

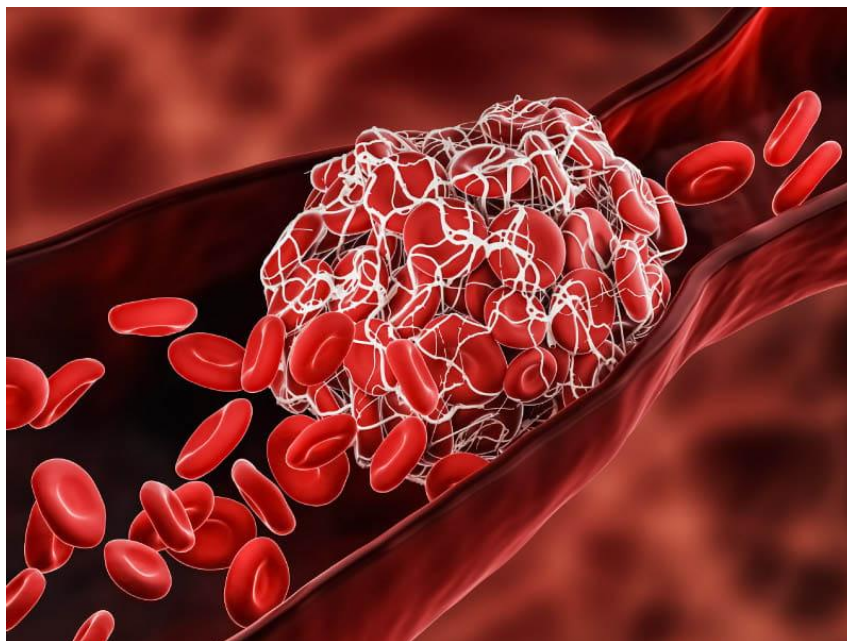


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ



ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΔΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ ΣΕ
ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ»**



Όνοματεπώνυμο Φοιτητή: Χρήστος Κωνσταντίνος Καλλίνικος

Αριθμός Μητρώου: 20678088

Bisc20678088@uniwa.gr

Επιβλέπων Καθηγητής: Βασίλειος Μπίρτσας PhD

Αθήνα, 2024

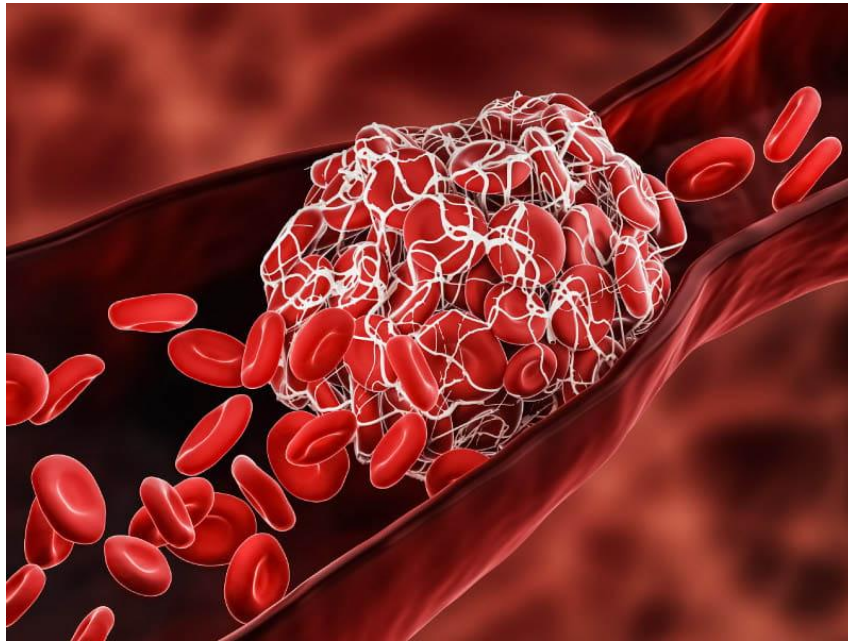


UNIVERSITY OF WEST ATTICA
SCHOOL OF HEALTH AND CARE SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES
DIVISION OF MEDICAL LABORATORIES



UNDERGRADUATE THESIS

**«FREQUENCY OF ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME IN
PATIENS WITH VASCULAR CEREBRAIC EPISODE»**



Student Name: Christos Konstantinos Kallinikos

Registration Number: 20678088

Bisc20678088@uniwa.gr

Supervisor: Vassilios Birtsas PhD

Athens, 2024



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ



ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΔΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ»

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΕΙΣΗΓΗΤΗ

Όνοματεπώνυμο	Βαθμίδα	Υπογραφή
Κριεμπάρδης Αναστάσιος	Καθηγητής	
Μπίρτσας Βασίλειος	Ακαδημαϊκός Υπότροφος	
Πάυλου Ευθυμία	Ακαδημαϊκός Υπότροφος	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος, ΧΡΗΣΤΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΚΑΛΛΙΝΙΚΟΣ του ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ, με αριθμό μητρώου 20678088 φοιτητής του τμήματος ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ της Σχολής ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα 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, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο Δηλών

Χρήστος Κωνσταντίνος Καλλίνικος

Περίληψη

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο είναι μια αυτοάνοση πάθηση που χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων, σε συνδυασμό με ιστορικό θρομβώσεων, είτε αρτηριακών είτε φλεβικών, καθώς και με θρομβοπενία και αποβολές. Για τη διάγνωση του συνδρόμου, τα κριτήρια ταξινόμησης περιλαμβάνουν την ανίχνευση του αντιπηκτικού του Λύκου, αντισωμάτων κατά της καρδιολιπίνης και αντισωμάτων κατά της β2-γλυκοπρωτεΐνης Ι. Αυτά τα αντισώματα στοχεύουν αντιγονικούς επιτόπους πρωτεϊνών του πλάσματος που συνδέονται με φορτισμένα φωσφολιπιδικά σύμπλοκα, και η παρουσία τους έχει συσχετιστεί με θρομβώσεις στις αρτηρίες και τις φλέβες, καθώς και με επιπλοκές στην εγκυμοσύνη.

Το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ) είναι η απότομη κυκλοφορική βλάβη του εγκεφάλου, που έχει ως αποτέλεσμα, να οδηγεί περιοχές οι οποίες δεν αιματώνονται επαρκώς σε προσωρινή ή μόνιμη βλάβη. Ο εγκέφαλος σε βλάβες αιματικής περιοχής, έτσι ένα εγκεφαλικό επεισόδιο μπορεί να προκαλέσει αναπηρία ή ακόμα και θάνατο.

Καθώς είναι γνωστό ότι το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο προκαλεί θρομβώσεις, σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας είναι η συσχέτιση του συνδρόμου σε άτομα τα οποία έχουν υποστεί κάποιο αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο.

