόνου πρωτεασών σερίνης (ενεργοποιητής πλασμινογόνου τύπου tPA και ουροκινάσης) και αναστολέων 1 και 2 ενεργοποιητών πλασμινογόνου (PAI-1 και PAI-2). Ενδοθηλιακά κύτταρα και αιμοπετάλια συνθέτουν το PAI-1 και ρυθμίζουν την έκκρισή του κατά την ινωδόλυση, ενώ τα λευκά αιμοσφαίρια κι ο πλακούντας συνθέτουν το PAI-2. Ο PAI-2 είναι λιγότερο ισχυρός αναστολέας του πλασμινογόνου και η βιολογική του σημασία παραμένει ασαφής [9, 12-14].



Εικόνα 1. Ο καταρράκτης της πήξης: επισκόπηση (Ανατύπωση από 9).

Κεφάλαιο 2: Αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια είναι προκύπτοντα θραύσματα εμπύρηνων κυττάρων προερχόμενα από τα μεγακαρυοκύτταρα, και η μορφή τους είναι δισκοειδής με διάμετρο που κυμαίνεται από 1 έως 4 nm. Τα τελευταία εντοπίζονται στο μυελό των οστών και δημιουργούν προεκβολές που διαπερνούν τα αιμοφόρα αγγεία από όπου απελευθερώνονται τα προαιμοπετάλια [15-17]. Η μεμβράνη των αιμοπεταλίων διαθέτει πληθώρα υποδοχέων επάνω της, όπως είναι GPIbV-IX, GPVI, 5HT_{2A}, TP, α_{2A}, ενεργοποιημένοι με πρωτεάση υποδοχείς (PARs), P2Y₁, P2Y₁₂ και ιντεγκρίνες, μεταξύ άλλων[17,18].

Οι ανωτέρω είναι ζωτικής σημασίας για τη διαδικασία της αιμόστασης [16,17,18]. Οι ιντεγκρίνες είναι ετεροδιμερείς διαμεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες και ο σχηματισμός τους προκύπτει από δύο υπομονάδες α και β συνδεδεμένες με

ομοιοπολικούς δεσμούς. Υπάρχουν πέντε τύποι υπομονάδων α (α_2 , α_{11b} , α_V , α_5 , α_6) και δύο τύποι υπομονάδας β (β_1 και β_3) που περιλαμβάνουν αιμοπετάλια και ιντεγκρίνες: $\alpha_{11b}\beta_3$ (υποδοχέας ινωδογόνου), $\alpha_V\beta_3$ (υποδοχέας βιτρονεκτίνης), $\alpha_2\beta_1$ (υποδοχέας κολλαγόνου), $\alpha_5\beta_1$ (υποδοχέας ινονεκτίνης) και $\alpha_6\beta_1$ (υποδοχέας λαμινίνης) [18,19]. Οι δύο σημαντικότεροι υποδοχείς κολλαγόνου είναι η γλυκοπρωτεΐνη ιντεγκρίνης (GP) Ia / IIa (επίσης γνωστή ως $\alpha_2\beta_1$) και GP VI [9]. Η θρομβίνη ενεργοποιείται μέσω υποδοχέων GP-GP ενεργοποιημένων με πρωτεάση πάνω στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων. Με την ενεργοποίησή τους, οι υποδοχείς υφίστανται τόσο διαμορφωτικές (μεταβολή στο σχήμα) όσο και εκφραστικές (αλλάζοντας είτε την ποσότητα ή τον τύπο των υποδοχέων στην κυτταρική επιφάνεια) αλλαγές, με αποτέλεσμα τη λειτουργική απόκριση που εμφανίζεται σε τέσσερις φάσεις: πρόσφυση, συσσωμάτωση, έκκριση και ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης [20,21].

2.1 Πρόσφυση

Πρόσφυση ονομάζεται η εναπόθεση αιμοπεταλίων στην εκτεθειμένη υποενδοθηλιακή μήτρα. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, μεταβάλλουν το σχήμα τους, αναπτύσσοντας επιμήκη ψευδοπόδια, κάτι το οποίο τα καθιστά εξαιρετικά «κολλώδη». Η συγκολλητικότητα αυτή προκαλείται κυρίως από τη δέσμευση του συμπλόκου του υποδοχέα κυτταρικής επιφάνειας GPIb, του παράγοντα IX και του παράγοντα V (GPIb / IX / V) με τον vWF, ο οποίος βρίσκεται στην υποενδοθηλιακή μήτρα. Σκοπός του vWF είναι να ενεργεί ως άγκυρα ώστε να ασφαλίσει τον συγκεκριμένο υποδοχέα στην επιφάνεια του αιμοπεταλίου από έκθεσή του στα ινίδια κολλαγόνου [9, 22, 23].

2.2 Συσσωμάτωση

Η συσσωμάτωση είναι επί της ουσίας η συσσώρευση των αιμοπεταλίων μεταξύ τους στην περιοχή του τραυματισμού. Αυτό είναι αποτέλεσμα αλλαγών που συμβαίνουν στον υποδοχέα GP IIb / IIIa, ο οποίος συνδέεται τόσο στον vWF όσο και στο ινωδογόνο. Η θρομβοσπονδίνη σταθεροποιεί σε μεγαλύτερο βαθμό τη μήτρα αυτή. Πριν προκύψει ενεργοποίηση, οι υποδοχείς αυτοί δεν είναι ικανοί να δεσμεύσουν ινωδογόνο [9, 20,22]. Ως βοηθητική λειτουργία, μέρος του συμπλέγματος GP IIb / IIIa, συνδέεται με τον κυτταροσκελετό των αιμοπεταλίων και μπορεί να μεσολαβήσει στην εξάπλωση των αιμοπεταλίων και την απόσυρση του θρόμβου [21].

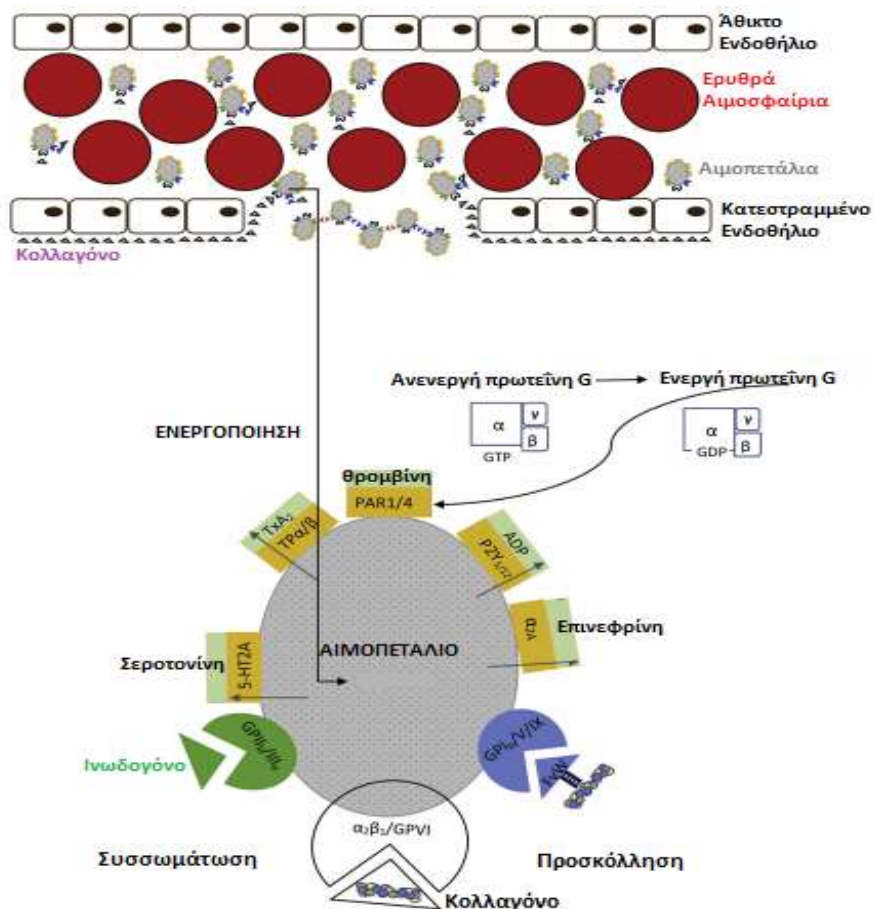
2.3 Έκκριση

Τα αιμοπετάλια διαθέτουν την ικανότητα να εκκρίνουν έναν αριθμό ουσιών από τα κοκκία τους συμπεριλαμβανομένων της διφωσφορικής αδενοσίνης (ADP) και της σεροτονίνης. Οι ανωτέρω ουσίες, είναι δυνατόν να διεγείρουν και να

στρατολογούν επιπλέον αιμοπετάλια και να προκαλούν αγγειοσυστολή στο κατεστραμμένο ή δυσλειτουργικό επιθήλιο. Η θρομβοσπονδίνη είναι συγκολλητικές πρωτεΐνες οι οποίες ενεργούν ως “κόλλα” με σκοπό την ενίσχυση και σταθεροποίηση των συσσωματωμένων αιμοπεταλίων. Όσο τα επίπεδα του ινωδογόνου αυξάνονται, τόσο περισσότερα αιμοπετάλια συγκεντρώνονται και δεσμεύονται στην περιοχή του τραυματισμού. Η θρομβοξάνη A2 (TXA2) είναι ένας μεταβολίτης προσταγλανδίνης ο οποίος προάγει αγγειοσυστολή και περαιτέρω συσώρευση αιμοπεταλίων. Οι αυξητικοί παράγοντες, όπως ο αυξητικός παράγοντας που προέρχεται από αιμοπετάλια, ασκούν ισχυρή μιτογόνο επίδραση στους λείους μύες και πιστεύεται ότι μεσολαβούν στην επανόρθωση του ιστού (Εικόνα 2) [9, 20-22, 24].

2.4 Ενεργοποίηση καταρράκτη πήξης

Τα αιμοπετάλια συμβάλλουν στην προπηκτική δραστικότητα μέσω της έκθεσης των προπηκτικών φωσφολιπιδίων, ειδικά της φωσφατιδυλοσερίνης και της συγκρότησης ενζυμικών συμπλόκων στον καταρράκτη της πήξης στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Από αυτό συμπεραίνουμε τις στενές σχέσεις μεταξύ ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και ενεργοποίησης καταρράκτη πήξης [9].



Εικόνα 2. Σχηματικό διάγραμμα απεικόνισης πρόσφυσης, ενεργοποίησης και

συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων μετά από αγγειακό τραυματισμό [Ανατύπωση από 25].

Κεφάλαιο 3: Παράγοντες πήξης

Οι παράγοντες πήξης είναι μια οικογένεια πρωτεϊνών που έχουν ομοιότητες στην ακολουθία, τη δομή και, σε κάποιο βαθμό, τη λειτουργία. Ανήκουν στην οικογένεια πρωτεασών σερίνης, και υπολογίζεται ότι είναι περίπου 50 μέλη [27]. Αποτυπώνονται με λατινικούς αριθμούς ως εξής: παράγοντας XII, XI, IX, VIII, X, VII, VII και XIII. Οι ενεργοποιημένοι παράγοντες πήξης προσδιορίζονται με ένα επίθημα "a", π.χ., FVIIIa, FIXa. Πρέπει να σημειωθεί ότι, παρόλο που οι παράγοντες συνήθως ορίζονται από Ρωμαϊκούς αριθμούς, μπορεί επίσης να έχουν και άλλα ονόματα (Πίνακας 1) [9]. Οι παράγοντες πήξης συντίθεται στο ήπαρ με εξαίρεση τον παράγοντα FVIII ο οποίος παράγεται από ηπατικά ημιτονοειδή ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς και από λεμφικό ιστό [28, 29]. Κυκλοφορούν στο πλάσμα του αίματος σε ανενεργή ή αδρανή μορφή. Η πλειονότητα των παραγόντων είναι πρωτεάσες και ως εκ τούτου στη λανθάνουσα μορφή τους μπορούν να θεωρηθούν ως «ζυμογόνα». Οι συγκεντρώσεις τους στο πλάσμα, εξαιρουμένου του ινωδογόνου, κυμαίνεται σε τρεις τάξεις μεγέθους, από την προθρομβίνη (ή τον Παράγοντα II) στα 1400 nM έως τον Παράγοντα VIII στα 0,8 nM (Πίνακας 2) [30-32].

Πίνακας 1. Παράγοντες πήξης και οι λειτουργίες τους [9].

Παράγοντας	Γνωστός και ως	Μονοπάτι	Λειτουργία
Προκαλλικρεΐνη HMWK	Παράγοντας Fletcher Συμπαράγοντας ενεργοποίησης επαφής. Παράγοντας Fitzgerald, Fiaueas, Williams	Ενδογενές Ενδογενές	Ενεργοποιεί XII και καλλικρεΐνη. Διασπά HMWK. Αμοιβαία ενεργοποίηση XII, XI, και προκαλλικρεΐνη.
I II	Ινωδογόνο Προθρομβίνη	Και τα δύο Και τα δύο	Σχηματίζει θρόμβο (ινώδες): Ia Ενεργοποιεί τα I, V, VII, XII, πρωτεΐνη C, αιμοπετάλια
III IV	Ιστικός Παράγοντας Ασβέστιο	Εξωγενές Και τα δύο	Συμπαράγοντας του VIIa. Απαιτείται για σύνδεση παραγόντων στα φωσφολιπίδια.
V	Προαξελερίνη, σφαιρίνη, επιταχυντής ασταθούς παράγοντα Αξελερίνη	Και τα δύο	Συμπαράγοντας του X, σχηματίζουν σύμπλοκο προθρομβινάσης.
VI(Va)		-	Τυπικά ο Va.
VII	Προκονβερτίνη, κοθροβοπλαστική επιταχυντής μετατροπής προθρομβίνης ορού	Εξωγενές	Ενεργοποιεί τον IX.
VIII	Αντιαιμοφιλικός παράγοντας A, αντιαιμοφιλική σφαιρίνη	Ενδογενές	Συμπαράγοντας του IX.
IX	Παράγοντας Christmas, αντιαιμοφιλικός παράγοντας B, συστατικό θρομβοπλαστικής πλάσματος	Ενδογενές	Ενεργοποιεί παράγοντα X.
X	Παράγοντας Stuart-Prower	Και τα δύο	Ενεργοποιεί τον II, σχηματίζει σύμπλοκο προθρομβινάσης με τον V
XI	Προηγούμενη θρομβοπλαστική πλάσματος	Ενδογενές	Ενεργοποιεί XII, IX και προκαλλικρεΐνη.
XII	Παράγοντας Hageman	Ενδογενές	Ενεργοποιεί προκαλλικρεΐνη και ινωδόλυση.
XIII	Παράγοντας σταθεροποίησης ινώδους προτρανσγλουταμινάση	Και τα δύο	Διασυνδέει το ινώδες.

Συντομογραφία: HMWK, χαμηλού μοριακού βάρους κινινογόνο.

Πίνακας 2. Συγκέντρώσεις και χρόνος ημίσειας ζωής των παραγόντων πήξης στο πλάσμα [30-32].

Παράγων Πήξης	Μέση συγκέντρωση πλάσματος (nM)	Βιολογικός χρόνος ημιζωής
Ινωδογόνο	7600	2-4 ημέρες
FII	1400	3 ημέρες
FVII	10	3-6 ώρες
FX	170	40 ώρες
FIX	90	18 ώρες
FVIII	0.8	8-12 ώρες
FV	20	36 ώρες
FXI	30	80 ώρες
FXII	380	50-70 ώρες
Καλλικρεΐνη πλάσματος	490	35 ώρες
AT III	2300	
Πρωτεΐνη C	60	
Πρωτεΐνη S	300	

Οι παράγοντες πήξης είναι όλες θερμικά ασταθείς πρωτεΐνες πλάσματος και διαθέτουν πολλαπλές δομικές περιοχές. Η δομική περιοχή μιας πρωτεΐνης αναφέρεται σε μια ημι-ανεξάρτητη σφαιρική αναδιπλούμενη μονάδα ή μια τοπική, συμπαγή δομή πρωτεΐνης, με υδρόφοβο εσωτερικό και υδρόφιλο εξωτερικό σχηματίζοντας μια σφαιρική κατάσταση που δεν μπορεί να υποδιαιρεθεί περαιτέρω [33].

3.1 Προκαλλικρεΐνη ή παράγοντας Fletcher

Η πρωτεΐνη αυτή, αποτελείται από 619 αμινοξέα (Εικόνα 3) και έχει μοριακό βάρος 85 kDa [34]. Εμφανίζει μεγάλη ομοιότητα ως προς τη δομή της με τον παράγοντα FXI και μπορεί να θεωρηθεί ως «μονομερές FXI», αν και αυτή είναι μια διαφορετική πρωτεΐνη [35] η οποία κωδικοποιείται από ένα διαφορετικό γονίδιο (KLKB1 στο χρωμόσωμα 4q35.2), που όπως φαίνεται μοιράζεται έναν κοινό πρόγονο με τον παράγοντα FXI. Η συγκέντρωσή της στο πλάσμα είναι περίπου 490 nM. Τα γονίδια των FXI και προκαλλικρεΐνης βρίσκονται ιδιαίτερα κοντά, είναι γειτονικά στην πραγματικότητα, με απόσταση μόλις 7,4 kB. Η προκαλλικρεΐνη είναι δυνατόν να ενεργοποιηθεί με πρωτεολυτική διάσπαση στο σημείο Arg 371 και επίσης καταλήγει σε μια ελαφριά αλυσίδα (δομή πρωτεάσης) και μια βαριά αλυσίδα (τέσσερις δομικές περιοχές Apple) που συνδέονται με δισουλφιδικό δεσμό, στοιχεία τα οποία εντοπίζονται ομοίως και στον παράγοντα FXI. Η προκαλλικρεΐνη έχει βασική συμμετοχή στο κοινό μονοπάτι τουλάχιστον *in vitro* και η απουσία της οδηγεί σε σημαντικά παρατεταμένο ΑΡΤΤ. Μεγάλο ποσοστό της προκαλλικρεΐνης (75%) συνδέεται με την πρωτεΐνη πλάσματος γνωστή ως υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο (HMWK), το οποίο δεν απαιτείται για τη φυσιολογική αιμόσταση.



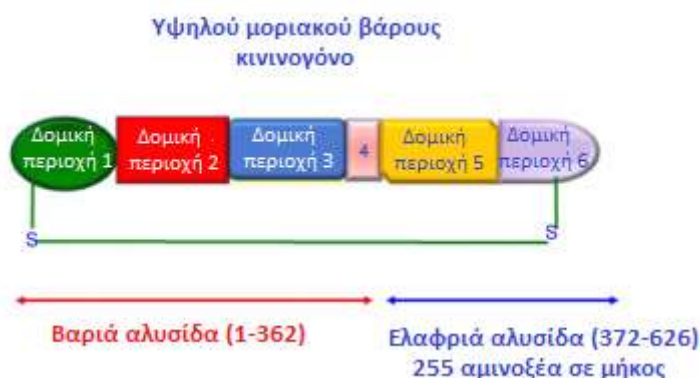
Εικόνα 3. Προκαλλικρεΐνη [Ανατύπωση από 26].

3.2 Υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο – ΗΜWK ή παράγοντας Fitzgerald

Το υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο είναι μια μη ενζυμική γλυκοπρωτεΐνη αποτελούμενη από 626 αμινοξέα και με μοριακό βάρος 120 kDa, την οποία παράγει το ήπαρ με την πρόδρομη μορφή των 644 αμινοξέων. Να σημειωθεί ότι δεν διαθέτει εγγενή δραστικότητα πρωτεάσης. Το ανθρώπινο γονίδιο για το κινινογόνο, KNG1, βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3q35. Η μέση συγκέντρωση ΗΜWK στο πλάσμα είναι περίπου 650 nM [36].

Στην ώριμη μορφή της πρωτεΐνης εντοπίζονται έξι ξεχωριστές δομικές περιοχές [37, 38]. Αυτές διαιρούνται περίπου ως εξής (η αρίθμηση αναφέρεται σε θέσεις αμινοξέων): δομική περιοχή 1: 1–113, δομική περιοχή 2: 114–234, δομική περιοχή 3: 235–357, δομική περιοχή 4: 358–383, δομική περιοχή 5: 384–502, δομική περιοχή 6: 503–626. Όπως φαίνεται, η κάθε μια από αυτές είναι μήκους περίπου 120 αμινοξέων, με εξαίρεση την δομική περιοχή 4 η οποία είναι μήκους περίπου 26 αμινοξέων. Οι δομικές περιοχές 1 και 6 συνδέονται μεταξύ τους μέσω μιας μονής γέφυρας δισουλφιδίου (Cys 10 έως Cys 596).

Το υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο χωρίζεται σε μια βαριά και μια ελαφριά αλυσίδα. Η βαριά αλυσίδα εκτείνεται από τη θέση 1 έως 362 και περιλαμβάνει τις δομικές περιοχές 1-3 και τα πρώτα έξι αμινοξέα της σύντομης τέταρτης δομικής περιοχής. Η ελαφριά αλυσίδα είναι το τμήμα του μορίου που απομένει (255 αμινοξέα) και αποτελείται από τις δομικές περιοχές 5 και 6 (Εικόνα 4) [36].



Εικόνα 4. Υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο [Ανατύπωση από 26].

Έχουν γνωστοποιηθεί οι φυσιολογικές λειτουργίες για κάθε μια από τις δομικές περιοχές. Η σημαντικότερη αυτών είναι η διάσπαση του ΗΜWK από ενεργοποιημένη καλλικρεΐνη πλάσματος με σκοπό την απελευθέρωση βραδυκινίνης: συγκεκριμένα, η καλλικρεΐνη πλάσματος διασπά την δομική περιοχή 4 του ΗΜWK απελευθερώνοντας το μη πεπτίδιο της βραδυκινίνης. Η

τελευταία μπορεί να προάγει σε έντονο βαθμό την αγγειακή διαπερατότητα και αγγειοδιαστολή καθώς και να παράγει οίδημα στον μαλακό ιστό (αγγειοοίδημα). Οι δομικές περιοχές 5 και 6 είναι απαραίτητες για το κοινό μονοπάτι του καταρράκτη. Η δομική περιοχή 6 λειτουργεί ως δεσμευτική περιοχή για τις δύο σχετικές πρωτεΐνες, δηλαδή τον παράγοντα XI και την προκαλλικρεΐνη πλάσματος, ενώ η δομική περιοχή 5 δεσμεύεται στις αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες που ενεργοποιούν το κοινό μονοπάτι. Η αναστολή του κοιλιακού νατριουρητικού παράγοντα (ANF - **Atrial Natriuretic Factor**) έχει παρατηρηθεί ότι πραγματοποιείται στην δομική περιοχή 1, ενώ η αναστολή καλπαΐνης και παπαΐνης (και των πρωτεάσων κυστεΐνης ή θειόλης) σχετίζεται με τις δομικές περιοχές 2 και 3, αντίστοιχα [36].

Το χαμηλού μοριακού βάρους κινινογόνο (LMWK) είναι μια μικρότερη σε μήκος πρωτεΐνη (70 kDa), η οποία προκύπτει από εναλλακτικό μάτισμα του μεταγραφικού γονιδίου KNG1. Οι δομικές περιοχές 1-4 του LMWK είναι ίδιες με τις αντίστοιχες του HMWK. Ωστόσο, παρατηρείται διαφορά στην δομική περιοχή 5 (ονομάζεται «πεδίο 5L») η οποία στο LMWK είναι μικρότερη και έχει μήκος 38 αμινοξέα και στην δομική περιοχή 6 η οποία απουσιάζει ολοκληρωτικά. Η διάσπαση του LMWK από την ιστική καλλικρεΐνη, κι όχι από την καλλικρεΐνη πλάσματος, απελευθερώνει το πεπτίδιο λυσίνη-βραδυκινίνη το οποίο με τη σειρά του διασπάται από το ένζυμο αργινίνη αμινοπεπτιδάση σε βραδυκινίνη [36].

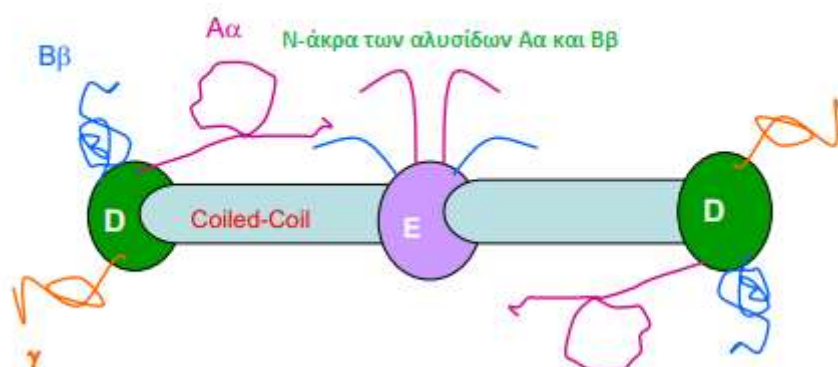
3.3 Ινωδογόνο

Η σύνθεση του ινωδογόνου λαμβάνει χώρα στο ήπαρ και οι συγκεντρώσεις αυτού στο πλάσμα είναι συνήθως υψηλές 6–13 μM (2–4.5 g/L ή 200-450 mg/dL). Το ινωδογόνο αποτελεί αντιδραστήριο οξείας φάσης και σε τυχόν φλεγμονή, η συγκέντρωσή του στο πλάσμα μπορεί να υπερβαίνει τα 29 μM (10 g/L ή 1000 mg/dL). Το ποσοστό σύνθεσης ινωδογόνου ημερησίως είναι περίπου 2-5g. Να σημειωθεί επίσης ότι ινωδογόνο εντοπίζεται εντός των α -κοκκίων των αιμοπεταλίων, πιθανόν από την εσωτερίκευση του ινωδογόνου του πλάσματος [39].

Το ινωδογόνο αποτελείται από τρία ζεύγη πολυπεπτιδικών αλυσίδων (Εικόνα 5). Οι αλυσίδες αυτές ονομάζονται Α α , Β β και γ και το μέγεθός τους είναι 66.5, 52 και 46.5 kDa, αντίστοιχα. Τρία είναι τα στενά συνδεδεμένα γονίδια τα οποία κωδικοποιούν το ινωδογόνο: το FGA που είναι υπεύθυνο για την κωδικοποίηση της αλυσίδας Α α , το FGB που κωδικοποιεί την αλυσίδα Β β και το FGG, που κωδικοποιεί την αλυσίδα γ . Τα τρία αυτά γονίδια εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 4 των ανθρώπων. Το μόριο του ινωδογόνου είναι ετεροδιμερές και αυτό οφείλεται στο ότι υπάρχουν δύο αλυσίδες Α α , δύο Β β και δύο γ , επομένως είναι συνολικά έξι. Το πλήρως συναρμολογημένο μόριο, είναι μια επιμήκης τρι-οζιδική πρωτεΐνη 48nm με σχετική μοριακή μάζα 340 kDa. Η σύνδεση των έξι αυτών αλυσίδων πραγματοποιείται μέσω 29 δισουλφιδικών δεσμών. Η διάμετρος του μορίου του ινωδογόνου είναι περίπου 2-5nm. Το ώριμο μόριο του ινωδογόνου, επίσης, έχει υποστεί N-γλυκοζυλίωση με συνολικά τέσσερις ολιγοσακχαρίτες. Κάτι τέτοιο συναντάται μόνο στις αλυσίδες Β β και γ , καθώς η αλυσίδα Α α δεν είναι γλυκοζυλιωμένη [39].

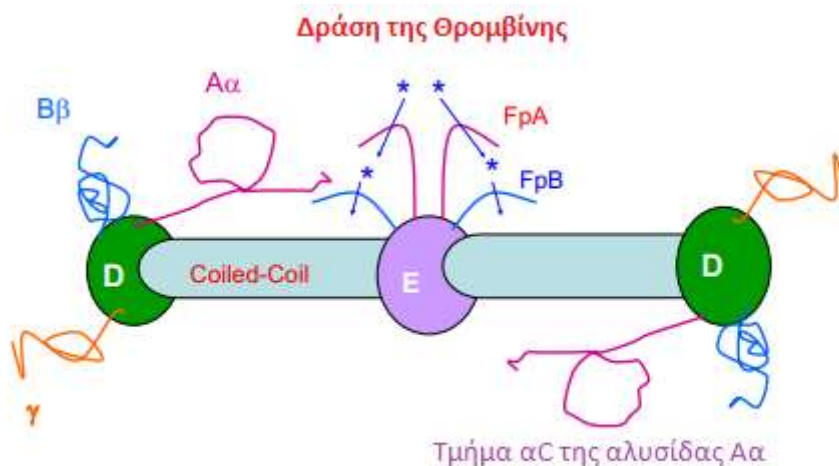
Το άθικτο μόριο του ινωδογόνου έχει μια κεντρική περιοχή "E", η οποία περιέχει τα N-άκρα όλων των πολυπεπτιδικών αλυσίδων, και δύο περιφερειακές "D" σφαιρικές περιοχές. Ένας α -ελικοειδής (κουλουριασμένος) σύνδεσμος μήκους 17nm (112 αμινοξέων) συνδέει τις περιοχές "E" και "D". Οι περιφερειακές "D" περιοχές, περιέχουν τα C-άκρα των αλυσίδων Β β και γ . Στις περιοχές αυτές, επίσης, περιέχεται τόσο ένα γ όσο και ένα β οζίδιο. Το C-άκρο της μακριάς Α α αλυσίδας εκτείνεται κατά μήκος του ελικοειδούς συνδέσμου προς την περιοχή "D", αλλά μετά αποκλίνει από τον κεντρικό άξονα του μορίου ως ένα πολύ μακρύ C-άκρο που ονομάζεται "αC περιοχή" και έχει μήκος περίπου 390 κατάλοιπα. Τα N-τερματικά αμινοξέα των αλυσίδων Α α και Β β σχηματίζουν τα "ινωδοπεπτίδια" A και B (FpA και FpB), αντίστοιχα. Τα ινωδοπεπτίδια αυτά, προεξέχουν από την κεντρική περιοχή "E" [39].

ΙΝΩΔΟΓΟΝΟ



Εικόνα 5. Δομή ινωδογόνου [Ανατύπωση από 26].

Η βασική δράση της θρομβίνης (Εικόνα 6), είναι η διάσπαση ενός N-τερματικού ινωδοπεπτιδίου από τις αλυσίδες Aα και Bβ. Στις γ αλυσίδες δεν προκύπτει κάποια διάσπαση. Το ινωδοπεπτίδιο A (αμινοξέα 1-16) διασπάται στο δεσμό arg16-gly17, ενώ το ινωδοπεπτίδιο B (αμινοξέα 1-14) διασπάται σε έναν δεσμό arg14-gly15. Μέσω αυτής της διαδικασίας τα πολυπεπτίδια Aα και Bβ μετατρέπονται σε αλυσίδες α και β, αντίστοιχα. Η πρωτεολυτική αυτή διάσπαση, επιτρέπει να λάβει χώρα μια ισχυρή μη ομοιοπολική αλληλεπίδραση μεταξύ των μορίων ινωδογόνου που διασπώνται σε ινωδοπεπτίδια (καλούνται μονομερή ινώδους) και τα οποία οδηγούν στη δημιουργία ενός κλώνου ινώδους. Τα μονομερή ινώδους μπορούν να θεωρηθούν “κολλώδη” και συγκεντρώνονται σε πρωτοϊνίδια. Ειδικότερα, τα προσφάτως διαχωρισμένα N-άκρα των αλυσίδων α σχηματίζουν τις λεγόμενες “Α” προσοχές. Οι τελευταίες αλληλεπιδρούν με “α” τρύπες στα γ-οζίδια, οι οποίες βρίσκονται στις “D” περιοχές, σε γειτονικά μονομερή ινώδους. Μέσω της παραπάνω διαδικασίας τα μονομερή ινώδους πολυμερίζονται μη ομοιοπολικά.



Εικόνα 6. Η διάσπαση του ινωδογόνου από τη θρομβίνη υποδεικνύεται από τους αστερίσκους και τα βέλη. Μέσω της διάσπασης απελευθερώνονται τα ινωδοπεπτίδια Α και Β (FpA και FpB αντίστοιχα) [Ανατύπωση από 26].

Άλλες αλληλεπιδράσεις που έχουν περιγραφεί είναι οι ακόλουθες:

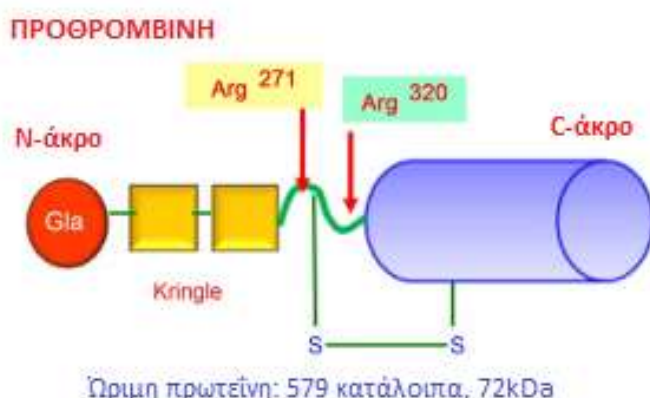
- Σχηματίζονται D:D διασυνδέσεις από τις πλευρικές περιοχές D δύο παρακείμενων μορίων ινωδογόνου
- Οι Β προεξοχές (οι οποίες σχηματίζονται μετά τη διάσπαση του Ββ) μπορούν να αλληλεπιδράσουν με μια σπή "b" στο οζίδιο β
- αC αλληλεπιδράσεις (αυτές παρατηρούνται στα μακρά προεξέχοντα C-άκρα των α-αλυσίδων)

Τελικά, δημιουργείται ένα τρισδιάστατο νηματοειδές δίκτυο το οποίο οδηγεί σε ζελατινοποίηση του πλάσματος. Αυτή η ζελατινοποίηση συμβαίνει μόνο όταν το 15-20% του ινωδογόνου μετατρέπεται σε ινώδες.

3.4 Παράγοντας II ή προθρομβίνη

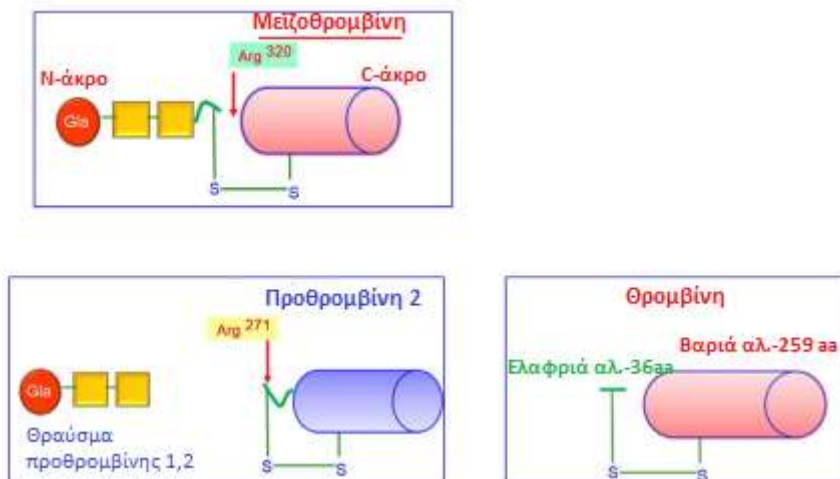
Η προθρομβίνη ή ο παράγοντας πήξης II, υπάρχει σε αφθονία στο αίμα όπου βρίσκεται και κυκλοφορεί με χρόνο ημίσειας ζωής περίπου τις 60 ώρες [40-43]. Η συγκέντρωση αυτής στο πλάσμα είναι σχετικά υψηλή στα 1,4 μmol / L ή 1400 nM. Η πρωτεΐνη έχει μήκος 579 αμινοξέων και έχει συγγενή μοριακή μάζα 72 kDa (Εικόνα 7). Η σύνθεσή της πραγματοποιείται στα ηπατοκύτταρα με τη δημιουργία μιας πρόδρομης μορφής αποτελούμενης από 622 αμινοξέα, από τα οποία ένα πεπτίδιο σήματος 24 αμινοξέων και ένα προπεπτίδιο-οδηγός 19 αμινοξέων, αποκόπτονται. Είναι ένα βιταμινό-Κ-εξαρτώμενο ζυμογόνο, το οποίο αποτελείται από μια γ-καρβοξυγλουταμική περιοχή (Gla) (κατάλοιπα 1-46), μια περιοχή kringle-1 (κατάλοιπα 65-143), μια περιοχή kringle-2 (κατάλοιπα 170-248) και την επικράτεια της πρωτεάσης με την Α αλυσίδα (υπολείμματα 285-320) και την καταλυτική Β αλυσίδα (κατάλοιπα 321-579) [44]. Αναλυτικότερα, το μόριο της

προθρομβίνης διαθέτει μια N-τερματική «GLA» επικράτεια η οποία απαρτίζεται από 10 κατάλοιπα γλουταμινικού οξέος τα οποία είναι καρβοξυλιωμένα σε κατάλοιπα Gla. Η GLA επικράτεια ακολουθείται διαδοχικά από δύο δομικές περιοχές kringle οι οποίες με τη σειρά τους συνδέονται με το λανθάνον ζυμογόνο. Μεταξύ της τελευταίας περιοχής kringle και της λανθάνουσας πρωτεάσης υπάρχει ένα συνδετικό πολυπεπτιδίο «ενεργοποίησης», το οποίο κυμαίνεται από 285 ως 320 κατάλοιπα, παρόλο που το πλήρες μήκος του συνδέσμου μεταξύ του C-άκρου και της περιοχής kringle είναι 249 έως 320 κατάλοιπα.



Εικόνα 7. Η δομή της προθρομβίνης (FII) [Ανατύπωση από 26].

Η διάσπαση του πολυπεπτιδίου ενεργοποίησης λαμβάνει χώρα στα κατάλοιπα 271 και 320, μετατρέποντας τον παράγοντα II στην ενεργή πρωτεάση “θρομβίνη” ή παράγοντα IIa. Ενεργοποίηση είναι δυνατόν να επιτευχθεί και στα δύο κατάλοιπα του παράγοντα. Η διάσπαση στο σημείο Arg320 οδηγεί στο ενεργό διάμεσο που ονομάζεται “μειζοθρομβίνη” [40,41]. Αντίθετα, εάν η αρχική διάσπαση πραγματοποιηθεί στο σημείο Arg271 προκύπτει η “προθρομβίνη” ανενεργή και ένα θραύσμα που ονομάζεται “θραύσμα προθρομβίνης 1.2.”. Περαιτέρω διάσπαση, είτε της “προθρομβίνης” στο σημείο Arg320 ή της “μειζοθρομβίνης” στο σημείο Arg271, θα σχηματίσει το ενεργό ένζυμο θρομβίνη (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Η μετατροπή της προθρομβίνης μέσω μεϊζοθρομβίνης ή εναλλακτικά της προθρομβίνης, σε θρομβίνη (παράγοντας IIa) [Ανατύπωση από 26].

Το μόριο της θρομβίνης αποτελείται από μια βαριά αλυσίδα 259 αμινοξέων και μια πολύ μικρότερη ελαφριά αλυσίδα 36 αμινοξέων, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους μέσω δισουλφιδικού δεσμού. Η θρομβίνη είναι διαλυτή και έχει την δυνατότητα είτε να διασπάσει ή να ενεργοποιήσει πρωτεολυτικά πολλά υποστρώματα. Μεταξύ αυτών είναι το ινωδογόνο, οι ενεργοποιημένοι με πρωτεάση υποδοχείς (PARs) στα αιμοπετάλια, ο παράγοντας V, ο παράγοντας VIII, ο παράγοντας XI και ο παράγοντας XIII (ο παράγοντας σταθεροποίησης ινώδους). Επιπρόσθετα, η θρομβίνη σε συνεργασία με την διαμεμβρανική πρωτεΐνη θρομβομοντουλίνη, η οποία εντοπίζεται σε μεμβράνες του αυλού των ενδοθηλιακών κυττάρων, μετατρέπει την ανενεργή κατάσταση της πρωτεΐνης C σε ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (aPC) [26].