Τα δεδομένα συλλέχθηκαν σε συνεργασία του τμήματος αιμόστασης του νοσοκομείου Γ.Ν.Α ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ και μελετήθηκαν 150 περιστατικά αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου. Πραγματοποιήθηκε ευρύ φάσμα εξετάσεων οι οποίες καταγράφηκαν σε φύλλο Excel για να γίνει η στατιστική ανάλυση.

Παρατηρήθηκε πως 13 από τους 150 ασθενείς με ΑΕΕ έπασχαν από αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, μόλις το 8,66% δίνοντας έτσι θετική συσχέτιση του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου με το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο. Παρόλα αυτά είναι απαραίτητη η περαιτέρω μελλοντική διερεύνηση με μεγαλύτερο πληθυσμό ασθενών για να είναι στατιστικά αποδεχτό το αποτέλεσμα.

Abstract

Antiphospholipid syndrome is an autoimmune condition characterized by the presence of antiphospholipid antibodies, combined with a history of thrombosis, either arterial or venous, as well as thrombocytopenia and miscarriages. To diagnose the syndrome, classification criteria include the detection of Lupus anticoagulant, anti-cardiolipin antibodies, and anti- β 2-glycoprotein I antibodies. These antibodies target antigenic epitopes of plasma proteins that bind to charged phospholipid complexes, and their presence it has been associated with blood clots in the arteries and veins, as well as complications in pregnancy.

Stroke is described as a sudden circulatory damage to the brain, after which, areas that are not adequately perfused lead to temporary or permanent damage. Because the brain is quite susceptible to damage to the blood supply, a stroke can cause disability or even death.

As antiphospholipid syndrome is known to cause thrombosis, the purpose of this work is to correlate the syndrome with people who have suffered a stroke.

The data were collected from G.H.A IPPOKRATEIO and 150 cases of stroke were studied. A wide range of tests were performed which were recorded in an Excel sheet to perform the statistical analysis.

It was observed that 13 out of 150 stroke patients suffered from antiphospholipid syndrome, only 8.66% thus giving a positive correlation of antiphospholipid syndrome with stroke. Nevertheless, further future investigation with a larger patient population is necessary so that the result is statistically acceptable.

Πίνακας περιεχομένων

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΕΙΣΗΓΗΤΗ	iii
ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	iv
Περίληψη	v
Abstract	vi
Πίνακας Εικόνων	x
Συντομογραφίες	xi
A. Εισαγωγή.....	1
A1. Αιμόσταση	1
A1.1 Στάδια Αιμόστασης	1
A2. Αιμοπετάλια	2
A2.1 Δομή Αιμοπεταλίων	3
A2.2 Τύποι Επιφανειακών Υποδοχέων Αιμοπεταλίων.....	3
A2.3 Μονοπάτια Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων	4
A3. Αιμοφόρο Αγγείο	4
A4. Ενδοθηλιακά Κύτταρα	4
A5. Προσκόλληση και συσσώρευση αιμοπεταλίων	5
A6. Δευτερογενής Αιμόσταση	5
A6.1 Ενδογενής Οδός Πήξης.....	6
A6.2 Εξωγενής Οδός Πήξης	7
A6.3 Κοινή Οδός Πήξης	7
A6.4 Λύση του Ινώδους.....	7
A6.5 Παράγοντες του μηχανισμού πήξης	8
A6.7 Παράγοντες της Ενδογενής Οδούς	8
A6.7.1 Παράγοντας V	8
A6.7.2 Παράγοντας VIII	8
A6.7.3 Παράγοντας IX	9
A6.7.4 Παράγοντες XI-XII.....	9
A6.7.5 ΗΜWΚ – Καλλικρεΐνη	9
A7. Θρομβώσεις	9
A7.1 Κληρονομικές Θρομβώσεις	10
A7.2 Μείωση των Αντιπηκτικών	11
A7.3 MTHFR.....	11
A7.4 Αντιθρομβίνη (ΑΤIII)	11

A7.5 Πρωτεΐνη C [PC]	12
A7.6 Πρωτεΐνη S [PS].....	12
A7.7 Επίκτητη Θρομβοφιλία.....	13
A7.8 Παράγοντας V Leiden.....	13
A7.9 Προθρομβίνη G20210A.....	13
A8. Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο	15
A8.1 Τύποι Αγγειακού Εγκεφαλικού	15
A8.2 Παράγοντες Κινδύνου	16
A8.3 Επιδημιολογία	17
A8.4 Κλινική Εικόνα ΑΕΕ.....	17
A8.5 Διάγνωση ΑΕΕ.....	18
A9. Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο.....	19
A9.1 Ορισμός	19
A9.2 Ιστορική Αναδρομή	19
A9.3 Ταξινόμηση APS.....	20
A9.4 Παθοφυσιολογία APS.....	21
A9.5 Επίδραση Αντιφωσφολιπιδικών Αντισωμάτων στον καταρράκτη της πήξης	22
A9.6 Β2 Γλυκοπρωτεΐνη (Β2-GPI).....	24
A9.7 Καρδιολιπίνες	25
A9.8 Τα αντιπηκτικά τύπου λύκου.....	25
A9.9 Ταξινόμηση APS Sapporo - Sydney	26
A9.10 Δοκιμασίες Διάγνωσης APS.....	27
A9.11 Διαφορές ανάμεσα σε Sapporo και Sydney	27
A9.12 Κλινικές Εκδηλώσεις.....	28
A9.13 Κλινικές εκδηλώσεις εκτός των κριτηρίων	28
B. Πειραματική Διαδικασία	30
B1. Σκοπός	30
B2. Υλικά και Μέθοδοι	30
2.1 Χρόνος Προθρομβίνης (PT).....	30
2.2 Χρόνος Μερικής Θρομβοπλαστίνης (APTT).....	31
2.3 Ινωδογόνο.....	32
2.4 Δ-Διμερή (d-Dimers).....	32
2.5 PTT-LA	33
2.6 STACLOT DRVV SCREEN – STACLOT DRVV CONFIRM (ΜΕΘΟΔΟΣ STAGO)	33
2.7 IL DRVVT Screen -IL DRVVT Confirm	34
2.8 Μέτρηση Β2 γλυκοπρωτεΐνης	35

2.9 Μέτρηση Καρδιολιπίνης.....	36
2.10 Πρωτεΐνη S (PrS).....	37
2.11 Πρωτεΐνη S Ag Free (PrSAgFree)	37
2.12 Πρωτεΐνη C (PrC)	38
2.13 Αντιθρομβίνη III (ATIII).....	38
2.14 Πλασμινογόνο	39
2.15 Ομοκυστεΐνη	39
2.16 Μοριακός έλεγχος MTHFR.....	40
1. Στατιστικός Έλεγχος – Συμπεράσματα	41
2. Συζήτηση.....	48
Συμπέρασμα	51
ΣΤ. Βιβλιογραφία.....	52

Πίνακας Εικόνων

Εικόνα 1 Στάδια της δημιουργίας του θρόμβου	2
Εικόνα 2 Ερυθρά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια κυκλοφορούν μέσα σε ένα αιμοφόρο αγγείο.....	3
Εικόνα 3 Θρόμβωση και εμβολή	10
Εικόνα 4 Παθολογικοί μηχανισμοί πήξης με επίδραση των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL)	23
Εικόνα 5 Διάγραμμα πίτας με ποσοστά των δύο φύλων	41
Εικόνα 6 Διάγραμμα μέσης ηλικίας ασθενών	41
Εικόνα 7 Γραφήματα πίτας με ποσοτική απεικόνιση των μοριακών εξετάσεων	42
Εικόνα 8 Σύγκριση εξέτασης TR DRVVT STAGO-IL	43
Εικόνα 9 Ποσοτική απεικόνιση τιμών αντισωμάτων ACA και Anti-B2GPI	43
Εικόνα 10 Απεικόνιση Φύλου ασθενών θετικών και αρνητικών στο Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.	44
Εικόνα 11 Μέση Ηλικία αρνητικών και θετικών ασθενών	44
Εικόνα 12 INR και Ινωδογόνο σε θετικούς και αρνητικούς ασθενείς	44
Εικόνα 13 APTT και DD σε θετικούς και αρνητικούς ασθενείς.....	45
Εικόνα 14 Σύγκριση μέσων τιμών PTT-LA, ATIII, Πλασμινογόνου και Ομοκυστεΐνης	45
Εικόνα 15 Σύγκριση τιμών PrC, PrS, PrSfree θετικών και αρνητικών ασθενών.....	46
Εικόνα 16 Σύγκριση αντισωμάτων καρδιολιπίνων και anti-b2 μεταξύ θετικών και αρνητικών ασθενών.	46
Εικόνα 17 Σύγκριση θετικών και αρνητικών ασθενών στις Μοριακές Εξετάσεις.....	47

Συντομογραφίες

aPL	Antiphospholipid Antibodies	Αντιφωσφολιπιδικά Αντισώματα
LA	Lupus Anticoagulant	Αντιπηκτικό του Λύκου
FVL	Factor V Leiden	Παράγοντας V Leiden
VTE	Venous Thrombormnolism	Φλεβοθρόμβωση
GP	G protein (receptor)	Επιφανειακός Υποδοχέας
ADP	Diphosphate Adenosine	Διφωσφορική Αδενοσίνη
APS	Antiphospholipid Syndrome	Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο
APTT	Activated Partial Thromboplastin Clotting Time	Χρόνος Ενεργοποιημένης Μερικής Θρομβοπλαστίνης
ATP	Triphosphate Adenosine	Τριφωσφορική Αδενοσίνη
B2GPI	B2-Glycoprotein 1	B2-Γλυκοπρωτεΐνη 1
DD	D-Dimer	Δ-Διμερή Ινώδους
HCY/HoM	Homocysteine	Ομοκυστεΐνη
INR	International Normalized Ratio	
ACA	Anti-Centrome Antibodies	Αντισώματα Καρδιολιπίνης
MP	TF-bearing Microparticles	Μικροσωματίδια που φέρουν Ιστικό Παράγοντα
PAF	Platelet Activation Factor	Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων
PT	Prothrombin Time	Χρόνος Προθρομβίνης
TF	Tissue Factor	Ιστικός Παράγοντας
tPA	Tissue Polypeptide Antigen	Ενεργοποιητής του ιστικού Πλασμινογόνου
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor	Αναστολέας της οδού του Ιστικού Παράγοντα
PC	Endothelial Protein C	Υποδοχέας Ενδοθηλιακής Πρωτεΐνης C
VWF	Von Willebrand Factor	Παράγοντας Von Willebrand

A. Εισαγωγή

A1. Αιμόσταση

Η αιμόσταση αποτελεί μια αλληλουχία βιοχημικών αντιδράσεων που στοχεύουν στον σχηματισμό θρόμβου σε ένα τραυματισμένο αγγείο, προκειμένου να αποτραπεί η απώλεια αίματος. Το αίμα είναι ουσιώδες για την επιβίωση και κυκλοφορεί στα αιμοφόρα αγγεία με ρευστή μορφή. Ο βασικός του ρόλος είναι η μεταφορά θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου σε όλα τα όργανα και τους ιστούς. Μέσω των διαδικασιών της αιμόστασης εξασφαλίζεται η ακεραιότητα των αγγείων και ελέγχεται η ροή του αίματος. Σε περίπτωση τραυματισμού, σχηματίζεται αιμοπεταλιακός θρόμβος που σταματά την αιμορραγία. [1]

Η επαφή του αίματος με τον ενδοθηλιακό ιστό ενεργοποιεί το αιμοστατικό σύστημα, το οποίο περιλαμβάνει διάφορους αλληλοεξαρτώμενους μηχανισμούς. Συγκεκριμένα, τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται και συσσωρεύονται στο σημείο του τραυματισμού, στο υπενδοθήλιο, δημιουργώντας έναν θρόμβο για προσωρινό φραγμό. Η σωστή λειτουργία αυτού του συστήματος απαιτεί τη συμμετοχή διαφόρων παραγόντων, όπως το ενδοθήλιο των αγγείων, τα αιμοπετάλια, οι φυσικοί αναστολείς της πήξης, οι παράγοντες πήξης και το ινωδολυτικό σύστημα. [2]

A1.1 Στάδια Αιμόστασης

Η αιμόσταση έχει 3 βασικά βήματα: Αγγειοσυστολή, προσωρινή φραγή της τρώσης του αγγείου από θρόμβο αιμοπεταλίων και πήξη. [2]

1. Η άμεση σύσπαση του κατεστραμμένου αγγείου είναι το πρώτο βήμα της αιμόστασης και έχει ως αποτέλεσμα την μειωμένη ροή αίματος και πίεση μέσα στο αγγείο. Αυτή η αγγειοσυστολή ρυθμίζεται από τους λείους μύες του αγγείου και μπορεί να τροποποιηθεί από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και από μεσολαβητές ενδοθηλιακών κυττάρων. [2]
2. Μετά την αγγειοσύσπαση ακολουθεί η μηχανική απόφραξη της οπής από ένα χαλαρό αιμοπεταλιακό έμβολο. Η δημιουργία του εμβόλου αυτού ξεκινάει από με την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, όταν τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στο εκτεθειμένο κολλαγόνο της περιοχής με τη βοήθεια των ιντεγκρινών, πρωτεϊνικών υποδοχέων της μεμβράνης που συνδέονται με τον κυτταροσκελετό. Τα προσκολλημένα αυτά αιμοπετάλια ενεργοποιούνται και απελευθερώνουν κυτταροκίνες στην περιοχή γύρω από το τραύμα ενισχύοντας έτσι την τοπική αγγειοσύσπαση και ενεργοποιώντας περισσότερα αιμοπετάλια τα οποία συναθροίζονται δημιουργώντας ένα χαλαρό αιμοπεταλιακό βύσμα. [3]