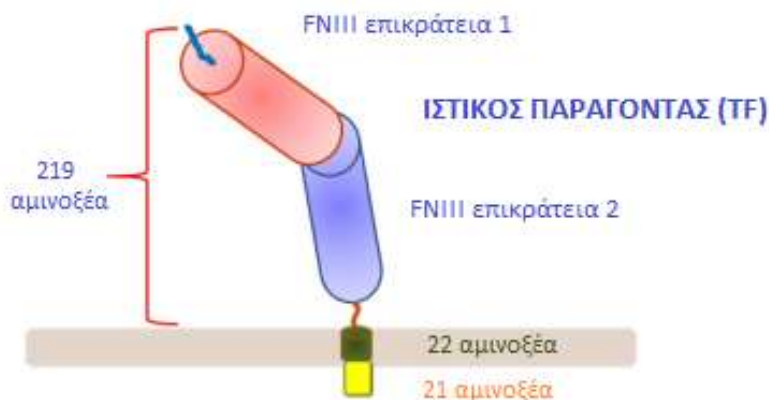
Στην επιφάνειά του, το ένζυμο της θρομβίνης περιέχει δύο περιοχές σύνδεσης I και II, οι οποίες βρίσκονται εκτός του ενεργού κέντρου και εντοπίζονται απέναντι η μια από την άλλη. Η περιοχή σύνδεσης I δεσμεύει το ινωδογόνο, το ινώδες και τους υποδοχείς PAR που ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια. Η περιοχή σύνδεσης II διαπιστώνεται ότι είναι πιο ηλεκτροθετική από την I και είναι η τοποθεσία δέσμευσης της ηπαρίνης που επιτρέπει στην ηπαρίνη να “γεφυρωθεί” μεταξύ αντιθρομβίνης III και θρομβίνης [26].

Συνεπώς, είναι φανερό ότι η δράση της θρομβίνης είναι κεντρική για τη διαδικασία της πήξης [45]. Όχι μόνο μετατρέπει το διαλυτό ινωδογόνο στο ινώδες που σχηματίζει πολυμερές, αλλά ενεργοποιεί επίσης τον παράγοντα XIIIa, ο οποίος με τη σειρά του διασυνδέεται με το ινώδες, και ενισχύει δική του παραγωγή σε μια σειρά αντιδράσεων θετικής ανατροφοδότησης (το «ενδογενές μονοπάτι») [46]. Επιπλέον, η θρομβίνη διεγείρει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων μέσω πρωτεολυτικής επεξεργασίας του υποδοχέα της [47].

3.5 Ιστικός παράγοντας (FIII)

Ο ιστικός παράγοντας (TF - Tissue Factor) είναι μια πρωτεΐνη η οποία βρίσκεται στην επιφάνεια των κυττάρων και πυροδοτεί την έναρξη καθώς και τη διάδοση της πήξης [48-53].

Ο ώριμος ιστικός παράγοντας είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη τύπου I και μοριακού βάρους 37-40 kDa η οποία διαθέτει και ένα εξωτερικό N-άκρο. Κατατάσσεται, λόγω της δομής του, στην οικογένεια τάξης II των υποδοχέων κυτοκίνης. Ο CD χαρακτηρισμός του (Cluster of Differentiation, σύμπλεγμα διαφοροποίησης: ένα συστηματικό μέσο με το οποίο ταξινομούνται μόρια που βρίσκονται στην επιφάνεια κυττάρων) είναι CD142. Αποτελείται από μια εξωκυτταρική περιοχή 219 αμινοξέων, μια διαμεμβρανική περιοχή 22 αμινοξέων καθώς και από μια κυτταροπλασματική ουρά 21 αμινοξέων. Η εξωκυτταρική περιοχή περιέχει δύο πτυχές που μοιάζουν με ανοσοσφαιρίνη και ταξινομούνται ως δομικές περιοχές ινονεκτίνης τύπου III (FNIII). Η πρώτη δομική περιοχή FNIII, εκτείνεται περίπου από τη θέση 10-101 ενώ η δεύτερη καταλαμβάνει τις θέσεις 108-210 (αυτά είναι όρια κατά προσέγγιση) (Εικόνα 9).



Εικόνα 9. Ο ιστικός παράγοντας στη συνολική του διάταξη με τις FNIII δομικές περιοχές [Ανατύπωση από 26].

Ο ιστικός παράγοντας είναι ένας αλλοστερικός ενεργοποιητής του παράγοντα πήξης VIIa. Πολύ χαμηλές (πικομοριακές) συγκεντρώσεις του παράγοντα VIIa, παράγονται συστηματικά και δεν αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 1% της συνολικής συγκέντρωσής του [30, 51, 54-56]. Αυτός, απουσία του ιστικού παράγοντα, δεν παρουσιάζει καμία σημαντική πρωτεολυτική δραστηριότητα. Ο παράγοντας VIIa και ο TF διατηρούνται απομονωμένοι, με τον ιστικό παράγοντα να εκφράζεται μόνο σε εξωαγγειακά κύτταρα, όπως κύτταρα λείου μυός, ινοβλάστες, περικύτταρα και αστρογλοιακά κύτταρα. Εάν προκύψει κάποια διαταραχή του τοιχώματος των αιμοφόρων αγγείων με επακόλουθη απώλεια αίματος και πλάσματος στους εξωκυττάρους ιστούς, τότε ο παράγοντας VIIa έρχεται σε επαφή με τον ιστικό παράγοντα. Το σύμπλοκο TF-FVIIa που δημιουργείται, οδεύει στην ενεργοποίηση του FX

σε FXa και στην ακόλουθη παραγωγή θρομβίνης. Το ανωτέρω σύμπλοκο επίσης, έχει την ικανότητα να ενεργοποιήσει τον παράγοντα IX κι έτσι να επιτευχθεί ρύθμιση της οδού διάδοσης της πήξης. Προκύπτει ότι ο ιστικός παράγων, προσφέρει σχεδόν ένα εκατομμύριο φορές αύξηση στο ρυθμό ενεργοποίησης των παραγόντων FIX και FX [26]. Τέλος, σημειώνεται ότι η διορατική δουλειά του Ken Mann [56] και των συνεργατών του, οδήγησε σε μια εκτίμηση πραγματικής αποτελεσματικής φυσιολογικής συγκέντρωσης του ιστικού παράγοντα : είναι συνήθως 5-10 ρmol / L σε πειράματα που έχουν σχεδιαστεί και τα οποία μιμούνται την πήξη *in vivo*.

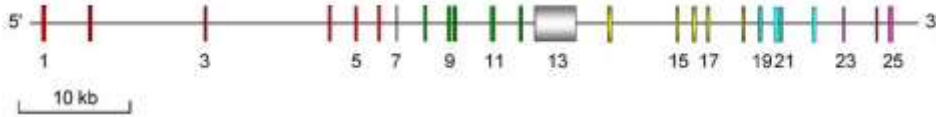
3.6 Ασβέστιο (Ca^{2+})

Ως ανθρώπινος παράγοντας πήξης IV, τα ιόντα ασβεστίου εμπλέκονται σε πολλαπλές διεργασίες του καταρράκτης πήξης [57]. Η επίδραση των ιόντων ασβεστίου στην πήξη εκδηλώνεται κυρίως από την επιρροή τους στο ινώδες και στα αιμοπετάλια. Τα ιόντα ασβεστίου ενισχύουν τη συσσώρευση αιμοπεταλίων σε πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια [58], και η σύνδεση ιόντων ασβεστίου μετατρέπει το ινωδογόνο σε αδιάλυτο ινώδες [59-62]. Η αύξηση της διαπερατότητας των ιόντων ασβεστίου μπορεί επίσης να ενισχύσει την ακαμψία των θρόμβων στο αίμα [63].

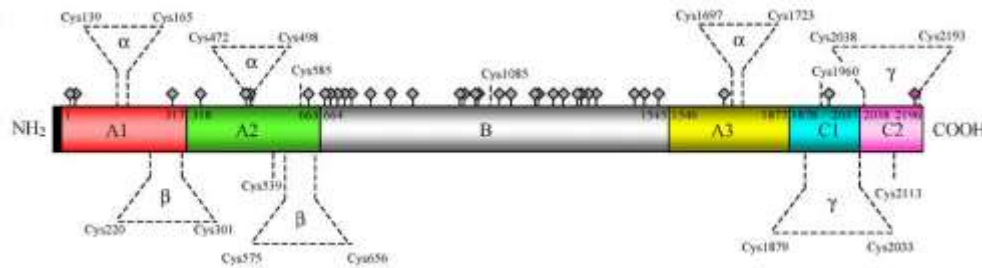
3.7 Παράγοντας V ή προαξελερίνη

Η ανακάλυψη του παράγοντα V οφείλεται στον Νορβηγό αιματολόγο Paul Owren, ο οποίος κατά τη διάρκεια του Β΄ Παγκόσμιου Πολέμου, επεξεργάστηκε μια νέα θεωρία της πήξης και εισήγαγε για πρώτη φορά λατινικούς αριθμούς για τον προσδιορισμό των παραγόντων της πήξης [64]. Ο παράγοντας V είναι επίσης γνωστός ως προαξελερίνη ή ασταθής παράγοντας [65].

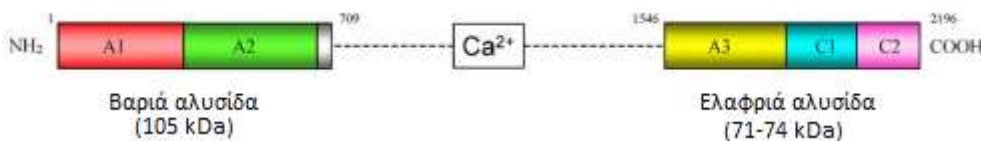
Το γονίδιο του παράγοντα αυτού απομονώθηκε το 1992 και χαρτογραφείται στο χρωμόσωμα 1q23. Απαρτίζεται από 25 εξόνια και καλύπτει μια χρωμοσωμική περιοχή περίπου 80 kb (Εικόνα 10). Ο κωδικοποιημένος προπαράγοντας αποτελείται από 2.224 αμινοξέα, περιλαμβάνοντας ένα πεπτίδιο 28 καταλοίπων το οποίο αφαιρείται μετά από μετατόπιση στο ενδοπλασματικό δίκτυο, και χαρακτηρίζεται από μια δομική μορφή η οποία έχει ως εξής: A1 – A2 – B – A3 – C1 – C2 (Εικόνα 11). Η πρωτεολυτική αφαίρεση της δομικής περιοχής B οδηγεί στην ενεργοποίηση του παράγοντα V (FVa), ο οποίος αποτελείται από δύο μη ομοιοπολικά συνδεδεμένες αλυσίδες, σταθεροποιημένες με ιόντα Ca^{2+} (Εικόνα 12) [66,67].



Εικόνα 10. Σχηματική απεικόνιση της δομής εξονίων-εσωνίων του γονιδίου του παράγοντα V. Τα εξόνια αναπαρίστανται από κουτιά και χρωματίζονται σύμφωνα με τον κωδικοποιημένο τομέα. Τα εσώνια απεικονίζονται ως γραμμές [Ανατύπωση από 65].



Εικόνα 11. Διάγραμμα της οργάνωσης της μονής αλυσίδας 330 kDa του παράγοντα V. Κάθε δομική περιοχή υποδεικνύεται με διαφορετικό χρώμα. Το μαύρο κουτί στο N-άκρο αντιπροσωπεύει το πεπτίδιο των 28 καταλοίπων. Οι αριθμοί εντός των κουτιών δηλώνουν υπολείμματα των N- και C- άκρων κάθε δομικής περιοχής. Οι θέσεις της N-γλυκοζυλίωσης υποδεικνύονται με γκρι ρόμβους, εκτός από το Asn2181 που απεικονίζεται βιολετί. Παρουσιάζονται, επίσης, όλες οι κυστεΐνες, είτε εμπλέκονται σε δισουλφιδικές γέφυρες (ταξινομούνται ως α, β και γ βρόγχοι με βάση το μήκος και τη θέση τους εντός του τομέα) είτε παρουσιάζονται ως ελεύθερα κατάλοιπα [Ανατύπωση από 65].



Εικόνα 12. Δομή παράγοντα FVa. Μετά την ενεργοποίηση από τη θρομβίνη ή τον FXa, ο ενεργοποιημένος FV είναι ένα ετεροδιμερές που αποτελείται από μια βαριά (περιοχές A1 και A2) και μια ελαφριά αλυσίδα (περιοχές A3, C1 και C2) που συγκρατούνται από ένα μόνο ιόν ασβεστίου. Οι αριθμοί αναφέρονται στα N- και C-άκρα των δύο αλυσίδων [Ανατύπωση από 65].

Ο καταρράκτης της πήξης περιλαμβάνει διαδοχικές ενζυματικές ενεργοποιήσεις ζυμογόνων πρωτεάσης σερίνης που κοινό στόχο έχουν τη δημιουργία θρομβίνης. Ο παράγοντας V έχει διττό ρόλο καθώς, όχι μόνο αποτελεί συστατικό του συμπλόκου προθρομβινάσης, αλλά και παίρνει μέρος στη φυσιολογική αντιπηκτική οδό,

συμμετέχοντας στην απενεργοποίηση του ενεργοποιημένου παράγοντα VIII (FVIIIa) [65]. Η σύνθεση και αποικοδόμηση της προαξελερίνης σχετίζεται εγγενώς με τη διπλή αυτή βιολογική λειτουργία. Περίπου το 80% του παράγοντα V του αίματος, κυκλοφορεί στο πλάσμα με συγκέντρωση 20 nM (7 μg/ml) κατά προσέγγιση, ενώ το υπόλοιπο 20% αυτού, φυλάσσεται στα α-κοκκία των αιμοπεταλίων (4.600-14.000 μόρια ανά αιμοπετάλιο). Η προαξελερίνη πλάσματος συντίθεται από ηπατοκύτταρα και αποτελείται από μια μονή αλυσίδα 330 kDa. Το κλάσμα αυτής που εντοπίζεται στα κοκκία των αιμοπεταλίων και το οποίο πρωτεολύεται μερικώς και αποθηκεύεται, σε συνδυασμό με τη δεσμευτική πρωτεΐνη πολυμερίνη, συντίθεται μερικώς στα μεγακαρυοκύτταρα και μερικώς απορροφάται από το πλάσμα μέσω ενδοκυττάρωσης.

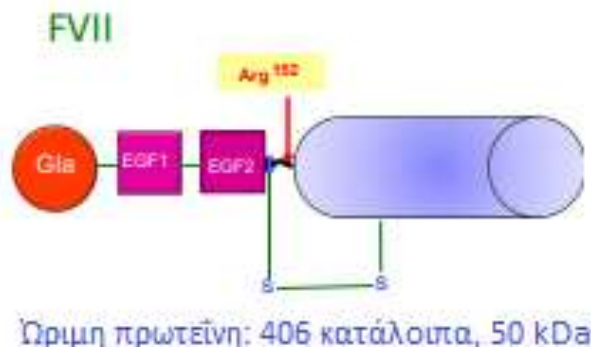
Η προπηκτική δραστηριότητα του παράγοντα είναι ελάχιστη, ώσπου να μετατραπεί σε ενεργοποιημένο παράγοντα (Va), κάτι το οποίο επιτυγχάνεται είτε μέσω περιορισμένης πρωτεόλυσης από τη θρομβίνη ή από τον ενεργοποιημένο παράγοντα X (FXa) στα τρία κατάλοιπα αργινίνης (Arg709, Arg1018 και Arg1545). Η διαδικασία αυτή οδηγεί στην αφαίρεση του B τομέα. Τελικά, ο ενεργοποιημένος παράγοντας Va που απελευθερώθηκε, αποτελείται από μια βαριά αλυσίδα 105 kDa (τομείς A1-A2) και μια ελαφριά αλυσίδα 74 ή 71 kDa (τομείς A3 – C1 – C2), οι οποίες συγκρατούνται από ένα μόνο ιόν ασβεστίου και από υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις [66,67]. Η μεγάλη ετερογένεια της ελαφριάς αλυσίδας οφείλεται στη μερική γλυκοζυλίωση στο σημείο Asn2181. Κατά την ενεργοποίηση του παράγοντα V, ο οποίος είναι σε ένα σύμπλεγμα που εξαρτάται από το Ca²⁺ με τον ενεργοποιημένο παράγοντα X (Xa) πάνω στις μεμβράνες φωσφολιπιδίων, ο ρυθμός ενεργοποίησης της προθρομβίνης ενισχύεται κατά 300.000 φορές.

3.8 Παράγοντας VII ή προκονβερτίνη

Ο παράγοντας VII ή προκονβερτίνη συντίθεται από τα κύτταρα του ήπατος και αποτελεί μια λανθάνουσα πρωτεάση ή ζυμογόνο [68,69]. Στα 10 nM, η συγκέντρωσή του στο πλάσμα θεωρείται χαμηλή σε σύγκριση με πολλούς άλλους παράγοντες [30,54,70]. Το 1% (0,1 nM) περίπου του παράγοντα VII, κυκλοφορεί με την ενεργοποιημένη του μορφή, δηλαδή FVIIa [30, 54-56]. Εξ αιτίας της χαμηλής του αυτής συγκέντρωσης, ο παράγοντας FVIIa δεν είναι ικανός να πυροδοτήσει την πήξη επειδή είναι ενδοαγγειακή και δεν έρχεται σε επαφή με τον ιστικό παράγοντα.

Η πρόδρομη μορφή του παράγοντα, αποτελείται από 461 αμινοξέα, εκ των οποίων τα 20 αφαιρούνται ως πεπτιδικό σήμα και τα 40 αφαιρούνται ως προπεπτίδιο. Τελικά, η ώριμη προκύπτουσα πρωτεΐνη αποτελείται από 406 κατάλοιπα και έχει σχετική μοριακή μάζα 50 kDa. Η καρβοξυλιωμένη GLA περιοχή, περιέχει 10 κατάλοιπα Gla (Εικόνα 13). Ένα πολύ μικρό πεπτίδιο ενεργοποίησης, αποτελούμενο από 17 αμινοξέα, ενεργοποιεί τον παράγοντα VII με μία μόνο διάσπαση στο σημείο Arg 152. Ο FVIIa, όπως πολλές παρόμοιες πρωτεΐνες, συντίθεται από μια ελαφριά και μια βαριά αλυσίδα. Επιπλέον, να

σημειωθεί ότι ο παράγοντας VII είναι δυνατόν να ενεργοποιηθεί από έναν αριθμό πρωτεασών πήξης και διάφορων συμπλόκων συμπεριλαμβανομένου του ενεργοποιημένου παράγοντα X (FXa) καθώς και της θρομβίνης.



Εικόνα 13. Η δομή του παράγοντα VII [Ανατύπωση από 26].

Ο ενεργοποιημένος παράγοντας VII (VIIa) δεν διαθέτει καμία λειτουργική πρωτεολυτική δραστικότητα, παρά μόνο μετά από ένωσή του με τον ιστικό παράγοντα επάνω στην κυτταρική επιφάνεια [48-49]. Ο τελευταίος έχει το ρόλο αλλοστερικού ενεργοποιητή για τον ενεργοποιημένο παράγοντα VII. Συνεπώς, το σύμπλοκο που δημιουργείται μεταξύ του ενεργοποιημένου παράγοντα FVII, ο οποίος αποτελεί μια βιταμινο-K-εξαρτώμενη πρωτεάση σερίνης, και του ακέραιου ιστικού παράγοντα (TF), ο οποίος εκτίθεται στον αγγειακό αυλό σε περίπτωση τραυματισμού, πυροδοτεί την έναρξη της πήξης του αίματος [71]. Καθώς η πήξη προχωρά, το σύμπλοκο FVIIa / TF ενεργοποιεί τον παράγοντα IX μετατρέποντάς τον σε FIXa στην κοινή οδό των μονοπατιών, δημιουργώντας με αυτό τον τρόπο μια εναλλακτική βάση, και η διάδοση της πήξης συνεχίζεται.

3.9 Παράγοντας VIII ή αντιαιμοροφιλικός παράγοντας α

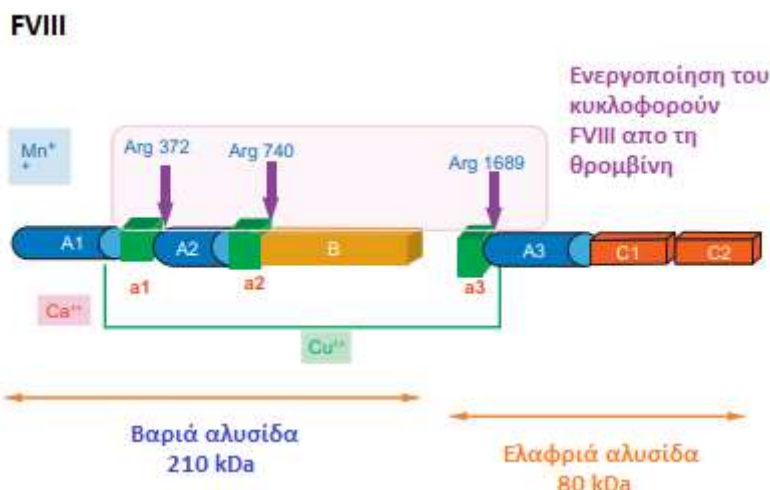
Ο παράγοντας VIII (FVIII), έχει πολύ σημαντικό ρόλο στην αιμόσταση [72,73]. Κωδικοποιείται από ένα μεγάλο γονίδιο (26 εξονίων 186Kb) στον μακρύ βραχίονα του Χ χρωμοσώματος (Χq28), συντίθεται και εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα με συσσωματώσεις, συμπεριλαμβανομένων των ημιτονοειδών κυττάρων του ήπατος, το λεμφικό τριχοειδές ενδοθήλιο και ορισμένα ενδοθηλιακά φλεβίδια (HEV) [28,29]. Τα τελευταία βρίσκονται στους λεμφαδένες και αποτελούν τον τόπο μετανάστευσης λεμφοκυττάρων στο παρέγχυμα των λεμφαδένων. Ο vWF, που συνδέεται και σταθεροποιεί τον FVIII, κυκλοφορεί ως σύμπλεγμα με τον FVIII και συντίθεται κυρίως από το αγγειακό ενδοθήλιο [26].

Οι FVIII και FV μοιράζονται τους ίδιους μηχανισμούς μεταφοράς [74-76]. Οι παράγοντες

FVIII και FV εξέρχονται και οι δύο από το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER- Endoplasmic Reticulum) σε επικαλυμμένα με σύμπλοκο πρωτεΐνης II (COPII) κυστίδια και ταξιδεύουν μέσω του ενδιάμεσου διαμερίσματος ER-Golgi (ή ERGIC) ακολουθώντας πέρασμα διά μέσου του συμπλέγματος Golgi. Πέρασμα μέσω του ERGIC απαιτεί (i) επικαλυμμένα με COPII κυστίδια, (ii) μια ακέραιη 53kDa πρωτεΐνη μεμβράνης που ονομάζεται LMAN1 (λεκτίνη, μαννόζη-σύνδεση) και (iii) MCFD2 (γονίδιο ανεπάρκειας πολλαπλού παράγοντα πήξης) μια μικρή 2 + -16-kDa διαλυτή πρωτεΐνη με δύο Ca²⁺ δεσμευτικά μοτίβα. Το LMAN1 και το MCFD2 σχηματίζουν ένα εξαμερές σύμπλεγμα [26].

Ο ώριμος παράγοντας VIII είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μήκους 2.332 αμινοξέων, μοριακού βάρους 300 kDa [72-73, 77], και σχηματίζει έξι δομικές περιοχές που περιγράφονται ως A1-A2-B-A3-C1-C2 [78]. Ο λανθάνων παράγοντας VIII (Εικόνα 14) σχηματίζει ένα σύμπλεγμα με τον von Willebrand. Ο τελευταίος προστατεύει τον FVIII από την πρωτεόλυση και παρατείνει την κυκλοφορία του με χρόνο ημιζωής 8 έως 12 ώρες. Η εκκολαπτόμενη μορφή του FVIII διασπάται μετά την έκκρισή της και ενώ παραμένει σε λανθάνουσα (ανενεργή) μορφή, κυκλοφορεί στο πλάσμα ως μορφή ετεροδιμερούς. Η ανωτέρω μορφή περιέχει μια βαριά αλυσίδα αποτελούμενη από τις A1 και A2 καθώς και την B-δομική περιοχή, ενώ η ελαφριά αλυσίδα αποτελείται από τις δομικές περιοχές A3, C1 και C2. Οι βαριές και ελαφριές αλυσίδες φαίνεται να συνδέονται μεταξύ τους υπό τη δράση διασθενών κατιόντων συμπεριλαμβανομένων ασβεστίου, χαλκού και μαγγανίου. Αλληλεπίδραση της ετεροδιμερούς μορφής του FVIII με vWF διαμεσολαβείται μέσω της δομικής υποπεριοχής A3 και της δομικής περιοχής C2 στην ελαφριά αλυσίδα [26].

Ο παράγοντας πήξης VIII ενεργοποιείται πρωτεολυτικά από την θρομβίνη. Η ενεργοποίηση αυτή προκύπτει από τη διάσπαση της βαριάς αλυσίδας στις θέσεις αμινοξέων: Arg372 (A1 - A2) και Arg740 (A2 - B) και διάσπαση της ελαφριάς αλυσίδας στην θέση του αμινοξέος Arg1689 (σύνδεση δομικών περιοχών B - A3). Η ενεργή μορφή του παράγοντα πήξης VIII, FVIIIa, είναι ένα τριμερές που αποτελείται από τις δομικές περιοχές A1 (αμινοξέα 1-337), A2 (αμινοξέα 373-740) συνδεδεμένες με τις δομικές περιοχές A3 - C1 - C2 (αμινοξέα 1690-2332). Η δομική περιοχή B δεν περιλαμβάνει τον ενεργό παράγοντα πήξης VIII. Η λειτουργία του FVIIIa στον καταρράκτη είναι να επιταχύνει (περίπου 105 φορές) την ενεργοποίηση FX παρουσία του FIXa, φωσφολιπιδίων και ιόντων ασβεστίου [79-81]. Μετά την ενεργοποίηση του παράγοντα VIII που προκαλείται από τη θρομβίνη, ο FVIIIa συνδέεται στην επιφάνεια του φωσφολιπιδίου και ξεκινά να επιδρά στον FIXa. Η απενεργοποίηση του FVIIIa είναι το αποτέλεσμα της διάσπασης των δομικών περιοχών A1 και A2 σε συγκεκριμένες περιοχές Arg336 και Arg562 από την ενεργή πρωτεΐνη C (APC) [82-84].



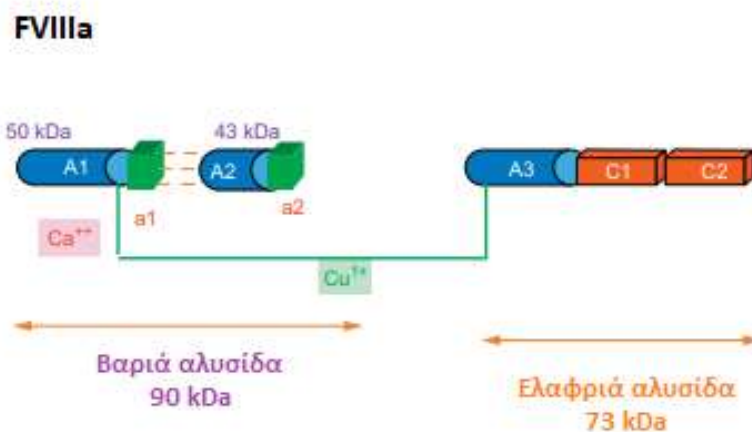
Εικόνα 14. Κυκλοφορούν λανθάνων (ανενεργός) FVIII, με απεικόνιση των θέσεων διάσπασης της θρομβίνης. Αυτή είναι η μορφή FVIII που συνδέεται με το vWF [Ανατύπωση από 26].

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ο παράγοντας VIII δομείται από έξι δομικές περιοχές οι οποίες περιγράφονται ως A1-A2-B-A3-C1-C2. Οι δομικές περιοχές A του παράγοντα πήξης VIII είναι ομόλογες με αυτές του παράγοντα πήξης V (FV) και της σερουλοπλασμίνης. Υπάρχουν τρεις δομικές περιοχές A εντός της δομής FVIII, οι A1, A2 και A3. Η δομική περιοχή A1 περιλαμβάνει 336 αμινοξέα, η A2 περιλαμβάνει 337 αμινοξέα και η A3 περιλαμβάνει 329 αμινοξέα. Βρέθηκε ότι κάθε δομική περιοχή αποτελείται από δύο εξαιρετικά συντηρημένες υπερσυζυγείς δομές, τα λεγόμενα βαρέλια-β. Οι δομικές περιοχές είναι ομόκεντρες και στρέφονται η μια προς την άλλη. Η δεύτερη δομική υποπεριοχή αλληλεπιδρά με την πρώτη, της ακόλουθης δομικής περιοχής, συνδεόμενες με δισουλφιδικούς δεσμούς [85]. Οι δύο δομικές περιοχές A1 και A3 περιέχουν ένα άτομο χαλκού [86]. Ο κύριος επίτοπος αντισώματος βρίσκεται στην περιοχή A2 σε θέσεις αμινοξέων 484–508, ενώ ένας άλλος τοποθετείται μεταξύ των αμινοξέων 558 και 565 επηρεάζοντας τον FIXα και είναι πιθανό να είναι ο κύριος καταλύτης της ενεργοποίησης αντίδρασης συμπαραγοντα και ενζύμων [81, 87-89]. Η δομική περιοχή A2 αποσυνδέεται πιο εύκολα στην ενεργή μορφή του παράγοντα VIII (FVIIIa) (Εικόνα 15) και σχηματίζεται μια πεπτιδική αλληλουχία στο τέλος της δομικής περιοχής A2 (θέσεις αμινοξέων 1810 έως 1818) με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας ειδικής θέσης σύνδεσης με τον FIX [90]. Μια επίσης συγκεκριμένη τοποθεσία δέσμησης του FX βρίσκεται στο τέλος της δομικής περιοχής A1 (θέσεις αμινοξέων 337 έως 372) [91], ενώ στη θέση Arg336 της δομικής περιοχής A1 και την θέση Arg562 της δομικής περιοχής A2 υπάρχει μια περιοχή δέσμησης για τη δραστική πρωτεΐνη C (APC), έναν αναστολέα της διαδικασίας της πήξης [92,93].

Η δομική περιοχή B, η οποία κατέχει το 40% της μάζας του FVIII, δεν επηρεάζει τη δραστηριότητα του παράγοντα VIII στη διαδικασία πήξης του αίματος. Τα φυσικά ή ανασυνδυασμένα ετεροδιμερή FVIII που έχουν διαγραφεί από την δομική περιοχή B

εμφανίζουν συγκρίσιμη ή ακόμη μεγαλύτερη δραστικότητα. Η κεντρική δομική περιοχή B είναι η μεγαλύτερη από όλες τις δομικές περιοχές και είναι εξαιρετικά γλυκοζυλιωμένη [94,95].

Υπάρχουν δύο δομικές περιοχές C εντός της δομής FVIII, οι C1 και C2. Η δομική περιοχή C1 και C2 περιλαμβάνει 153 και 160 αμινοξέα, αντίστοιχα. Η κρυσταλλική δομή της δομικής περιοχής C2 αποτελείται από β-sandwich περιοχές οι οποίες σχηματίζουν την εσωτερική δομή της δομικής περιοχής, συνδεδεμένες με β-φουρκέτες και βρόγχους που σχηματίζουν υδρόφοβη επιφάνεια. Στην κορυφή της πρώτης δομής της β-φουρκέτας είναι τα αμινοξέα Met2199 και Phe2200, τα οποία είναι δύο υδρόφοβα αμινοξέα συνδεδεμένα σε παρακείμενους βρόγχους και δείχνουν το μέσο της επιφάνειας της δομικής περιοχής C2 που είναι υπεύθυνη για τη σύνδεση φωσφολιπιδίων στον παράγοντα πήξης VIII. Στην αντίθετη πλευρά της δομικής περιοχής C2 υπάρχει μια περιοχή δέσμωσης των δομικών περιοχών C1 και A1. Οι δομικές περιοχές C αλληλοσυνδέονται σε θέσεις αμινοξέων 2.168-2.175 μέσω Met2176 και Thr2023 καθώς και μέσω αλληλεπιδράσεων των αμινοξέων Val2294s και Ser2029. Οι δομικές περιοχές C2 και A1 συνδέονται μέσω αμινοξέων Arg121 και Leu2302. Η δομική περιοχή C2 περιέχει επίσης δεσμευτικές τοποθεσίες για θρομβίνη και τον ενεργό παράγοντα Χα. Παρόλο που η δομική περιοχή C1 δεν παίζει συγκεκριμένο ρόλο στον παράγοντα πήξης VIII, η έρευνα που έχει πραγματοποιηθεί μέχρι στιγμής έχει δείξει ότι έχει αντίκτυπο στον παράγοντα von Willebrand και στην ενίσχυση της σύνδεσής του με την δομική περιοχή C2 [96,97].



Εικόνα 15. Ενεργοποιημένος FVIIIa. Ο παράγοντας vWF απελευθερώνεται από αυτήν την σχισμένη και ενεργοποιημένη μορφή του VIII λόγω της απώλειας της δομικής περιοχής A3 [Ανατύπωση από 26].

3.10 Παράγοντας IX ή αντιαιμοροφιλικός παράγοντας β

Ο FIXa είναι μια πρωτεάση και σχηματίζει μια σταθερή τενάση με συνεργάτη τον ενεργοποιημένο παράγοντα FVIIIa (η οποία δεν έχει ενδογενή ενζυματική δράση). Οι

συγκεντρώσεις του FIX στο πλάσμα είναι περίπου 100 φορές υψηλότερες από του FVIII. Ο FIX κωδικοποιείται από ένα γονίδιο 34kb στον μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος Χq27.1 [98-100]. Η ώριμη μορφή του παράγοντα IX, η οποία εκκρίνεται από ηπατοκύτταρα, έχει μήκος 415 καταλοίπων με μοριακή μάζα 57kDa (Εικόνα 16), ενώ η πρόδρομη μορφή του παράγοντα IX έχει μήκος 461 αμινοξέων πριν από την αφαίρεση ενός σηματοδοτικού πεπτιδίου 28 αμινοξέων και ενός προπεπτιδίου οδηγού 18 αμινοξέων. Όπως και οι παράγοντες VII, X και πρωτεΐνη C, έτσι και το πολυμερές FIX περιέχει δομικές περιοχές με την εξής ακολουθία: GLA-EGF1-EGF2-Πρωτεάση. Η δομική περιοχή GLA περιέχει 12 κατάλοιπα γλουταμινικού οξέος τα οποία καρβοξυλιώνονται σε κατάλοιπα «Gla». Ο παράγοντας IX ενεργοποιείται [98-100], σχηματίζοντας FIXa, με την διάσπαση ενός πεπτιδίου ενεργοποίησης στην θέση Arg 145 και στη συνέχεια στην θέση Arg 180. Ο FIX μπορεί να ενεργοποιηθεί είτε από το σύμπλεγμα TF (ιστικού παράγοντα) / FVII είτε από τον FXIa. Ο FIXa απαρτίζεται από μια ελαφριά αλυσίδα (GLA-EGF1-EGF2) και μια βαριά αλυσίδα (πεδίο πρωτεάσης). Αυτές οι δύο αλυσίδες συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικό δεσμό. Η ενεργοποίηση του FIX γίνεται με ένα από τα δύο μονοπάτια. Μέσω του ενδογενούς μονοπατιού, ο FIX ενεργοποιείται από το FXIa. Η σημασία αυτού του παραδοσιακού τρόπου ενεργοποίησης *in vivo* παραμένει ασαφής, αλλά πιθανότατα έχει κάποιο ρόλο στην ενεργοποίηση του FIX. Μέσω του εξωγενούς μονοπατιού ο παράγοντας FIX μπορεί ενεργοποιηθεί από το σύμπλοκο FVII / ιστικού παράγοντα ενεργοποιώντας τον καταρράκτη της πήξης [26].

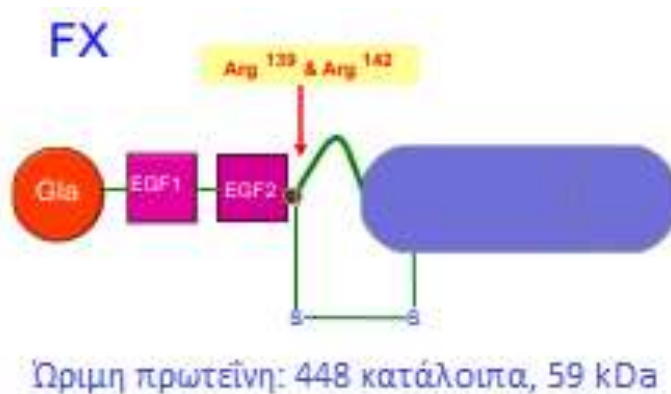


Εικόνα 16. Δομή του παράγοντα IX [Ανατύπωση από 26].

3.11 Παράγοντας X ή προθρομβινάση

Ο παράγοντας X είναι ένα μόριο 448 αμινοξέων και μοριακού βάρους 59kDa (Εικόνα 17) καθώς και αποτελεί ένα εξαιρετικής σημασίας μόριο στην «κοινή οδό» της πήξης [101-103]. Είναι μέλος της οικογένειας GLA-EGF1-EGF2-Πρωτεάση, όπου η δομική περιοχή GLA περιέχει 11 καρβοξυλιωμένα κατάλοιπα Gla. Παράγεται από τα ηπατοκύτταρα με μια πρόδρομη μορφή αποτελούμενη από 488 αμινοξέα. Ένα πεπτίδιο σήματος 31 αμινοξέων και ένας οδηγός 9 αμινοξέων αφαιρούνται μετά τη μετάφραση. Η μέση συγκέντρωσή του στο πλάσμα είναι περίπου 170 nM. Ο παράγοντας X ενεργοποιείται σε

Χα είτε από το σύμπλεγμα TF / FVIIa (μονοπάτι έναρξης), είτε από το FVIIIa / IXa (οι δύο «παράγοντες αιμοφιλίας» της οδού διάδοσης). Η ενεργοποίηση του FX συνεπάγεται διάσπαση του πεπτιδίου ενεργοποίησης σε διάφορες τοποθεσίες. Υπάρχουν δύο τοποθεσίες διάσπασης N-τερματικών θέσεων (Arg 139 και Arg 142, κοντά στην δομική περιοχή EGF2) και μία C-τερματική θέση Arg 194 στη διασταύρωση με την δομική περιοχή της πρωτεάσης. Όπως και το άλλο μέλος αυτής της ομάδας παραγόντων, ο ενεργοποιημένος παράγοντας αποτελείται από μια N-τερματική ελαφριά αλυσίδα (GLA-EGF1-EGF2) η οποία συνδέεται με δισουλφιδικό δεσμό με την C-τερματική βαριά αλυσίδα που περιέχει την δομική περιοχή της πρωτεάσης. Ο παράγοντας Χα σχηματίζει ένα σύμπλοκο το οποίο συνδέεται με μεμβράνη με τον παράγοντα Va. Το σύμπλοκο αυτό είναι ανάλογο στη δομή και τη λειτουργία με το σύμπλεγμα αιμοφιλίας FVIIIa / FXa. Το σύμπλοκο FVa / Χα σχηματίζει την κύρια προθρομβινάση, η οποία μετατρέπει τον παράγοντα II σε ενεργή θρομβίνη [101].