Πιο συγκεκριμένα, η σύνδεση των αιμοπεταλίων με το κολλαγόνο τα ενεργοποιεί, απελευθερώνοντας το περιεχόμενο των ενδοκυττάρων κοκκίων τους, συμπεριλαμβανόμενων της σεροτονίνης, του ADP και του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF). [1]

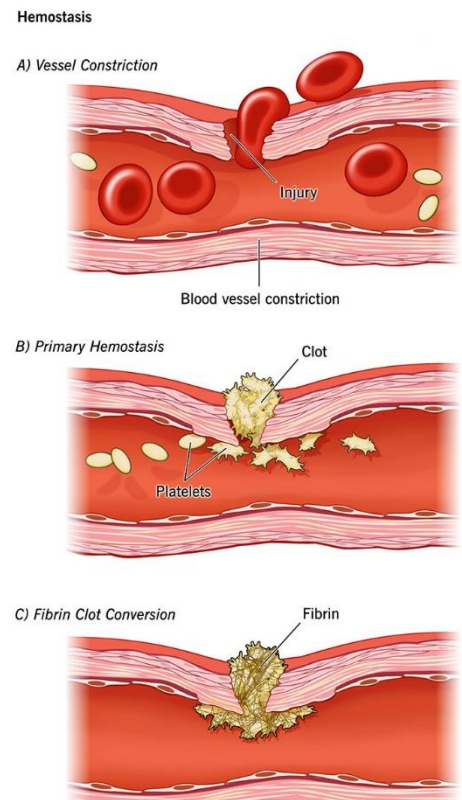
Ο PAF δημιουργεί μια αγκύλη θετικής ανατροφοδότησης ενεργοποιώντας περισσότερα αιμοπετάλια τα οποία προσκολλώνται και αυτά στο βύσμα. Ο PAF ξεκινά επίσης οδούς που μετατρέπουν τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης των αιμοπεταλίων σε θρομβοξάνη A2. Η σεροτονίνη και η θρομβοξάνη A2 είναι αγγειοσυστολείς και συμβάλλουν στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων μαζί με το ADP και τον PAF. [2]

Τα αιμοπετάλια δεν προσκολλώνται στο φυσιολογικό ενδοθήλιο, έτσι το αιμοπεταλιακό βύσμα περιορίζεται στο σημείο του τραυματισμένου αγγείου και δεν εξαπλώνεται πέρα από το σημείο αυτό. Τα άθικτα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, μετατρέπουν τα λιπίδια της μεμβράνης τους σε προστακυκλίνη, ένα εικοσανοειδές, το οποίο αποτρέπει την συσσώρευση και την προσκόλληση των αιμοπεταλίων. Το μονοξειδίο του αζώτου που απελευθερώνεται από το άθικτο ενδοθήλιο αναστέλλει επίσης την προσκόλληση των αιμοπεταλίων.[2]

- Τέλος το εκτεθειμένο κολλαγόνο μαζί με τον ιστικό παράγοντα ξεκινούν το τρίτο βήμα, το σχηματισμό ενός ινώδους πρωτεϊνικού πλέγματος που σταθεροποιεί το αιμοπεταλιακό βύσμα για να σχηματιστεί ένας θρόμβος. Το ινώδες είναι το τελικό προϊόν μιας σειράς ενζυμικών αντιδράσεων γνωστές ως καταρράκτης πήξης. Μερικοί χημικοί παράγοντες που εμπλέκονται στον καταρράκτη πήξης προάγουν και την προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων στην κατεστραμμένη περιοχή. Προοδευτικά, καθώς το αγγείο επισκευάζεται τον εαυτό του, ο θρόμβος απομακρύνεται όταν η ινώδης ουσία διαλύεται αργά από το ένζυμο πλασμίνη. [3]

Η διαδικασία της αιμόστασης πρέπει να βρίσκεται σε σωστή ισορροπία καθώς λίγη αιμόσταση μπορεί να οδηγήσει είτε σε αιμορραγία είτε μπορεί να προκαλέσει θρόμβο, ένα πήγμα αίματος το οποίο προσκολλάται στο μη κατεστραμμένο τμήμα του τοιχώματος του αγγείου. Ένας τέτοιος θρόμβος μπορεί να προκαλέσει φραγή του αγγείου και να σταματήσει την αιματική ροή με αποτέλεσμα να προκαλέσει υποξία στους γύρω ιστούς, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε νέκρωση τους. [4]

Εικόνα 1: Α) Στην πρώτη εικόνα βλέπουμε την συστολή του αγγείου η οποία επάγεται από τους λείους μύες του. Β) Βλέπουμε τον σχηματισμό του αρχικό αιμοπεταλιακού θρόμβου να συσσωρεύεται στο εκτεθειμένο σημείο της περιοχής. Γ) Στην τελευταία εικόνα απεικονίζεται ο θρόμβος ινώδους που σταθεροποιεί το αιμοπεταλιακό βύσμα και επιτρέπει στο αγγείο να επισκευάσει τον εαυτό του.



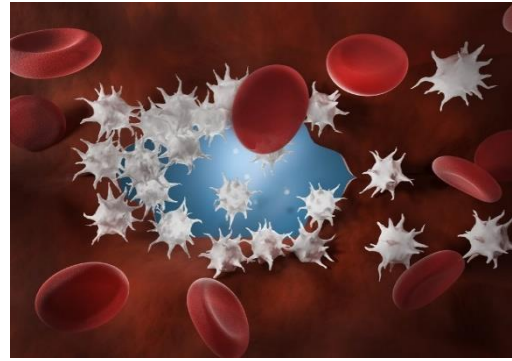
Εικόνα 1 Στάδια της δημιουργίας του θρόμβου

A2. Αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια είναι απύρηντα κύτταρα με διάμετρο 2-4 μm και όγκο 6-11 fL κάνοντας τα, τα μικρότερα κύτταρα του αίματος. [5] Προέρχονται από το κυτταρόπλασμα των μεγακαρυοκυττάρων μετά από ωρίμανση περίπου 4 ημερών. [6] Κάθε μεγακαρυοκύτταρο συνεισφέρει 1000-3000 κυκλοφορούντα αιμοπετάλια καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του. Μόλις τα αιμοπετάλια απελευθερωθούν στην κυκλοφορία έχουν χρόνο επιβίωσης 7-10 ημέρες. Φεύγουν από την κυκλοφορία μ' έναν συνδυασμό γήρανσης και κατανάλωσης για τη διατήρηση της ακεραιότητας των αγγείων. Ο φυσιολογικός αριθμός των αιμοπεταλίων κυμαίνεται μεταξύ 150.000 και 450.000/ μL σε ένα υγιές άτομο. [7]

Τα αιμοπετάλια αποτελούν την κυτταρική βάση της αιμόστασης. Οι επιφανειακοί υποδοχείς των αιμοπεταλίων τροποποιούν την πρωτοπαθή αιμόσταση και επιτρέπουν στα αιμοπετάλια να συνδέονται άμεσα με το ενδοθήλιο και το υπενδοθήλιο στα σημεία της βλάβης.