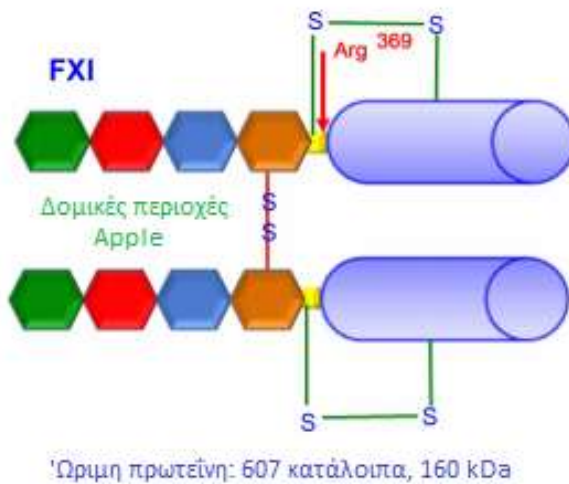
Εικόνα 17. Δομή του παράγοντα X [Ανατύπωση από 26].

3.12 Παράγοντας XI

Ο παράγοντας XI (FXI) είναι το ζυμογόνο του παράγοντα πήξης πρωτεάσης XIa (FXIa) [104,105]. Στους ανθρώπους, η πρωτεΐνη κυκλοφορεί στο πλάσμα σε συγκέντρωση περίπου 30 nM (15-45 nM) σχεδόν εξ ολοκλήρου ως μη ομοιοπολικό σύμπλεγμα με το υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο γλυκοπρωτεΐνης (HMWK) [106-108]. Το γονίδιο που κωδικοποιεί τον παράγοντα αυτόν εντοπίζεται στη θέση 4q35.2 και το μονομερές συστατικό του είναι μια πρωτεΐνη 607 αμινοξέων. Η δομική περιοχή GLA απουσιάζει και αντ' αυτού υπάρχουν τέσσερις δομικές περιοχές Apple καθεμία από τις οποίες αποτελείται κατά μέσο όρο από 85 αμινοξέα. Η περιοχή της πρωτεάσης παρουσιάζει ομοιότητες με τις δομικές περιοχές πρωτεάσης άλλων πρωτεολυτικών παραγόντων πήξης. Ο διμερισμός επιτυγχάνεται μέσω μιας μονής γέφυρας δισουλφιδίου μεταξύ των τεσσάρων δομικών περιοχών Apple, συγκεκριμένα της κυστεΐνης 321 (Εικόνα 18).

Η ενεργοποίηση του FXI στην μορφή FXIa γίνεται μέσω πρωτεολυτικής διάσπασης στο

σημείο Arg 369. Προκύπτει το ενεργό ομοδιμερές που αποτελείται από δύο βαριές αλυσίδες και δύο ελαφρές αλυσίδες που συνδέονται με έναν δεσμό δισουλφιδίου ενδοχυσίνης. Στην προκειμένη περίπτωση, σε αντίθεση με τους παράγοντες VII, IX, X, η ελαφριά αλυσίδα σχηματίζεται από την δομική περιοχή της πρωτεάσης (κατάλοιπα 370-607), ενώ η βαριά αλυσίδα σχηματίζεται από τις τέσσερις δομικές περιοχές Apple (κατάλοιπα 1-369). Η ενεργοποίηση του FXI μπορεί να προκύψει είτε από τη θρομβίνη ή από τον παράγοντα XIIa. Πιθανότερος ενεργοποιητής του παράγοντα XI στην αιμόσταση είναι η θρομβίνη. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια της ανάλυσης APTT, ο FXI ενεργοποιείται αντ' αυτού από τον FXIIa υποδηλώνοντας ότι *in vivo*, η ενεργοποίηση του FXI από τον FXIIa μπορεί να έχει σημασία σε ορισμένες παθολογικές θρομβωτικές καταστάσεις όπως η αρτηριακή θρόμβωση λόγω βλάβης του ενδοθηλίου [26,109].



Εικόνα 18. Δομή του παράγοντα XI, όπου απεικονίζεται η διμερής μορφή του [Ανατύπωση από 26].

3.13 Παράγοντας XII ή παράγοντας Hageman

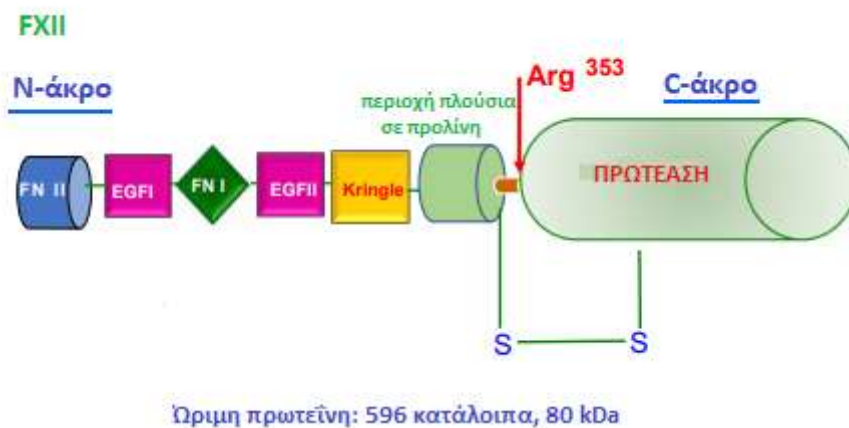
Ο παράγοντας XII (FXII ή παράγοντας Hageman) είναι μια πρωτεάση σερίνης η οποία παράγεται κυρίως στο ήπαρ και κυκλοφορεί στο πλάσμα σε συγκέντρωση 40 μg/mL ως ζυμογόνο μιας αλυσίδας [110]. Αποτελείται από μια αμινοτερματική βαριά αλυσίδα 50kDa και μια ακρυλοξυ-τερματική ελαφριά αλυσίδα 28 kDa, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με έναν δισουλφιδικό δεσμό [111].

Η βαριά αλυσίδα του FXIIa αποτελείται από έξι δομικές περιοχές ξεκινώντας από ένα πεδίο ινονεκτίνης τύπου II, έναν επιδερμικό αυξητικό παράγοντα τύπου EGF, μια δομική περιοχή ινονεκτίνης τύπου I, μια δεύτερη δομική περιοχή τύπου EGF, μια περιοχή kringle και μια περιοχή πλούσια σε προλίνη [112]. Παρόλο που οι βαριές αλυσίδες του παράγοντα FXIIa έχουν εντοπιστεί, δεν έχουν αναγνωριστεί πλήρως οι λειτουργικές τους ιδιότητες. Έχουν ανιχνευθεί θέσεις επιφανειακής δέσμησης στην περιοχή ινονεκτίνης

τύπου II και τύπου I, στην περιοχή kringle και στην δεύτερη δομική περιοχή τύπου EGF [113-118]. Η πρώτη δομική περιοχή EGF έχει αποδειχθεί ότι περιέχει αλληλουχίες δέσμησης για τον Zn^{2+} [119,120], ο οποίος διευκολύνει τη σύνδεση του παράγοντα XII σε ανιονικές επιφάνειες και την ενεργοποίησή του. Η ελαφριά αλυσίδα του παράγοντα XIIa περιέχει την καταλυτική τριάδα His393-Asp442-Ser544 (Εικόνα 19) [112].

Πρέπει να αναφερθεί ότι η ενεργοποίηση του παράγοντα XII προκύπτει μετά από επαφή με ανιονικές επιφάνειες όπως εξωκυτταρικό RNA [121], ενδοτοξίνη [122], εξωκυτταρικές παγίδες ουδετερόφιλων (NETs) [123], πολυφωσφορικά που απελευθερώνονται από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια [124], κολλαγόνο που εκτίθεται σε τραυματισμένο ενδοθήλιο [125], ηπαρίνη που εκκρίνεται από μαστοκύτταρα [126], και φωσφατιδυλοσερίνη σε αποπτωτικά κύτταρα [127]. Ο κύριος φυσιολογικός αναστολέας του παράγοντα XIIa είναι ο αναστολέας εστεράσης C1 (C1INH) [128,129]. Ωστόσο, ο αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου τύπου 1 [130], η $\alpha 1$ -αντιπρυψίνη [131], η αντιθρομβίνη III [132,133], η $\alpha 2$ μακροσφαιρίνη [134], και η $\alpha 2$ αντιπλασμίνη [135-138], μπορούν επίσης να αναστείλουν τον FXIIa, αν και σε πολύ χαμηλότερο βαθμό.

Ο παράγοντας XIIa ενεργοποιεί το σύστημα καλλικρεΐνης-κινίνης μέσω του οποίου απελευθερώνεται βραδυκίνη (BK) από κινινογόνο υψηλού μοριακού βάρους (HMWK) [139,140]. Επιπλέον, ξεκινά την ενδογενή οδό πήξης του αίματος μέσω ενεργοποίησης του παράγοντα XI (FXI) [141,142], ξεκινά την ινωδόλυση μέσω ενεργοποίησης της ουροκινάσης μέσω της PKa [143] και ενεργοποιεί τις εστεράσες C1 (τα πρώτα συστατικά του μακρομοριακού συμπλόκου C1 του κλασικού καταρράκτη συμπληρώματος) [144].



Εικόνα 19. Δομή του παράγοντα πήξης XII ή παράγοντα Hageman [Ανατύπωση από 26].

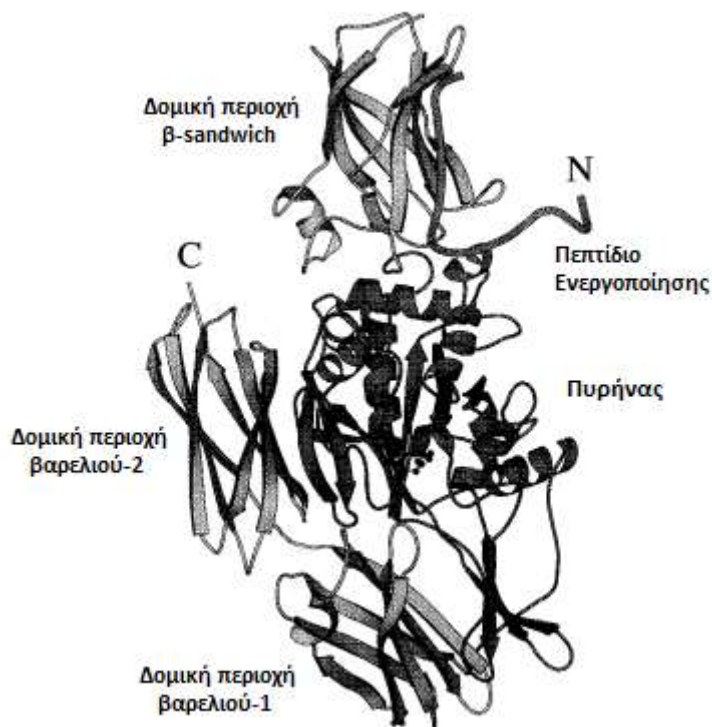
3.14 Παράγοντας XIII

Ο παράγοντας XIII είναι το τελευταίο ένζυμο που ενεργοποιείται στον καταρράκτη της πήξης και καταλύει τη διασύνδεση των μορίων ινώδους. Ακόμη μια λειτουργία του είναι η σύνδεση ινώδους με πρωτεΐνες της εξωκυτταρικής μήτρας και η σταθεροποίηση του

αναπτυσσόμενου θρόμβου με άλλα συστατικά της πήξης στη θέση του τραυματισμού. Ο παράγοντας XIII είναι μια τρανσγλουταμινάση: σχηματίζει έναν αμιδικό δεσμό μεταξύ των πλευρικών αλυσίδων γλουταμίνης και λυσίνης [145].

Ο παράγοντας XIII έχει μοριακό βάρος 325 kDa [26] και κάθε μονομερές απαρτίζεται από τέσσερις δομικές περιοχές: μια περιοχή β-sandwich, έναν πυρήνα και 3 δομικές περιοχές βαρελιού (barrel) (Εικόνα 20). Οι δύο δομικές περιοχές β-βαρελιού, εμφανίζουν πτυχές ινονεκτίνης παρά την αμελητέα ομολογία αλληλουχίας μεταξύ τους ή με άλλες δομικές περιοχές ινονεκτίνης III [146]. Στον πυρήνα του FXIII εντοπίζεται η ενεργός θέση. Η τελευταία διαθέτει μια ομάδαθειόλης, Cys314, η οποία είναι μέρος μιας καταλυτικής τριάδας μαζί με την His373 και την Asp396. Η τριάδα αυτή θυμίζει αρκετά εκείνη των πρωτεασών θειόλης που μοιάζουν με παπαΐνη. Η υπέρθεση των ενεργών θέσεων αποκαλύπτει ότι η ενεργή α-έλικα και οι τέσσερις β-κλώνοι διατηρούνται μεταξύ της πρωτεάσης και της τρανσγλουταμινάσης [147].

Η ενεργοποίηση του παράγοντα XIII επιτυγχάνεται μέσω διάσπασης που καταλύεται από την θρομβίνη στη θέση Arg37. Το πεπτίδιο ενεργοποίησης μιας υπομονάδας καθιστά την ενεργή θέση της δεύτερης υπομονάδας απρόσιτη [145]. Η ίδια η θέση διάσπασης δεν παρατηρείται και φαίνεται να είναι αρκετά ευέλικτη. Θεωρείται, επίσης, ότι η διασύνδεση μακρομοριακών υποστρωμάτων απαιτεί μετατόπιση του ενός ή και των δύο δομικών περιοχών β-βαρελιού [145, 147].

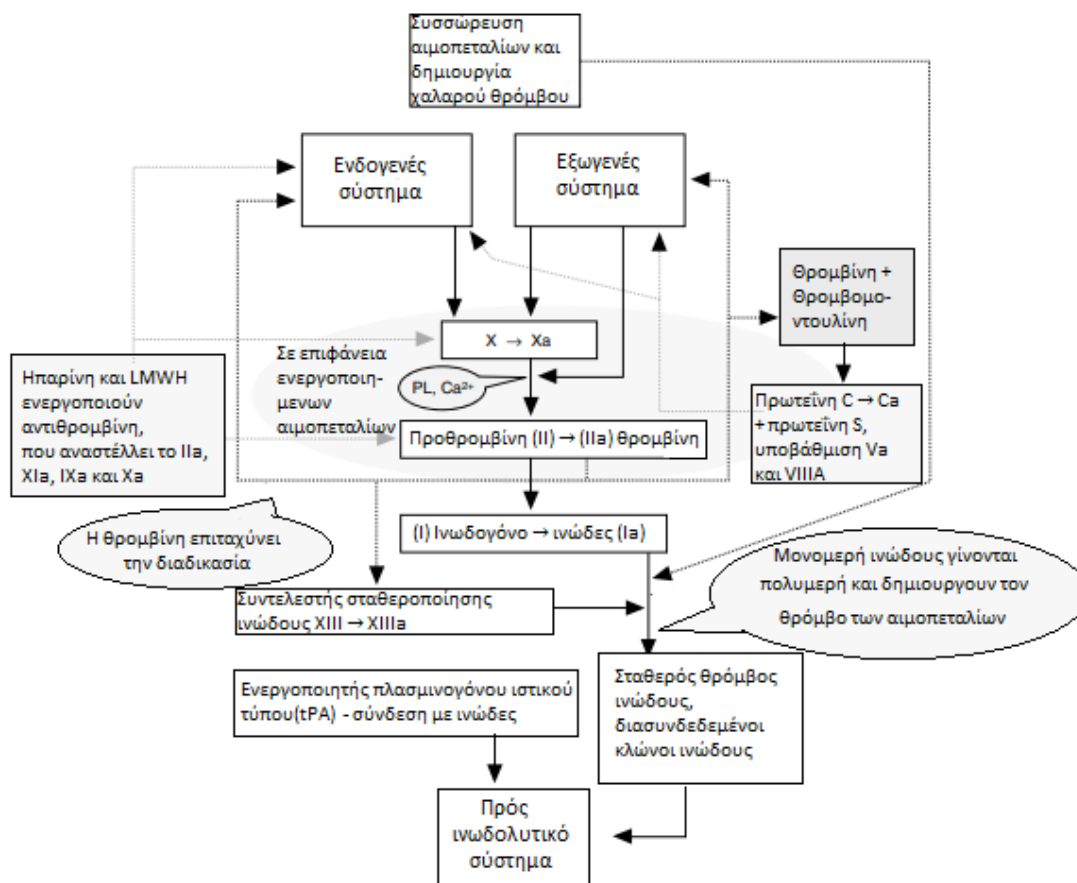


Εικόνα 20. Διάγραμμα όπου απεικονίζεται η δομή του μονομερούς παράγοντα XIII. Ξεκινώντας από το αμινοτελικό άκρο, οι τέσσερις δομικές περιοχές είναι: η περιοχή β-

sandwich, η περιοχή του πυρήνα και οι περιοχές βαρελιού-1 και βαρελιού-2. Το πεπτίδιο αμινοτερματικής ενεργοποίησης (με την ένδειξη N) προέρχεται από το δεύτερο μονομερές (το οποίο δεν απεικονίζεται) [Ανατύπωση από 146].

Κεφάλαιο 4: Ο καταρράκτης της πήξης

Η αρχική ενεργοποίηση του καταρράκτη πυροδοτεί μια αλυσιδωτή αντίδραση που ενισχύεται λογαριθμικά. Για παράδειγμα, εάν στο βήμα 1 της διαδικασίας, παραχθούν 1.000 μόρια, μετά στο ακόλουθο βήμα θα παραχθούν άλλα 1.000 μόρια, με αποτέλεσμα στο τέλος του βήματος αυτού να έχουμε 1.000^2 ή 1 εκατομμύριο μόρια. Έτσι, ο καταρράκτης της πήξης καθώς προχωρά, ενισχύεται. Κάτι τέτοιο, εάν η ισχύς του καταρράκτη συνεχιζόταν ανεξέλεγκτα, θα μπορούσε να δημιουργήσει σοβαρό πρόβλημα. Τα αρχικά σήματα για τον σχηματισμό θρόμβων, ωστόσο, ενεργοποίησαν εκτός από τον καταρράκτη ένα άλλο σύνολο παραγόντων οι οποίοι απενεργοποιούν τη διαδικασία λίγο μετά την έναρξή του, για την αποφυγή υπερβολικού σχηματισμού θρόμβων. Μόλις πραγματοποιηθεί τυχόν τραυματισμός στο αιμοφόρο αγγείο, υπάρχουν τρεις τρόποι για να ξεκινήσει η πήξη: μέσω της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, μέσω ενεργοποίησης επαφής, η οποία πυροδοτεί την εγγενή οδό και, τέλος, μέσω της απελευθέρωσης του ιστικού παράγοντα (TF), ενεργοποιώντας την εξωγενή οδό. Η ενδογενής και εξωγενής οδός συναντιούνται σε ένα κοινό σημείο και, από εκείνο το σημείο και έπειτα, το μονοπάτι αναφέρεται ως το κοινό μονοπάτι (Εικόνα 21). Οι περισσότερες από τις αντιδράσεις που εμφανίζονται λαμβάνουν χώρα στους υποδοχείς στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων ή των ενδοθηλιακών κυττάρων [9].

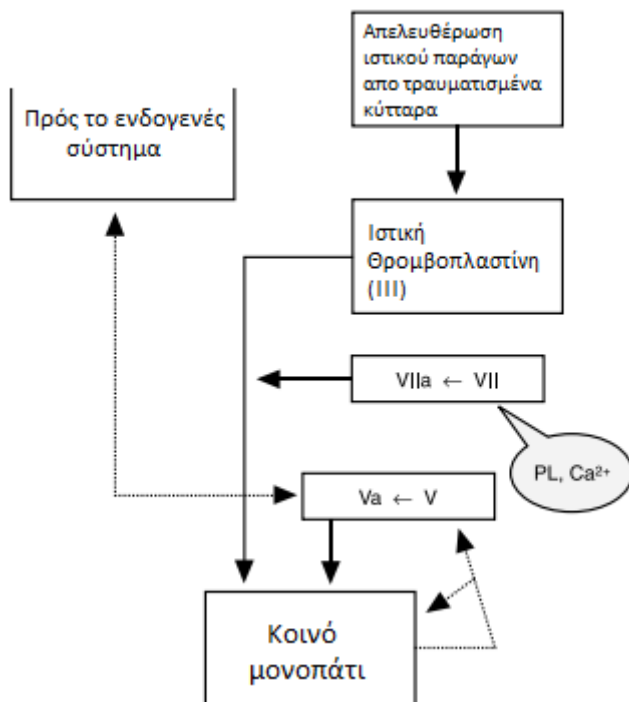


Εικόνα 21. Το κοινό μονοπάτι του καταρράκτη της πήξης [Ανατύπωση από 9].
 Ca^{2+} : Ασβέστιο, PL: Φωσφολιπίδια προερχόμενα από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια.

4.1 Εξωγενές μονοπάτι

Όταν το τοίχωμα αγγείου έχει υποστεί ζημιά, ο ιστικός παράγοντας εκτίθεται. Αυτή η πρωτεΐνη δεν εκφράζεται κανονικά στην επιφάνεια των αγγειακών κυττάρων και είναι απαραίτητη για την παραγωγή του ενεργοποιημένου παράγοντα VII. Το σύμπλεγμα του ενεργοποιημένου παράγοντα VII με τον TF ενεργοποιεί με τη σειρά του τους παράγοντες X και IX. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας IX ενεργοποιεί επίσης τον παράγοντα X. Αυτή η άμεση και έμμεση ενεργοποίηση του παράγοντα X είναι σημαντική λόγω της πεπερασμένης ποσότητας TF που παράγεται *in vivo* και της παρουσίας μιας οδού αναστολέα που ονομάζεται αναστολέας μονοπατιού TF (TFPI), ο οποίος αποκλείει το σύμπλοκο TF / FVIIa. Το παραπάνω έχει ως αποτέλεσμα η παρατεταμένη παραγωγή θρομβίνης να εξαρτάται από την ενεργοποίηση του παράγοντα IX και του συμπαράγοντά του, του παράγοντα VIII. Με τη σειρά του, ο παράγοντας VIII ενεργοποιείται τόσο από τον παράγοντα Xa όσο και από τη θρομβίνη. Ο παράγοντας IX ενεργοποιείται με ενεργοποίηση του παράγοντα XI που προκαλείται από θρομβίνη. Επομένως, καθώς σχηματίζονται ο παράγοντας Xa και η θρομβίνη, υπάρχει μια προοδευτική αύξηση του παράγοντα VIII και του παράγοντα IX [148-151]. Η ενεργοποίηση του παράγοντα X

συμβαίνει τόσο άμεσα όσο και έμμεσα. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας X προσεγγίζει ενεργοποιημένα αιμοπετάλια για την απελευθέρωση του παράγοντα V από τα κοκκία τους. Ο παράγοντας V διασπάται από τη θρομβίνη, σχηματίζοντας τον ενεργοποιημένο παράγοντα V, ο οποίος με τη σειρά του συνδέεται με τον παράγοντα Xa [152]. Ο παράγοντας Xa φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη συγκρότηση του συμπλόκου προθρομβινάσης [153]. Μόλις ο παράγοντας Xa συνδεθεί με τον παράγοντα Va στην επιφάνεια των φωσφολιπιδίων των αιμοπεταλίων, σχηματίζει το σύμπλοκο προθρομβινάσης, το οποίο μετατρέπει την προθρομβίνη (παράγοντας II) σε θρομβίνη (παράγοντας IIa) [154]. Η θρομβίνη με τη σειρά της, μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες και οδηγεί σε ένα σύμπλεγμα θρομβίνης, ινώδους και παράγοντα XIII, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίησή του σε XIIIa. Ο παράγοντας XIIIa σταθεροποιεί τις διασταυρούμενες συνδέσεις των αλληλεπικαλυπτόμενων κλωστών ινώδους, ασφαλίζει τον θρόμβο και παγιδεύει το πύμα αιμοπεταλίων (Εικόνα 22) [20, 23, 27, 155, 156].

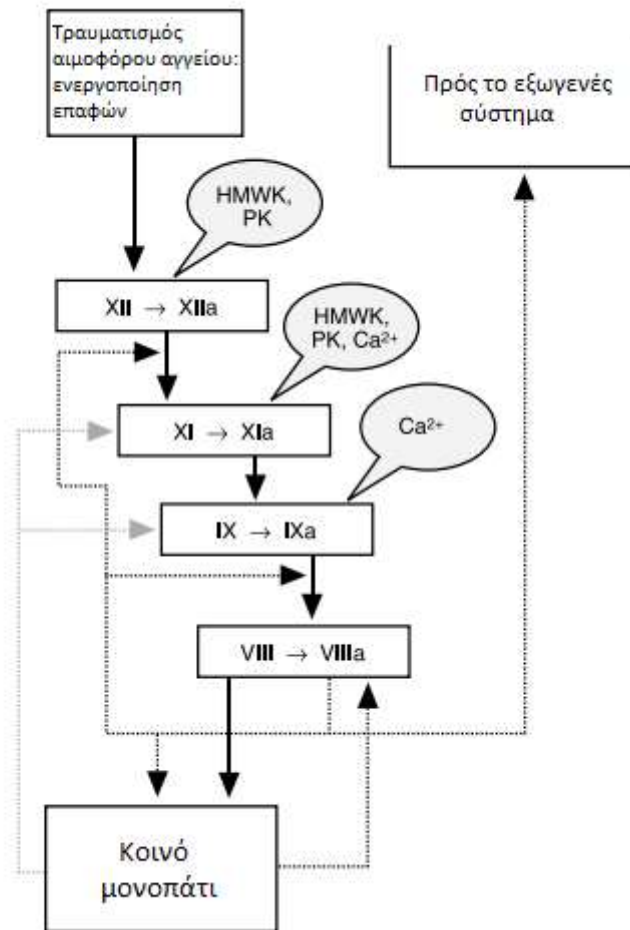


Εικόνα 22. Το εξωγενές μονοπάτι του καταρράκτη της πήξης [Ανατύπωση από 9].
Ca²⁺ : Ασβέστιο, PL: Φωσφολιπίδια προερχόμενα από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια.

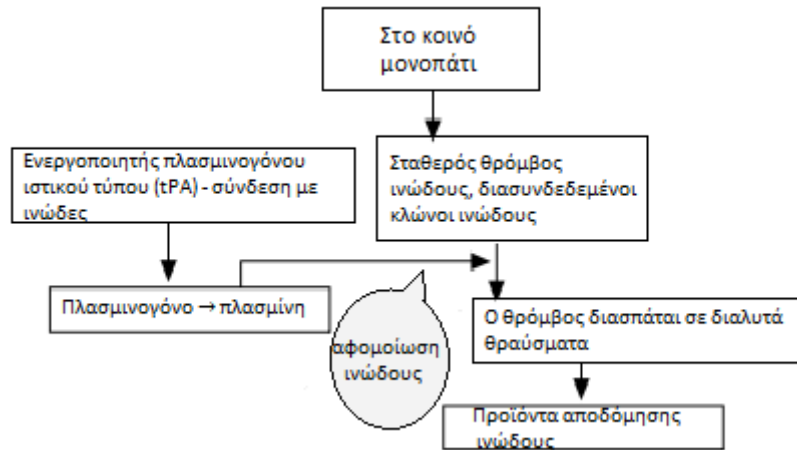
4.2 Ενδογενές μονοπάτι

Επίσης γνωστή ως οδός ενεργοποίησης επαφής, αποτελεί και η εγγενής οδός, η οποία αποτελείται από πρωτεΐνες πλάσματος (παράγοντας XII, προκαλλικρεΐνη και υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο) που ενεργοποιούνται από αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες, παράγοντας την παρακάτω ακολουθία. Ο παράγοντας VIII ενεργοποιείται τόσο από τον ενεργοποιημένο παράγοντα X όσο και από τη θρομβίνη. Η ενεργοποίηση

του παράγοντα VIII αυξάνεται καθώς σχηματίζονται όλο και περισσότεροι ενεργοποιημένοι παράγοντες X και θρομβίνη. Η θρομβίνη, επίσης, αυξάνει την παραγωγή ενεργοποιημένου παράγοντα IX μέσω της ενεργοποίησης του παράγοντα XI (Εικόνα 23) [148, 157, 158].



Εικόνα 23. Το ενδογενές μονοπάτι του καταρράκτη της πήξης [Ανατύπωση από 9].
 Ca^{2+} : Ασβέστιο, PK: Προκαλλικρεΐνη, HMWK: Υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο.



Εικόνα 24. Το ινωδολυτικό σύστημα του καταρράκτη της πήξης (βλ. ενότητα 1.4) [Ανατύπωση από 9].

Κεφάλαιο 5: Αναστολείς της πήξης

Στο κεφάλαιο αυτό πραγματοποιείται μια επισκόπηση της ηπαρίνης, της αντιθρομβίνης III (AT III), της ιρουδίνης και του αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI). Κάτι τέτοιο αποσκοπεί στην σύγκριση των ανασταλτικών μηχανισμών για κάθε ένα από τα παραπάνω μόρια. Τα τελευταία προκύπτουν όλα με φυσικό τρόπο, δηλαδή δεν είναι συνθετικά. Η ιρουδίνη, βέβαια, παράγεται μόνο από συγκεκριμένα τμήματα ασπόνδυλων, αλλά αναφέρεται διότι είναι ζωτικής σημασίας για τον καταλυτικό μηχανισμό της θρομβίνης. Η αντιθρομβίνη III και ο TFPI αναστέλλουν παράγοντες οι οποίοι εκδηλώνουν τη λειτουργία τους μέσω πρωτεολυτικής δράσης. Ωστόσο, υπάρχουν παράγοντες οι οποίοι δεν έχουν δραστηριότητα πρωτεάσης και δεν ομοιάζουν ως προς τις δομικές περιοχές τους με τους άλλους παράγοντες πήξης, όπως είναι οι παράγοντες V και VIII. Για το λόγο αυτό, ο έλεγχος και η απενεργοποίηση των τελευταίων διεκπεραιώνεται από την πρωτεΐνη C, η οποία διαθέτει στενή ομολογία με τους παράγοντες VII, IX και X καθώς και έχει τη δυνατότητα να διασπάσει τόσο τον παράγοντα V όσο και τον VIII. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (aPC) απαιτεί για την πλειονότητα των δράσεών της έναν όχι και τόσο σχετικό παράγοντα, ο οποίος καλείται πρωτεΐνη S [26].

5.1 Ηπαρίνη

Η ηπαρίνη ανήκει στις γλυκοζαμινογλυκάνες (GAG) και εντοπίζεται στα κοκκία των μαστοκυττάρων των ιστών, τα οποία είναι άφθονα στο έντερο, το ήπαρ και τους πνεύμονες [2, 3, 159]. Ο τρόπος με τον οποίο ασκεί η ηπαρίνη την αντιπηκτική της δράση είναι μέσω δέσμευσης στην πρωτεΐνη αντιθρομβίνης III (AT), με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά η ικανότητα της τελευταίας να αναστέλλει τις πρωτεάσες πήξης. Ως ακολούθως, αναστέλλονται κρίσιμα στάδια του καταρράκτη της πήξης και

προλαμβάνεται ιδιαίτερα ο σχηματισμός θρόμβων.

Η φυσικώς προκύπτουσα ηπαρίνη [160] εντός των κοκκίων των μαστοκυττάρων, διαθέτει έναν πεπτιδικό πυρήνα ο οποίος συντίθεται από γλυκίνη και σερίνη. Ο πολυσακχαρίτης αποτελείται από εναλλαγή θειικής D-γλυκοζαμίνης και θειικού ουρονικού οξέος, περίπου το 90% είναι L-ιδουρονικό οξύ και το 10% είναι γλυκουρονικό οξύ [160]. Ο πολυσακχαρίτης είναι επίσης εξαιρετικά ανιονικός και με αρκετές ομάδες θείου. Ο φυσιολογικός ρόλος της ηπαρίνης των μαστοκυττάρων πιθανόν δεν είναι αντιπηκτικός, αλλά ίσως να είναι το να συσκευάζει και να αποθηκεύει εκκριτικές κοκκώδεις ενώσεις όπως είναι οι ειδικές πρωτεάσες των ιστιοκυττάρων/μαστοκυττάρων [161].

Μια σχετική γλυκοζαμινογλυκάνη (GAG) είναι η θειική ηπαρίνη, η οποία αποτελεί ένα φυσιολογικό αντιπηκτικό. Εντοπίζεται εξωκυττάρια επάνω σε κυτταρικές επιφάνειες, συμπεριλαμβανομένων των ενδοθηλιακών κυττάρων, όπου εκφράζεται από διαμεμβρανικές πρωτεΐνες της οικογένειας συνδεκανών. Η θειική ηπαρίνη σχετίζεται δομικά με την ηπαρίνη με την διαφορά ότι διαθέτει λιγότερες θειικές ομάδες. Τα φαρμακευτικά παρασκευάσματα της ηπαρίνης, έχουν εξαλείψει το μεγαλύτερο μέρος της θειικής ηπαρίνης [26].

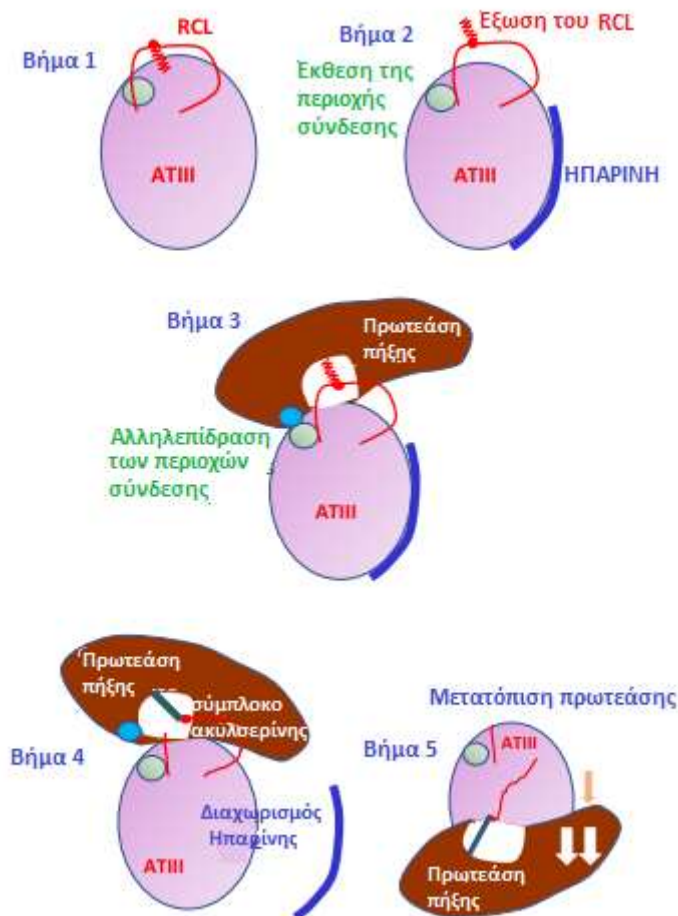
Η φυσικώς προκύπτουσα ή “μη κλασματοποιημένη” φαρμακευτική ηπαρίνη αποτελείται από πολυσακχαρίτες οι οποίοι κυμαίνονται σε μέγεθος από 10 έως και πάνω από 100 μονάδες σακχαρίτη (μοριακό βάρος 3000-30.000 Da με μέσο μοριακό βάρος 12.000 Da). Αντιθέτως, η φαρμακευτική ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους (πχ ενοξαπαρίνη) έχει μέσο μέγεθος 3.000-7.000 Da (αποτελούμενη από περίπου 10-23 μονάδες σακχαρίτη). Μια μονάδα πυρήνα πεντασακχαρίτη αποτελείται από τρεις D-γλυκοζαμίνες και δύο υπολείμματα ουρονικού οξέος και είναι απαραίτητη και ικανή για τη δέσμευση της ηπαρίνης στην αντιθρομβίνη. Το κεντρικό κατάλοιπο D-γλυκοζαμίνης του πυρήνα αυτού είναι θειωμένο. Μόνο περίπου το ένα τρίτο των αλυσίδων της μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης περιέχουν αυτόν τον απαραίτητο πεντασακχαρίτη [26].

5.2 Αντιθρομβίνη III

Η αντιθρομβίνη III (ATIII ή AT) (Εικόνα 25), είναι ένα μόριο 432 αμινοξέων και μοριακού βάρους 58 kDa. Η σύνθεσή της πραγματοποιείται στο ήπαρ και είναι μέλος της οικογένειας των αναστολέων πρωτεασών σερίνης ή αλλιώς της οικογένειας “σερίνης”. Οι συγκεντρώσεις της αντιθρομβίνης στο πλάσμα είναι διπλάσιες από τη μέγιστη συγκέντρωση της θρομβίνης (περίπου 2,3 - 3,2 μM αντιθρομβίνης σε σύγκριση με 1,4 μM θρομβίνης). Η αντιθρομβίνη εξουδετερώνει αποτελεσματικά σχεδόν όλες τις πρωτεάσες σερίνης οι οποίες σχετίζονται με την αιμοστατική διαδικασία. Υπό την παρουσία της μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης, η αντιθρομβίνη μπορεί να αναστείλει τη θρομβίνη (FIIa), τον παράγοντα FXa, FIXa, FXIa και FXIIa.

Μερικές φορές οι σερπίνες παρουσιάζονται ως αυλακώσεις στο ενεργό κέντρο της πρωτεάσης στόχου, όπως και ένας φαρμακευτικός αναστολέας. Κάτι τέτοιο όμως δεν είναι ορθό: οι σερπίνες είναι μη αναστρέψιμοι “αναστολείς αυτοκτονίας” των στόχων τους [162-164]. Όλες οι σερπίνες, περιέχουν τρία βήτα φύλλα (τα οποία χαρακτηρίζονται ως A, B και C) καθώς και 7-9 άλφα έλικες που ορίζονται από το «A» έως «I». Στην περίπτωση της αντιθρομβίνης III υπάρχουν εννέα τέτοιες έλικες. Βασικό κομμάτι του μορίου της σερπίνης αποτελεί ο “αντιδραστικός κεντρικός βρόγχος” ή η “αντιδραστική θέση βρόγχου” (RCL ή RSL - “**R**eactive **C**enter **L**oop” ή “**R**eactive **S**ite **L**oop”), το οποίο αλληλεπιδρά με την πρωτεάση στόχο και σχηματίζει ένα μη αναστρέψιμο σύμπλοκο με τον στόχο αυτό [162-164]. Ο “αντιδραστικός κεντρικός βρόγχος” (RCL), αποτελεί μια ευέλικτη έκταση περίπου 20 αμινοξέων. Στην αντιθρομβίνη, το RCL βρίσκεται κοντά στο C-άκρο του μορίου και περιλαμβάνει, κατά προσέγγιση, κατάλοιπα 377-400 αμινοξέων [26].

Στην περίπτωση όπου η γλυκοζαμινογλυκάνη απουσιάζει, το RCL εισάγεται μερικώς μέσα στο “A” βήτα φύλλο. Εάν η ηπαρίνη ή η θειική ηπαρίνη συνδέεται με την αντιθρομβίνη, το RCL αποβάλλεται από το “A” βήτα φύλλο και ακολούθως οδηγείται μακριά από το σώμα της σερπίνης. Η ηπαρίνη μπορεί να θεωρηθεί ως ένας αλλοστερικός ενεργοποιητής της αντιθρομβίνης.



Εικόνα 25. Ο μηχανισμός δράσης της αντιθρομβίνης III. Μετά τη δέσμευση της ηπαρίνης ή της θεικής ηπαρίνης (βήμα 2), μια αργινίνη στο RCL καθώς και τα πλευρικά αμινοξέα, είναι διαθέσιμα ώστε να αντιδράσουν με τον στόχο της πρωτεάσης σερίνης. Έπειτα, η σερίνη στην θέση αντίδρασης της πρωτεάσης, αντιδρά με το RCL, σχηματίζοντας ένα ενδιάμεσο σύμπλοκο ακυλίου. Αυτό ακολουθείται από διάσπαση του δεσμού P1-P10 μεταξύ Arg393 και Ser 394. Στο σημείο αυτό, ο αποσυνδεδεμένος αντιδραστικός βρόχος εισάγεται στο "A" βήτα φύλλο και η ηπαρίνη διαχωρίζεται (βήμα 3 και βήμα 4). Η επανεισαγωγή του αντιδραστικού βρόχου μετατοπίζει όλο το σύνολο της προσδεμένης πρωτεάσης σερίνης στο αντίθετο άκρο της αντιθρομβίνης (βήμα 5) [Ανατύπωση από 26].

5.3 Ιρουδίνη

Η ιρουδίνη [165,166] είναι ένα πολυπεπτίδιο 65 αμινοξέων μοριακού βάρους 7kDa (6980 Da) και παράγεται από τη φαρμακευτική βδέλλα (*Hirudo medicinalis*), ένα σκουλήκι ανιλιδίου (τμηματοποιημένο) το οποίο ζει σε λασπωμένες λίμνες γλυκού νερού. Ρόλος της ιρουδίνης είναι η αναστολή της θρομβίνης με τρόπο ανεξάρτητο από αυτόν της αντιθρομβίνης και με την απουσία οποιουδήποτε άλλου συμπαραγόντα. Η ιρουδίνη συνδέεται με τη δραστική θέση της πρωτεάσης σερίνης της θρομβίνης καθώς επίσης και με τη θέση δέσμευσης I (exosite I) η οποία δεσμεύει το ινωδογόνο. Η σύνδεση της ιρουδίνης με τη θρομβίνη συμβαίνει με μια εξαιρετικά υψηλή συνάφεια και θεωρείται μη αναστρέψιμη. Το N-άκρο της ιρουδίνης (αποτελούμενο από αμινοξέα 1-47) δημιουργεί μια δομή ιδιαίτερα συμπαγή η οποία σταθεροποιείται μέσω τριών δισουλφιδικών γεφυρών [167]. Η περιοχή αυτή, καλύπτει την καταλυτική θέση της δομικής περιοχής της θρομβίνης, με τα τρία πρώτα αμινοξέα της ιρουδίνης να σχηματίζουν περίπου τις μισές από τις απαραίτητες επαφές με την ενεργή περιοχή. Η ευέλικτη, αρνητικά φορτισμένη, C-τερματική ουρά της ιρουδίνης (αποτελούμενη από 48-64 αμινοξέα) συνδέεται με την θέση δέσμευσης I της θρομβίνης.

Σε σύγκριση με τον μηχανισμό ηπαρίνης-αντιθρομβίνης III, η ιρουδίνη έχει μεγαλύτερη ικανότητα αναστολής της θρομβίνης που συνδέεται με το ινώδες. Αντιθέτως, ο μηχανισμός ηπαρίνης-αντιθρομβίνης έχει σχετικά ασθενή ικανότητα να αναστέλλει την θρομβίνη που είναι συνδεδεμένη με θρόμβους [26].

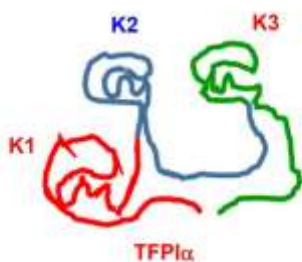
5.4 Αναστολέας του μονοπατιού του ιστικού παράγοντα (TFPI)

Ο αναστολέας του μονοπατιού του ιστικού παράγοντα TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor) είναι μια μοναδική πρωτεάση αναστολέας η οποία διαφέρει από την αντιθρομβίνη. Ο TFPI σχετίζεται κυρίως με τα ενδοθηλιακά κύτταρα του μικροαγγειακού συστήματος και συνδέεται με αυτά είτε μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων με γλυκοζυλαμινογλυκάνες κυτταρικής επιφάνειας ή μέσω σύνδεσης με μεμβράνη γλυκοζυλοφωσφατιδυλινοσιτόλης [168-171]. Ρόλος του TFPI είναι η αναστολή της φάσης

έναρξης της πήξης. Πιο συγκεκριμένα, αναστέλλει την πρωτεολυτική δραστηριότητα τόσο του ιστικού παράγοντα και του παράγοντα VIIa (TF-FVIIa) όσο και του παράγοντα Xa. Συνεπώς, ο TFPI αναστέλλει τόσο την αρχική φάση (TF-FVIIa) όσο και το σύμπλοκο της προθρομβινάσης (FXa/FVa). Αρχικά, δεσμεύεται στον ενεργοποιημένο παράγοντα X (Xa), απενεργοποιώντας τη δραστικότητα της πρωτεάσης και έπειτα αυτό καταλήγει στην αναστολή του TF-FVII από το σύμπλοκο TFPI-FXa.

Ο TFPI ανήκει στους αναστολείς πρωτεάσης σερίνης τύπου «Kunitz» [164-171]. Αυτές οι πρωτεΐνες, σχετίζονται με τον αναστολέα τρυψίνης σόγιας και τον βασικό βόειο αναστολέα της παγκρεατικής τρυψίνης (απροτινίνη). Οι αναστολείς πρωτεάσης τύπου «Kunitz» πήραν το όνομά τους από τον Moses Kunitz, ο οποίος πρώτος πραγματοποίησε την ταυτοποίηση και απομόνωση του αναστολέα τρυψίνης σόγιας. Οι συγκεντρώσεις του TFPI στο πλάσμα είναι περίπου 1.0-2.5nM. Το 10-50% του συνολικού TFPI του σώματος εντοπίζεται στο πλάσμα. Επίσης, το 70% του TFPI πλάσματος περικλείεται στο C-άκρο και δεσμεύεται σε λιποπρωτεΐνες πλάσματος [172]. Ο TFPI διαθέτει δύο ισομορφές, TFPIα και TFPIβ, των οποίων η παραγωγή προκύπτει ως αποτέλεσμα εναλλακτικού ματίσματος του mRNA.

Βασική ισομορφή θεωρείται ο TFPIα (Εικόνα 26), ο οποίος αποτελεί το 10-30% του TFPI πλάσματος και παράγεται με πρόδρομη μορφή 304 αμινοξέων, η οποία έπειτα υποβάλλεται σε επεξεργασία με σκοπό να προκύψει η ώριμη πρωτεΐνη 276 αμινοξέων (περίπου με βάρος 43 kDa), αφότου απομακρύνεται ένα πεπτίδιο σήματος 28 αμινοξέων. Η ισομορφή TFPIα διαθέτει τρεις δομικές περιοχές «Kunitz» 51 αμινοξέων, K1-K3. Η δομική περιοχή K1 συνδέεται με τον FVIIa, ενώ η K2 συνδέεται με τον FXa. Υπάρχει μια θετικά φορτισμένη C-τερματική περιοχή 37 αμινοξέων, με δέκα λυσίνες και τέσσερις αργινίνες, η οποία επίσης περιέχει ένα τμήμα εννέα αμινοξέων (252-260 στην ώριμη πρωτεΐνη). Το τελευταίο, συνδέεται με τον παράγοντα V. Η δέσμευση αυτή βοηθά στην αναστολή του συμπλόκου προθρομβινάσης FXa/FV. Ο TFPIα εντοπίζεται στα μεγακαρυοκύτταρα καθώς και στα αιμοπετάλια, ενώ εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ωστόσο, μόνο τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια είναι ικανά να απελευθερώσουν τον TFPIα. Ο τελευταίος επίσης, συνδέεται με τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω αλληλεπίδρασης με την κυτταρική επιφάνεια των γλυκοζαμινογλυκανών (GAGs). Η δομική περιοχή K3 της ισομορφής TFPIα θεωρείται ότι αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη S και μπορεί ακόμη και να δρά ως συμπαράγοντας στην αναστολή του παράγοντα Xa [168].



Εικόνα 26. Η ισομορφή TFPIα του αναστολέα του μονοπατιού ιστικού παράγοντα (TFPI) [Ανατύπωση από 26].

Η ισομορφή TFPIβ (Εικόνα 27) εκκρίνεται επίσης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα με μόνη διαφορά ότι δεν εντοπίζεται στα αιμοπετάλια. Είναι αγκυστρωμένη στην ενδοθηλιακή επιφάνεια μέσω μιας σύνδεσης γλυκοζυλοφωσφατιδυλινοσιτόλης (GPI). Το ώριμο μόριο του TFPIβ περιέχει 193 αμινοξέα. Τα αμινοξέα των θέσεων 182-223 στην άλφα (α) ισομορφή, αντικαθίστανται από μια διαφορετική ακολουθία η οποία εξαλείφει την τρίτη δομική περιοχή «Kunitz» καθώς και το C-άκρο της άλφα ισομορφής. Συνεπώς, η β ισομορφή στερείται την δομική περιοχή K3, όμως μετά την σύνθεση και επεξεργασία στο ενδοπλασματικό δίκτυο, διαθέτει ένα μοναδικό άκρο 12 αμινοξέων το οποίο συνδέεται με κυτταρικές επιφάνειες μέσω σύνδεσης γλυκοζυλοφωσφατιδυλινοσιτόλης (GPI) [168].



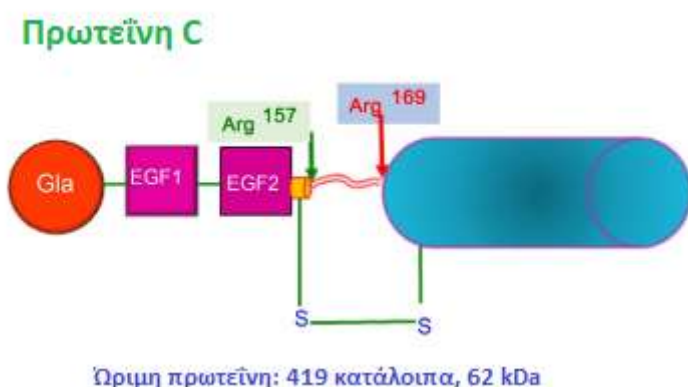
Εικόνα 27. Η ισομορφή TFPIβ του αναστολέα του μονοπατιού ιστικού παράγοντα (TFPI) [Ανατύπωση από 26].

5.5 Πρωτεΐνη C

Η πρωτεΐνη C (PC) παρουσιάζει ομολογία με τους παράγοντες VII, IX και X [173,174] και η ώριμη μορφή της αποτελείται από 419 κατάλοιπα με μοριακό βάρος 62 kDa (Εικόνα 28). Οι συγκεντρώσεις της στο πλάσμα είναι περίπου 60-70nM. Η πρόδρομη μορφή της πρωτεΐνης αποτελείται από 461 αμινοξέα και απαιτείται απομάκρυνση ενός πεπτιδίου σήματος 18 αμινοξέων και ενός προπεπτιδίου οδηγού 24 αμινοξέων με τελικό σκοπό τον σχηματισμό της ώριμης πρωτεΐνης C. Η τελευταία, διαθέτει μια δομική περιοχή GLA η οποία περιέχει εννέα κατάλοιπα Gla που ακολουθούνται από δύο διαδοχικές δομικές

περιοχές EGF. Ένα πεπτίδιο ενεργοποίησης (αποτελούμενο από 157-169 αμινοξέα) συνδέει τον EGF2 και την δομική περιοχή της πρωτεΐνης C. Η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C πραγματοποιείται με διάσπαση η οποία προκαλείται από τη θρομβίνη στο σημείο Arg169. Η διάσπαση σε αυτό το σημείο από την θρομβίνη θα γίνει μόνο όταν συνδέεται με θρομβομοντουλίνη επάνω σε ενδοθηλιακές επιφάνειες. Συγκεκριμένα, η δέσμευση της θρομβίνης απαιτεί τις δομικές περιοχές EGF-5 και EGF-6 της θρομβομοντουλίνης. Επίσης, η πρωτεΐνη C είναι απαραίτητο να αγκυστρωθεί και αυτό επιτυγχάνεται μέσω του ενδοθηλιακού υποδοχέα πρωτεΐνης C (EPCR) [175]. Ο υποδοχέας αυτός, δεσμεύεται με την N-τερματική GLA δομική περιοχή της πρωτεΐνης C, είναι μέλος της CD1 οικογένειας των πρωτεϊνών κυτταρικής επιφάνειας τύπου MHC, και διαθέτει μια αυλάκωση (groove), η οποία συγκρατεί ένα φωσφολιπίδιο [176]. Τα μόρια CD1 έχουν δομή τύπου I, και αποτελούνται από μια βαριά αλυσίδα τριών δομικών περιοχών η οποία συνδέεται μη ομοιοπολικά με την β2-μικροσφαιρίνη. Η διάσπαση της πρωτεΐνης C από την δεσμευμένη-σε-θρομβομοντουλίνη θρομβίνη, οδηγεί στον σχηματισμό της ενεργοποιημένης μορφής της πρωτεΐνης, η οποία χαρακτηρίζεται ως aPC. Η τελευταία, αποτελείται από μια N-τερματική ελαφριά αλυσίδα (1-155 καταλοίπων) και από μια C-τερματική βαριά αλυσίδα (170-406 καταλοίπων) οι οποίες είναι δεσμευμένες μεταξύ τους με δισουλφιδικό δεσμό. Όταν η θρομβίνη είναι δεσμευμένη στην θρομβομοντουλίνη, δεν μπορεί να διασπάσει το ινωδογόνο και δεν μπορεί να ενεργοποιήσει άλλους παράγοντες ή να προκαλέσει συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων.

Υπάρχει μια επιπλέον θέση διάσπασης στην πρωτεΐνη C στο σημείο Arg157. Αυτή η διάσπαση απαιτεί τη δράση μιας οικογένειας ενζύμων τα οποία ονομάζονται προπεπτιδικές κονβερτάσες [177]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C από τη θρομβίνη απαιτεί προηγούμενη διάσπαση από προπεπτιδικές κονβερτάσες.



Εικόνα 28. Η δομή της πρωτεΐνης C [Ανατύπωση από 26].

5.6 Θρομβομοντουλίνη

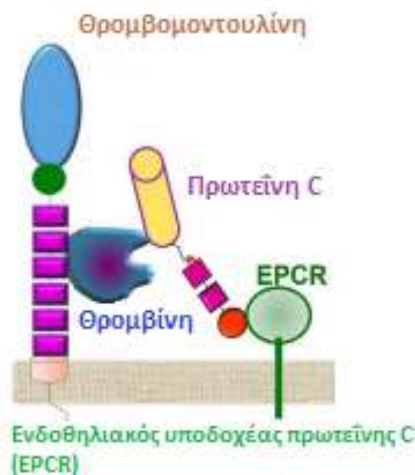
Η θρομβομοντουλίνη, η οποία εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, είναι διαμεμβρανική πρωτεΐνη μοριακού βάρους 74 kDa και αποτελείται από μια εξωκυτταρική περιοχή 497 αμινοξέων, μια διαμεμβρανική περιοχή 24 αμινοξέων και μια

κυτταροπλασματική ουρά 36 αμινοξέων (Εικόνα 29) [178]. Υπάρχει μια N-τερματική δομική περιοχή τύπου C λεκτίνης η οποία ακολουθείται από μια παράταξη 6 δομικών περιοχών τύπου EGF. Μεταξύ της δομικής περιοχής τύπου λεκτίνης και της πρώτης EGF περιοχής υπάρχει μια υδροφοβική επικράτεια, πλούσια σε αλανίνη, βαλίνη και γλυκίνη. Οι δομικές περιοχές τύπου EGF ποικίλουν σε μήκος από 36 έως 41 αμινοξέα. Ανάμεσα στην τελευταία ή έκτη δομική περιοχή EGF και στη διαμεμβρανική περιοχή, εντοπίζεται μια περιοχή 34 αμινοξέων πλούσια σε σερίνη/θρεονίνη. Είναι μια περιοχή O-γλυκοζυλίωσης στην οποία περιέχονται έξι σερίνες και δύο θρεονίνες. Επίσης, είναι πολύ πλούσια σε προλίνη και εκεί εντοπίζονται επτά κατάλοιπα αυτής. Η δομική αυτή περιοχή διαθέτει επιπλέον μια μοναδική χονδροϊτίνη συνδεδεμένη με μια πρωτεογλυκάνη θεικού άλατος.

Οι δομικές περιοχές EGF-5 και EGF-6 είναι απαραίτητες για την πρόσδεση της θρομβίνης. Παράλληλα, η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C (Εικόνα 30) απαιτεί την παρουσία δεσμευμένης θρομβίνης καθώς και της δομικής περιοχής EGF-4 και της πλούσιας σε σερίνη περιοχής συνδεδεμένες με πρωτεογλυκάνη.



Εικόνα 29. Η δομή της θρομβομοντουλίνης [Ανατύπωση από 26].



Εικόνα 30. Μηχανισμός ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C από την θρομβίνη. Ο EPCR είναι ο ενδοθηλιακός υποδοχέας της πρωτεΐνης C [Ανατύπωση από 26].

5.7 Πρωτεΐνη S

Η πρωτεΐνη S (PS), είναι μια βιταμινο-Κ-εξαρτώμενη πρωτεΐνη 635 αμινοξέων και μοριακού βάρους 75 kDa, η οποία είναι παρούσα στο πλάσμα σε συγκεντρώσεις από 300 έως 350nM (Εικόνα 31) [179]. Το 65% περίπου της πρωτεΐνης S δεσμεύεται με τη συμπληρωματική πρωτεΐνη η οποία δεσμεύει την πρωτεΐνη C4b (C4BP), ενώ το υπόλοιπο 35% της πρωτεΐνης S, δηλαδή περίπου τα 150nM, είναι ελεύθερο [180].

Το N-άκρο της πρωτεΐνης περιλαμβάνει μια δομική περιοχή GLA με δέκα κατάλοιπα Gla και έπεται μια περιοχή η οποία καλείται «περιοχή ευαίσθητη στην θρομβίνη». Η τελευταία απαρτίζεται από 29 αμινοξέα στα οποία συμπεριλαμβάνονται δύο αργινίνες, υποδεικνύοντας έτσι πιθανή θέση διάσπασης πρωτεάσης σερίνης. Έπειτα από την περιοχή ευαίσθητη στην θρομβίνη, εντοπίζονται παράλληλα τέσσερις δομικές περιοχές τύπου EGF.

Το C-άκρο της πρωτεΐνης S χαρακτηρίζεται από τις λεγόμενες “G-Λαμινίνες” τύπου SHBG (Sex Hormone Binding Globulin – δεσμευτική ορμόνη σεξουαλικής σφαιρίνης).

Εντοπίζονται δύο τέτοιες περιοχές στο σημείο, κάθε μία από τις οποίες έχει μήκος περίπου 180 αμινοξέων και μαζί αποτελούν πάνω από το 55% του μήκους της ώριμης πρωτεΐνης S. Οι δομικές περιοχές της G-λαμινίνης αποτελούν θέση σύνδεσης της C4BP: συνδέονται με την β-αλυσίδα της C4BP. Η C4BP είναι ένα συμμετρικό μόριο βάρους 570 kDa, το οποίο περιέχει επτά ταυτόσημες α-αλυσίδες διατεταγμένες ακτινικά όπως είναι οι ακτίνες ενός τροχού [181]. Μόνο μια β-αλυσίδα υπάρχει, η οποία δεσμεύει την πρωτεΐνη S, παρουσία ασβεστίου. Οι θέσεις σύνδεσης της C4b δημιουργούνται από τις αλυσίδες α. Οι τελευταίες, αποτελούνται από οκτώ δομικές περιοχές πρωτεΐνης ελέγχου παρατεταγμένες η μία έπειτα της άλλης, ενώ η μοναδική β αλυσίδα διαθέτει τρεις

τέτοιες δομικές περιοχές. Η συγκέντρωση της δεσμευτικής πρωτεΐνης της C4b (C4BP) στο πλάσμα είναι περίπου 400nM [26].



Εικόνα 31. Η δομή της πρωτεΐνης S [Ανατύπωση από 26].

Κεφάλαιο 6: Καρκίνος

Ο καρκίνος είναι μια γενετική ασθένεια η οποία χαρακτηρίζεται από ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των κυττάρων και πιθανή επακόλουθη μετάσταση. Οφείλεται σε πληθώρα αιτιών, όπως είναι η ενεργοποίηση των ογκογονιδίων, η απενεργοποίηση των γονιδίων που καταστέλλουν τον όγκο, η μεταλλαξιγένεση η οποία προκαλείται από εξωτερικούς παράγοντες και οι επιγενετικές τροποποιήσεις [182].

Ο καρκίνος είναι η κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως και αφορά χώρες όλων των επιπέδων των εισοδημάτων. Ο αριθμός των περιπτώσεων καρκίνου και θανάτων αναμένεται να αυξηθεί ραγδαία καθώς αυξάνεται ο πληθυσμός και η ηλικία και υιοθετείται ένας τρόπος ζωής που απειλείται περισσότερο από τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. Κάτι τέτοιο είναι ιδιαίτερα σημαντικό στις χώρες με χαμηλό και μεσαίο εισόδημα (LMIC-Low-and Middle-Income Countries) καθώς υφίστανται οικονομική μετάβαση, η οποία περιλαμβάνει την μεγαλύτερη μηχανοποίηση των μεταφορών και της εργασίας, τις πολιτιστικές αλλαγές στο ρόλο των γυναικών και την αυξημένη έκθεση και πρόσβαση στις διεθνείς αγορές. Τα άνωθεν έχουν ως αποτέλεσμα, πολλοί από τους παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής, όπως είναι η χρήση καπνού, η σωματική αδράνεια, το υπερβολικό σωματικό βάρος και τα αναπαραγωγικά πρότυπα, τα οποία ήδη εντοπίζονται στις χώρες με υψηλό εισόδημα (HIC-High-Income Countries), να γίνονται όλο και περισσότερο εμφανιζόμενα και στις χώρες με χαμηλό εισόδημα [183].

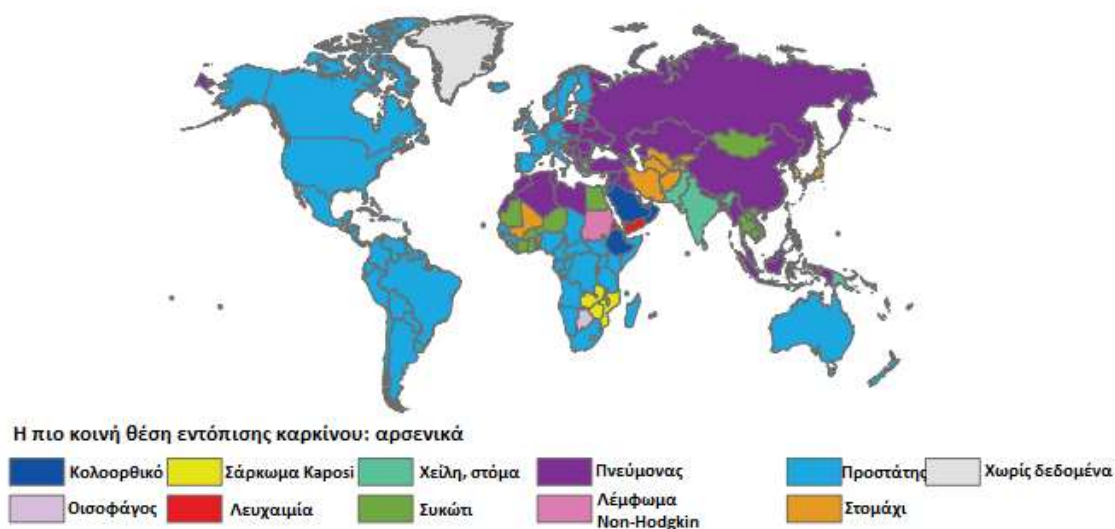
6.1: Ιστορική αναδρομή

Μέχρι το τέλος του 19ου αιώνα, ορισμένοι ερευνητές είχαν παρατηρήσει χαρακτηριστικές μιτωτικές ανωμαλίες σε διάφορους τύπους ιστών [184]. Κάποια χρόνια αργότερα, το 1914, ο Theodor Boveri δημοσίευσε (1862, Γερμανία) μια θεωρία που υποδηλώνει ότι αυτοί οι όγκοι προέρχονται από κύτταρα με μη φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων, αυξάνοντας έναν αριθμό υποθέσεων σχετικά με το ρόλο των γενετικών αλλοιώσεων στην ανάπτυξη του καρκίνου, μια εξαιρετικά σημαντική πρόοδος για έρευνα κατά το πρώτο μισό του εικοστού αιώνα [185,186]. Τα χρωμοσώματα στη συνέχεια, αναλύθηκαν σε άλλες νεοπλασίες και η γενετική του καρκίνου προχώρησε σημαντικά. Το 2001, δύο δημοσιεύσεις παρείχαν τις πρώτες πληροφορίες για το ανθρώπινο γονιδίωμα και αυτή η πρόοδος έθεσε τις βάσεις στη μοριακή βιολογία για την αποκωδικοποίηση του ρόλου του DNA στην ανάπτυξη όγκων, για την ευαισθησία του οργανισμού σε ορισμένες ασθένειες καθώς και για τον μεταβολισμό των φαρμάκων [187,188].

6.2: Σχέση μεταξύ φύλου και ηλικίας με τον καρκίνο

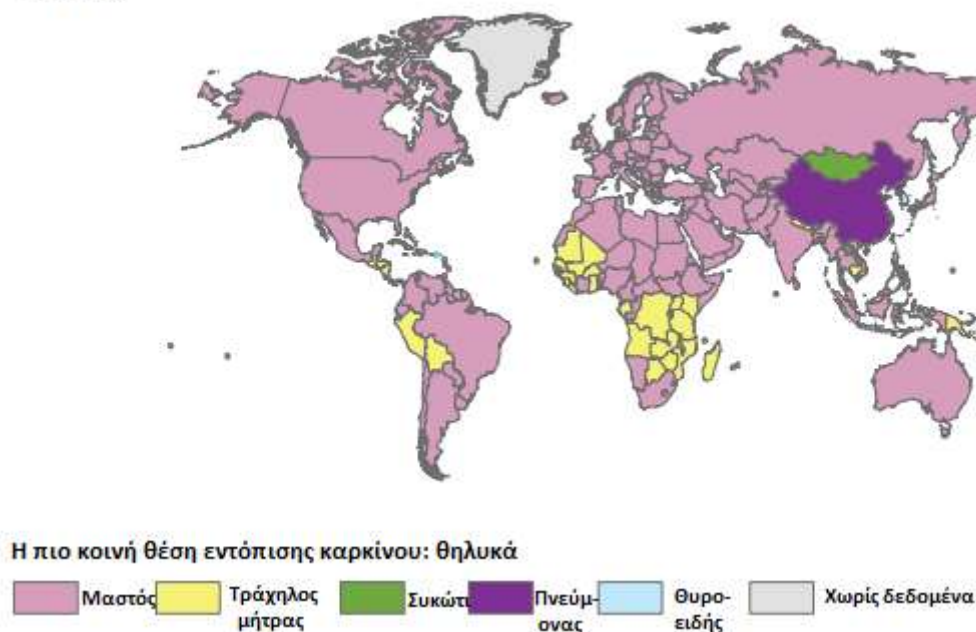
Το 2012, εκτιμάται ότι συνέβησαν παγκοσμίως 14,1 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις καρκίνου και προέκυψαν 8,2 εκατομμύρια θάνατοι οι οποίοι οφείλονταν σε αυτόν [189]. Από τις 50 επιλεγμένες χώρες που συμμετείχαν στη μελέτη, τα ποσοστά επίπτωσης καρκίνου κυμαίνονται πάνω από 400 ανά 100.000 άνδρες και πάνω από 300 ανά 100.000 γυναίκες και σε λιγότερο από 100 ανά 100.000 και στα δύο φύλα. Τα ποσοστά επίπτωσης στις 50 επιλεγμένες χώρες κυμαίνονται πάνω από 200 θανάτους ανά 100.000 άνδρες και πάνω από 100 θανάτους ανά 100.000 γυναίκες και σε λιγότερο από 50 θανάτους ανά 100.000 και των δύο φύλων (Εικόνα 32, Εικόνα 33) . Μελετώντας και τα δύο φύλα, τα υψηλότερα ποσοστά εντοπίζονται στη Βόρεια Αμερική, την Ωκεανία και την Ευρώπη [183] .

Αρσενικά



Εικόνα 32. Οι πιο συχνώς διαγνωσμένοι καρκίνοι στους άνδρες. Συντάχθηκε από το GLOBOCAN 2012. [Ανατύπωση από 183].

Θηλυκά



Εικόνα 33. Οι πιο συχνώς διαγνωσμένοι καρκίνοι στις γυναίκες. Συντάχθηκε από το GLOBOCAN 2012. [Ανατύπωση από 183].

Μελέτες οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε περιστατικά καρκινοπαθών του Καναδά από το 1971 έως το 2005, υπέδειξαν ότι σε όλες τις ηλικιακές κατηγορίες, οι πιο πρόσφατες τάσεις δείχνουν σημαντικές μειώσεις στην εμφάνιση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, του πνεύμονα, της ουροδόχου κύστης και του καρκίνου του προστάτη. Ωστόσο, παρατηρήθηκε αυξημένη εμφάνιση σε άλλους τύπους καρκίνου όπως ο καρκίνος των νεφρών, του θυρεοειδούς και της μήτρας. Η συνολική επίπτωση έχει αυξηθεί και στα δύο φύλα ηλικίας κάτω των 50 ετών, με πρόσφατες αυξήσεις στον καρκίνο του παγκρέατος στους άνδρες, τον καρκίνο του μαστού στις γυναίκες και τον καρκίνο του παχέος εντέρου και στα δύο φύλα. Εντοπίζονται, επίσης, αυξανόμενες τάσεις στους καρκίνους του ορθού, του ήπατος και του προστάτη μεταξύ των ανδρών και αυξημένες τάσεις στον καρκίνο των νεφρών και το μελάνωμα μεταξύ των γυναικών, ενώ και στα δύο φύλα υπάρχει μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του θυρεοειδούς. Η μείωση της συχνότητας καρκίνου επιτυγχάνεται σε πολλά επίπεδα με πρωτογενείς προσπάθειες πρόληψης, όπως είναι διάφορα προγράμματα διακοπής του καπνίσματος και διαλογής. Μεταξύ των νεότερων πληθυσμών φαίνεται να υπάρχει αύξηση της συχνότητας εμφάνισης καρκίνου που σχετίζονται πιθανώς με την παχυσαρκία [190].

Με βάση την προαναφερθείσα μελέτη από το 1971 έως το 2015, διαγνώστηκαν συνολικά 5.198.560 περιστατικά καρκίνου στον Καναδά. Λίγο μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης των καρκίνων αυτών που περιλήφθηκαν στην έρευνα παρατηρήθηκε στους άνδρες (51,9%) από ότι στις γυναίκες (48,1%). Από τα 277.540 περιστατικά καρκίνου τα οποία σημειώθηκαν το 1971-1975, φάνηκε να ανέρχονται σε 880.385 περιστατικά στις χρονολογίες μεταξύ 2011–2015. Περισσότερο από το ήμισυ όλων των περιστατικών αναλογούν σε ηλικίες 60-79 ετών. Συνολικά, η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου στους άνδρες μειώνεται, όπως φαίνεται από το 2007 σε άνδρες άνω των 50 ετών, ενώ η επίπτωση σε άνδρες νεότερης ηλικίας έχει ελαφρώς αυξηθεί. Μεταξύ των γυναικών, η επίπτωση αυξάνεται στις περισσότερες ηλικιακές ομάδες, με υψηλότερο ποσοστό αύξησης στις γυναίκες ηλικίας 30–39 ετών, ενώ από το 2009 εντοπίζεται μείωση όσον αφορά ηλικίες 80-89 ετών των γυναικών [190].

6.3: Διαταραχές αιμόστασης στον καρκίνο

Οι ανωμαλίες της αιμόστασης σε ασθενείς με καρκίνο είναι εξαιρετικά περίπλοκες και παρουσιάζουν σημαντικές κλινικές προκλήσεις [191]. Ο καρκίνος σχετίζεται ιδιαίτερα με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης φλεβικής θρομβοεμβολής (VTE- Venous Thromboembolism) σε ποσοστά από 4% έως 20%, καθώς και με αρτηριακή θρόμβωση σε ποσοστά 2% έως 5% [192-196]. Περισσότερα από 50 χρόνια πριν, παρουσιάστηκαν κάποιοι πιθανοί μηχανισμοί οι οποίοι μπορούσαν να εξηγήσουν την θρόμβωση που συνδέεται με τον καρκίνο. Τέτοιοι μηχανισμοί ήταν η τροποποίηση των παραγόντων πήξης, η αυξημένη προσκόλληση των αιμοπεταλίων και η μείωση της ινωδολύσης [197].

Η πρώτη περιγραφή διαταραχής της αιμόστασης στην κακοήθεια ήταν αυτή της υπερπηκτικότητας και της θρόμβωσης και η πρώτη μεγάλη έρευνα των αλλαγών στο αίμα σε ασθενείς με καρκίνο φανέρωσε «επιταχυνόμενους χρόνους αιμορραγίας» σε περισσότερο από το 60% των ασθενών που μελετήθηκαν [198,199]. Πολλές μελέτες έχουν καταλήξει σε ανεύρεση αυξημένων παραγόντων πήξης σε ασθενείς με κακοήθεια και συγκεκριμένα, οι παράγοντες που συνήθως είναι αυξημένοι, και οι οποίοι προηγουμένως εμπλέκονταν στην πρόκληση υπερπηκτικότητας, ήταν οι παράγοντες I, V, VIII: C, IX και XI [200-203]. Επίσης, σε πολλούς ασθενείς με κακοήθεια παρατηρείται μικρότερος χρόνος ενεργοποιημένης ή μη ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης, καθώς και επιταχυνόμενος χρόνος προθρομβίνης και επιταχυνόμενοι χρόνοι πήξης [202-204]. Εντοπίζεται, επίσης, αυξημένος καταβολισμός ινωδογόνου και αιμοπεταλίων (αυξημένος κύκλος εργασιών και μειωμένη επιβίωση) σε πολλούς ασθενείς οι οποίοι αντιμετωπίζουν κακοήθεια [205].

Επιπρόσθετα, στους ασθενείς με κακοήθεια σημειώνεται αύξηση του τίτλου των προϊόντων αποδόμησης ινώδους (FDP- Fibrin(ogen) Degradation Products), των D-dimers, των ινωδοπεπτιδίων A και B, του κρουοφιμπρινογόνου, των μονομερών ινώδους, των B-β 15-42 και συναφών πεπτιδίων, του παράγοντα 4 των αιμοπεταλίων, της β-θρομβοσφαιρίνης, της αλλοιωμένης ινονεκτίνης και των επιπέδων της αντιθρομβίνης [201, 205-215]. Τα ανωτέρω εργαστηριακά ευρήματα υποδηλώνουν έντονα ότι πολλοί ασθενείς με καρκίνο έχουν μια χαμηλού βαθμού διαδικασία διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης [216,217]. Η μειωμένη επιβίωση του ινωδογόνου, των αιμοπεταλίων και άλλων πρωτεϊνών πήξης ακολουθείται συχνά από μια υπεραντισταθμιστική αύξηση των παραγόντων πήξης και των ινωδολυτικών ενζύμων, αν και οι τελευταίες πρωτεΐνες μπορεί να μειωθούν και σε ορισμένες μυελοδυσπλασιαστικές διαταραχές [218]. Οι προαναφερθείσες αλλαγές, επίσης, συνοδεύονται συχνά από σημαντικές μειώσεις στους κύριους αναστολείς της πήξης, συμπεριλαμβανομένης της αντιθρομβίνης III, της πρωτεΐνης C και της πρωτεΐνης S. Ωστόσο, οι ακριβείς μηχανισμοί μείωσης της αντιθρομβίνης III και των πρωτεϊνών C και S είναι αμφιλεγόμενες και πιθανότατα οφείλονται είτε στην κατανάλωσή τους ή μπορεί να προκύψουν και από ελαττωματική ηπατική σύνθεση [202, 218-220].

Ο σχηματισμός θρόμβου είναι η συνηθέστερη από τις δύο εκφράσεις ενδοαγγειακής πήξης σε ασθενείς με συμπαγείς όγκους και μπορεί να προσεγγίσει το 40 έως 50% σε ορισμένους πληθυσμούς ασθενών με καρκίνο [204,221]. Κάποιες φορές, οι αλλαγές στους παράγοντες πήξης έχουν συσχετιστεί με το μεγαλύτερο μέρος του όγκου που υπάρχει, καθώς και με τη συνολική επιβίωση των ασθενών. Μερικές ανωμαλίες της πήξης τείνουν να ομαλοποιούνται μετά την έναρξη της θεραπείας για μια κακοήθεια. Το φαινόμενο αυτό συναντάται ορισμένες φορές μετά από χειρουργική επέμβαση, ακτινοθεραπεία, χημειοθεραπεία και βιοθεραπευτικό ή ορμονικό χειρισμό [200,201,204,205]. Ωστόσο, πρόσφατα έχει σημειωθεί ότι η ορμονική θεραπεία μπορεί επίσης να οδηγήσει σε μειώσεις της αντιθρομβίνης III και να κάνει τους ασθενείς πιο ευαίσθητους στη θρόμβωση [222].

Πολλοί κακοήθεις ιστοί έχουν την ικανότητα να ξεκινήσουν το σχηματισμό ινώδους χωρίς εμφανή μεταγενέστερη ενεργοποίηση του ινωδολυτικού συστήματος [223,224]. Ωστόσο, άλλοι κακοήθεις ιστοί είναι ικανοί να απελευθερώσουν μια ουσία ομοιάζουσα με θρομβοπλαστίνη και η οποία μπορεί να παρέχει τη ιδιότητα είτε συστημικά ή τοπικά να ξεκινήσει μια διαδικασία πήξης. Το ποσό που απελευθερώνεται πιθανότατα υποδηλώνει αν συμβαίνει ένα τοπικό συμβάν ενδοαγγειακής πήξης (θρόμβος) ή ένα συστηματικό σύνδρομο τύπου διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης (DIC-Diffuse Intravascular Coagulation). Τα χαμηλά επίπεδα αντιθρομβίνης III, ανεξάρτητα από την αιτία παραγωγής της, θα επιτρέψουν πιο εύκολα την έναρξη αυτής της διαδικασίας καθώς και την συνέχειά της χωρίς φυσιολογική αναστολή μόλις ξεκινήσει [202,204], για παράδειγμα σε ασθενή με σημαντικές ηπατικές μεταστάσεις και αργότερα μειωμένη ή ελαττωματική σύνθεση αντιθρομβίνης III [220].

6.4: Μικροκυστίδια (MVs) και ο ρόλος τους στη θρόμβωση που σχετίζεται με τον καρκίνο

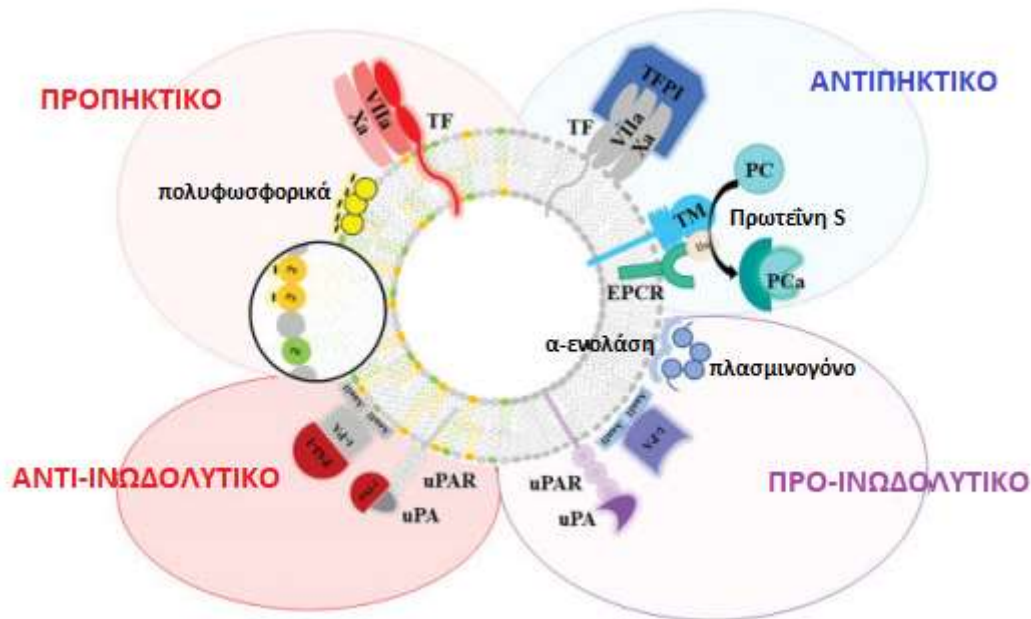
Τα μικροκυστίδια (MVs- **Microvesicles**), είναι μικρές δομές προερχόμενες από αποκοπή της εξωτερικής μεμβράνης των κυττάρων και απελευθερώνονται στον εξωκυττάριο χώρο από σχεδόν όλους τους τύπους κυττάρων. Η σύνθεσή τους ποικίλλει ανάλογα με την κυτταρική τους προέλευση και με το ερέθισμα το οποίο προκάλεσε τη δημιουργία τους. Κάποιοι από τους ρόλους τους είναι η προστασία λειτουργικών μορίων και η διακυτταρική επικοινωνία. Το ενδοθήλιο, τα φλεγμονώδη κύτταρα και τα καρκινικά κύτταρα, παράγουν προπηκτικά MVs τα οποία συμβάλλουν στην θρόμβωση που σχετίζεται με τον καρκίνο (CAT- **Cancer Associated Thrombosis**) σε ζωικά μοντέλα [225].