Εκτός από το βασικό ρόλο τους στην αιμόσταση, τα αιμοπετάλια επηρεάζουν πολλές άλλες παθοφυσιολογικές διεργασίες όπως η φλεγμονή, η άμυνα από μικρόβια και η ανάπτυξη και μετάσταση ενός όγκου. [8]



Η ροή του αίματος στις αρτηρίες διαφέρει από την αντίστοιχη του φλεβικού συστήματος και συνεπώς οι ανάγκες της πήξης είναι διαφορετικές. Στις αρτηρίες που βρίσκονται υπό τάση, έστω και μικρή αγγειακή βλάβη μπορεί να οδηγήσει σε μεγάλη απώλεια αίματος γι' αυτό και η προθρομβωτική απάντηση στις αρτηρίες πρέπει να σταματάει γρήγορα την αιμορραγία. Τα αιμοπετάλια είναι πολύ σημαντικά σε αυτή την αρτηριακή απάντηση.

Εικόνα 2 Ερυθρά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια κυκλοφορούν μέσα σε ένα αιμοφόρο αγγείο.

A2.1 Δομή Αιμοπεταλίων

Τα αιμοπετάλια στερούνται πυρήνα και περιβάλλονται από μια μεμβράνη διπλής στιβάδας λιπιδίων [7]. Η ζώνη την μικροσωληνίσκων βρίσκεται κάτω από την εξωτερική μεμβράνη και είναι υπεύθυνη για διατηρεί το σχήμα των αιμοπεταλίων. Όταν αρχίζει η συσσώρευση τους ξεκινάει να αποδομείται. Στο εσωτερικό του κυτταροπλάσματος υπάρχουν τρεις κατηγορίες αιμοπεταλιακών κοκκίων: τα κοκκία α, τα κοκκία δ και τα λυσοσωμικά κοκκία [8].

Επιπλέον, τα αιμοπετάλια διαθέτουν ανοικτό σωληναριακό σύστημα, που επικοινωνεί με το εξωτερικό περιβάλλον, καθώς και πυκνό σωληναριακό σύστημα. Η αιμοπεταλιακή μεμβράνη επιτρέπει τα αιμοπετάλια να έρχονται σε επαφή με το πλάσμα και το τραυματισμένο αγγειακό τοίχωμα [10]. Η μεμβράνη των αιμοπεταλίων αποτελείται από φωσφολιπίδια, γλυκολιπίδια, χοληστερόλη και εννέα γλυκοπρωτεΐνες (GPI-GPIX). Όταν τα αιμοπετάλια ενεργοποιηθούν τότε η μεμβράνη θα αποκτήσει θέσεις δέσμωσης για διάφορες πρωτεΐνες της πήξης όπως για παράδειγμα οι παράγοντες XI και VIII [11].

A2.2 Τύποι Επιφανειακών Υποδοχέων Αιμοπεταλίων

Αν και υπάρχουν πολύ τύποι επιφανειακών υποδοχέων (GP) στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, οι πιο σημαντικοί θεωρούνται το σύμπλεγμα GP Ib-IX-V, το GPVI και η ιντεγκρίνη αIIbβ3, τα οποία μεσολαβούν στην προσκόλληση, στην ενεργοποίηση και στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. [12]

Το σύμπλεγμα GPIb-IX-V δρα ως υποδοχέας της επιφάνειας των αιμοπεταλίων και εμπλέκεται σε μεγάλο βαθμό στη φυσιολογική αιμόσταση και στην αρτηριακή θρόμβωση. [13]

Η γλυκοπρωτεΐνη VI (GPVI) είναι ο κύριος υποδοχέας σηματοδότησης για το κολλαγόνο στα αιμοπετάλια και ασκεί λειτουργίες στην αιμόσταση και σε άλλες διαδικασίες που προκαλούνται από αιμοπετάλια. [14] [15] [16] [17]

Η ιντεγκρίνη αIIbβ3 της επιφάνειας των αιμοπεταλίων αφού μετατραπεί σε υποδοχέα υψηλής συγγένειας στο τελικό στάδιο της ενεργοποίησης του αιμοπεταλίου, θα μεσολαβήσει στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων σε μοριακό επίπεδο. [18][19] Πιο

συγκεκριμένα με τη δέσμευση ινωδογόνου η ενεργοποιημένη αIIbβ3 επιτρέπει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ αιμοπεταλίων και κατά συνέπεια τον σχηματισμό ενός συσσωματώματος αιμοπεταλίων.

A2.3 Μονοπάτια Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων

Κατά τον τραυματισμό των αιμοφόρων αγγείων, τα αιμοπετάλια εκτίθενται σε πρωτεΐνες στο αγγειακό τοίχωμα και σε διαλυτούς αγωνιστές, οι οποίοι ξεκινούν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων οδηγώντας σε σχηματισμό θρόμβου. Κολλαγόνο, Θρομβίνη, Επινεφρίνη.

Η θρομβίνη είναι ο πιο ισχυρός αγωνιστής των αιμοπεταλίων και ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια μέσω των ενεργοποιημένων υποδοχέων και του GPIIb-IX-V [20] [21] [22].

Η θρομβίνη επανατροφοδοτεί τα αιμοπετάλια και τον καταρράκτη της πήξης ενισχύοντας την προπηκτική απάντηση και επίσης παράγει ινική ώστε να εξασφαλιστεί δευτεροπαθής και μακράς διάρκειας αιμόσταση. Τέλος, τα αιμοπετάλια βοηθούν την θρομβίνη στη σταθεροποίηση του θρόμβου και την προστασία από την ινωδολύση με προσφορά των παραγόντων XIII και του παράγοντα 4 των αιμοπεταλίων, αντιστοίχως, στο μικροπεριβάλλον του θρόμβου.