Τα MVs εμπλέκονται σε διαφορετικές παθοφυσιολογικές διαδικασίες όπως είναι η πήξη, η φλεγμονή, η αγγειογένεση καθώς και η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [226,227]. Είναι ζωτικής σημασίας το γεγονός ότι διαδραματίζουν ρόλο στη θρόμβωση που σχετίζεται με τον καρκίνο (CAT). Κάτι τέτοιο το επιτυγχάνουν μέσω ενσωμάτωσής τους στο περίπλοκο αγγειακό τους περιβάλλον, μαζί με όλα τα συνεργατικά συστατικά που συμβάλλουν στο σχηματισμό θρόμβων, συμπεριλαμβανομένων των έμφυτων ανοσοκυττάρων όπως είναι τα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα (PMNs) και τα μονοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα αιμοπετάλια καθώς και τα καρκινικά κύτταρα [228]. Επιπρόσθετα, MVs τα οποία προέρχονται από φυσιολογικά κύτταρα και κύτταρα όγκου, συμβάλλουν στη δημιουργία θρόμβωσης σχετιζόμενης με καρκίνο (CAT), κάτι το οποίο εξηγεί ότι εμπλέκονται τόσο κοινοί όσο και ειδικοί καρκινικοί μηχανισμοί στη δημιουργία θρόμβου. Συνεπώς, συμπεραίνεται ότι τα MVs εμπλέκονται στην πήξη και στην σχετιζόμενη με τον καρκίνο θρόμβωση και είναι άμεσα συνδεδεμένα με την εμφάνιση κλινικής θρόμβωσης [225].

Τα μικροκυστίδια διαθέτουν προπηκτικές ιδιότητες διότι παρέχουν μια καταλυτική επιφάνεια για την συναρμολόγηση συμπλόκων των διαφορετικών παραγόντων πήξης. Οι

προπηκτικές τους ιδιότητες βασίζονται κυρίως στην έκθεση των ανιονικών φωσφολιπιδίων, ειδικά της φωσφατιδυλοσερίνης (PS) στο εξωτερικό φύλλο της μεμβράνης, ύστερα από κυτταρική ενεργοποίηση εξαρτώμενη από ασβέστιο [227]. Η φωσφατιδυλοσερίνη καθιστά δυνατή την δέσμευση των παραγόντων πήξης επάνω στην επιφάνεια των MVs μέσω των δομικών περιοχών που είναι πλούσιες σε καρβοξυγλουταμικό οξύ (GLA) [225]. Εκτός από την φωσφατιδυλοσερίνη, η παρουσία του ιστικού παράγοντα (TF), ο οποίος αποτελεί και συντελεστή έναρξης της πήξης, επάνω σε υποπεριοχές των MVs συμβάλλει επίσης σημαντικά στην προπηκτική δραστηριότητα των τελευταίων (Εικόνα 34). Μετά από την παρατήρηση ότι τα καρκινικά κύτταρα απελευθερώνουν προπηκτικά κυστίδια, έγινε αρχικά γνωστή και η ύπαρξη του ιστικού παράγοντα επάνω στην επιφάνεια των MVs [229,230]. Η φωσφατιδυλοσερίνη και ο ιστικός παράγοντας δεν είναι ανεξάρτητοι μεταξύ τους, καθώς στην πραγματικότητα ο ιστικός παράγοντας χρειάζεται ανιονικά φωσφολιπίδια με σκοπό την πλήρη ενεργοποίησή του. Η συγκέντρωση της ίδιας περιορισμένης επιφάνειας και των δύο μορίων είναι αυτή που οδηγεί στην υψηλή προπηκτική ιδιότητα των MVs. Η ενσωμάτωση του ιστικού παράγοντα στην φωσφατιδυλοσερίνη και τα MVs (PS + MVs) είναι αυστηρά ρυθμισμένη [231-235]. Μόλις απελευθερωθούν στην κυκλοφορία, τα MVs που φέρουν TF (TF + MVs) συμμετέχουν στη μεταφορά πληροφοριών μεταξύ κυττάρων στο σταυροδρόμι μεταξύ φλεγμονής και θρόμβωσης [225].

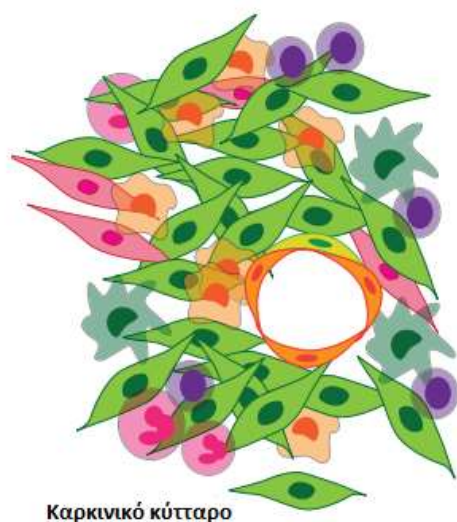
Τέλος, στην επιφάνεια των MVs έχουν εντοπιστεί αντιπηκτικά μόρια προερχόμενα από κύτταρα που μπορούν να ενεργοποιηθούν σε περιβάλλον όπου εδράζεται όγκος, όπως είναι τα αιμοπετάλια, τα λευκοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Εικόνα 34). Η αντιπηκτική πρωτεΐνη S και C, όπως και άλλα βιταμινο-K-εξαρτώμενα μόρια, μπορούν να προσδεθούν στην επιφάνεια των MVs σε ανιονικά κατάλοιπα φωσφατιδυλοσερίνης (PS) και να αναστείλλουν άμεσα την προπηκτική δραστηριότητα των αιμοπεταλιακών MVs [236-238].



Εικόνα 34. Προθρομβωτικό και αντιθρομβωτικό μοριακό μοτίβο των MVs. Τα MVs αρχικά περιγράφεται ότι φέρουν προπηκτικά μόρια όπως φωσφολιπίδια σαν τη φωσφατιδυλοσερίνη (PS), την φωσφατιδυλαιθανολαμίνη (PE), τον ιστικό παράγοντα (TF) και τα πολυφωσφορικά. Αντιπηκτικά μόρια έχουν περιγραφεί πιο πρόσφατα στην επιφάνεια των MVs, όπως είναι ο TFPI, η θρομβομοντουλίνη (TM) που ενεργοποιούν την πρωτεΐνη C, ο συμπαράγοντας αυτής δηλαδή η πρωτεΐνη S, και ο υποδοχέας EPCR. Ο ρόλος των MVs στην αιμόσταση περιπλέχθηκε από την παρουσία πρωτεϊνών του ινωδολυτικού συστήματος: ο ενεργοποιητής πλασμινογόνου ιστικού τύπου (t-PA) και η ουροκινάση (uPA) και ο υποδοχέας της, ο ενεργοποιητής πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPAR) και ο αναστολέας (PAI-1). Τα MVs μπορούν επίσης να μεταφέρουν απευθείας το πλασμινογόνο στους υποδοχείς τους, όπως η α-ενολάση. EPCR: ενδοθηλιακός υποδοχέας της πρωτεΐνης C, TFPI: αναστολέας μονοπατιού ιστικού παράγοντα [Ανατύπωση από 225].

Κεφάλαιο 7: Χημειοθεραπεία

Η εξέλιξη του καρκίνου παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην ανάπτυξη όγκων όσο και στην ανταπόκρισή τους στην θεραπεία. Όπως όλες οι εξελικτικές διαδικασίες, η εξέλιξη του όγκου διαμορφώνεται από το περιβάλλον. Το τελευταίο, όσον αφορά τους όγκους, αποτελείται από ένα πολύπλοκο μείγμα μη μετασηματισμένων κυτταρικών τύπων και εξωκυτταρικής μήτρας. Η χημειοθεραπεία ή η ακτινοθεραπεία, κατά την θεραπεία του καρκίνου, επιβάλλουν περαιτέρω ισχυρές και επιλεκτικές πιέσεις στον εκάστοτε καρκίνο. Επίσης, τα διαφορετικά συστατικά του μικροπεριβάλλοντος ενός όγκου μπορούν να ρυθμίσουν την απόκριση αυτού στην χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία (Εικόνα 35) [239].



Καρκινικό κύτταρο

Τύπος κυττάρου		Ρόλοι εντός του όγκου
Ενδοθηλιακά κύτταρα		Παράγουν αιμοφόρα αγγεία που παρέχουν θρεπτικά συστατικά και οξυγόνο. Παρέχουν οδό διαφυγής για τα μεταστατικά κύτταρα. Τοπικά «αγγειοκρινικά» σήματα μπορούν να προστατεύσουν τον καρκινικό κύτταρα.
Ινοβλάστες		Παράγουν HGF, CXCL12, TGF-β και πολλούς άλλους διαλυτούς παράγοντες. Παράγουν και αναδιαμορφώνουν φυσικά την εξωκυτταρική μήτρα του όγκου.
Μακροφάγα		Ανάλογα με τον υποτύπο, μπορούν να ευνοήσουν ή να ανταγωνιστούν τη λειτουργία των T-κυττάρων. Προάγουν τη μετανάστευση καρκινικών κυττάρων μέσω EGF και την αγγειοδιαρροή μέσω VEGF.
Ουδετερόφιλα		Μπορεί να είναι τόσο προκαρκινικά όσο και αντικαρκινικά. Μπορεί να ενισχύσουν τα βλαστικά κύτταρα.
Δενδριτικά κύτταρα		Συγκεντρώνουν αντιγόνα για να παρουσιαστούν στα T-κύτταρα.
Κυτταροτοξικά T-κύτταρα		Σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα που εκφράζουν νεοαντιγόνα όγκου. Η δραστηριότητά τους μπορεί να περιοριστεί από PD1, CTLA-4 και άλλους μικροπεριβαλλοντικούς παράγοντες.

Εικόνα 35. Τα κυριότερα συστατικά του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Απεικόνιση των βασικών κυτταρικών τύπων οι οποίοι έχουν βρεθεί μέσα σε όγκους, μαζί με έναν πίνακα ο οποίος αναφέρει τους κύριους ρόλους των κυττάρων στον όγκο. [Ανατύπωση από 239].

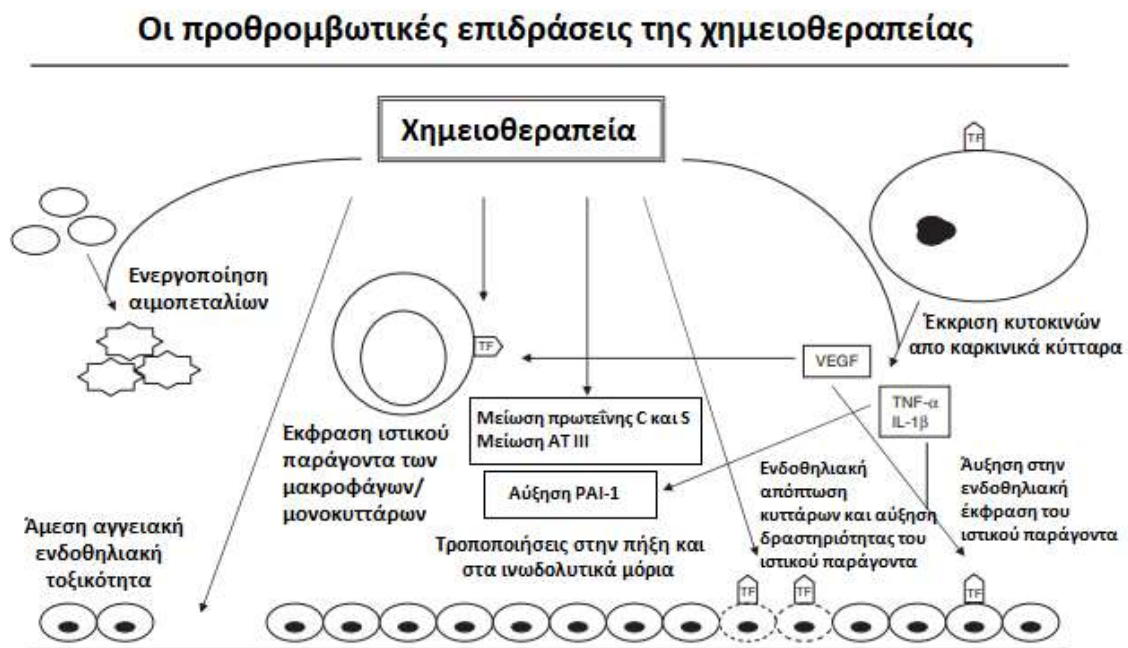
Η χημειοθεραπεία του καρκίνου παρέχει μεταβλητή αποτελεσματική θεραπεία για τις περισσότερες μορφές καρκίνου του ανθρώπου και θεραπευτική αγωγή για περίπου 12 κατηγορίες καρκίνου. Η θεραπευτική αγωγή ορίζεται ως το ποσοστό των ασθενών που επιβιώνουν στο χρόνο κατά τον οποίο ο κίνδυνος αποτυχίας της θεραπείας πλησιάζει το μηδέν, το λεγόμενο οροπέδιο επιβίωσης χωρίς ασθένειες [240].

7.1: Η χημειοθεραπεία ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για τη θρόμβωση

Η χημειοθεραπεία θεωρείται ως ένας σημαντικός ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου στην ανάπτυξη φλεβικής θρομβοεμβολής (VTE). Σε ασθενείς που αντιμετωπίζουν μια κακοήθη νόσο και υποβάλλονται ακολούθως σε χημειοθεραπεία, η ετήσια συχνότητα εμφάνισης VTE εκτιμάται ότι είναι 10,9% [241]. Σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό, ο κίνδυνος εμφάνισης VTE είναι αυξημένος κατά τέσσερις φορές σε ασθενείς με καρκίνο και αυτός αυξάνεται περαιτέρω σε περισσότερο από έξι φορές όταν οι συγκεκριμένοι ασθενείς υπόκεινται και σε χημειοθεραπεία [242]. Ομοίως, σημειώνεται διπλή αύξηση εμφάνισης υποτροπιάζοντος VTE σε ασθενείς με κακοήθεια, και τετραπλάσια αύξηση του κινδύνου αυτού για όσους λαμβάνουν χημειοθεραπεία [243]. Μεταξύ των ασθενών με καρκίνο οι οποίοι υποβάλλονται σε θεραπεία με χημειοθεραπεία, το φύλο και η αυξανόμενη ηλικία συσχετίστηκαν με τα υψηλότερα ποσοστά επαναλαμβανόμενων τέτοιων συμβάντων (VTE). Η επίπτωση της φλεβικής θρομβοεμβολής ποικίλλει ανάλογα με τη θέση του όγκου και του τύπου της χημειοθεραπείας που χορηγείται [244].

7.2: Παθογένεση θρόμβωσης που προκαλείται από χημειοθεραπεία

Πολλοί και διαφορετικοί είναι οι μηχανισμοί που υπάρχουν μέσω των οποίων η χημειοθεραπεία μπορεί να προκαλέσει προθρομβωτική κατάσταση (Εικόνα 36). Τα φάρμακα αυτά είναι ικανά να δημιουργήσουν βλάβη στο αγγειακό ενδοθήλιο [245-250]. Είναι επίσης δυνατόν, να αυξήσουν τα επίπεδα των προπηκτικών μορίων και να μειώσουν αυτά των ενδογενών αντιπηκτικών [251-254]. Επιπλέον, η χημειοθεραπεία μπορεί να προκαλέσει είτε την εμφάνιση όγκου, ή την απόπτωση ενδοθηλιακών κυττάρων ή και την απελευθέρωση κυτταροκίνης. Τα άνωθεν με τη σειρά τους, οδηγούν σε αυξημένη έκφραση και δραστηριότητα του ιστικού παράγοντα (TF) [255-258]. Επιπρόσθετα, οι παράγοντες αυτοί είναι ικανοί να πυροδοτήσουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων [259]. Τέλος, η χημειοθεραπεία μπορεί να προκαλέσει άμεσα την έκφραση του ιστικού παράγοντα των μονοκυττάρων και των μακροφάγων [260]. Υπάρχουν αρκετές αποδείξεις για αλλαγές στην αιμόσταση εξ αιτίας της χημειοθεραπείας. Το ποιοι από αυτούς τους μηχανισμούς είναι κλινικά σχετικοί με την ανάπτυξη φλεβικής θρομβοεμβολής, δεν έχουν ακόμα καθοριστεί πλήρως [244].



Εικόνα 36. Η χημειοθεραπεία είναι ικανή να προκαλέσει θρομβογόνα αποτελέσματα μέσω πολλαπλών και διαφορετικών μηχανισμών, τα οποία είναι ανεξάρτητα από την υποκείμενη κακοήθεια. Τέτοια αποτελέσματα είναι: ενεργοποίηση και συσσωμάτωση αιμοπεταλίων, άμεση αγγειακή ενδοθηλιακή τοξικότητα, έκφραση ιστικού παράγοντα (TF) μακροφάγων/μονοκυττάρων, μειωμένα επίπεδα αντιπηκτικών, τροποποιημένη ινωδολυτική δραστηριότητα, απόπτωση ενδοθηλιακών κυττάρων συνοδευόμενη από αυξημένη δραστηριότητα ιστικού παράγοντα, έκκριση ανοσορρυθμιστικών και

προαγγειακών κυτταροκινών από καρκινικά κύτταρα και αυξημένη έκφραση ιστικού παράγοντα στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα [Ανατύπωση από 244].

7.3: Επιπτώσεις της χημειοθεραπείας στην αιμόσταση

Οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την αιμόσταση με μια ποικιλία μηχανισμών [204,261]. Ο πιο κοινός και σημαντικός από τους μηχανισμούς αυτούς είναι η θρομβοκυτταροπενία, η οποία συνήθως σχετίζεται με κυτταροτοξικά φάρμακα καταστολής του μυελού των οστών ή με την έναρξη ή ενίσχυση της Διάχυτης Ενδοαγγειακής Πήξης (ΔΕΠ) από κυτταροτοξικά φάρμακα ή ορμόνες τόσο σε συμπαγείς όγκους όσο και σε οξεία προμυελοκύτταρα ή μυελομονοκυτταρική λευχαιμία [191].

Η θεραπεία με L-ασπαραγινάση συνοδεύεται συχνά από σημαντική υποϊνωδογοναιμία, μια κοινή επιπλοκή αυτού του φαρμάκου. Αν και προηγούμενοι ερευνητές απέδωσαν αυτό το φαινόμενο σε μειωμένη σύνθεση ινωδογόνου [262], άλλοι ερευνητές έχουν δείξει ότι προκύπτει από τη σύνθεση λειτουργικά μη φυσιολογικού ινωδογόνου. Το άνωθεν είναι αποτέλεσμα αντιδράσεων μεταξύ υπολειμμάτων L-ασπαραγινάσης και ασπαραγίνης του μορίου ινωδογόνου [263]. Επίσης, η L-ασπαραγινάση μπορεί να προκαλέσει σύνδρομο τύπου ΔΕΠ.

Η θεραπεία με πλαμυκίνη μπορεί να σχετίζεται με αιμορραγία σε ποσοστό μεγαλύτερο από 50% των ασθενών που λαμβάνουν αυτό το φάρμακο και, παρόλο που η πλαμυκίνη προκαλεί θρομβοπενία, η αιμορραγία οφείλεται συνήθως στην εξασθενημένη λειτουργία των αιμοπεταλίων, στη λύση του υπερ-ινώδους και στην μείωση των επιπέδων των παραγόντων II, V, VIII: C και X [261,264]. Λαμβάνοντας υπόψη αυτά τα ευρήματα, η ενεργοποίηση της ΔΕΠ από την πλαμυκίνη φαίνεται πιθανή.

Η ακτινομυκίνη D σχετίζεται επίσης με την αιμορραγία. Η ακτινομυκίνη D είναι ένας ισχυρός ανταγωνιστής της βιταμίνης K και προκαλεί ελαττωματική σύνθεση (PIVKA) των παραγόντων II, VII, IX και X [265].

Η μιτομυκίνη σχετίζεται με την ανάπτυξη μικροαγγειοπαθητικής αιμολυτικής αναιμίας [266-270].

Η δοξορουβικίνη (αδριαμυκίνη) [271] και η και δαουνορουβικίνη (δαουνομυκίνη) προκαλούν πρωταρχική ενεργοποίηση του ινωδολυτικού συστήματος και σε επακόλουθο στάδιο, κλινική αιμορραγία. Η μελφαλάνη, η κυτοσίνη αραβινοσίδη, η δαουνορουβικίνη, η βινκριστίνη και η βινβλαστίνη προκαλούν δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων, η οποία μπορεί να συμβάλλει στην αιμορραγία ασθενών που λαμβάνουν αυτά τα αντινεοπλασματικά παράγωγα [261,272]. Έχει αναφερθεί επανειλημμένα θρόμβωση η οποία προκύπτει από χημειοθεραπεία ή ορμονική θεραπεία ενός ή πολλαπλών παραγόντων [204, 273-277].

Κεφάλαιο 8: Ο καρκίνος του μαστού

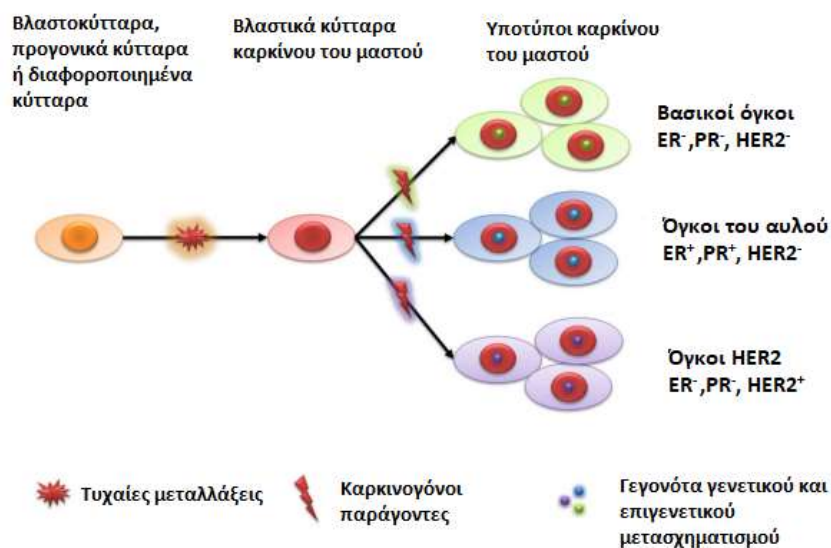
Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί την πιο συχνή κακοήθεια στις γυναίκες, και ανήκει στον έναν από τους τρεις πιο κοινούς καρκίνους παγκοσμίως, μαζί με τον καρκίνο του πνεύμονα και του παχέος εντέρου. Το 2012, σχεδόν 1,7 εκατομμύρια άνθρωποι διαγνώστηκαν παγκοσμίως με καρκίνο του μαστού και περίπου το μισό εκατομμύριο απεβίωσαν από αυτή την ασθένεια [189,278]. Μία στις οκτώ με δέκα γυναίκες εμφανίζουν καρκίνο του μαστού κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Στην Βόρεια Αμερική και στην Ευρωπαϊκή Ένωση, η θνησιμότητα οφειλόμενη στον καρκίνο του μαστού έχει μειωθεί σημαντικά, κάτι το οποίο αποδίδεται κυρίως στην έγκαιρη ανίχνευση και στις αποτελεσματικές συστηματικές θεραπείες. Το 2016, η θνησιμότητα από τον καρκίνο του μαστού στην Ευρωπαϊκή Ένωση αναμενόταν να μειωθεί κατά 8% [279]. Παρά όλα αυτά, ο καρκίνος του μαστού εξακολουθεί να ανήκει στην πιο συνηθισμένη αιτία θανάτου στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες και στην δεύτερη αιτία θανάτου, μετά τον καρκίνο του πνεύμονα, στις πιο ανεπτυγμένες χώρες. Στη Νότια Αμερική, την Αφρική και την Ασία, η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού αυξάνεται διαρκώς, πιθανότατα λόγω αλλαγών στον τρόπο ζωής και έναρξης προγραμμάτων προληπτικού ελέγχου. Η πιθανή έλλειψη πρόσβασης στην προηγμένη διάγνωση και θεραπεία στις προαναφερθείσες περιοχές, καθιστά την θνησιμότητα από τον καρκίνο του μαστού να παραμένει επίσης αυξημένη [278].

8.1: Παθογένεση του καρκίνου του μαστού

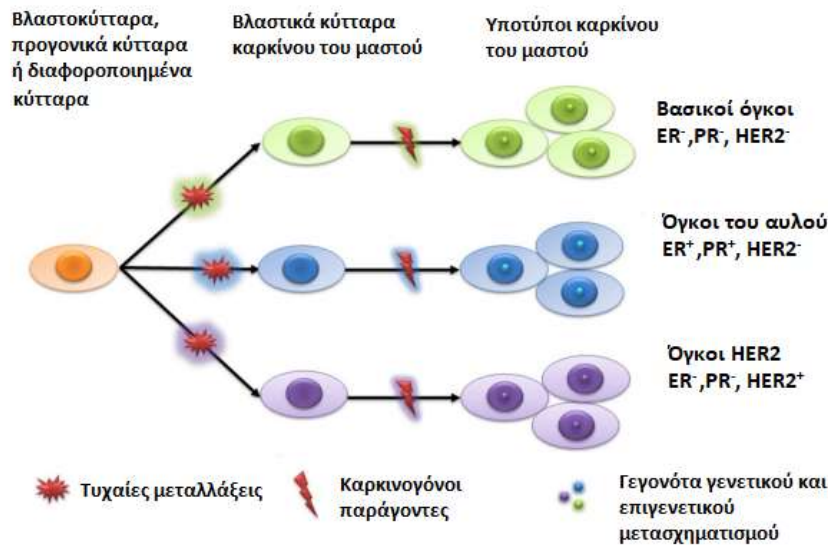
Συνήθως, οι όγκοι στους μαστούς ξεκινούν από τον υπερπολλαπλασιασμό του πόρου και έπειτα εξελίσσονται σε καλοήγη όγκους ή ακόμη και μεταστατικά καρκινώματα, ύστερα κι από συνεχή διέγερση από διάφορους καρκινογόνους παράγοντες. Ζωτικό ρόλο στην έναρξη αλλά και εξέλιξη του καρκίνου του μαστού διαδραματίζει το μικροπεριβάλλον του όγκου, όπως είναι οι στρωματικές επιρροές ή τα μακροφάγα κύτταρα. Τα τελευταία μπορούν να προκαλέσουν στο μικροπεριβάλλον μεταλλαξιγόνο φλεγμονή, κάτι το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε αγγειογένεση και σε δυνατότητα των καρκινικών κυττάρων να μπορούν να ξεφύγουν από την ανοσολογική απόρριψη του οργανισμού [280,281]. Επιπλέον, έχουν παρατηρηθεί διαφορετικά πρότυπα μεθυλίωσης του DNA μεταξύ του φυσιολογικού μικροπεριβάλλοντος και του μικροπεριβάλλοντος ενός όγκου, κάτι το οποίο υποδεικνύει ότι επιγενετικές τροποποιήσεις στο μικροπεριβάλλον ενός όγκου μπορούν να προάγουν την καρκινογένεση [282,283]. Πρόσφατα, μια νέα κατηγορία κακοηθών κυττάρων εντός των όγκων, τα οποία καλούνται καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs- **Cancer Stem Cells**), παρατηρείται ότι σχετίζονται με την έναρξη του όγκου, τη διαφυγή και την υποτροπή. Αυτός ο μικρός πληθυσμός κυττάρων, ο οποίος μπορεί να αναπτυχθεί από βλαστικά κύτταρα ή από προγονικά κύτταρα σε φυσιολογικούς ιστούς, έχει την ικανότητα να αυτοανανεώνεται καθώς και να είναι ανθεκτικός στις συμβατικές θεραπείες όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία [284-286]. Τα βλαστικά κύτταρα του καρκίνου του μαστού (bCSCs), ταυτοποιήθηκαν για πρώτη φορά από τον Ai Háj και βρέθηκε ότι ακόμη και έως 100 bCSC έχουν την ικανότητα να δημιουργήσουν

νέους όγκους σε ανοσοκατεσταλμένα ποντίκια [287]. Τα παραπάνω, είναι πιθανότερο να προέρχονται από προγονικά επιθηλιακά κύτταρα του αυλού κι όχι από βασικά βλαστοκύτταρα [288].

Δύο είναι οι υποθετικές θεωρίες που υπάρχουν, όσον αφορά στην έναρξη και εξέλιξη του καρκίνου του μαστού: η θεωρία των καρκινικών βλαστικών κυττάρων και η στοχαστική θεωρία [282,289]. Η πρώτη θεωρία υποστηρίζει ότι όλοι οι υπότυποι των όγκων έχουν προέλευση από τα ίδια βλαστικά κύτταρα ή από μια προβαθμίδα των προγονικών κυττάρων, τα μεταβατικά-πολλαπλασιαστικά κύτταρα. Οι αποκτηθείσες γενετικές και επιγενετικές μεταλλάξεις στα βλαστικά ή προγονικά κύτταρα είναι πιθανό να οδηγήσουν σε διαφορετικούς φαινοτύπους όγκων (Εικόνα 37). Η στοχαστική θεωρία, αντίθετα, βασίζεται στο ότι κάθε υπότυπος όγκου ξεκίνησε από έναν τύπο κυττάρου, δηλαδή βλαστοκύτταρα, προγονικά κύτταρα ή διαφοροποιημένα κύτταρα (Εικόνα 38). Σε οποιοδήποτε κύτταρο του στήθους μπορεί να συσσωρευτούν τυχαίες μεταλλάξεις, με αποτέλεσμα τα κύτταρα να μετασχηματιστούν σε καρκινικά, ύστερα από συσσώρευση επαρκών τέτοιων μεταλλάξεων. Παρόλο που πολλά δεδομένα υποστηρίζουν και τις δύο θεωρίες, καμία από τις δύο δεν μπορεί να εξηγήσει απόλυτα την προέλευση του ανθρώπινου καρκίνου του μαστού [290].



Εικόνα 37. Η πρώτη από τις δύο υποθετικές θεωρίες για την ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου του μαστού. Υποστηρίζει ότι όλοι οι υπότυποι του όγκου προέρχονται από τα ίδια βλαστικά ή προγονικά κύτταρα. Έπειτα, προσδιορίζονται διαφορετικοί φαινότυποι του όγκου μέσω συμβάντων μετασχηματισμού, ειδικών για τον εκάστοτε υπότυπο [Ανατύπωση από 290].



Εικόνα 38. Η δεύτερη από τις δύο υποθετικές θεωρίες για την ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου του μαστού. Υποστηρίζει ότι ο κάθε υπότυπος όγκου ξεκινά από έναν τύπο κυττάρου (βλαστικά κύτταρα, προγονικά κύτταρα ή διαφοροποιημένα κύτταρα). Τυχαίες μεταλλάξεις μπορούν σταδιακά να συσσωρευτούν σε οποιαδήποτε κύτταρα του μαστού, οδηγώντας στον μετασχηματισμό τους σε καρκινικά κύτταρα όταν έχει συγκεντρωθεί σε αυτά επαρκής αριθμός μεταλλάξεων [Ανατύπωση από 290].

8.2: Αντινεοπλασματικοί παράγοντες και καρκίνος του μαστού

Ο κίνδυνος εμφάνισης βαθιάς φλεβικής θρόμβωσης (DVT- **D**eep **V**enous **T**hrombosis) σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού οι οποίοι βρίσκονται σε πρώιμο στάδιο, είναι λιγότερο από 1%. Η χρήση επικουρικής χημειοθεραπείας, ωστόσο, αυξάνει τον κίνδυνο ενός ασθενούς σε 2-10% [291]. Σε μια δοκιμή που διεξήχθη σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού σταδίου II και τους χορηγήθηκε κυκλοφωσφαμίδη (Cyclophosphamide), μεθοτεξτράτη (Methotrexate), φθοροουρακίλη (Fluorouracil), βινκριστίνη (Vincristine) και πρεδνιζόνη (Prednisone) (CMFVP) ή CMFVP με δοξορουβικίνη (Doxorubicin) και ταμοξιφένη (Tamoxifen), η συχνότητα εμφάνισης φλεβικής θρομβοεμβολής (VTE) ήταν στο 7% κατά τη χορήγηση χημειοθεραπείας [292]. Τα θρομβοεμβολικά επεισόδια, γνωστοποιήθηκαν κατά τη χορήγηση χημειοθεραπείας στη διάρκεια της πορείας 979 ασθενών. Δεν υπήρξαν εκδηλώσεις κατά τη διάρκεια των 2413 ασθενών στους οποίους δεν είχε χορηγηθεί θεραπεία. Η κατάσταση του υποδοχέα οιστρογόνου ή προγεστερόνης, η ηλικία, ο αριθμός των εμπλεκόμενων λεμφαδένων ή η επακόλουθη υποτροπή του όγκου, δεν σχετίζεται με την ανάπτυξη θρόμβωσης. Σε ασθενείς με μεταστατική ασθένεια τύπου IV στους οποίους χορηγήθηκε CMFVP, σημειώθηκαν αρκετά υψηλότερα επίπεδα θρόμβωσης, στο 18% [291].

Ασθενείς οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία κυκλοφωσφαμίδης (Cyclophosphamide), μεθοτεξτράτης (Methotrexate), φθοροουρακίλης (Fluorouracil), (CMF), βρέθηκε ότι έχουν στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της πρωτεΐνης C και της πρωτεΐνης S, καθώς και αύξηση του PAI-1, κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας [251,293]. Ωστόσο, αυτά τα επίπεδα δεν συσχετίστηκαν με κλινικά εμφανή θρόμβωση. Αλλαγές δεν υπήρξαν, επίσης, ούτε στο PT, aPTT, ινωδογόνο, αντιθρομβίνη ή στους δείκτες της παραγωγής θρομβίνης, όπως είναι τα D-dimers, το σύμπλοκο θρομβίνης-αντιθρομβίνης και τα θραύσματα προθρομβίνης 1 και 2 (F1 + 2). Το πλάσμα ασθενών με καρκίνο του μαστού, μετά τη χημειοθεραπεία, φανέρωσε υψηλά επίπεδα IL-1β. Το τελευταίο φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένη αντιδραστικότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων με τα αιμοπετάλια *in vitro* [257]. Ο κίνδυνος εμφάνισης θρόμβωσης σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού μπορεί να είναι διαφορετικός για όσους ασθενείς έχουν υποβληθεί σε νεότερα ανοσοενισχυτικά χημειοθεραπευτικά σχήματα με διαδοχική παρά ταυτόχρονη θεραπεία. Χημειοθεραπεία η οποία βασίζεται στην ανθρακυκλίνη αντικατέστησε σε μεγάλο βαθμό την CMF και οι επιδράσεις της πρώτης, τόσο στην αιμόσταση όσο και στην εμφάνιση φλεβικής θρομβοεμβολής, δεν είναι τόσο ξεκάθαρες. Σε μια μελέτη ενός αριθμού ασθενών οι οποίοι έλαβαν ανοσοενισχυτική επιρουβικίνη (epirubicin) και κυκλοφωσφαμίδη (cyclophosphamide), η συχνότητα θρόμβωσης η οποία κατεγράφη ήταν στο 10% [294]. Επιπρόσθετα, δεν εντοπίστηκαν σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα της πρωτεΐνης C, της αντιθρομβίνης III (AT III) ή στο PAI κατά τη διάρκεια χορήγησης της χημειοθεραπείας. Μια άλλη ξεχωριστή μελέτη έχει αποδείξει ότι τα επίπεδα του ενδοκυτταρικού μορίου προσκόλλησης ICAM-1 (Intracellular Adhesion Molecule) και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) είναι αυξημένα κατά τη χορήγηση χημειοθεραπείας με βάση την ανθρακυκλίνη σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού [258]. Μελέτες οι οποίες πραγματοποιήθηκαν *in vitro* έχουν φανερώσει ότι οι φαρμακολογικές δόσεις δοξορουβικίνης αυξάνουν τη δραστηριότητα του ιστικού παράγοντα (TF) χωρίς όμως να επηρεάζουν την έκφρασή του στα μονοκύτταρα του ανθρώπου [260].

Κεφάλαιο 9: Ο καρκίνος του παγκρέατος

Ο καρκίνος του παγκρέατος αποτελεί την έβδομη πιο κοινή αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως [189] με την τιμή παγκόσμιας επίπτωσης να ανέρχεται στις 4,2 περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους. Τα ποσοστά επίπτωσης του καρκίνου του παγκρέατος σημειώνονται υψηλότερα στη Βόρεια Αμερική (7,4/100.000) και στη Δυτική Ευρώπη (7,3/100.000), ακολουθούμενα από την υπόλοιπη Ευρώπη, την Αυστραλία και τη Νέα Ζηλανδία (με περίπου 6,5/100.000) [189]. Χαμηλότερα ποσοστά παρατηρούνται στην Αφρική, την Μέση Ανατολή και την Κεντρική Ασία (<1,5/100.000) [189] πιθανότατα λόγω γενετικών, σωματομετρικών και διατροφικών διαφορών.

Ο Armand Trousseau, ένας Γάλλος ιατρός, το 1865, ο οποίος εν τέλει πραγματοποίησε μόνος του τη δική του γαστρική κακοήθεια ύστερα από την ανάπτυξη θρομβοφλεβίτιδας στο άνω άκρο του, περιέγραψε ότι οι μεταναστευτικές φλεβικές θρομβώσεις είναι δυνατόν να περιπλέξουν την πορεία των κακοηθειών [295]. Από τότε έχει αποδειχθεί ότι ο καρκίνος του παγκρέατος διαθέτει μια περίεργη και συνάμα μοναδική ικανότητα να προκαλεί μια υπερπηκτική κατάσταση η οποία σχετίζεται με κλινικά σημαντική θρόμβωση σε ασθενείς. Συγκεκριμένα, το αίμα τους έχει μια δυσνόητη τάση να πήζει, προσδίδοντας έτσι αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης θρόμβων. Μια πληθώρα παραγόντων κινδύνου έχουν γνωστοποιηθεί είτε για φλεβική ή για αρτηριακή θρόμβωση σε ασθενείς με καρκίνο. Οι κίνδυνοι αυτοί περιλαμβάνουν ορισμένες συννοσηρότητες, χειρουργικές επεμβάσεις, ακινησία, ιστολογία και στάδιο του όγκου, παρουσία καθετήρων κεντρικής φλέβας και χημειοθεραπεία ή ορισμένες στοχευμένες θεραπείες [296]. Οι προαναφερθέντες παράγοντες κινδύνου, μπορούν αθροιστικά να προκαλέσουν μια συστηματική υπερπηκτική κατάσταση η οποία να οδηγήσει σε θρομβωτικά συμβάντα ανατομικώς απομακρυσμένα από την περιοχή του εμπλεκόμενου όγκου [296].

Παρά το γεγονός ότι η προτεινόμενη σχέση μεταξύ καρκίνου του παγκρέατος και της υπερπηκτικότητας φαίνεται να διαρκεί στο χρόνο, οι ακριβείς παθολογικοί μηχανισμοί και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων εμπλεκόμενων οδών, εξακολουθούν να μην είναι πλήρως κατανοητοί. Επιπρόσθετα, οι υπάρχουσες θεραπευτικές επιλογές με σκοπό την πρόληψη ή τη θεραπεία θρομβωτικών επιπλοκών, χωρίς, όμως, την αύξηση κινδύνου αιμορραγίας, παραμένουν μη βέλτιστες. Ωστόσο, την τελευταία δεκαετία, έχουν παρουσιαστεί καινούριες πληροφορίες για τους υπεύθυνους μηχανισμούς όσον αφορά την υπερπηκτική ικανότητα [297,298].

9.1: Επιδημιολογία της θρόμβωσης στον καρκίνο του παγκρέατος

Το 1938 δημοσιεύθηκε η πρώτη σειρά περιπτώσεων οι οποίες περιγράφουν την εντυπωσιακή σχέση μεταξύ του καρκίνου του παγκρέατος και της θρόμβωσης. Τεκμηριώθηκε η επικράτηση φλεβικής θρομβοεμβολής στο 60% ύστερα από αυτοψία ασθενών με καρκίνο του παγκρέατος, σε σύγκριση με το ποσοστό του 15-25% το οποίο γνωστοποιήθηκε σε άλλες κακοήθειες [299]. Μελέτες οι οποίες έχουν διεξαχθεί τα τελευταία 10-15 χρόνια, έχουν αναφέρει ποσοστά φλεβικής θρομβοεμβολής (VTE- Venous TromboEmbolism) 12-36% σε ασθενείς με καρκίνο του παγκρέατος [300-304]. Η εν των βάθει φλεβική θρόμβωση (DVT- Deep Vein Thrombosis) κάτω άκρου, τα μεταναστευτικά σώματα της θρομβοφλεβίτιδας και η πνευμονική εμβολή, αποτελούν τις πιο συχνές θρομβοεμβολικές εκδηλώσεις [305]. Οι εκδηλώσεις της συστηματικής υπερπηκτικότητας στον καρκίνο του παγκρέατος, εκτός από τα ανωτέρω, περιλαμβάνει επίσης τη θρόμβωση σπλαχνικής φλέβας. Ασθενείς στους οποίους αναπτύσσεται θρόμβωση σπλαχνικής φλέβας μπορεί είτε να είναι ασυμπτωματικοί είτε να παρουσιάσουν νέο ή αυξημένο κοιλιακό άλγος, ίκτερο και πιθανόν προοδευτικό ασκίτη.

Ειδικότερα, οι Menarace και συν, [306] ανέφεραν 31 ασθενείς οι οποίοι είχαν σπλαχνική θρόμβωση μεταξύ 135 ασθενών με παγκρεατικό αδενοκαρκίνωμα (επικράτηση 22,9%) και η οποία περιλαμβάνει θρόμβωση της πυλαίας φλέβας, των μεσεντερικών, των νεφρικών ή των γοναδικών φλεβών. Με ενδιαφέρον παρατηρήθηκε ότι όλα τα σπλαχνικά θρομβωτικά συμβάντα, εντοπίστηκαν τυχαία κατά την πραγματοποίηση κοιλιακής τομογραφίας με σάρωση, η οποία έγινε για σταδιοποίηση του καρκίνου. Τα αρτηριακά θρομβοεμβολικά συμβάντα, ωστόσο, αποτελούν ασυνήθιστο γεγονός σε ασθενείς με καρκίνο του παγκρέατος, με την εκτιμώμενη συχνότητα να ανέρχεται στο 2-5% [300].

9.2: Ειδικοί παράγοντες μοριακού κινδύνου για τη θρόμβωση στον καρκίνο του παγκρέατος

Ο καρκίνος του παγκρέατος κατέχει ένα από τα υψηλότερα ποσοστά θρόμβωσης και για το λόγο αυτό αντιπροσωπεύει ένα εξαιρετικό μοντέλο για την μελέτη της υπερπηκτικότητας που παρατηρείται στον καρκίνο. Ωστόσο, παρόλο που υπάρχουν κοινοί μηχανισμοί και παράγοντες κινδύνου για ένα ευρύ φάσμα καρκίνων όσον αφορά την ανάπτυξη θρόμβωσης, είναι πιθανό ότι διαφορετικές μορφές καρκίνου διαθέτουν επίσης και μοναδικούς μηχανισμούς οι οποίοι συμβάλλουν στην ανάπτυξη θρόμβωσης. Συγκεκριμένα, στον καρκίνο του παγκρέατος, έχουν παρατηρηθεί σημαντικά αυξημένα επίπεδα του ινωδογόνου πλάσματος, του παράγοντα VIII και των D-dimers, ενώ έχουν αναφερθεί μειωμένα επίπεδα πρωτεΐνης C και αντιθρομβίνης III. Κατά την εξέλιξη του όγκου, βέβαια, είναι πιθανό τα προαναφερθέντα επίπεδα να αλλάζουν [307,308]. Τα καρκινικά κύτταρα του παγκρέατος, παράγουν άμεσα έναν αριθμό παραγόντων ή επηρεάζουν ορισμένες δραστηριότητες οι οποίες προάγουν την πήξη (Πίνακας 3 ,Εικόνα 39) [309].

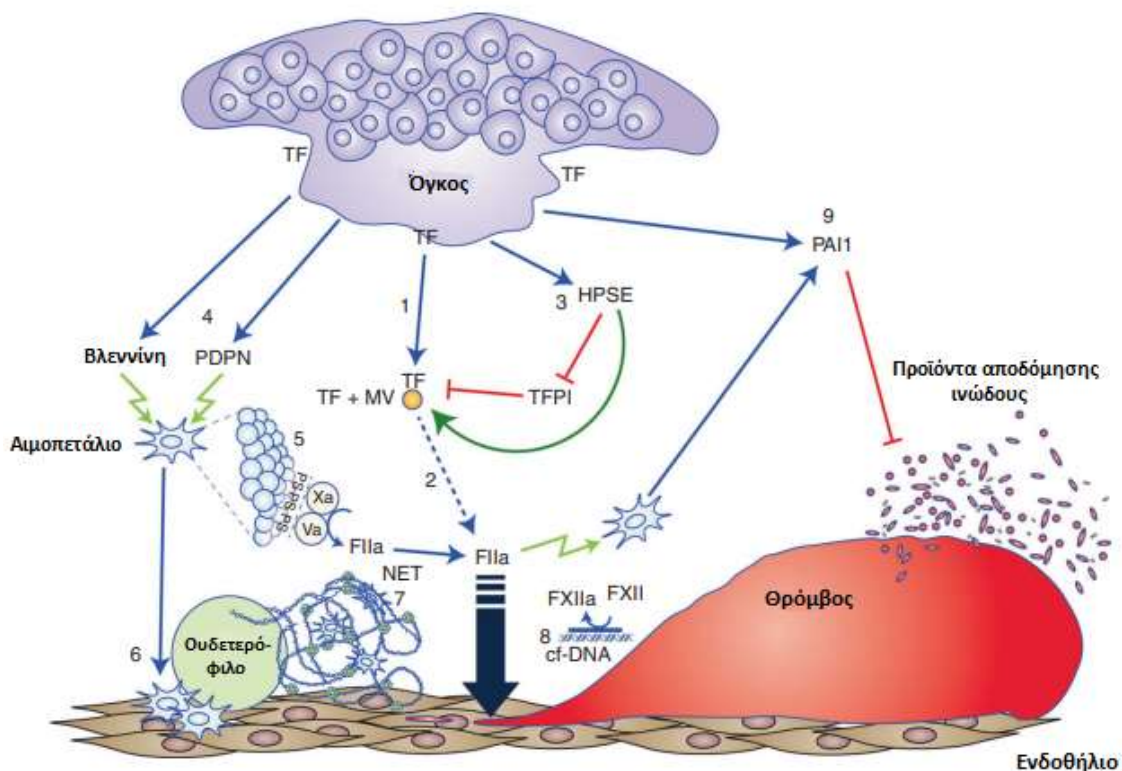
Πίνακας 3. Σύνοψη των ειδικών παραγόντων μοριακού κινδύνου για την εμφάνιση θρόμβωσης στον καρκίνο του παγκρέατος [309].

Μοριακό μονοπάτι	Μηχανισμός
Γνωστοί μοριακοί παράγοντες κινδύνου	
Υψηλά επίπεδα προπηκτικών (ινωδογόνο, FVIII)	Ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης
Μειωμένα επίπεδα φυσικών αντιπηκτικών (PC, AT)	
Ιστικός παράγοντας (TF)	Τοπική ενεργοποίηση της πήξης στη θέση του όγκου Προ-αγγειογένεση (↑ VEGF, ↓ θρομβοσπονδίνη) Ενίσχυση της παραγωγής θρομβίνης και ινώδους Απελευθέρωση TF+MVs του όγκου
Μεταλλαγμένο ή ενεργοποιημένο KRAS2 που εμπλέκεται στη νεοπλαστική μεταμόρφωση	↑ Έκφραση ιστικού παράγοντα, Προ-αγγειογένεση (↑ VEGF, ↓ θρομβοσπονδίνη)
Υψηλή έκφραση PAI-1 από τον όγκο	Υποϊνωδύλωση
Βλενίνες	Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων και μικροαγγειοπάθεια
Αιμοπετάλια	↑ Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων (PF4, P-σελεκτίνη) ↑ Προπηκτικές επιφάνειες για παραγωγή θρομβίνης και ινώδους ↑ Αλληλεπιδράσεις αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων ↑ Προσκόλληση αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο ↓ Τοπική ινωδύλωση Επαγωγή σχηματισμού των NETs Προφλεγμονώδεις μηχανισμοί
Απελευθέρωση κυτταροκινών (IL-1, TNF-α, VEGF)	↑ Παραγωγή TF από αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα Μειωμένη ρύθμιση της έκφρασης TM ↑ Σύνθεση PAI-1 ↑ Ενδοθηλιακή έκφραση μορίων προσκόλλησης
Νέοι παράγοντες μοριακού κινδύνου	
TF+MVs	↑ Προπηκτικές επιφάνειες για παραγωγή θρομβίνης και ινώδους Ενεργοποιεί την πήξη μέσω της εξωγενούς οδού
Ηπαράναση (HPSE)	↑ έκφραση TF ↓ TFPI στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών και καρκινικών κυττάρων
NET-υπερ-κιτρουλινωμένη ιστόνη H3	Αιχμαλώτιση αιμοπεταλίων και MVs για σταθεροποίηση θρόμβων Απενεργοποίηση TFPI με ελαστάση και καθειψίνη G ↑ Προσκόλληση αιμοπεταλίων και σχηματισμός θρόμβου υπό διαμητική πίεση Προπηκτική δραστηριότητα εξαρτώμενη από τον FXII
DNA χωρίς κύτταρα	
Ενεργοποίηση κοινής οδού (διάφορα προτεινόμενα μονοπάτια)	Ενεργοποιεί την έναρξη της πήξης μέσω της ενδογενούς οδού
Ποδοπλανήνη (PDPN)	↑ Συσσώρευση των αιμοπεταλίων, Απελευθέρωση MVs που φέρουν PDPN
F: παράγοντας, PC: πρωτεΐνη C, AT: αντιθρομβίνη, MVs: μικροκυτίδια, VEGF: αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας, PAI-1: αναστολέας τύπου 1 ενεργοποιητή πλασμινογόνου, TM: θρομβομοντουλίνη, PF4: Παράγοντας αιμοπεταλίων 4, NETs: εξωκυτταρικές παγίδες ουδετερόφιλων, TF+MVs: MVs που φέρουν ιστικό παράγοντα, TFPI: αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα	

Πρωταρχικής σημασίας, για την υπερπηκτική ικανότητα στον καρκίνο του παγκρέατος, είναι ο ιστικός παράγοντας (TF), ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας ο οποίος ξεκινά την εξωγενή οδό της πήξης. Είναι σημαντικό ότι ο ιστικός παράγοντας, κατά τον κακοήθη μετασχηματισμό, εκφράζεται σε εξωκρινή παγκρεατικά κύτταρα καθώς επίσης και σε φλεγμονώδη και στρωματικά κύτταρα εντός του μικροπεριβάλλοντος του όγκου [310]. Σε αυτές τις τοποθεσίες, ο ιστικός παράγοντας πιστεύεται ότι κατέχει κομβικό ρόλο τόσο για την θρόμβωση όσο και για την μεταστατική εξάπλωση [311,312]. Αυτό συμβαίνει, διότι υψηλά επίπεδα του ιστικού παράγοντα φέρονται από μικροκυτίδια τα οποία απελευθερώνονται από τις κυτταρικές γραμμές των παγκρεατικών κυττάρων [313]. Για παράδειγμα, μια μελέτη 41 ασθενών με καρκίνο του παγκρέατος, έδειξε υψηλότερο επιπολασμό της φλεβικής θρομβοεμβολής σε ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα έκφρασης ιστικού παράγοντα από τον όγκο (tumour TF expression) (26,3%), σε σύγκριση με ασθενείς χαμηλών επιπέδων έκφρασης ιστικού παράγοντα από τον όγκο (4,5%) [311]. Συνεπώς, τα TF+MVs, οδηγούν στην δημιουργία φλεβικής θρομβοεμβολής σε ασθενείς με καρκίνο του παγκρέατος και μπορεί να αποτελούν έναν χρήσιμο βιοδείκτη για την αξιολόγηση του κινδύνου εμφάνισης φλεβικής θρομβοεμβολής σε αυτούς [314]. Ένα

Βασικό αποτέλεσμα της ενεργοποίησης της οδού του ιστικού παράγοντα στον καρκίνο του παγκρέατος είναι η επιταχυνόμενη παραγωγή θρομβίνης. Στον ανθρώπινο καρκίνο του παγκρέατος έχουν ταυτοποιηθεί λειτουργικοί υποδοχείς θρομβίνης, ενώ δεν εντοπίζονται στον υγιή παγκρεατικό ιστό [315]. Εκτός από τον προπηκτικό ρόλο της θρομβίνης, η ίδια έχει την δυνατότητα να ενισχύει την προσκόλληση των κυττάρων του παγκρεατικού αδενοκαρκινώματος σε εξωκυτταρικές πρωτεΐνες της μήτρας και σε ενδοθηλιακά κύτταρα, κάτι το οποίο υποδηλώνει την σημαντικότητά της για την ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου του παγκρέατος [305].

Εκτός από την προώθηση του σχηματισμού θρόμβου ινώδους, ο καρκίνος είναι δυνατόν να οδηγήσει σε αναστολή της ινωδόλυσης, μιας διαδικασίας μέσω της οποίας διασπώνται οι θρόμβοι του αίματος. Οι ανθρώπινοι όγκοι του παγκρέατος καθώς και οι κυτταρικές σειρές, έχει αποδειχθεί ότι εκφράζουν τον αναστολέα τύπου 1 του ενεργοποιητή πλασμινογόνου (PAI-1, Plasminogen Activator Inhibitor), ο οποίος αποτελεί έναν βασικό αναστολέα της ινωδόλυσης [316]. Μια μελέτη ασθενών με καρκίνο του παγκρέατος έδειξε ότι τα αυξημένα επίπεδα του αντιγόνου του PAI-1 στο πλάσμα και της σχετικής του δραστηριότητας, είναι δυνατόν να προδιαθέσει τους ασθενείς σε εμφάνιση φλεβικής θρομβοεμβολής (VTE) [317].



Εικόνα 39. Συγκεντρωτική εικόνα η οποία απεικονίζει τις σημαντικότερες προπηκτικές επιδράσεις στον καρκίνο του παγκρέατος. (1) Έκφραση και απελευθέρωση του ιστικού παράγοντα (TF) και των μικροκυστιδίων που φέρουν TF (TF + MV). (2) Ο TF ενεργοποιεί την εξωγενή οδό της πήξης που οδηγεί στη δημιουργία θρομβίνης (FIIa). (3) Η

ηπαρανάση (HPSE) αφαιρεί τους γλυκοκάλυκες που περιέχουν τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI), ενισχύοντας έτσι τη δραστηριότητα του TF. (4) Βλεννίνη προερχόμενη από τον όγκο και ποδοπλανίνη (PDPN) ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια, τα οποία εκφράζουν φωσφατιδυλοσερίνη (PS) στις επιφάνειές τους, (5), διευκολύνοντας τη συναρμολόγηση του συμπλόκου προθρομβινάσης και την παραγωγή θρομβίνης. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια παρουσιάζουν μόρια προσκόλλησης που διευκολύνουν τις αλληλεπιδράσεις των ενδοθηλιακών κυττάρων-αιμοπεταλίων και των αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων, τα οποία συμβάλλουν στη δημιουργία μικροθρόμβων πλούσιων σε αιμοπετάλια (6). Τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα απελευθερώνουν εξωκυτταρικές παγίδες ουδετερόφιλων (NETs- **N**eutrophil **E**xtracellular **T**raps) (7) που δημιουργούν μια μήτρα για την προσκόλληση κυττάρων αίματος και μικροκυστιδίων (MVs), τα οποία προάγουν τη θρόμβωση και μειώνουν τη ροή του αίματος. DNA χωρίς κύτταρα (cfDNA- Cell-free DNA) που απελευθερώνεται από τα κύτταρα του όγκου ή από ουδετερόφιλα, παρέχει μια αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια η οποία προάγει την ενεργοποίηση του παράγοντα XII (FXII) (8). Ο FXIIa ξεκινά την εγγενή οδό πήξης, παρέχοντας μια επιπλέον πηγή θρομβίνης. Αναστολέας τύπου 1 ενεργοποιητή πλασμινογόνου (PAI-1), ένας ισχυρός αναστολέας της ινωδολύσης, μπορεί να απελευθερωθεί από καρκινικά κύτταρα του παγκρέατος, καθώς και από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια (9) [Ανατύπωση από 309].

9.3: Χημειοθεραπεία για τον καρκίνο του παγκρέατος

Η χημειοθεραπεία αποτελεί ένα σημαντικό μέρος της πολυτροπικής θεραπείας κατά του καρκίνου του παγκρέατος. Έπειτα από θεραπεία μέσω εκτομής, η ανοσοενισχυτική χημειοθεραπεία μπορεί να επιτύχει σημαντική βελτίωση στην επιβίωση, με την προϋπόθεση ότι δεν υπάρχουν άλλες ασθένειες, καθώς και προσφέρει βελτίωση στην συνολική επιβίωση. Το ισχύον πρότυπο θεραπείας που προτείνεται, είναι έξι μήνες ανοσοενισχυτικής χημειοθεραπείας με τροποποιημένο φολινικό οξύ (**f**olinic acid), 5-φθοροουρακίλη (5-fluorouracil), ιρινοτεκάνη (**i**rinotecan) και οξαλιπλατίνη (**o**xaliplatin) σε ασθενείς οι οποίοι είναι κατάλληλοι για να τους χορηγηθεί το πρωτόκολλο αυτό (mFOLFIRINOX). Σε διαφορετική περίπτωση, χορηγείται γεμισιταβίνη (gemcitabine) και καπεσιταβίνη (capecitabine) για το χρονικό διάστημα των έξι μηνών, βάσει της Ευρωπαϊκής Ομάδας Μελετών για την Μελέτη καρκίνου του παγκρέατος (ESPAC-4, **E**uropean **S**tudy **G**roup for **P**ancreatic **C**ancer). Σε ασθενείς με μεταστατική νόσο, η συνδυαστική χημειοθεραπεία σύμφωνα με το πρωτόκολλο FOLFIRINOX ή με την γεμισιταβίνη και την πακλιταξέλη (paclitaxel), προσφέρει σημαντική βελτίωση στην μονοθεραπεία με γεμισιταβίνη, η οποία αποτελούσε το πρότυπο για πολλά χρόνια. Ασθενείς στους οποίους δεν είναι κατάλληλη η συνδυαστική χημειοθεραπεία, μπορούν παρ'όλα αυτά να επωφεληθούν από την χορήγηση γεμισιταβίνης. Ασθενείς με καλή κατάσταση απόδοσης στη θεραπεία, μπορούν να επωφεληθούν από χημειοθεραπεία δεύτερης γραμμής [318].

Το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (PDAC-Pancreatic Ductal Adenocarcinoma) έχει την χειρότερη πενταετή επιβίωση, σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες κοινές κακοήθειες [319-321]. Μοναδική ελπίδα για ίαση αποτελούν η χειρουργική επέμβαση σε συνδυασμό με επικουρική χημειοθεραπεία, όμως οι πλειονότητα των ασθενών διαγιγνώσκονται με ανεπανόρθωτη νόσο, κάτι το οποίο καθιστά την υποστηρικτική χημειοθεραπεία ως βασικό παράγοντα θεραπείας για τους περισσότερους ασθενείς. Επιπρόσθετα, το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου, χαρακτηρίζεται από σχετική ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία. Ακόμη και με τα πιο αποτελεσματικά πρωτόκολλα πολυχημειοθεραπείας, τα οποία μπορούν να χορηγηθούν αποκλειστικά σε επιλεγμένους ασθενείς με καλή κατάσταση απόδοσης, η μέση συνολική επιβίωση των ασθενών σταδίου IV δεν ξεπερνά το ένα έτος [322].

Κεφάλαιο 10: Ο καρκίνος των ωοθηκών

Ο καρκίνος των ωοθηκών αντιπροσωπεύει μόνο το 3% των καρκίνων στις γυναίκες. Ωστόσο, είναι η πέμπτη πιο συχνή αιτία θανάτου από καρκίνο σε γυναίκες μετά από τον καρκίνο του πνεύμονα, του μαστού, του παχέος εντέρου και του παγκρέατος [323]. Ο καρκίνος των ωοθηκών έχει προσαρμοσμένη, στην ηλικία, συχνότητα 12,5 ανά 100.000 γυναίκες [324]. Η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών και η θνησιμότητα αυξάνονται με την ηλικία. Οι περισσότερες περιπτώσεις καρκίνου των ωοθηκών εμφανίζονται σε γυναίκες ηλικίας άνω των 50 ετών, αλλά η διάγνωση μπορεί να γίνει σε οποιαδήποτε ηλικία, συμπεριλαμβανομένης της βρεφικής ηλικίας. Το οικογενειακό ιστορικό καθώς και συναφή γενετικά σύνδρομα αποτελούν τους μεγαλύτερους παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών [325-331]. Ιστορικό καρκίνου των ωοθηκών που έχει συμβεί σε έναν συγγενή αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης μιας γυναίκας στο 5%, ενώ ιστορικό για δύο συγγενείς αυξάνει τον κίνδυνο στο 7% [332]. Γυναίκες με συγκεκριμένες γονιδιακές μεταλλάξεις διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών. Κληρονομικό σύνδρομο καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών, το οποίο είναι μια αυτοσωμική επικρατής μετάλλαξη στο γονίδιο BRCA1 ή BRCA2, εμφανίζεται με συχνότητα μία στις 500 γυναίκες.

Ο καρκίνος των ωοθηκών συχνά παρουσιάζεται με μη ειδικά συμπτώματα της πυέλου ή της κοιλίας. Η συμβατική θεραπεία περιλαμβάνει χειρουργική αφαίρεση και ακολουθεί χημειοθεραπεία. Η πρόγνωση καθορίζεται συνήθως από το στάδιο και τον βαθμό του καρκίνου, αν και η μελλοντική θεραπεία μπορεί να εξαρτάται από τη γενετική σύνθεση του όγκου. Ο καρκίνος των επιθηλιακών ωοθηκών, ο οποίος αποτελεί μάλιστα και τον πιο κοινό τύπο καρκίνου των ωοθηκών, σχετίζεται με κακή πρόγνωση δεδομένου ότι το 70% των περιπτώσεων διαγιγνώσκονται στο στάδιο III ή IV. Σε γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου των ωοθηκών, ή γνωστό σχετικό γενετικό σύνδρομο, θα πρέπει να προσφέρεται γενετική συμβουλευτική ή συζήτηση σχετικά με τις διαθέσιμες προληπτικές παρεμβάσεις [333].

Αρκετοί τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου, όπως είναι η παχυσαρκία, το κάπνισμα, η δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο ή η υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, καθώς και ο καθιστικός τρόπος ζωής, σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών, αλλά δεν έχουν αποδειχθεί ως κύριες αιτίες αυτού. Αυξημένη ημερήσια χρήση καροτένιου, βιταμίνης C, βιταμίνης E και ακόρεστων λιπαρών οξέων καθώς και αυξημένη σωματική δραστηριότητα, συνδέονται μέτρια με μειωμένο κίνδυνο καρκίνου των ωοθηκών [330]. Ωστόσο, προκύπτουν πολλοί παράγοντες σύγχυσης, διότι η πλειονότητα των γυναικών οι οποίες έχουν διαγνωστεί με καρκίνο των ωοθηκών δεν είχαν κάποιο οικογενειακό ιστορικό και κατά συνέπεια η εμφάνιση του καρκίνου οφειλόταν σε άγνωστη αιτιολογία [333].

10.1: Παθογένεση καρκίνου των ωοθηκών

Ο καρκίνος των ωοθηκών τείνει να αναπτύσσεται σε τρία είδη ιστών: σε επιθηλιακά κύτταρα (85-95%), σε στρωματικά κύτταρα (5 -8%) και τέλος σε γεννητικά κύτταρα (3-5%) [334]. Ο τύπος του όγκου των ωοθηκών ποικίλλει ανάλογα με την ηλικία του ασθενούς. Συνήθως, όγκοι επιθηλιακών κυττάρων εμφανίζονται σε γυναίκες άνω των 50 ετών. Οι όγκοι των στρωματικών κυττάρων είναι δυνατόν να εμφανιστούν σε γυναίκες οποιασδήποτε ηλικίας, αν και ορισμένοι όγκοι, όπως τα ανδροβλαστώματα, μπορεί να είναι συχνότεροι στην εφηβεία. Οι όγκοι των γεννητικών κυττάρων εμφανίζονται συνήθως σε ασθενείς ηλικίας κάτω του ενός έτους και σε ασθενείς ηλικίας 15 έως 19 ετών [324]. Ο καρκίνος των ωοθηκών εξαπλώνεται κυρίως τοπικά στην αντίθετη ωοθήκη και τη μήτρα και στη συνέχεια ενδοπεριτοναϊκώς. Οι μεταστάσεις, αν και είναι σπάνιες, μπορεί να εμφανιστούν στο ήπαρ, στους πνεύμονες, στον υπεζωκότα, στα επινεφρίδια και στον σπλήνα [334,335]. Η διάγνωση του καρκίνου των ωοθηκών πολλές φορές μπορεί να είναι δύσκολη λόγω των μη ειδικών συμπτωμάτων. Το πιο συνηθισμένο σύμπτωμα που παρουσιάζεται σε παιδιά και εφήβους είναι το κοιλιακό άλγος, αν και μπορεί να προκύψει και πρόωρη εφηβεία, ακανόνιστη εμμηνορρυσία ή υπερτρίχωση [336]. Οι ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών μπορεί να έχουν κοιλιακό άλγος, πρήξιμο ή μη ειδικά γαστρεντερικά συμπτώματα για περισσότερο από έξι μήνες πριν από τη διάγνωση [333].

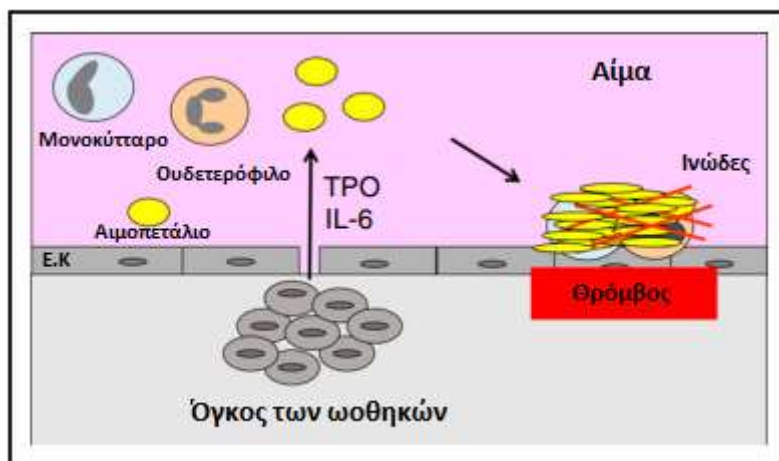
10.2: Υπερπηκτικότητα και φλεβικός θρομβοεμβολισμός στον καρκίνο των ωοθηκών

Η φλεβική θρομβοεμβολή περιπλέκει τη θεραπευτική πορεία έως και του 25% των ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών και αποτελεί κακό προγνωστικό παράγοντα [337,338]. Η «τριάδα του Virchow», δηλαδή η λειτουργική τριάδα της αγγειακής ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και η υπερπηκτικότητα που προκαλεί την παθογένεση της θρόμβωσης, συμβαίνει συχνά στην προσπάθεια ρύθμισης του καρκίνου των ωοθηκών. Ο

άμεσος τραυματισμός στο τοίχωμα του αγγείου μπορεί, επίσης, να προκληθεί και από εξωγενείς παράγοντες όπως είναι η χημειοθεραπεία [339]. Ένας μεγάλος όγκος ή ένας ογκώδης ασκίτης, χαρακτηριστικό του καρκίνου των ωοθηκών, μπορεί να συμπιέσει τις πυελικές φλέβες και να προκαλέσει φλεβική στάση, η οποία προδιαθέτει τους ασθενείς σε φλεβική θρομβοεμβολή. Επιπλέον, η φλεβική στάση είναι ένας αναπόφευκτος κίνδυνος σε ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών, οι οποίοι υποβάλλονται σε δευτερογενή χειρουργική επέμβαση. Στοιχεία από διάφορες μελέτες δείχνουν ότι ο καρκίνος, και ειδικότερα ο καρκίνος των ωοθηκών, οδηγεί σε εξαιρετικά υπερπηκτική κατάσταση [340]. Οι όγκοι προκαλούν παραγωγή αιμοπεταλίων και θρομβίνης, κάτι το οποίο οδηγεί στη διέγερση του καταρράκτη της πήξης, προκειμένου να παραχθεί ο παράγοντας von Willebrand. Διεγείρουν, επίσης, τους ενεργοποιημένους υποδοχείς πρωτεάσης, τόσο στα αιμοπετάλια όσο και στα ενδοθηλιακά κύτταρα [341-343]. Οι προαναφερθέντες παράγοντες συμβάλλουν πιθανώς στον αυξημένο αριθμό και την αντιδραστικότητα των κυκλοφορούντων αιμοπεταλίων, τα οποία σχετίζονται με την εμφάνιση φλεβικής θρομβοεμβολής σε ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών. Η τελευταία, επίσης, αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την αυξημένη θνησιμότητα σε γυναίκες οι οποίες αναπτύσσουν θρόμβο [344].

10.3: Μηχανισμοί παρανεοπλασματικής θρομβοκυττάρωσης στον καρκίνο των ωοθηκών

Πολλές κυτταροκίνες, όπως η θρομβοποιητίνη (TPO- **Thrombopoietin**) και διάφορες ιντερλευκίνες, έχουν εμπλακεί στη μεγακαρυοποίηση και την παραγωγή αιμοπεταλίων και παρατηρείται ότι έχουν πρόσθετα ή συνεργατικά αποτελέσματα σε διάφορα στάδια της διαδικασίας. Εκτιμάται ότι η θρομβοποιητίνη διεγείρει την ανάπτυξη του 75% όλων των ανθρώπινων προγονικών μεγακαρυοκυττάρων [345]. Υπάρχει μια μακροχρόνια σχέση μεταξύ ορισμένων χημειοκινών και της θρομβοκυττάρωσης στη ρύθμιση της κακοήθειας. Μια πολυκεντρική μελέτη 619 ασθενών με καρκίνο των επιθηλιακών ωοθηκών έδειξε ότι η θρομβοκυττάρωση σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα θρομβοποιητίνης πλάσματος και ιντερλευκίνης-6 (IL-6) σε ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών [344]. Σε συνοδευτικά ορθοτοπικά μοντέλα ποντικών με καρκίνο των ωοθηκών, η προερχόμενη από τον όγκο IL-6, βρέθηκε ότι διηγείρε τη σύνθεση της ηπατικής θρομβοποιητίνης και την παρανεοπλαστική επαγωγή της θρομβοκυττάρωσης. Αυτά τα ευρήματα παρέχουν σημαντικές ενδείξεις ότι η αυξημένη ηπατική σύνθεση θρομβοποιητίνης του παρακρινούς συστήματος, σε απόκριση στην IL-6 που προέρχεται από τον όγκο, είναι ένας υποκείμενος μηχανισμός παρανεοπλασματικής θρομβοκυττάρωσης στον καρκίνο των ωοθηκών. Τα αιμοπετάλια είναι συστατικά του ξενιστή, τα οποία μπορούν να διευκολύνουν την ανάπτυξη και διάδοση του καρκίνου των ωοθηκών. Έχει αποδειχθεί ότι τα αιμοπετάλια έχουν κομβικό ρόλο στην ανάπτυξη και μετάσταση του όγκου, καθώς και στην αγγειογένεση (Εικόνα 40) [346].



Εικόνα 40. Απεικόνιση καρκίνου των ωοθηκών. Η προερχόμενη από τον όγκο IL-6, διεγείρει τα ηπατοκύτταρα να εκφράσουν την θρομβοποιητίνη (TPO), η οποία αυξάνει την παραγωγή αιμοπεταλίων και ενισχύει τη θρόμβωση σε ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών [Ανατύπωση από 314].

10.4: Θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών

Συμβατική θεραπεία για καρκίνο των ωοθηκών αποτελεί η χειρουργική κυτταροκαταστολή του όγκου και ακολουθείται από συνδυασμό χημειοθεραπείας πλατίνας και μη πλατίνας (με βάση την ταξάνη), όπως η καρβοπλατίνη, πρώην παραπλατίνη (paraplatin) και η πακλιταξέλη (taxol), αντίστοιχα [333]. Η πακλιταξέλη μειώνει την επίδραση που έχει η καρβοπλατίνη στον αριθμό των αιμοπεταλίων και στην πραγματικότητα επιταχύνει την ανάκαμψη από την καταστολή του μυελού που προκαλείται από την πλατίνα, μια επίδραση η οποία είναι ιδιαίτερα εμφανής όταν ο συνδυασμός πλατίνας/πακλιταξέλης συγκρίνεται με άλλους συνδυασμούς με πλατίνα [347], ή χρησιμοποιούνται σε ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε προηγούμενη θεραπεία [348]. Η τοξικότητα της καρβοπλατίνης αρχίζει συνήθως να εμφανίζεται μετά την 14η ημέρα. Δεν υπάρχουν αξιόπιστες ενδείξεις ότι η χημειοθεραπεία πριν από τη χειρουργική επέμβαση είναι αρκετή για την θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών, σε σχέση με τη συμβατική θεραπεία, σε γυναίκες με προχωρημένο επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών [349]. Συνήθως ο καρκίνος των ωοθηκών με χαμηλή κακοήθεια εμφανίζεται σε γυναίκες ηλικίας 30 έως 50 ετών, παρουσιάζεται στο στάδιο I στο 82% των ασθενών και έχει ποσοστό επιβίωσης έως και 99% [350].

Κεφάλαιο 11: Λευχαιμίες

Η λευχαιμία είναι ο κλωνικός πολλαπλασιασμός αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων στο μυελό των οστών. Οι τέσσερις βασικοί υπότυποι που πιθανότατα αντιμετωπίζουν οι ιατροί πρωτοβάθμιας περίθαλψης είναι η οξεία λεμφοβλαστική, η οξεία μυελογενής, η χρόνια λεμφοκυτταρική και η χρόνια μυελογενής λευχαιμία. Η λευχαιμία αποτελεί συχνή

κακοήθεια τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες και προκύπτει όταν σε κανονικές κυτταρικές ρυθμιστικές διαδικασίες συμβούν αλλοιώσεις οι οποίες οδηγούν σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων στο μυελό των οστών [351]. Το ποσοστό εμφάνισης λευχαιμίας με γνώμονα την ηλικία στις Ηνωμένες Πολιτείες είναι 12,8 ανά 100.000 άτομα κάθε χρόνο [352]. Ο επιπολασμός της λευχαιμίας είναι γενικά υψηλότερος στη λευκή φυλή και ιδιαίτερα στο ανδρικό φύλο, ενώ αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας [352]. Περίπου ένα στα 70 άτομα αναπτύσσει λευχαιμία στη διάρκεια της ζωής του [352].

11.1: Λευχαιμία και διαταραχές της αιμόστασης

Η αιμορραγία μπορεί να προηγείται για αρκετούς μήνες πριν από την εμφανή κλινική διάγνωση της λευχαιμίας. Κάτι τέτοιο παρατηρείται συχνά στις οξείες λευχαιμίες [353-356]. Οι πετέχιες, η πορφύρα και οι εκχυμώσεις είναι οι πιο συχνές προγνωστικές εκδηλώσεις, αν και έχει βρεθεί ότι τα συμπτώματα αυτά είναι λιγότερο συχνά σε περιπτώσεις αιμορραγίας και εντοπίζονται περίπου στο 40-70% των ασθενών με οξεία λευχαιμία από τη στιγμή της διάγνωσης [204, 357-359]. Στην οξεία λευχαιμία, η αιμορραγία αποτελεί μια κοινή αιτία θανάτου και συμβαίνει περίπου στο 40% των ασθενών [356, 357, 360]. Στις χρόνιες μυελογενείς ή λεμφογενείς λευχαιμίες ωστόσο, η αιμορραγία είναι λιγότερο συχνό φαινόμενο [204, 261, 354-356, 361-362]. Επιπρόσθετα, τόσο στη χρόνια μυελογενή λευχαιμία (CML- **C**hronic **M**yelogenous **L**eukemia) όσο και στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (CLL- **C**hronic **L**ymphocytic **L**eukemia), εντοπίζεται συχνά τοπική ή διάχυτη θρόμβωση ή και θρομβοεμβολή [261,361, 363, 364]. Η αιμορραγία, ωστόσο, γίνεται πρόβλημα σε μεταγενέστερα στάδια της νόσου είτε μέσω της θρομβοπενίας από τη χημειοθεραπεία ή τη διήθηση του μυελού, τη διήθηση ήπατος ή άλλα ελαττώματα της αιμόστασης, συμπεριλαμβανομένου του φαινομένου της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης, της ίδιας της λευχαιμίας, της σήψης, των μεταγγίσεων ή άλλων αιτιών [204,216,217,261,361,363,365,366].

Η αιμορραγία, όπως έχει ήδη αναφερθεί, μπορεί να συμβεί σε οποιαδήποτε από τις λευχαιμίες, ωστόσο είναι πιο συχνή στην οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία, την οξεία μυελομονοκυτταρική λευχαιμία, και την οξεία κοκκιοκυτταρική λευχαιμία. Η απειλητική για τη ζωή ή σοβαρή αιμορραγία, δεν φαίνεται να είναι συχνή στην χρόνια μυελογενή λευχαιμία και την χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, ενώ σε καθαρή μορφή της μονοκυτταρικής λευχαιμίας παρατηρείται πολύ σπάνια [261,361,354-356, 367-369]. Η θρομβοπενία θεωρείται η πιο συνηθισμένη αιτία σοβαρής ή απειλητικής για τη ζωή αιμορραγίας σε οξείες ή χρόνιες λευχαιμίες [261, 354,355, 361], οφειλόμενη κυρίως στην χημειοθεραπεία ή στην διήθηση του μυελού. Η διήθηση του ήπατος με επακόλουθη ελαττωματική ή μειωμένη σύνθεση των εξαρτώμενων από τη βιταμίνη Κ παραγόντων μπορεί να δημιουργήσει πρόβλημα στις οξείες λευχαιμίες καθώς και στην σύνθεση άλλων παραγόντων οι οποίοι εξαρτώνται από αυτούς [354,356,370]. Επομένως, εάν ένας ασθενής με οξεία λευχαιμία αναπτύξει σημαντική διήθηση στο ήπαρ, μπορεί να υπάρχει

ελαττωματική ή μειωμένη σύνθεση οποιουδήποτε συνδυασμού, όχι μόνο των παραγόντων II, VII, IX και X, αλλά και του ινωδογόνου, των παραγόντων V, VII:C, XI, XII, και XIII, της προκαλλικρεΐνης, του υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνου (HMWK), του πλασμινογόνου ή της αντιθρομβίνης III, και των πρωτεϊνών C και S [204,218,261, 354-356, 361]. Τα επίπεδα της ινωδονεκτίνης είναι συνήθως μειωμένα στην οξεία λευχαιμία, πιθανώς λόγω μειωμένης σύνθεσης ή λόγω της κατανάλωσής της από την ανάπτυξη συνδρόμου της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης (ΔΕΠ). Συνεπώς, τα χαμηλά επίπεδα ινωδονεκτίνης συσχετίζονται με μολυσματικά επεισόδια και με τη διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη και όχι με την ελαττωματική σύνθεση αυτής, που φαίνεται να αναφέρεται σε ασθενείς με οξεία λευχαιμία [218]. Επίσης, σε ορισμένους ασθενείς με οξεία λευχαιμία μπορεί να συμβεί χολόσταση η οποία να οδηγήσει σε ελαττωματική σύνθεση των εξαρτώμενων από τη βιταμίνη K παραγόντων πήξης, ενώ φαίνεται μερικές φορές να είναι η αιτία για την ανάπτυξη διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης [354,355,371].