Το ADP είναι ένα από τα κύρια συστατικά που απελευθερώνουν τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και παίζει κρίσιμο ρόλο στη διαδικασία ενεργοποίησης και συσώρευσης περισσότερων αιμοπεταλίων. [23]

A3. Αιμοφόρο Αγγείο

Τρεις είναι οι βασικοί χιτώνες που αποτελούν τα αιμοφόρα αγγεία, ο έσω χιτώνας, ο μέσο και ο έξω. Ο έσω χιτώνας αποτελείται από ενδοθηλιακά κύτταρα και υπενδοθηλιακό συνδετικό ιστό. Όλα τα αιμοφόρα αγγεία επενδύονται από μια συνεχόμενη στιβάδα που σχηματίζεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Σε κατάσταση ηρεμίας, το ενδοθήλιο δεν προκαλεί θρόμβους, διατηρώντας το αίμα σε υγρή μορφή, ενώ παράλληλα παρέχει θρεπτικά στοιχεία στις υποκείμενες δομές και δρα ως φραγμός για τα κύτταρα. Η διαπερατότητά του προσαρμόζεται, επιτρέποντας την είσοδο συγκεκριμένων μορίων και κυττάρων όταν χρειάζεται [24].

A4. Ενδοθηλιακά Κύτταρα

Το ενδοθηλιακό κύτταρο διαθέτει μια ενδοαυλική επιφάνεια που καλύπτεται από ένα στρώμα πρωτεογλυκανών. Αυτή η επιφάνεια, μέσω της θεικής ηπαρίνης και άλλων γλυκοζαμινογλυκανών που περιέχει, ενεργοποιεί την αντιθρομβίνη που είναι σημαντικός αναστολέας της πήξης. Επιπλέον, στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων βρίσκεται ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI). Στα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζεται επίσης ο υποδοχέας της πρωτεΐνης C (Protein C-PC), η θρομβοδουλίνη, καθώς και αρκετές ενεργές πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη διαδικασία της πήξης.

Μετά τον τραυματισμό του αγγείου, στο σημείο της διακοπής της συνέχειας στο αγγείο, παράγεται θρομβίνη η οποία δεσμεύεται με την θρομβομοντουλίνη. Η σύνδεση αυτή επιτρέπει στην θρομβίνη να ενεργοποιήσει την PC και μια καρβοξυπεπτιδάση, η οποία αναστέλλει την ινωδολύση. Η θρομβίνη διεγείρει επίσης και τα ενδοθηλιακά κύτταρα με σκοπό να παράξουν τον ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (t-PA).

Το ίδιο το ενδοθήλιο έχει την ικανότητα να παράγει την πρωτεΐνη S, τον συμπαράγοντα της πρωτεΐνης C (PC) καθώς και τον παράγοντα von Willebrand (VWF). Ο παράγοντας von Willebrand επιτρέπει τα αιμοπετάλια να κολλήσουν στο υπενδοθήλιο και σταθεροποιεί επίσης τον παράγοντα VIII στην κυκλοφορία. Η αποθήκευση του VWF γίνεται στα σωμάτια Weibel-Palade που βρίσκονται μέσα στα κοκκία των αιμοπεταλίων τα οποία εκκρίνονται στην κυκλοφορία αλλά και στο ενδοθήλιο στο οποίο συνδέονται με πρωτεΐνες και το κολλαγόνο [25].

Το ενδοθήλιο παράγει και άλλες αγγειοσυσπαστικές ουσίες όπως αγγειοτενσίνη II, το μονοξειδίο του αζώτου, η προστακυκλίνη, η ενδοθηλίνη και θρομβοξάνη. [26]

A5. Προσκόλληση και συσσώρευση αιμοπεταλίων

Εφόσον τραυματιστεί το αγγείο τα αιμοπετάλια θα αρχίσουν να προσκολλώνται στο αγγειακό τοίχωμα και θα εκκρίνουν τα κοκκία τους. Η συσσώρευση αυτή προσελκύει περισσότερα αιμοπετάλια εξαιτίας του παράγοντα VWF που παράγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Γλυκοπρωτεϊνικοί υποδοχείς GpIb της μεμβράνης των αιμοπεταλίων και του ινωδογόνου προσκολλώνται εξαιτίας του VWF.

Όταν τα αιμοπετάλια ενεργοποιηθούν απελευθερώνουν διφωσφορική αδενοσίνη ADP και θρομβοξάνη A₂ ουσίες οι οποίες ενεργοποιούν περισσότερα ελεύθερα αιμοπετάλια της κυκλοφορίας αλλάζοντας τους την μορφολογία. Καθώς συσσωρεύονται περισσότερα αιμοπετάλια σχηματίζεται ο θρόμβος. Στη συνέχεια οι πρωτεΐνες GpIIb και GpIIIa της μεμβράνης των αιμοπεταλίων θα σχηματίσουν τον πιο σταθερό θρόμβο προσκολλώντας στο ινωδογόνο και το ινώδες.

Το ινωδογόνο προσδένεται στους ενεργοποιημένους υποδοχείς των ιντεγκρινών και οδηγεί στην διάσπαση του από την θρομβίνη σε ινωδοπεπτίδια τα οποία σχηματίζουν μονομερή του ινώδους. Τα μονομερή αυτά θα συνεχίσουν να συσσωρεύονται μέχρι να σχηματιστεί ο μαλακός θρόμβος και ενώνονται με τον παράγοντα XIII. Το αιμοστατικό πώμα που σχηματίζεται από την ένωση των αιμοπεταλίων και του ινώδους.

Τέλος η προπηκτική δράση θα ολοκληρωθεί αφού διαλυθεί ο θρόμβος του ινώδους. Ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου μετατρέπει το πλασμινογόνο σε πλασμίνη. Παράγεται από ενδοθηλιακά κύτταρα και από τον υπενδοθηλιακό συνδετικό ιστό του τραυματισμένου αγγείου. Η πλασμίνη στην συνέχεια θα μπορέσει να διασπάσει τον θρόμβο του ινώδους. [27]

A6. Δευτερογενής Αιμόσταση

Όπως προαναφέρθηκε, η ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός ινώδους πρωτεϊνικού πλέγματος, ο οποίος σταθεροποιεί το αιμοπεταλιακό βύσμα προκειμένου να σχηματιστεί ένας θρόμβος ο οποίος θα προφυλάξει το αιμοφόρο αγγείο από αιμορραγία. Το πλάσμα του αίματος περιέχει μια συλλογή διαλυτών πρωτεϊνών που δρουν μαζί σε ένα καταρράκτη ενεργοποίησης ενζύμων με τελικό προϊόν το σχηματισμό θρόμβου ινώδους. [4]

Στον μηχανισμό της πήξης συμβάλλουν πέρα από τις πρωτεΐνες του πλάσματος και στοιχεία του αγγειακού ενδοθηλίου καθώς και κυτταρικά στοιχεία. Τα στοιχεία αυτά εμπλέκονται και στην δημιουργία του θρόμβου αλλά και στην ινωδολύση του.