Η χρόνια λεμφογενής λευχαιμία μπορεί, επίσης, να σχετίζεται με σημαντική διήθηση του ήπατος, ειδικά καθώς η ασθένεια εξελίσσεται και πλησιάζει στα τερματικά στάδια [204, 354,356, 370, 372]. Αυτό μπορεί, όπως στην οξεία λευχαιμία, να οδηγήσει σε μειωμένη σύνθεση των εξαρτώμενων από τη βιταμίνη K παραγόντων πήξης και οποιουδήποτε άλλου συνδυασμού παραγόντων και πρωτεϊνών που συντίθενται από το ήπαρ. Πολλοί ασθενείς με χρόνια λεμφογενή λευχαιμία εμφανίζουν παρατεταμένους χρόνους προθρομβίνης, οι οποίοι μπορεί να διορθωθούν με πιο εντατικούς κατάλληλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Οι παράγοντες V, VIII:C και το ινωδογόνο είναι πιθανό να συμπεριφέρονται ως αντιδρώντα οξείας φάσης και ίσως οι τιμές τους να είναι υψηλές, φυσιολογικές ή χαμηλές σε ασθενείς με χρόνια λεμφογενή λευχαιμία [204]. Επομένως, ο χρόνος ενεργοποίησης μερικής θρομβοπλαστίνης δεν είναι απόλυτα αξιόπιστος, λόγω των μεταβλητών επιπέδων των παραγόντων V, VIII:C και του ινωδογόνου. Η ελαττωματική ηπατική σύνθεση των παραγόντων πήξης που προκύπτει από την ηπατική διήθηση στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία είναι μια ασυνήθιστη αιτία αιμορραγίας απειλητικής για τη ζωή.

Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία μπορεί επίσης να σχετίζεται με σημαντική ηπατική διήθηση. Ωστόσο, αυτό δεν αποτελεί τόσο συχνό πρόβλημα όσο στην οξεία λευχαιμία ή στην χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία [354, 367]. Ασθενείς με χρόνια μυελογενή λευχαιμία, στους οποίους δεν εντοπίζεται διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη, συνήθως εκδηλώνουν φυσιολογικές ή σχεδόν φυσιολογικές εξετάσεις αιμόστασης. Η ελαττωματική ηπατική σύνθεση που προκύπτει από λευχαιμικά διηθήματα είναι σπάνια και είναι βασικό πρόβλημα ασθενών οι οποίοι αντιμετωπίζουν χρόνια μυελογενή λευχαιμία [204]. Το επίκτητο σύνδρομο του von Willebrand γνωστοποιείται σε συσχέτισμό με πολλές αιματολογικές κακοήθειες, όπως είναι η χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, η λευχαιμία των τριχωτών κυττάρων, τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, το πολλαπλό μύλωμα, η χρόνια μυελογενής λευχαιμία, η πολυκυτταραιμία, η βασική θρομβοκυτταραιμία και η μυελοϊνωση [373-380].

Πολλές αλλαγές έχουν εντοπισθεί στο ινωδολυτικό σύστημα ασθενών με οξεία λευχαιμία. Ωστόσο, τα ευρήματα δεν ήταν αξιόπιστα διότι, ύστερα από μελέτες, ορισμένα περιστατικά εμφανίζονταν με αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα [381] ενώ κάποια άλλα με μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα [382]. Σε ασθενείς με χρόνια μυελογενή ή χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία δεν έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στα συστατικά του ινωδολυτικού συστήματος [354, 367, 372]. Έχει, ωστόσο, παρατηρηθεί, υψηλή δραστηριότητα του ενεργοποιητή πλασμινογόνου στις χρόνιες μυελοειδείς λευχαιμίες [383, 384], αλλά κάτι τέτοιο δεν εντοπίζεται στις λεμφοκυτταρικές λευχαιμίες [204, 354, 356, 372].

Συμπέρασμα

Από κλινικής άποψης, η αιμόσταση αποτελεί τη φυσιολογική διαδικασία ελέγχου και πρόληψης της εξαγγείωσης του αίματος. Κάτι τέτοιο αποδεικνύεται αν αναλογιστούμε τον κομβικό ρόλο τον οποίο κατέχουν ένα προς ένα τα συστατικά που συμμετέχουν στη διαδικασία. Μόλις η φυσιολογική ροή του καταρράκτη της πήξης γίνει κατανοητή, η οποιαδήποτε διαταραχή γίνεται εύκολα αναγνωρίσιμη και οι δυσλειτουργίες εντοπίζονται ταχέως, ειδικότερα σε ογκολογικούς ασθενείς. Συγκεκριμένα, η παρουσία καρκίνου δύναται να επηρεάσει έντονα το σύστημα πήξης και την αιμόσταση του ξενιστή, προκαλώντας αλλαγές στο μοριακό σενάριο αλλά και διευκολύνοντας την ανάπτυξη, εξέλιξη και μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Υπάρχει πληθώρα δεδομένων που αναφέρουν σοβαρές διαταραχές πήξης σχετιζόμενες με τον καρκίνο, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού, του παγκρέατος, των ωοθηκών και των λευχαιμιών, όπως αναλύθηκαν διεξοδικά παραπάνω. Η χημειοθεραπεία, η οποία αποτελεί βασικό παράγοντα ανταπάντησης στον καρκίνο, αν και αποτελεί τη βασική λύση για την καταπολέμηση αυτού, έχει σοβαρό αντίκτυπο στον οργανισμό. Συνεπώς, η αναγνώριση της τοξικότητας των χημειοθεραπευτικών παραγόντων καθώς και του συνδυασμού αυτών, είναι δύσκολη αλλά αναγκαία για την καλύτερη δυνατή έκβαση της ασθένειας.

Βιβλιογραφία

- [1]. Smith SA, Travers RJ, Morrissey JH. How it all starts: Initiation of the clotting cascade. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2015;50(4):326-36.
- [2]. N. Harris, W. Winter, M. Ledford-Kraemer, Assessment of hemostasis in the clinical laboratory, in: W. Clarke, R.D. Dufour (Eds.), *Contemporary Practice in Clinical Chemistry*, AACC Press, Washington DC, 2006, pp. 227–239.
- [3]. N. Harris, W. Winter, M. Ledford-Kraemer, Hemostasis: a review and methods of assessment in the clinical laboratory, in: W. Clarke (Ed.), *Contemporary Practice in Clinical Chemistry*, AACC Press, Washington DC, 2011, pp. 265–

281.

- [4]. N. Harris, W. We, Hemostasis: the view from the clinical chemistry laboratory, in: W. Clarke (Ed.), *Contemporary Practice in Clinical Chemistry*, AACCC Press, Washington DC, 2016, pp. 323–342.
- [5]. Hausman DM. What Is Cancer? *Perspect Biol Med*. 2019;62(4):778-784.
- [6]. Timp JF, Braekkan SK, Versteeg HH, Cannegieter SC. Epidemiology of cancer-associated venous thrombosis. *Blood*. 2013 Sep 5;122(10):1712-23.
- [7]. Livshits Z, Rao RB, Smith SW. An approach to chemotherapy-associated toxicity. *Emerg Med Clin North Am*. 2014 Feb;32(1):167-203.
- [8]. Taguchi T. [Induction chemotherapy for solid tumors]. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2013 Jun;40(6):679-83.
- [9]. Moran TA, Viele CS. Normal clotting. *Semin Oncol Nurs*. 2005 Nov;21(4 Suppl 1):1-11.
- [10]. Dahlback B: Blood coagulation and its regulation by anticoagulant pathways: Genetic pathogenesis of bleeding and thrombotic disease. *J Intern Med* 2005;209-223.
- [11]. Kluft C: The fibrinolytic system and thrombotic tendency. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2004;33:425-429.
- [12]. Collen D: On the regulation and control of fibrinolysis: Edward Kowalski Memorial Lecture. *Thromb Haemost* 1980;43:77-89.
- [13]. Samis J, Ramsey G, Walker JB, et al: Proteolytic processing of human coagulation factor IX by plasmin. *Blood* 2000;95:943-951.
- [14]. Kolev K, Machovich R: Molecular and cellular modulation of fibrinolysis. *Thromb Haemost* 2003;89:610-621.
- [15]. Bluteau, D., Lordier, L., Di Stefano, A., Chang, Y., Raslova, H., Debili, N., Vainchenker, W., 2009. Regulation of megakaryocyte maturation and platelet formation. *J. Thromb. Haemost.* 7, 227e234.
- [16]. Hall, J.E., 2011. *Tratado de Fisiologia Médica*, 12 ed. Elsevier, Rio de Janeiro.
- [17]. Jurk, K., Kehrel, B.E., 2005. Platelets: physiology and biochemistry. *Semin. Thromb. Hemost.* 31, 381e392.
- [18]. Nieswandt, B., Varga-Szabo, D., Elvers, M., 2009. Integrins in platelet activation. *J. Thromb. Haemost.* 7, 206e209.
- [19]. Varga-Szabo, D., Pleines, I., Nieswandt, B., 2008. Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 28, 403e412.
- [20]. George J: Platelets. *Lancet* 2000;355:1531-1539.
- [21]. de Gaetano G: Historical overview of the role of platelets in hemostasis and thrombosis. *Haematologica* 2001;86:349-356
- [22]. Clemetson K: Platelet receptors and their role in diseases. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:253-260.
- [23]. Schafer AI: Approach to the patient with bleeding and thrombosis. In: Goldman L, Ausiello D, eds: *Cecil Textbook of Medicine*. Ed 22. Philadelphia, PA: Saunders: 2004;975-977.
- [24]. Roth GJ, Yagi M, Bastian LS: The platelet glycoprotein Ib-V-IX system: Regulation of gene expression. *Stem Cells* 1996;14(suppl 1):188-19
- [25]. De Queiroz MR, de Sousa BB, da Cunha Pereira DF, Mamede CCN, Matias MS, de Moraes NCG, de Oliveira Costa J, de Oliveira F. The role of platelets in hemostasis and the effects of snake venom toxins on platelet function. *Toxicon*. 2017 Jul;133:33-47.
- [26]. Winter WE, Greene DN, Beal SG, Isom JA, Manning H, Wilkerson G, Harris N. Clotting factors: Clinical biochemistry and their roles as plasma enzymes. *Adv Clin Chem*. 2020;94:31-84.
- [27]. Jaffe EA: Vascular function in hemostasis. In: Butler E, Lichtman M, Collier B, Kipps T, eds: *William's Hematology*. Ed 5. New York, NY: McGraw-Hill: 1996;1261-1276.
- [28]. L.A. Everett, A.C.A. Cleuren, R.N. Khoriaty, D. Ginsburg, Murine coagulation factor VIII is synthesized in endothelial cells, *Blood* 123 (2014) 3697–3705.
- [29]. S.A. Fahs, M.T. Hille, Q.Z. Shi, H. Weiler, R.R. Montgomery, A conditional knockout mouse model reveals endothelial cells as the principal and possibly exclusive source of plasma factor VIII, *Blood* 123 (2014) 3706–3713. [30]. S. Butenas, K.G. Mann, Blood coagulation, *Biochemistry (Mosc.)* 67 (2002) 3–12.
- [31]. M.A. Escobar, H.R. Roberts, C.S. Kitchens, A. KB, Less common congenital disorders of hemostasis, in: C.M. Kessler (Ed.), *Consultative Hemostasis and Thrombosis*, Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, 2013, pp. 60–78.
- [32]. P.F. Fogarty, C.M. Kessler, Hemophilia A and B, in: C.S. Kitchens, C.M. Kessler, A. KB (Eds.), *Consultative Hemostasis and Thrombosis*, Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, 2013, pp. 45–59
- [33]. G.A. Petsko, D. Ringe, The protein domain, in: *Primers in Biology: Protein Structure and Function*, New Science Press Ltd. In association with Blackwell Publishing Ltd and Sinauer Associates Inc, 2004, pp. 30–31.
- [34]. D.W. Chung, et al., *Biochemistry* 25 (1986) 2410–2417. Plasma Prekallikrein, Human. UniProt. Available at:
- [35]. J. Bjorkqvist, A. Jamsa, T. Renne, Plasma kallikrein: the bradykinin-producing enzyme, *Thromb. Haemost.* 110 (2013) 399–407.
- [36]. D.E. Cool, R.T.A. McGillivray, *J. Biol. Chem.* 262 (1987) 13662–13673. High Molecular Kininogen (HMWK), Human. UniProt.
- [37]. R.W. Colman, Role of the light chain of high molecular weight kininogen in adhesion, cell-associated proteolysis and angiogenesis, *Biol. Chem.* 382 (2001) 65–70.

- [38]. J.W. Weisel, C. Nagaswami, J.L. Woodhead, R.A. Delacadena, J.D. Page, R.W. Colman, The shape of high-molecular-weight kininogen—organization into structural domains, changes with activation, and interactions with prekallikrein, as determined by electron-microscopy, *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 10100–10106.
- [39]. J.W. Weisel, R.I. Litvinov, Fibrin formation, structure and properties, *Subcell. Biochem.* 82 (2017) 405–456
- [40]. E.W. Davie, J.D. Kulman, An overview of the structure and function of thrombin, *Semin. Thromb. Hemost.* 32 (2006) 3–15.
- [41]. S. Krishnaswamy, The transition of prothrombin to thrombin, *J. Thromb. Haemost.* 11 (2013) 265–276.
- [42]. S.J.F. Degen, E.W. Davie, *Biochemistry* 26 (1987) 6165–6177. Coagulation Factor II, Human.
- [43]. Butenas S, van't Veer C, Mann KG. "Normal" thrombin generation. *Blood* 1999;94:2169-78
- [44]. Pozzi, N., & Di Cera, E. (2014). Prothrombin structure: unanticipated features and opportunities. *Expert Review of Proteomics*, 11(6), 653–655.
- [45]. Stubbs MT, Bode W: A player of many parts: the spotlight falls on thrombin's structure. *Thromb Res* 1993, 63:1-58.
- [46]. Stubbs MT, Bode W. Coagulation factors and their inhibitors. *Curr Opin Struct Biol.* 1994 Dec;4(6):823-32.
- [47]. Coughlin SR, Vu T-KH, Hung DT, Wheaton VI: Characterization of the cloned platelet thrombin receptor: issues and opportunities. *J Clin Invest* 1992, 89:351-355.
- [48]. S. Butenas, Tissue factor structure and function, *Scientifica (Cairo)* 2012 (2012) 964862.
- [49]. D.W. Banner, The factor VIIa tissue factor complex, *Thromb. Haemost.* 78 (1997) 512–515.
- [50]. J.H. McVey, The role of the tissue factor pathway in haemostasis and beyond, *Curr. Opin. Hematol.* 23 (2016) 453–461.
- [51]. T. Orfeo, S. Butenas, K.E. Brummel-Ziedins, K.G. Mann, The tissue factor requirement in blood coagulation, *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 42887–42896.
- [52]. J.M. Gajsiewicz, J.H. Morrissey, Structure-function relationship of the interaction between tissue Factor and Factor VIIa, *Semin. Thromb. Hemost.* 41 (2015) 682–690.
- [53]. K. Harlos, D.M.A. Martin, D.P. O'Brien, E.Y. Jones, D.I. Stuart, I. Polikarpov, et al., Crystal-structure of the extracellular region of human tissue factor, *Nature* 370 (1994) 662–666.
- [54]. K.G. Mann, S. Butenas, K. Brummel, The dynamics of thrombin formation, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23 (2003) 17–25.
- [55]. K.G. Mann, Thrombin formation, *Chest* 124 (2003) 4S–10S.
- [56]. K.G. Mann, K. Brummel, S. Butenas, What is all that thrombin for? *J. Thromb. Haemost.* 1 (2003) 1504–1514. [57]. Yu, J., Su, H., Wei, S., Chen, F., & Liu, C. (2018). Calcium content mediated hemostasis of calcium-modified oxidized microporous starch. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 1–13.
- [58]. Hargreaves LN, Hayes PC. The influence of lithium and calcium ions on the aggregation of human blood platelets. *Thrombosis Research.* 1978;13(1):79-83.
- [59]. Kroll MH, Schafer AI. Biochemical mechanisms of platelet activation. *Blood.* 1989;74(4):1181-1195.
- [60]. Doolittle RF. The conversion of fibrinogen to fibrin: A brief history of some key events. *Matrix Biology.* 2017;60-61:5-7.
- [61]. Laki K, Lorand L. On the solubility of fibrin clots. *Science.* 1948;108(2802):280.
- [62]. Gear AR. Platelet adhesion, shape change, and aggregation: rapid initiation and signal transduction events. *Canadian Journal of Physiology & Pharmacology.* 1994;72(3):285.
- [63]. Lebrasseur N. Calcium for strong clotting. *Journal of Cell Biology*
- [64]. Stormorken, H. (2003). The discovery of factor V: A tricky clotting factor. *J. Thromb. Haemost.*, 1, 206–213.
- [65]. Duga S, Asselta R, Tenchini ML. Coagulation factor V. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004 Aug;36(8):1393-9.
- [66]. Mann, K. G., & Kalafatis, M. (2003). Factor V: a combination of Dr. Jekyll and Mr. Hyde. *Blood*, 101, 20–30.
- [67]. Nicolaes, G. A., & Dahlback, B. (2002). Factor V and thrombotic disease: description of a janus-faced protein. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 22, 530–538.
- [68]. P.J. O'Hara, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84 (1987) 5158–5162. Coagulation Factor VII, Human. Uniprot.
- [69]. F.S. Hagen, C.L. Gray, P. Ohara, F.J. Grant, G.C. Saari, R.G. Woodbury, et al., Characterization of a cDNA coding for human factor-vii, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83 (1986) 2412–2416
- [70]. S. Butenas, K.G. Mann, Kinetics of human factor VII activation, *Biochemistry* 35 (1996) 1904–1910.
- [71]. Mariani G, Bernardi F. Factor VII Deficiency. *Semin Thromb Hemost.* 2009 Jun;35(4):400-6.
- [72]. P.J. Lenting, J.A. van Mourik, K. Mertens, The life cycle of coagulation factor VIII in view of its structure and function, *Blood* 92 (1998) 3983–3996.
- [73]. P.J. Lenting, O.D. Christophe, P. Gueguen, The disappearing act of factor VIII, *Haemophilia* 16 (2010) 6–15.
- [74]. H. Elmahmoudi, E. Wigren, A. Laatiri, A. Jilzi, A. Elgaaied, E. Gouider, et al., Analysis of newly detected mutations in the MCFD2 gene giving rise to combined deficiency of coagulation factors V and VIII, *Haemophilia* 17 (2011) E923–E927
- [75]. F. Khani, M. Roshal, A 24-year-old man with previously diagnosed hemophilia, *Clin. Chem.* 58 (2012) 1086–1089.
- [76]. B. Zhang, Recent developments in the understanding of the combined deficiency of FV and FVIII, *Br. J. Haematol.* 145 (2009) 15–23.
- [77]. B.W. Shen, P.C. Spiegel, C.H. Chang, J.W. Huh, J.S. Lee, J. Kim, et al., The tertiary structure and domain organization

of coagulation factor VIII, *Blood* 111 (2008) 1240–1247

[78]. Kurachi K, Davie EW (1982) Isolation and characterization of a cDNA coding for human factor IX. *Proc Natl Acad Sci* 79: 6461–6464

[79]. Eaton DL, Vehar GA (1986) Factor VIII structure and proteolytic processing. *Prog Haemostasis Thromb* 8: 47–70

[80]. Bhopale GM, Nanda RK (2003) Blood coagulation factor VIII: An overview. *J Biosci* 28. strony?

[81]. Fay JP (2004) Activation of factor VIII and mechanisms of cofactor action. *Blood Reviews* 18: 1–15.

[82]. Waaler BA (1957) Simultaneous contribution to the formation of thrombin by the intrinsic and extrinsic blood clotting systems. *Scand J Clin Lab Invest* 9: 322–330. [83]. Toole JT, Pittman DB, Orr EC, Murtha P, Wasley LC,

Kaufman RJ (1986) A large region of human factor VIII is dispensable for in vitro procoagulant activity. *Proc Natl Acad Sci* 83: 5939–5942

[84]. Myles T, Yun TH, Leung LL (2002) Structural requirements for the activation of human factor VIII by thrombin. *Blood* 100: 2820

[85]. McMullen BA, Fujikawa K, Davie EW, Hedner U, Ezban M (1995) Location of disulfide bonds and free cysteines in the heavy and light chains of recombinant human factor VIII (anti-hemophilic factor). *Protein Sci* 4: 4740–4746.

[86]. Tagliavacca L, Moon N, Dunham WR, Kaufman RJ (1997) Identification and functional requirement of Cu(I) and its ligands within coagulation factor VIII. *J Biol Chem* 272: 27428–27434.

[87]. Healey JF, Lubin IM, Nakai H, Saenko EL, Hoyer LW, Scandella D (1995) Residues 484–508 contain a major determinant of the inhibitory epitope in the A2 domain of human factor VIII. *J Biol Chem* 270: 14505–14509

[88]. O'Brein LM, Medved LV, Fay PJ (1995) Localization of IXa and factor interactive sites. *J Biol Chem* 270: 27087–27092.

[89]. Bajaj SP, Schmidt AE, Mathur A, Padmanabhan K, Zhong D, Mas-tri M (2001) Factor IXa: Factor VIIIa interaction — helix 330–338 of factor IX interacts with residues 558–565 and spatially adjacent regions of the A2 subunit of factor VIIIa. *J Biol Chem* 276: 16302–16309.

[90]. Lenting PJ, van de lio JW, Donath MJ, van Mourig JA, Mertens K (1996) The sequence Glu1811–Lys1818 of human blood coagulation factor VIII comprises a binding site for activated factor VIII comprises a binding site for activated factor IX. *J Biol Chem* 271: 1935–1940.

[91]. Lapan KA, Fay PJ (1997) Localization of a factor X interactive site in the A1 subunit of factor VIIIa. *J Biol Chem* 272: 2082–2088

[92]. Fay JP (2004) Activation of factor VIII and mechanisms of cofactor action. *Blood Reviews* 18: 1–15.

[93]. Nogami K, Zhou Q, Myles T, Leung LL, Wakabayashi H, Fay PJ (2005) Exosite-interactive regions in the A1 and A2 domains of factor VIII facilitate thrombin-catalyzed cleavage of heavy chain. *J Biol Chem* 280: 18476–18487.

[94]. Pittman DD, Alderman E, Tomkinson KN, Wang JH, Giles AR, Kaufman RJ (1993) Biochemical, immunological, and in vivo functional characterization of B-domain deleted factor VIII. *Blood* 81: 2925–2935.

[95]. Berntorp E (1997) Second generation, B-domain deleted recombinant factor VIII. *Thrombosis and Haemostasis* 78: 256–260.

[96]. Pratt KP, Shen BW, Takeshima K, Davie EW, Fujikawa K, Stoddard BL (1999) Structure of the C2 domain of human factor VIII at 1.5 Å resolution. *Nature* 402: 439–442. [97]. Liu ML, Shen BW, Nakaya S, Pratt KP, Fujikawa K, Davie EW (2000) Hemophilic factor VIII C1- and C2-domain missense mutations and their modeling to the 1.5-angstrom human C2-domain crystal structure. *Blood* 96: 979–987

[98]. D. Gailani, Y.P. Geng, I. Verhamme, M.F. Sun, S.P. Bajaj, A. Messer, et al., The mechanism underlying activation of factor IX by factor XIa, *Thromb. Res.* 133 (2014) 548–551.

[99]. A.E. Schmidt, S.P. Bajaj, Structure-function relationships in factor IX and factor IXa, *Trends Cardiovasc. Med.* 13 (2003) 39–45.

[100]. T. Zogg, H. Brandstetter, Activation mechanisms of coagulation factor IX, *Biol. Chem.* 390 (2009) 391–400.

[101]. T.L. Messier, et al., *Gene* 99 (1991) 291–294. Coagulation Factor X, Human. UniProt.

[102]. M. Hertzberg, *Biochemistry of Factor-X*, *Blood Rev.* 8 (1994) 56–62.

[103]. D. Venkateswarlu, L. Perera, T. Darden, L.G. Pedersen, Structure and dynamics of zymogen human blood coagulation factor X, *Biophys. J.* 82 (2002) 1190–1206.

[104]. Emsley J, McEwan PA, Gailani D. Structure and function of factor XI. *Blood* 2010;115:2569-2577. [105]. Brummel-

Ziedens K, Mann KG. Molecular basis of blood coagulation. In: Hoffman H, Benz EJ, Silverstein LS, Heslop HE, Weitz JJ, Anastasi J, eds. *Hematology, Basic Principles and Practice*, 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier-Saunders. 2013:1821-1841.

[106]. Thompson RE, Mandle R Jr, Kaplan AP. Association of factor XI and high molecular weight kininogen in human plasma. *J Clin Invest.* 1977;60:1376-1380.

[107]. Thompson RE, Mandle R Jr, Kaplan AP. Studies of binding of prekallikrein and Factor XI to high molecular weight kininogen and its light chain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979;76:4862-4866.

[108]. Renné T, Gailani D, Meijers JC, Müller-Esterl W. Characterization of the H-kininogen-binding site on factor XI: a comparison of factor XI and plasma prekallikrein. *J Biol Chem.* 2002;277:4892-4899.

[109]. K. Fujikawa, et al., *Biochemistry* 25 (1986) 2417–2424. Coagulation Factor XI, Human. UniProt.

[110]. H. Weidmann, L. Heikaus, A.T. Long, C. Naudin, H. Schluter, T. Renne, The plasmacontact system, a protease

- cascade at the nexus of inflammation, coagulation and immunity, *Biochim. Biophys. Acta* 1864 (11 Pt B) (2017) 2118–2127.
- [111]. Didiasova M, Wujak L, Schaefer L, Wygrecka M. Factor XII in coagulation, inflammation and beyond. *Cell Signal*. 2018 Nov;51:257-265.
- [112]. D.E. Cool, R.T. MacGillivray, Characterization of the human blood coagulation factor XII gene. Intron/exon gene organization and analysis of the 5'-flanking region, *J. Biol. Chem.* 262 (28) (1987) 13662–13673.
- [113]. B.J. Clarke, H.C. Cote, D.E. Cool, I. Clark-Lewis, H. Saito, R.A. Pixley, R.W. Colman, R.T. MacGillivray, Mapping of a putative surface-binding site of human coagulation factor XII, *J. Biol. Chem.* 264 (19) (1989) 11497–11502. [114]. F. Citarella, D.M. Ravon, B. Pascucci, A. Felici, A. Fantoni, C.E. Hack, Structure/ function analysis of human factor XII using recombinant deletion mutants. Evidence for an additional region involved in the binding to negatively charged surfaces, *Eur. J. Biochem.* 238 (1) (1996) 240–249.
- [115]. F. Citarella, H. te Velthuis, M. Helmer-Citterich, C.E. Hack, Identification of a putative binding site for negatively charged surfaces in the fibronectin type II domain of human factor XII—an immunochemical and homology modeling approach, *Thromb. Haemost.* 84 (6) (2000) 1057–1065.
- [116]. B.A. McMullen, K. Fujikawa, Amino acid sequence of the heavy chain of human alpha-factor XIIa (activated Hageman factor), *J. Biol. Chem.* 260 (9) (1985) 5328–5341.
- [117]. R.A. Pixley, L.G. Stumpo, K. Birkmeyer, L. Silver, R.W. Colman, A monoclonal antibody recognizing an icosapeptide sequence in the heavy chain of human factor XII inhibits surface-catalyzed activation, *J. Biol. Chem.* 262 (21) (1987) 10140–10145 [118]. D.E. Cool, C.J. Edgell, G.V. Louie, M.J. Zoller, G.D. Brayer, R.T. MacGillivray, Characterization of human blood coagulation factor XII cDNA. Prediction of the primary structure of factor XII and the tertiary structure of beta-factor XIIa, *J. Biol. Chem.* 260 (25) (1985) 13666–13676
- [119]. I. Schousboe, Contact activation in human plasma is triggered by zinc ion modulation of factor XII (Hageman factor), *Blood Coagul. Fibrinolysis* 4 (5) (1993) 671–678.
- [120]. R. Rojkaer, I. Schousboe, Partial identification of the Zn²⁺-binding sites in factor XII and its activation derivatives, *Eur. J. Biochem.* 247 (2) (1997) 491–496
- [121]. C. Kannemeier, A. Shibamiya, F. Nakazawa, H. Trusheim, C. Ruppert, P. Markart, Y. Song, E. Tzima, E. Kennerknecht, M. Niepmann, M.L. von Bruehl, D. Sedding, S. Massberg, A. Gunther, B. Engelmann, K.T. Preissner, Extracellular RNA constitutes a natural procoagulant cofactor in blood coagulation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104 (15) (2007) 6388–6393.
- [122]. O. Roeise, B.N. Bouma, J.O. Stadaas, A.O. Aasen, Dose dependence of endotoxin-induced activation of the plasma contact system: an in vitro study, *Circ. Shock*. 26(4) (1988) 419–430.
- [123]. M.L. von Bruhl, K. Stark, A. Steinhart, S. Chandraratne, I. Konrad, M. Lorenz, A. Khandoga, A. Tirniceriu, R. Coletti, M. Kollnberger, R.A. Byrne, I. Laitinen, A. Walch, A. Brill, S. Pfeiler, D. Manukyan, S. Braun, P. Lange, J. Riegger, J. Ware, A. Eckart, S. Haidari, M. Rudelius, C. Schulz, K. Ehtler, V. Brinkmann, M. Schwaiger, K.T. Preissner, D.D. Wagner, N. Mackman, B. Engelmann, S. Massberg, Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo, *J. Exp. Med.* 209 (4) (2012) 819–835.
- [124]. F. Muller, N.J. Mutch, W.A. Schenk, S.A. Smith, L. Esterl, H.M. Spronk, S. Schmidbauer, W.A. Gahl, J.H. Morrissey, T. Renne, Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo, *Cell* 139 (6) (2009) 1143–1156.
- [125]. P.E. van der Meijden, I.C. Munnix, J.M. Auger, J.W. Govers-Riemslog, J.M. Cosemans, M.J. Kuijpers, H.M. Spronk, S.P. Watson, T. Renne, J.W. Heemskerk, Dual role of collagen in factor XII-dependent thrombus formation, *Blood* 114 (4) (2009) 881–890.
- [126]. A. Sala-Cunill, J. Bjorkqvist, R. Senter, M. Guilarte, V. Cardona, M. Labrador, K.F. Nickel, L. Butler, O. Luengo, P. Kumar, L. Labberton, A. Long, A. Di Gennaro, E. Kenne, A. Jamsa, T. Krieger, H. Schluter, T. Fuchs, S. Flohr, U. Hassiepen, F. Cumin, K. McCrae, C. Maas, E. Stavrou, T. Renne, Plasma contact system activation drives anaphylaxis in severe mast cell-mediated allergic reactions, *J. Allergy Clin. Immunol.* 135 (4) (2015) 1031–1043 e6.
- [127]. A. Yang, F. Chen, C. He, J. Zhou, Y. Lu, J. Dai, R.B. Birge, Y. Wu, The Procoagulant activity of apoptotic cells is mediated by interaction with factor XII, *Front. Immunol.* 8 (2017) 1188.
- [128]. A.D. Schreiber, A.P. Kaplan, K.F. Austen, Plasma inhibitors of the components of the fibrinolytic pathway in man, *J. Clin. Invest.* 52 (6) (1973) 1394–1401.
- [129]. A.D. Schreiber, A.P. Kaplan, K.F. Austen, Inhibition by C1INH of Hagemann factor fragment activation of coagulation, fibrinolysis, and kinin generation, *J. Clin. Invest.* 52 (6) (1973) 1402–1409.
- [130]. M. Berrettini, R.R. Schleef, F. Espana, D.J. Loskutoff, J.H. Griffin, Interaction of type 1 plasminogen activator inhibitor with the enzymes of the contact activation system, *J. Biol. Chem.* 264 (20) (1989) 11738–11743. [131]. C.F. Scott, R.W. Carrell, C.B. Glaser, F. Kueppers, J.H. Lewis, R.W. Colman, Alpha-1-antitrypsin-Pittsburgh. A potent inhibitor of human plasma factor XIa, kallikrein, and factor XII, *J. Clin. Invest.* 77 (2) (1986) 631–634.
- [132]. N. Stead, A.P. Kaplan, R.D. Rosenberg, Inhibition of activated factor XII by antithrombin-heparin cofactor, *J. Biol. Chem.* 251 (21) (1976) 6481–6488.
- [133]. R.A. Pixley, M. Schapira, R.W. Colman, Effect of heparin on the inactivation rate of human activated factor XII by

- antithrombin III, *Blood* 66 (1) (1985) 198–203.
- [134]. R.A. Pixley, M. Schapira, R.W. Colman, The regulation of human factor XIIa by plasma proteinase inhibitors, *J. Biol. Chem.* 260 (3) (1985) 1723–1729.
- [135]. E. Stavrou, A.H. Schmaier, Factor XII: what does it contribute to our understanding of the physiology and pathophysiology of hemostasis & thrombosis, *Thromb. Res.* 125 (3) (2010) 210–215.
- [136]. B. Siegerink, J.W. Govers-Riemslog, F.R. Rosendaal, H. Ten Cate, A. Algra, Intrinsic coagulation activation and the risk of arterial thrombosis in young women: results from the risk of arterial thrombosis in relation to oral contraceptives (RATIO) case-control study, *Circulation* 122 (18) (2010) 1854–1861.
- [137]. A. de Agostini, H.R. Lijnen, R.A. Pixley, R.W. Colman, M. Schapira, Inactivation of factor XII active fragment in normal plasma. Predominant role of C-1-inhibitor, *J. Clin. Invest.* 73 (6) (1984) 1542–1549.
- [138]. C. Maas, T. Renne, Regulatory mechanisms of the plasma contact system, *Thromb. Res.* 129 (Suppl. 2) (2012) S73–S76.
- [139]. N. Kitamura, H. Kitagawa, D. Fukushima, Y. Takagaki, T. Miyata, S. Nakanishi, Structural organization of the human kininogen gene and a model for its evolution, *J. Biol. Chem.* 260 (14) (1985) 8610–8617.
- [140]. N. Kitamura, H. Nawa, Y. Takagaki, S. Furuto-Kato, S. Nakanishi, Cloning of cDNAs and genomic DNAs for high-molecular-weight and low-molecular-weight kininogens, *Methods Enzymol.* 163 (1988) 230–240.
- [141]. K. Kurachi, E.W. Davie, Activation of human factor XI (plasma thromboplastin antecedent) by factor XIIa (activated Hageman factor), *Biochemistry* 16 (26) (1977) 5831–5839.
- [142]. K. Kurachi, K. Fujikawa, E.W. Davie, Mechanism of activation of bovine factor XI by factor XII and factor XIIa, *Biochemistry* 19 (7) (1980) 1330–1338.
- [143]. Y. Lin, R.B. Harris, W. Yan, K.R. McCrae, H. Zhang, R.W. Colman, High molecular weight kininogen peptides inhibit the formation of kallikrein on endothelial cell surfaces and subsequent urokinase-dependent plasmin formation, *Blood* 90 (2) (1997) 690–697.
- [144]. B. Ghebrehiwet, B.P. Randazzo, J.T. Dunn, M. Silverberg, A.P. Kaplan, Mechanisms of activation of the classical pathway of complement by Hageman factor fragment, *J. Clin. Invest.* 71 (5) (1983) 1450–1456.
- [145]. Yee VC, Pedersen LC, Le Trong I, Bishop PD, Stenkamp RE, - Teller DC: Three-dimensional structure of a transglutaminase:human blood coagulation factor XIII. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, 91:7296-7300.
- [146]. Stubbs MT, Bode W. Coagulation factors and their inhibitors. *Curr Opin Struct Biol.* 1994 Dec;4(6):823-32.
- [147]. Pedersen LC, Yee VC, Bishop PD, Le Trong I, Teller DC, Stenkamp RE: Transglutaminase factor XIII uses proteinase-like catalytic triad to cross-link macromolecules. *Protein Sci* 1994, 3:1131-1135.
- [148]. Furie B, Furie BC: Molecular and cellular biology of blood coagulation. *N Engl J Med* 1992;326:800-806
- [149]. Rapaport S, Rao L: The tissue factor pathway: How it has become a “Prima Ballerina.” *Thromb Haemost* 1995;74:7-17.
- [150]. Price G, Thompson S, Kam P: Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor. *Anaesth: J Assoc Anaesth Great Britain Ireland* 2004;59:483-493.
- [151]. Hoffman M: Remodeling the blood coagulation cascade. *J Thromb Thrombolysis* 2003;16:17-20
- [152]. Mann K, Nesheim M, Hibbard L, et al: The role of factor V in the assembly of the prothrombinase complex. *Ann N Y Acad Sci* 1981;370:378-388.
- [153]. Tracy PB, Giles AR, Mann KG, et al: Factor V (Quebec): A bleeding diathesis associated with a qualitative platelet Factor V deficiency. *J Clin Invest* 1984;74:1221-1228.
- [154]. Kane W, Lindhout M, Jackson C, et al: Factor Va dependent binding of factor Xa to platelets. *J Biol Chem* 1980;255:1170-1174.
- [155]. Mosesson MW: The roles of fibrinogen and fibrin in hemostasis and thrombosis. *Semin Hematol* 1992;29:177-188.
- [156]. Monaco JL, Lawrence WT: Acute wound healing: An overview. *Clin Plast Surg* 2003;1:1-12.
- [157]. Butenas S, van't Veer C, Mann KG: Evaluation of the initiation phase of blood coagulation using ultrasensitive assays for serine proteases. *J Biol Chem* 1997;272:21527-21533.
- [158]. Schenone M, Furie BC, Furie B: The blood coagulation cascade. *Curr Opin Hematol* 2004;11:272-277.
- [159]. W.E. Winter, S.D. Flax, N.S. Harris, Coagulation testing in the core laboratory, *Lab. Med.* 48 (2017) 295–313.
- [160]. R.J. Linhardt, 2003 Claude S. Hudson award address in carbohydrate chemistry. Heparin: structure and activity, *J. Med. Chem.* 46 (2003) 2551–2564.
- [161]. E. Ronnberg, F.R. Melo, G. Pejler, Mast cell proteoglycans, *J. Histochem. Cytochem.* 60 (2012) 950–962.
- [162]. J.A. Huntington, Mechanisms of glycosaminoglycan activation of the serpins in hemostasis, *J. Thromb. Haemost.* 1 (2003) 1535–1549.
- [163]. R.N. Pike, A.M. Buckle, B.F. le Bonniec, F.C. Church, Control of the coagulation system by serpins—getting by with a little help from glycosaminoglycans, *FEBS J.* 272 (2005) 4842–4851.
- [164]. S.T. Olson, B. Richard, G. Izaguirre, S. Schedin-Weiss, P.G.W. Gettins, Molecular mechanisms of antithrombin-heparin regulation of blood clotting proteinases. A paradigm for understanding proteinase regulation by serpin family protein proteinase inhibitors, *Biochimie* 92 (2010) 1587–1596.

- [165]. A. Greinacher, T.E. Warkentin, The direct thrombin inhibitor hirudin, *Thromb.Haemost.* 99 (2008) 819–829.
- [166]. T.E. Warkentin, Bivalent direct thrombin inhibitors: hirudin and bivalirudin, *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 17 (2004) 105–125.
- [167]. V. De Filippis, L. Acquasaliente, G. Pontarollo, D. Peterle, Noncoded amino acids in protein engineering: structure-activity relationship studies of hirudin-thrombin interaction, *Biotechnol. Appl. Biochem.* 65 (2018) 69–80.
- [168]. A.E. Mast, Tissue factor pathway inhibitor multiple anticoagulant activities for a single protein, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 36 (2016) 9–14.
- [169]. S.A. Maroney, P.E. Ellery, A.E. Mast, Alternatively spliced isoforms of tissue factor pathway inhibitor, *Thromb. Res.* 125 (2010) S52–S56.
- [170]. J.P. Wood, P.E.R. Ellery, S.A. Maroney, A.E. Mast, Biology of tissue factor pathway inhibitor, *Blood* 123 (2014) 2934–2943..
- [171]. B.A. Lwaleed, P.S. Bass, Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease, *J. Pathol.* 208 (2006) 327–339.
- [172]. P.E.R. Ellery, M.J. Adams, Tissue factor pathway inhibitor: then and now, *Semin. Thromb. Hemost.* 40 (2014) 881–886.
- [173]. R.J. Beckmann, et al., *Nucleic Acids Res.* 13 (1985) 5233–5247. Protein C, Human. UniProt.
- [174]. J.H. Griffin, J.A. Fernandez, A.J. Gale, L.O. Mosnier, Activated protein C, *J. Thromb. Haemost.* 5 (2007) 73–80.
- [175]. L.V.M. Rao, C.T. Esmon, U.R. Pendurthi, Endothelial cell protein C receptor: a multiliganded and multifunctional receptor, *Blood* 124 (2014) 1553–1562.
- [176]. D.M. Zajonc, The CD1 family: serving lipid antigens to T cells since the Mesozoic era, *Immunogenetics* 68 (2016) 561–576.
- [177]. R. Essalmani, D. Susan-Resiga, J. Guillemot, W. Kim, V. Sachan, Z. Awan, et al., Thrombin activation of protein C requires prior processing by a liver proprotein convertase, *J. Biol. Chem.* 292 (2017) 10564–10573.
- [178]. H. Weiler, B.H. Isermann, Thrombomodulin, *J. Thromb. Haemost.* 1 (2003) 1515–1524.
- [179]. H.K. Ploos van Amstel, et al., *FEBS Lett.* 222 (1987) 186–190. Protein S, Human. UniProt.
- [180]. B. Dahlback, Vitamin K-dependent protein S: beyond the protein C pathway, *Semin. Thromb. Hemost.* 44 (2018) 176–184.
- [181]. D. Ermert, A.M. Blom, C4b-binding protein: the good, the bad and the deadly. Novel functions of an old friend, *Immunol. Lett.* 169 (2016) 82–92.
- [182]. de Castro Sant' Anna C, Junior AGF, Soares P, Tuji F, Paschoal E, Chaves LC, Burbano RR. Molecular biology as a tool for the treatment of cancer. *Clin Exp Med.* 2018 Nov;18(4):457-464.
- [183]. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016 Jan;25(1):16-27.
- [184]. Von Hanseemann D. Ueber asymmetrische Zelltheilung in Epithelhresbsen und deren biologische bedeutung. *Virchows Arch A Pathol Anat.* 1890;119:299–326.
- [185]. Boveri T. Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Jena: Publisher G Fischer; 1914. p. 64.
- [186]. Manchester KL. Theodor Boveri and the origin of malignant tumours. *Trends Cell Biol.* 1995;5(10):384–7.
- [187]. Lander ES, International Human Genome Sequencing Consortium, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001;409:860–921.
- [188]. Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science.* 2001;291:1304–51.
- [189]. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: E359–86.
- [190]. Brenner, D. R., Ruan, Y., Shaw, E., O'Sullivan, D., Poirier, A. E., Heer, E., ... De, P. (2019). Age-standardized cancer-incidence trends in Canada, 1971–2015. *Canadian Medical Association Journal*, 191(46), E1262–E1273.
- [191]. Bick, R. (1992). Coagulation Abnormalities in Malignancy: A Review. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 18(04), 353–372.
- [192]. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving outpatient chemotherapy. *J Thromb Haemost.* 2007;5(3):632-634.
- [193]. Di Nisio M, Ferrante N, Feragalli B, et al. Arterial thrombosis in ambulatory cancer patients treated with chemotherapy. *Thromb Res.* 2011;127(4): 382-383.
- [194]. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects. *J Thromb Haemost.* 2013;11(2):223-233.
- [195]. Timp JF, Braekkan SK, Versteeg HH, Cannegieter SC. Epidemiology of cancer-associated venous thrombosis. *Blood.* 2013; 122(10):1712-1723.
- [196]. Blom JW, Vanderschoot JP, Oostindier MJ, Osanto S, van der Meer FJ, Rosendaal FR. Incidence of venous thrombosis in a large cohort of 66,329 cancer patients: results of a record linkage study. *J Thromb Haemost.* 2006;4(3): 529-535.
- [197]. Levin J, Conley CL. Thrombocytosis associated with malignant disease. *Arch Intern Med.* 1964; 114:497-500.
- [198]. Trousseau A: Phlegmasia alba dolens. In: *Clinique Medicate de L'Hotel Dieu de Paris* 3, 2nd ed. Paris, Balliere,

1865.

- [199]. Morrison M: An analysis of the blood picture in 100 cases of malignancy. *J Lab Clin Med* 17:1071, 1932.
- [200]. Amundsen MA, JA Spittel, JH Thompson: Hypercoagulability associated with malignant disease and with the postoperative state. *Ann Intern Med* 58:608, 1963.
- [201]. Davis RB, A Theologides, BJ Kennedy: Comparative studies of blood coagulation and platelet aggregation in patients with cancer and non-malignant disease. *Ann Intern Med* 71:67, 1969
- [202]. Miller SP, J Sanchez-Avalos, T Stefanski: Coagulation disorders in cancer. I. Clinical and laboratory studies. *Cancer* 20:1452, 1967.
- [203]. Pineo GF, MC Brain, AS Gallus: Tumors, mucus production, and hypercoagulability. *Ann NY Acad Sci* 230:262, 1974.
- [204]. Bick RL: Alterations of hemostasis in malignancy. In: *Disorders of Thrombosis and Hemostasis: Clinical and Laboratory Practice*. ASCP Press, Chicago, 1992, p 239
- [205]. Slickter SJ, LA Harker: Hemostasis in malignancy. *Ann NY Acad Sci* 230:252, 1974.
- [206]. Astedt B, L Svanberg, IM Nilsson: Cancer, FDP, and radiotherapy. *Br Med J* 2:47, 1972.
- [207]. Phillips LL, V Skrodelis, CA Furey: The fibrinolytic enzyme system in prostatic cancer. *Cancer* 12:721, 1959.
- [208]. Yip ML, S Lee, HJ Sacks: Nonspecificity of the protamine sulfate test for intravascular coagulation. *Am J Clin Pathol* 57:487, 1972.
- [209]. Boughton BJ, A Simpson: Plasma fibronectin in acute leukemia. *Br J Haematol* 51:487, 1982.
- [210]. Rickles FR, RL Edwards, C Barb: Abnormalities of blood coagulation in patients with cancer. Fibrinopeptide A generation and tumor growth. *Cancer* 51:301, 1983.
- [211]. Douglas JT, GDO Lowe, CD Forbes: Beta-thromboglobulin and platelet counts: Effect of malignancy, infection, age, and obesity. *Thromb Res* 25:459, 1982.
- [212]. Yodo Y, T Abe: Fibrinopeptide A (FPA) level and fibrinogen kinetics in patients with malignant disease. *Thromb Haemost* 46:760, 1981.
- [213]. Choate JJ, DF Mosher: Fibronectin concentration in plasma of patients with breast cancer, colon cancer, and acute leukemia. *Cancer* 51:1142, 1983.
- [214]. Walenga JM, J Fareed, G Mariani: Diagnostic efficacy of a simple radioimmunoassay test for fibrinogen/fibrin fragments containing the B-beta 15-42 sequence. *Semin Thromb Hemost* 10:252, 1984.
- [215]. Fareed J, JM Walenga, RL Bick: Impact of automation on the quantitation of low molecular weight markers of hemostatic defects. *Semin Thromb Hemost* 9:355, 1983.
- [216]. Bick RL: Disseminated intravascular coagulation and related syndromes. In: *Disorders of Thrombosis and Hemostasis: Clinical and Laboratory Practice*. ASCP Press, Chicago, 1992, p 137.
- [217]. Bick RL: Disseminated intravascular coagulation: A clinical review. *Semin Thromb Hemost* 14:299, 1988.
- [218]. Bick RL, T Adams: Fibrinolytic activity in myeloproliferative disorders. *Clin Res* 21:264, 1973.
- [219]. Innerfield I, A Anrist, JW Benjamin: Plasma antithrombin patterns in disturbances of the pancreas. *Gastroenterology* 19:843, 1951.
- [220]. Bick RL: Clinical relevance of antithrombin III. *Semin Thromb Hemost* 8:276, 1982
- [221]. Clifton EE, CE Grossi: Fibrinolytic activity of human tumors as measured by the fibrin plate method. *Cancer* 8:1146, 1955.
- [222]. Enck RE, CN Rios: Tamoxifen treatment of metastatic breast cancer and antithrombin III levels. *Cancer* 53:2607, 1984.
- [223]. Boggust WA, DJ O'Brien, RA O'Meara: The coagulative factors of normal human and human cancer tissue. *Irish J Med Sci* 6:131, 1963.
- [224]. O'Meara RAQ: Coagulation properties of cancers. *Ir J Med Sci* 394:474, 1958
- [225]. Lacroix R, Vallier L, Bonifay A, Simoncini S, Mege D, Aubert M, Panicot-Dubois L, Dubois C, Dignat-George F. Microvesicles and Cancer Associated Thrombosis. *Semin Thromb Hemost*. 2019 Sep;45(6):593-603.
- [226]. Dignat-George F, Boulanger CM. The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31(01): 27–33
- [227]. Ridger VC, Boulanger CM, Angelillo-Scherrer A, et al. Microvesicles in vascular homeostasis and diseases. Position paper of the European Society of Cardiology (ESC) working group on atherosclerosis and vascular biology. *Thromb Haemost* 2017; 117:1296–1316
- [228]. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2013;13(01):34–45
- [229]. Dvorak HF, Quay SC, Orenstein NS, et al. Tumor shedding and coagulation. *Science* 1981;212(4497):923–924
- [230]. Dvorak HF, Van DeWater L, Bitzer AM, et al. Procoagulant activity associated with plasma membrane vesicles shed by cultured tumor cells. *Cancer Res* 1983;43(09):4434–4442
- [231]. Collier MEW, Ettelaie C. Regulation of the incorporation of tissue factor into microparticles by serine phosphorylation of the cytoplasmic domain of tissue factor. *J Biol Chem* 2011;286 (14):11977–11984
- [232]. Collier MEW, Maraveyas A, Ettelaie C. Filamin-A is required for the incorporation of tissue factor into cell-derived

- microvesicles. *Thromb Haemost* 2014;111(04):647–655
- [233]. Rothmeier AS, Marchese P, Petrich BG, et al. Caspase-1-mediated pathway promotes generation of thromboinflammatory microparticles. *J Clin Invest* 2015;125(04):1471–1484
- [234]. Ettelaie C, Collier MEW, Featherby S, Greenman J, Maraveyas A. Oligoubiquitination of tissue factor on Lys255 promotes Ser253- dephosphorylation and terminates TF release. *Biochim Biophys Acta* 2016;1863(11):2846–2857
- [235]. Rothmeier AS, Marchese P, Langer F, et al. Tissue factor prothrombotic activity is regulated by integrin- α rf6 trafficking. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37(07):1323–1331
- [236]. Tans G, Rosing J, Thomassen MC, Heeb MJ, Zwaal RF, Griffin JH. Comparison of anticoagulant and procoagulant activities of stimulated platelets and platelet-derived microparticles. *Blood* 1991;77(12):2641–2648
- [237]. Dahlbäck B, Wiedmer T, Sims PJ. Binding of anticoagulant vitamin K-dependent protein S to platelet-derived microparticles. *Biochemistry* 1992;31(51):12769–12777
- [238]. Stavenhuter F, Davis NF, Duan E, Gale AJ, Heeb MJ. Platelet protein S directly inhibits procoagulant activity on platelets and microparticles. *Thromb Haemost* 2013;109(02):229–237
- [239]. Hirata E, Sahai E. Tumor Microenvironment and Differential Responses to Therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017 Jul 5;7(7):a026781.
- [240]. Frei E 3rd. Curative cancer chemotherapy. *Cancer Res*. 1985 Dec;45(12 Pt 1):6523-37.
- [241]. Otten H-MMB, Mathijssen J, ten Cate H, Soesan M, Inghels M, Richel DJ, et al. Symptomatic venous thromboembolism in cancer patients treated with chemotherapy, an underestimated phenomenon. *Arch Intern Med* 2004;164:190 – 4.
- [242]. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, O’Fallon WM, Melton III LJ. Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism, a population-based case-control study. *Arch Intern Med* 2000;160:809 – 15.
- [243]. Heit J, Mohr D, Silverstein M, Petterson T, O’Fallon W, Melton III L. Predictors of recurrence after deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Arch Intern Med* 2000;160:761 – 8.
- [244]. Haddad TC, Greeno EW. Chemotherapy-induced thrombosis. *Thromb Res*. 2006;118(5):555-68.
- [245]. Cool R, Herrington J, Wong L. Recurrent peripheral arterial thrombosis induced by cisplatin and etoposide. *Pharmacotherapy* 2002;22(9):1200 – 4.
- [246]. Licciarello J, Moake J, Rudi C, Karp D, Hong W. Elevated plasma von Willebrand factor levels and arterial occlusive complications associated with cisplatin-based chemotherapy. *Oncology* 1985;42:296 – 300.
- [247]. Oner A, Gurgey A, Kirazli F, Okur H, Tunc B. Changes in hemostatic factors in children with acute lymphoblastic lymphoma receiving combined chemotherapy including high-dose methylprednisolone and l-asparaginase. *Leuk Lymphoma* 1999;33:361 – 4.
- [248]. Kinjult S, Albertsson M, Eskilsson J, Cwikiel M. Antithrombotic treatment in protection against thrombogenic effects of 5-fluorouracil on vascular endothelium: a Scanning Microscopy evaluation. *Scanning* 2001;23:1 – 8. [249]. Gobel U, Ebell W, Jurgens H, Schmitt-Graff A. Coagulation changes following bleomycin treatment in animals. [abstract]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1983;2:(39).
- [250]. Cwikiel M, Eskilsson J, Albertsson M, Stavenow L. The influence of 5-fluorouracil and methotrexate on vascular endothelium: an experimental study using endothelial cells in the culture. *Ann Oncol* 1996;7:731 – 7
- [251]. Rogers II J, Murgo A, Fontana J, Raich P. Chemotherapy for breast cancer decreases plasma protein C and S. *J Clin Oncol* 1988;6:276 – 81.
- [252]. Ramsay N, Coccia P, Krivit W, Nesbit M, Edson J. The effect of l-asparaginase on plasma coagulation factors in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 1977;40:1398 – 401.
- [253]. Greant J, McAtee N, Murphy R, Hamilton J, Balis F, Steinberg S, et al. Phase I and pharmacokinetic study of recombinant human granulocyte—macrophage colonystimulating factor given in combination with fluorouracil plus calcium leucovorin in metastatic gastrointestinal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 1994;12:560 – 8.
- [254]. Mannucci P, Bettega D, Chantarangkul V. Effect of tamoxifen on measurements of hemostasis in healthy women. *Arch Intern Med* 1996;156:1806 – 10.
- [255]. Greeno E, Bach R, Moldow C. Apoptosis is associated with increased cell surface tissue factor procoagulant activity. *Lab Invest* 1996;75:281 – 9.
- [256]. Wang J, Weiss I, Svoboda K, Kwaan H. Thrombogenic role of cells undergoing apoptosis. *Br J Haematol* 2001;115:382 – 91.
- [257]. Bertoneu M, Gallo S, Lauri D, Levine M, Orr F, Buchanan M. Chemotherapy enhances endothelial cell reactivity to platelets. *Clin Exp Metastasis* 1990;8:511 – 8.
- [258]. Mills P, Parker B, Jones V, Adler K, Perez C, Johnson S, et al. The effects of standard anthracycline-based chemotherapy on soluble iCAM-1 and vascular endothelial growth factor levels in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:4998 – 5003.
- [259]. Togna G, Togna A, Franconi M, Caprino L. Cisplatin triggers platelet activation. *Thromb Res* 2000;99:503 – 9.
- [260]. Walsh J, Wheeler H, Geczy C. Modulation of tissue factor on human monocytes by cisplatin and adriamycin. *Br J Haematol* 1992;81(4):480 – 8.
- [261]. Bick RL: Alterations of hemostasis associated with malignancy: Etiology, pathophysiology, diagnosis and

management. *Semin Thromb Hemost* 5:1, 1978

[262]. Bettigole RF, ES Himelstein, HF Oettgen: Hypofibrinogenemia due to L-asparaginase: Studies of fibrinogen survival using autologous ¹³¹I-fibrinogen. *Blood* 35:195, 1970.

[263]. Brodsky I, JF Conroy: The effects of chemotherapy on hemostasis. *Cancer Chemother* 2:85, 1972.

[264]. Monto RW, RW Talley, MJ Caldwell: Observation on the mechanisms of hemorrhagic toxicity in mithramycin therapy. *Cancer Res* 29:697, 1969.

[265]. Olson RE: Vitamin K-induced prothrombin formation antagonism by actinomycin-D. *Science* 145:926, 1964.

[266]. Hayano K, H Fukui, Y Otsuka: Three cases of renal failure associated with microangiopathic hemolytic anemia after mitomycin C therapy. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 30:835, 1988

[267]. Jain S, AE Seymour: Mitomycin C associated hemolytic uremic syndrome. *Pathology* 19:58, 1987.

[268]. Sheldon R, D Slaughter: A syndrome of microangiopathic hemolytic anemia, renal impairment, and pulmonary edema in chemotherapy-treated patients with adenocarcinoma. *Cancer* 58:1428, 1986.

[269]. McCarthy JT, BA Staats: Pulmonary hypertension, hemolytic anemia, and renal failure. A mitomycin-associated syndrome. *Chest* 89:608, 1986.

[270]. Bick RL, LF Fekete, WL Wilson: Adriamycin and fibrinolysis. *Thromb Res* 8:467, 1976.

[271]. Bick RL, L Fekete, G Murano: Daunomycin and fibrinolysis. *Thromb Res* 9:201, 1976.

[272]. Klener P, P Kubisz, J Suranova: Influence of cytotoxic drugs on platelet functions and coagulation. *Thromb Hemost* 37:53, 1977.

[273]. Feffer SE, LS Carosino, RL Fox: Acquired protein C deficiency in patients with breast cancer receiving cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil. *Cancer* 63:1303, 1989.

[274]. Milne A, S Talbot, D Bevan: Thrombosis during cytotoxic chemotherapy. *Br Med J* 297:624, 1988.

[275]. Levin MN, M Gent, J Hirsh: The thrombogenic effect of anticancer drug therapy in women with Stage II breast cancer. *N Engl J Med* 318:404, 1988.

[276]. Goodnough CT, H Saito, A Manni: Increased incidence of thromboembolism in Stage IV breast cancer patients treated with a five drug chemotherapy regimen. *Cancer* 54:1264, 1984.

[277]. Weiss RB, DC Tormey, JF Holland: Venous thrombosis during multimodal treatment of primary breast carcinoma. *Cancer Treat Rep* 65:677, 1981.

[278]. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 87–108.

[279]. Malvezzi M, Carioli G, Bertuccio P, et al. European cancer mortality predictions for the year 2016 with focus on leukemias. *Ann Oncol* 2016; 27: 725–31.

[280]. Qian BZ, and Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010; 141: 39-51.

[281]. Dumars C, Ngyuen JM, Gaultier A, et al. Dysregulation of macrophage polarization is associated with the metastatic process in osteosarcoma. *Oncotarget*. 2016; 7: 78343-78354

[282]. Polyak K. Breast cancer: origins and evolution. *J Clin Invest*. 2007; 117: 3155-3163.

[283]. Basse C, and Arock M. The increasing roles of epigenetics in breast cancer: Implications for pathogenicity, biomarkers, prevention and treatment. *Int J Cancer*. 2015; 137: 2785-2794.

[284]. Baumann M, Krause M, and Hill R. Exploring the role of cancer stem cells in radioresistance. *Nat Rev Cancer*. 2008; 8: 545-554.

[285]. Smalley M, Piggott L, and Clarkson R. Breast cancer stem cells: obstacles to therapy. *Cancer Lett*. 2013; 338: 57-62.

[286]. Zhang M, Lee AV, and Rosen JM. The Cellular Origin and Evolution of Breast Cancer. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2017; 7: a027128

[287]. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100: 3983-3988.

[288]. Molyneux G, Geyer FC, Magnay FA, et al. BRCA1 basal-like breast cancers originate from luminal epithelial progenitors and not from basal stem cells. *Cell Stem Cell*. 2010; 7: 403-417

[289]. Sgroi DC. Preinvasive breast cancer. *Annu Rev Pathol*. 2010; 5: 193-221

[290]. Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, Xu F, Lu HJ, Zhu ZY, Shi W, Jiang J, Yao PP, Zhu HP. Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *Int J Biol Sci*. 2017 Nov 1;13(11):1387-1397.

[291]. Goodnough L, Saito A, Manni A. Increased incidence of thromboembolism in stage IV breast cancer patients treated with a five-drug chemotherapy regimen: a study of 150 patients. *Cancer* 1984;54:1264 – 8.

[292]. Levine M. Prevention of thrombotic disorders in cancer patients undergoing chemotherapy. *Thromb Haemost* 1997;78:133 – 6.

[293]. Rella C, Coviello M, Giotta F, Maiello E, Colavito P, Colangelo D, et al. A prothrombotic state in breast cancer patients treated with adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 1996;40:151 – 9.

[294]. von Tempelhoff G-F, Dietrich M, Hommel G, Heilmann L. Blood coagulation during adjuvant epirubicin/cyclophosphamide chemotherapy in patients with primary operable breast cancer. *J Clin Oncol*

1996;14(9):2560 – 8.

- [295]. Bariety, M. [Tribute to Armand Trousseau (14 October 1801-23 June 1867)]. *Bull. Acad. Natl. Med.* 151, 627–635 (1967).
- [296]. Ay, C., Pabinger, I. & Cohen, A. T. Cancer-associated venous thromboembolism: burden, mechanisms, and management. *Thromb Haemost* 117, 219–230 (2017).
- [297]. Abdol Razak N., Elaskalani O., Metharom P. Pancreatic cancer-induced neutrophil extracellular traps: a potential contributor to cancer-associated thrombosis. *Int. J. Mol. Sci.* 18, <https://doi.org/10.3390/ijms18030487> (2017)
- [298]. Stark, K., Schubert, I., Joshi, U., Kilani, B., Hoseinpour, P., Thakur, M. et al. Distinct pathogenesis of pancreatic cancer microvesicle-associated venous thrombosis identifies new antithrombotic targets in vivo. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 38, 772–786 (2018).
- [299]. Sproul, E. Carcinoma and venous thrombosis: the frequency of association of carcinoma in the body or tail of the pancreas with multiple venous thrombosis. *Am. J. Cancer* 34, 566–585 (1938).
- [300]. Epstein, A. S., Soff, G. A., Capanu, M., Crosbie, C., Shah, M. A., Kelsen, D. P. et al. Analysis of incidence and clinical outcomes in patients with thromboembolic events and invasive exocrine pancreatic cancer. *Cancer* 118, 3053–3061 (2012).
- [301]. Blom, J. W., Osanto, S. & Rosendaal, F. R. High risk of venous thrombosis in patients with pancreatic cancer: a cohort study of 202 patients. *Eur. J. Cancer* 42, 410–414 (2006).
- [302]. Ansari, D., Ansari, D., Andersson, R. & Andren-Sandberg, A. Pancreatic cancer and thromboembolic disease, 150 years after Trousseau. *Hepatobiliary Surg. Nutr.* 4, 325–335 (2015).
- [303]. Ishigaki, K., Nakai, Y., Isayama, H., Saito, K., Hamada, T., Takahara, N. et al. Thromboembolisms in advanced pancreatic cancer: a retrospective analysis of 475 patients. *Pancreas* 46, 1069–1075 (2017).
- [304]. Mandala, M., Reni, M., Cascinu, S., Barni, S., Floriani, I., Cereda, S. et al. Venous thromboembolism predicts poor prognosis in irresectable pancreatic cancer patients. *Ann. Oncol.* 18, 1660–1665 (2007).
- [305]. Khorana, A. A. & Fine, R. L. Pancreatic cancer and thromboembolic disease. *Lancet Oncol.* 5, 655–663 (2004).
- [306]. Menapace, L. A., Peterson, D. R., Berry, A., Sousou, T. & Khorana, A. A. Symptomatic and incidental thromboembolism are both associated with mortality in pancreatic cancer. *Thromb. Haemost.* 106, 371–378 (2011).
- [307]. Sun, W., Ren, H., Gao, C. T., Ma, W. D., Luo, L., Liu, Y. et al. Clinical and prognostic significance of coagulation assays in pancreatic cancer patients with absence of venous thromboembolism. *Am. J. Clin. Oncol.* 38, 550–556 (2015).
- [308]. Zalatnai, A., Perjesi, E. & Galambos, E. Much more than trousseau syndrome. The broad spectrum of the pancreatic paraneoplastic syndromes. *Pathol. Oncol. Res.* 24, 1–10 (2018).
- [309]. Campello E, Ilich A, Simioni P, Key NS. The relationship between pancreatic cancer and hypercoagulability: a comprehensive review on epidemiological and biological issues. *Br J Cancer.* 2019 Aug;121(5):359-371.
- [310]. van den Berg, Y. W., Osanto, S., Reitsma, P. H. & Versteeg, H. H. The relationship between tissue factor and cancer progression: insights from bench and bedside. *Blood* 119, 924–932 (2012).
- [311]. Khorana, A. A., Ahrendt, S. A., Ryan, C. K., Francis, C. W., Hruban, R. H., Hu, Y. C. et al. Tissue factor expression, angiogenesis, and thrombosis in pancreatic cancer. *Clin. Cancer Res.* 13, 2870–2875 (2007).
- [312]. Kakkar, A. K., Lemoine, N. R., Scully, M. F., Tebbutt, S. & Williamson, R. C. Tissue factor expression correlates with histological grade in human pancreatic cancer. *Br. J. Surg.* 82, 1101–1104 (1995).
- [313]. Wang JG, Geddings JE, Aleman MM, et al. Tumor-derived tissue factor activates coagulation and enhances thrombosis in a mouse xenograft model of human pancreatic cancer. *Blood.* 2012;119(23):5543-5552.
- [314]. Hisada Y, Mackman N. Cancer-associated pathways and biomarkers of venous thrombosis. *Blood.* 2017 Sep 28;130(13):1499-1506.
- [315]. Rudroff, C., Seibold, S., Kaufmann, R., Zetina, C. C., Reise, K., Schafer, U. et al. Expression of the thrombin receptor PAR-1 correlates with tumour cell differentiation of pancreatic adenocarcinoma in vitro. *Clin. Exp. Metastasis.* 19, 181–189 (2002).
- [316]. Sawai, H., Liu, J., Reber, H. A., Hines, O. J. & Eibl, G. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma decreases pancreatic cancer cell invasion through modulation of the plasminogen activator system. *Mol. Cancer Res.* 4, 159–167 (2006).
- [317]. Andren-Sandberg, A., Lecander, I., Martinsson, G. & Astedt, B. Peaks in plasma plasminogen activator inhibitor-1 concentration may explain thrombotic events in cases of pancreatic carcinoma. *Cancer* 69, 2884–2887 (1992).
- [318]. Springfield C, Jäger D, Büchler MW, Strobel O, Hackert T, Palmer DH, Neoptolemos JP. Chemotherapy for pancreatic cancer. *Presse Med.* 2019 Mar;48(3 Pt 2):e159-e174.
- [319]. Ryan DP, Hong TS, Bardeesy N. Pancreatic adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2014;371:2140–1.
- [320]. Kleeff J, Korc M, Apte M, La Vecchia C, Johnson CD, Biankin AV, et al. Pancreatic cancer. *Nat Rev Dis Primers* 2016;2:16022.
- [321]. Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, Takaori K. Pancreatic cancer. *Lancet* 2016;388:73–85
- [322]. Conroy T, Desseigne F, Ychou M, Bouche O, Guimbaud R, Becouarn Y, et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2011;364:1817–25.
- [323]. American Cancer Society. *Cancer facts & figures 2008*. Atlanta, Ga.: American Cancer Society; 2008.

- [324]. 2. Centers for Disease Control and Prevention. United States cancer statistics: 1999-2005 cancer incidence and mortality data. U.S. Department of Health and Human Services. Accessed February 26, 2009.
- [325]. Grody WW, Walter WN. Molecular diagnosis of genetic diseases. In: McPherson RA, Pincus MR, eds. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Philadelphia, Pa.: Saunders; 2007: 1334-1335.
- [326]. Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(10):919-932.
- [327]. Chen LM, Karlan BY. Early detection and risk reduction for familial gynecologic cancers. *Clin Obstet Gynecol*. 1998;41(1):200-214.
- [328]. Whiteman DC, Siskind V, Purdie DM, Green AC. Timing of pregnancy and the risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003;12(1):42-46.
- [329]. Prentice RL, Thomson CA, Caan B, et al. Low-fat dietary pattern and cancer incidence in the Women's Health Initiative Dietary Modification Randomized Controlled Trial. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(20):1534-1543.
- [330]. Vo C, Carney ME. Ovarian cancer hormonal and environmental risk effect. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2007;34(4):687-700.
- [331]. Folsom AR, Anderson JP, Ross JA. Estrogen replacement therapy and ovarian cancer. *Epidemiology*. 2004;15(1):100-104.
- [332]. U.S. Preventive Services Task Force. Screening for ovarian cancer: recommendation statement. U.S. Preventive Services Task Force. *Am Fam Physician*. 2005;71(4):759-762.
- [333]. Roett MA, Evans P. Ovarian cancer: an overview. *Am Fam Physician*. 2009 Sep 15;80(6):609-16.
- [334]. Young RH, Clement PB, Scully RE. The ovary. In: Sternberg SS, Antonioli DA, Mills SE, Carter D, Oberman HA, eds. *Diagnostic Surgical Pathology*. 2nd ed. New York, NY: Raven Press; 1994.
- [335]. International Federation of Gynecology and Obstetrics. The new FIGO stage grouping for primary carcinoma of the ovary (1985). *Gynecol Oncol*. 1986;25:383-385
- [336]. Crum CP. The female genital tract. In: Kumar V, Fausto N, Abbas AK, eds. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th ed. Philadelphia, Pa.: Elsevier, Inc; 2005.
- [337]. Clarke-Pearson, D.L., et al., Venous thromboembolism prophylaxis in gynecologic oncology: a prospective, controlled trial of low-dose heparin. *Am J Obstet Gynecol*, 1983. 145(5): p. 606-13.
- [338]. von Tempelhoff, G.F., et al., Hyperviscosity syndrome in patients with ovarian carcinoma. *Cancer*, 1998. 82(6): p. 1104-11.
- [339]. Levine, M.N., Prevention of thrombotic disorders in cancer patients undergoing chemotherapy. *Thromb Haemost*, 1997. 78(1): p. 133-6.
- [340]. Wang, X., et al., Ovarian cancer, the coagulation pathway, and inflammation. *J Transl Med*, 2005. 3: p. 25.
- [341]. Young, A., et al., Thrombosis and cancer. *Nat Rev Clin Oncol*, 2012. 9(8): p. 437-49.
- [342]. Mueller, B.M., et al., Expression of tissue factor by melanoma cells promotes efficient hematogenous metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992. 89(24): p. 11832-6.
- [343]. Gay, L.J. and B. Felding-Habermann, Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2011. 11(2): p. 123-34.
- [344]. Stone, R.L., et al., Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. *N Engl J Med*, 2012. 366(7): p610-8..
- [345]. Broudy, V.C., N.L. Lin, and K. Kaushansky, Thrombopoietin (c-mpl ligand) acts synergistically with erythropoietin, stem cell factor, and interleukin-11 to enhance murine megakaryocyte colony growth and increases megakaryocyte ploidy in vitro. *Blood*, 1995. 85(7): p. 1719-26.
- [346]. Davis AN, Afshar-Kharghan V, Sood AK. Platelet effects on ovarian cancer. *Semin Oncol*. 2014 Jun;41(3):378-84.
- [347]. McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *N Engl J Med*. 1996;334:1-6.
- [348]. Parmar MK, Ledermann JA, Colombo N, et al. Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer: the ICON4/AGO-OVAR-2.2 trial. *Lancet*. 2003;361:2099-106.
- [349]. Morrison J, Swanton A, Collins S, Kehoe S. Chemotherapy versus surgery for initial treatment in advanced ovarian epithelial cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(4):CD005343.
- [350]. Ozols RF, Rubin SC, Thomas GM, Robboy SJ. Epithelial ovarian cancer. In: Hoskins WJ, Perez CA, Young RC, eds. *Principles and Practice of Gynecologic Oncology*. Philadelphia, Pa.: Lippincott Williams & Wilkins; 2000:981-1057.
- [351]. Davis AS, Viera AJ, Mead MD. Leukemia: an overview for primary care. *Am Fam Physician*. 2014 May 1;89(9):731-8.
- [352]. National Cancer Institute. SEER cancer statistics review 2006-2010. Accessed January 9, 2014.
- [353]. Kumar S, B Monorama: Pre-leukemic acute myelogenous leukemia. *Acta Haematol* 3:21, 1970.
- [354]. Lisiewicz J: Mechanisms of hemorrhage in leukemias. *Semin Thromb Hemost* 4:241, 1978.
- [355]. Coleman RW, RN Rubin: Disseminated intravascular coagulation due to malignancy. *Semin Oncology* 17:172, 1990.
- [356]. Lisiewicz J: Disseminated intravascular coagulation in acute leukemia. *Semin Thromb Hemost* 14:339, 1988.
- [357]. Boggs DR, MM Wintrobe, CE Cartwright: Acute leukemias: Analysis of 322 cases and review of the literature.

- Medicine (Baltimore) 41:163, 1962.
- [358]. Evans HE, IJ Wolman: Problems in the diagnosis and management of acute leukemia in childhood. *Clin Pediatr* 10:571, 1971.
- [359]. Moszczynski P, J Lisiewicz: The liver function in leukemic patients in the light of enzymatic studies. *Pol Tyg Lek* 29:1925, 1974.
- [360]. Hersh EM, GP Bodey, BA Nies: Causes of death in acute leukemia: A ten year study of 414 patients from 1954-1963. *JAMA* 193:105, 196.
- [361]. Bick RL: Alterations of hemostasis associated with malignancy. In: Murano G, RL Bick (Eds): *Basic Concepts of Hemostasis and Thrombosis*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1980, p 213.
- [362]. Moszczynski P, J Lisiewicz: Early symptoms of acute and chronic leukemias in 300 patients. *Med Wiejska* 8:249, 1973.
- [363]. Bick RL: Treatment of bleeding and thrombosis in the patient with cancer. In: Nealon T (Ed): *Management of the Patient with Cancer*. WB Saunders, Philadelphia, 1976, p. 48.
- [364]. Kuznik BI, EL Kuzmiehco, GP Alnikov: On the role of leukocytes in the process of blood coagulation in chronic lymphocytic leukemia. *Probl Gematol Pereliv Krovi* 14:3, 1969.
- [365]. Bick RL, Kunkel L: Disseminated intravascular coagulation. *Int J*
- [366]. Seifter EJ, WR Bell: Platelet disorders. In: *Coagulation Disorders in the Cancer Patient*. Futura Publishing, Mount Kisco, NY 1984, p 15. *Hematol* 55:1, 1992.
- [367]. Lisiewicz J: Chronic granulocytic leukemia. In: *Hemorrhage in Leukemias*. Polish Med Publishers, Warsaw, 1976, p 82.
- [368]. Brakman P, J Synder, ES Henderson: Blood coagulation and fibrinolysis in acute leukemia. *Br J Haematol* 18:135, 1970.
- [369]. Ventura GJ, JP Hester, DO Dixon: Analysis of risk factors for fatal hemorrhage during induction therapy of patients with acute promyelocytic leukemia. *Hematol Pathol* 3:23, 1989.
- [370]. Lisiewicz J, P Moszczynski: Disturbances of hemostasis in patients with various leukemia types in the light of results of basic tests of blood coagulation and fibrinolysis. *Przegl Lek* 29:389, 1972.
- [371]. Diebold J, TP Camilieri, J Delarue: Les lésions hépatiques au cours des leucoses. *Etude histopathologique*. *Ann Anat Pathol (Paris)* 14:41, 1969
- [372]. Lisiewicz J: Chronic lymphocytic leukemia. In: *Hemorrhage in Leukemias*. Polish Med Publishers, Warsaw, 1976, p 104.
- [373]. Lazarachick J, AA Pappas, J Kizer: Acquired von Willebrand's syndrome due to an inhibitor specific for von Willebrand Factor antigens. *Am J Hematol* 21:305, 1986.
- [374]. Mohri H: Acquired von Willebrand's disease and storage pool disease in chronic myelocytic leukemia. *Am J Hematol* 22:391, 1986.
- [375]. Budde U, JA Dent, SD Berkowitz: Subunit composition of plasma von Willebrand factor in patients with the myeloproliferative syndrome. *Blood* 68:1213, 1986.
- [376]. Fabris F, A Casonato, MG Del Ben: Abnormalities of von Willebrand factor in myeloproliferative disease: A relationship with bleeding diathesis. *Br J Haematol* 63:75, 1986.
- [377]. Goudemand J, B Samor, C Caron: Acquired Type II von Willebrand's disease: demonstration of a complexed inhibitor of the von Willebrand factor-platelet interaction and response to treatment. *Br J Haematol* 68:227, 1988.
- [378]. Meschengieser S, A Blanco, N Maugeri: Platelet and intraplatelet von Willebrand Factor antigen and fibrinogen in myelodysplastic syndromes. *Thromb Res* 46:601, 1987.
- [379]. Mohri H, T Noguchi, F Kodama: Acquired von Willebrand disease due to inhibitor of human myeloma protein specific for von Willebrand factor. *Am J Clin Pathol* 87:663, 1987.
- [380]. Tatewaki W, H Takahashi, K Wada: Plasma von Willebrand Factor proteolysis in patients with chronic myeloproliferative disorders: No possibility of ex vivo degradation by calcium-dependent proteolysis. *Thromb Res* 56:191, 1989.
- [381]. Rosner F, JV Dobbs, DN Ritz: Disturbances of hemostasis in acute myeloblastic leukemia. *Acta Haematol* 43:65, 1970.
- [382]. Takahashi H, R Nagayama, Y Tanabe: DDAVP in acquired von Willebrand syndrome associated with multiple myeloma. *Am J Hematol* 22:421, 1986.
- [383]. Tatarsky J, Z Sinakos, MJ Larriou: Leukocytes et fibrinolyse. II. *Etudes des leukocytes pathologiques*. *Nouv Rev Fr Hematol* 7:95, 1967.
- [384]. Kirchmayer S, I Stalowa, B Biernacka: Measurements of proteolytic activity of leukoblasts—a new diagnostic method. *Pol Arch Med Wewn* 44:365, 1970.