Υπάρχουν δύο κύριοι μηχανισμοί για την ενεργοποίηση της πήξης του αίματος, που ονομάζονται εξωγενής και ενδογενής οδός πήξης. Οι δύο οδοί ενώνονται σε μια κοινή οδό για να δημιουργήσουν θρομβίνη, το ένζυμο που μετατρέπει το ινωδογόνο σε αδιάλυτα πολυμερή ινώδους. Αυτές οι ινώδεις ίνες αποτελούν τμήμα του θρόμβου. [4]

Οι ίνες αυτές του ινώδους πλέκονται γύρω από το αιμοπεταλιακό βύσμα και παγιδεύουν ερυθρά αιμοσφαίρια στο πλέγμα τους. Ο ενεργός παράγοντας XIII μετατρέπει το ινώδες σε ένα διασυνδεδεμένο πολυμερές που σταθεροποιεί τον θρόμβο.

Οι θρόμβοι δίνουν μια προσωρινή λύση. Καθώς το κατεστραμμένο αγγείο επιδιορθώνεται, ο θρόμβος αποσυντίθεται καθώς το ινώδες διασπάται σε θραύσματα από το ένζυμο της πλασμίνης. Το πλασμινογόνο, το οποίο είναι μια ανενεργός μορφή της πλασμίνης αποτελεί τμήμα του θρόμβου. [2]

Μετά την πήξη, για να διασπαστεί ο θρόμβος, η θρομβίνη συνεργάζεται με έναν δεύτερο παράγοντα, τον ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (tPA) για να μετατρέψουν το ανενεργό πλασμινογόνο σε πλασμίνη. Η πλασμίνη διασπά το ινώδες με αποτέλεσμα να αποσυνθέσει τον θρόμβο.

Προκειμένου ο θρόμβος να μην εξαπλωθεί μέχρι να θρομβωθεί όλη η κυκλοφορία τα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν χημικούς παράγοντες γνωστούς ως αντιπηκτικά, οι οποίοι εμποδίζουν την πήξη. Τα περισσότερα αντιπηκτικά παρεμποδίζουν κάποιες αντιδράσεις του καταρράκτη της πήξης με αποτέλεσμα να μην μπορεί να δημιουργηθεί η θρομβίνη και να μετατρέψει το ινωδογόνο σε ινώδες.

Κάποια από τα αντιπηκτικά αυτά είναι η ηπαρίνη και η αντιθρομβίνη III, τα οποία συνεργάζονται για να εμποδίσουν τους ενεργούς παράγοντες IX, X, XI και XII. Η πρωτεΐνη C αναστέλλει τους παράγοντες πήξης V και VIII. [2]

Δυστυχώς το ίδιο σύστημα πήξης μπορεί να οδηγήσει σε ανεπιθύμητους θρόμβους αίματος μέσα στα αιμοφόρα αγγεία, το οποίο είναι η κύρια αιτία αναπηρίας και θανάτου στον ανεπτυγμένο κόσμο. [4] Παρόλο που υπάρχουν μηχανισμοί που εμποδίζουν την περεταίρω ανάπτυξη του θρόμβου, υπάρχουν παθολογικές περιπτώσεις που ο θρόμβος οδηγεί σε απόφραξη του αγγείου. Αν η έμφραξη δεν απομακρυνθεί ταχέως, ο ιστός θα νεκρωθεί ή θα καταστραφεί λόγω της έλλειψης του αίματος. [28]

Οι θρομβοφιλίες είναι μια ομάδα παθολογικών καταστάσεων στις οποίες ο καταρράκτης πήξης ενεργοποιείται μέσα στον αυλό ενός αιμοφόρου αγγείου, οδηγώντας στο σχηματισμό θρόμβου που μπορεί να εμποδίσει τη ροή του αίματος μέσα σε ένα αγγείο. Μόνο η εξωγενής οδός της πήξης μπορεί να οδηγήσει σε μια μη φυσιολογική αιμόσταση. Παρόλα αυτά και οι δύο οδοί πιστεύεται ότι συμβάλλουν στην θρόμβωση. [2]

A6.1 Ενδογενής Οδός Πήξης

Μια ενδογενής οδός πήξης ξεκινάει όταν η βλάβη στο αγγείο προκαλεί έκθεση του κολλαγόνου. Έτσι η ενδογενής οδός ονομάζεται και οδός ενεργοποίησης εξ επαφής καθώς ενεργοποιείται με την άμεση επαφή με το κολλαγόνο. Η ενδογενής οδός χρησιμοποιεί πρωτεΐνες που ήδη υπάρχουν στο πλάσμα. Το κολλαγόνο ενεργοποιεί το πρώτο ένζυμο, τον παράγοντα XII, για να ξεκινήσει ο καταρράκτης. Ο παράγοντας XII σε συνδυασμό με το κινινογόνο μεγάλου μοριακού βάρους (HMWK), την προκαλλικρεΐνη πλάσματος (PK) και τον παράγοντα XI ενεργοποιούν τον παράγοντα XI σε XIa.

Η προκαλλικρεΐνη μετατρέπεται σε καλλικρεΐνη με αποτέλεσμα να ενεργοποιηθούν περισσότερα μόρια XII. Έπειτα ο ενεργοποιημένος XIa ενεργοποιεί τον παράγοντα IX σε IXa. Για να ενεργοποιηθεί ο παράγοντα IX από τον IXa απαιτεί την παρουσία Ca^{++} και φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Ο παράγοντας IXa μαζί με τον παράγοντα VIIa σχηματίζουν σύμπλεγμα το οποίο ενεργοποιεί τον παράγοντα X σε Xa. Ο παράγοντας X είναι το κλειδί της πήξης καθώς είναι το ένζυμο το οποίο θα μετατρέψει την προθρομβίνη σε θρομβίνη.

A6.2 Εξωγενής Οδός Πήξης

Η εξωγενής οδός πήξης ή αλλιώς η οδός του ιστικού παράγοντα, ονομάζεται από την πρωτεΐνη που την ενεργοποιεί. Ο ιστικός παράγοντας TF ονομάζεται και ιστική θρομβοπλαστίνη ή παράγοντας III [10]. Είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που εκφράζεται σε περιαγγειακά κύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα των αγγείων και σε επιφάνειες οργάνων σχηματίζοντας έναν αιμοστατικό φραγμό. [9]

Η εξωγενής οδός ξεκινάει όταν οι κατεστραμμένοι ιστοί εκθέτουν τον ιστικό παράγοντα. Αυτό μπορεί να γίνει από φυσικό τραυματισμό όπως ρήξη του αιμοφόρου αγγείου, η οποία προκαλεί διακοπή της συνέχειας του ενδοθηλίου και έτσι ο TF απελευθερώνεται και μπορεί να δεσμευθεί με την πρωτεΐνη του πλάσματος τον παράγοντα VII. Ο TF είναι υψηλής συγγένειας υποδοχέας και συμπαράγοντας για τον παράγοντα VII και το σύμπλεγμα TF-FVIIa είναι ο κύριος εκκινητής της πήξης του αίματος. [9] Ο TF ενεργοποιεί τον FVII σε FVIIa και δημιουργούν μαζί ένα σύμπλεγμα TF-FVIIa όπου ενεργοποιεί στη συνέχεια τον παράγοντα X σε Xa. [10]. Το περισσότερο μέρος του VII κυκλοφορεί στο πλάσμα σε αδρανή μορφή. Αφού ενωθεί με το TF θα μετατραπεί με την βοήθεια της πρωτεόλυσης σε ενεργοποιημένη μορφή VIIa.

Και οι δύο οδοί αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και ενώνονται σε μια κοινή οδό σχηματίζοντας τον θρόμβο ινώδους.

A6.3 Κοινή Οδός Πήξης

Η κοινή οδός της πήξης ξεκινά με το σύμπλεγμα των παραγόντων FXa και FVa, το οποίο, με τη βοήθεια του ασβεστίου (Ca^{++}) και των φωσφολιπιδίων, καταλύει τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη. Το ινωδογόνο διασπάται στη συνέχεια από την θρομβίνη, μετατρέποντάς το σε μονομερή ινώδους. Αυτά τα μονομερή μπορούν να συνδεθούν μεταξύ τους, σχηματίζοντας τον θρόμβο ινώδους [29].

A6.4 Λύση του Ινώδους

Η λύση του ινώδους θα προκύψει εφόσον έχει σχηματιστεί ο αιμοπεταλιακός θρόμβος και η βλάβη έχει αποκατασταθεί. Η ινωδολυτική διαδικασία ξεκινάει με την βοήθεια δύο παραγόντων.

1. Η ινωδογονολυτική δράση του πλάσματος θα συνδεθεί με την πλασμίνη, το πλασμινογόνο, καθώς και τους αναστολείς και ενεργοποιητές αυτών. Το πλασμινογόνο μετατρέπεται σε πλασμίνη, ένα ισχυρό πρωτεολυτικό ένζυμο που έχει ως κύρια λειτουργία την διάσπαση του ινώδους και την καταστροφή του θρόμβου. Η πλασμίνη δρα τοπικά, συμβάλλοντας στην προστασία και διατήρηση της ακεραιότητας των αγγείων.

2. Ο δεύτερος βασικός παράγοντας είναι η κυτταρική λύση του θρόμβου, που αφορά το κυτταρικό ινωδογονολυτικό σύστημα, το οποίο περιλαμβάνει τα κύτταρα του αίματος και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα λευκά αιμοσφαίρια συμμετέχουν στη φαγοκυττάρωση των θραυσμάτων των κατεστραμμένων κυττάρων και του ινώδους.

Η πλασμινογόνο δραστηριότητα (PL) παίζει κεντρικό ρόλο στην ινωδόλυση, βοηθώντας στην αποδόμηση του θρόμβου. Το σύστημα των μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs) είναι επίσης κρίσιμο, διότι συνδράμει στην αποκατάσταση του αγγείου μετά τη βλάβη. Αναστολείς όπως η α2-αντιπλασμίνη και ο PAI (αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου) διατηρούν την εύθραυστη ισορροπία στην ινωδόλυση [30].

A6.5 Παράγοντες του μηχανισμού πήξης

Οι παράγοντες πήξης αποτελούνται από μια αλληλουχία πρωτεϊνών που είναι υπεύθυνες για τον μηχανισμό της πήξης. Ένας ανενεργός παράγοντας ενεργοποιεί τον επόμενο, και αυτός με τη σειρά του θα ενεργοποιήσει τον επόμενο στη σειρά. Όταν όλοι οι παράγοντες έχουν ενεργοποιηθεί, πραγματοποιούνται διάφορες διαδικασίες που ρυθμίζουν και ελέγχουν τη δράση τους στο σημείο της βλάβης, σταθεροποιούν τον αρχικό θρόμβο και σταματούν την εκτεταμένη ενδοαγγειακή πήξη.

Οι παράγοντες της πήξης φτάνουν 13 σε αριθμό και συμβολίζονται με λατινικούς αριθμούς από το I έως το XIII εκτός του αριθμού VI που δεν υπάρχει καμία συσχέτιση με κανέναν παράγοντα.

Ταξινομούνται με βάση τους παράγοντες που εξαρτώνται από την βιταμίνη K, τους παράγοντες με ευαισθησία στην θρομβίνη, παράγοντες επαφής, αναστάλτες πήξης και φωσφολιπίδια και ιόντα Ca.

Όλοι οι παράγοντες πήξης συντίθενται στο ήπαρ εκτός από τον παράγοντα IV και III τα οποία αποτελούνται από ιόντα ασβεστίου. Πλασματικοί παράγοντες, συμπαραγοντες, φωσφολιπίδια από ιστούς και μεμβράνες κυττάρων και ανασταλτές επίσης παίρνουν μέρος στην πήξη. [29]

A6.7 Παράγοντες της Ενδογενούς Οδού

A6.7.1 Παράγοντας V

Συντίθεται στο ήπαρ από τα αιμοπετάλια και τα μεγακαρυοκύτταρα και είναι μια πρωτεΐνη που δεν εξαρτάται από τη βιταμίνη K. Όταν μετατραπεί στην ενεργή μορφή του (Va), ο παράγοντας V λειτουργεί ως συμπαραγοντας, με τον βασικό του ρόλο να είναι η μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη. Καταστάσεις που σχετίζονται με ανεπάρκεια του παράγοντα V περιλαμβάνουν τη συγγενή ανεπάρκεια, η οποία συχνά συνυπάρχει με έλλειψη του παράγοντα VIII, και την επίκτητη ανεπάρκεια, που είναι και η πιο συνηθισμένη. Σε περίπτωση έλλειψης του παράγοντα V, παρατηρείται παράταση του χρόνου PT και APTT, οδηγώντας σε αιμορραγία. [31]

A6.7.2 Παράγοντας VIII

Συντίθεται στο ήπαρ και είναι συνδεδεμένος με τον παράγοντα von Willebrand. Η προθρομβίνη ενεργοποιεί τον παράγοντα VIII σε VIIIa όπου η ενεργή αυτή μορφή μαζί με παρουσία ασβεστίου αλλά και φωσφολιπιδίων, επιταχύνουν την ενεργοποίηση του παράγοντα X σε ενεργό Xa.

Ασθενείς με αιμορροφιλία Α συνήθως έχουν έλλειψη του παράγοντα VIII και παρουσιάζουν αυξημένο χρόνο ΑΡΤΤ αλλά και ΡΤ. Το γονίδιο του VIII εντοπίζεται στο χρωμόσωμα Χ και κληρονομείται με υπολειπόμενο χαρακτήρα. [32]

A6.7.3 Παράγοντας IX

Είναι παράγοντας εξαρτώμενος από τη βιταμίνη Κ που συντίθεται στο ήπαρ. Επίσης είναι γνωστός ως παράγοντας Christmas ή Β-αιμορροφιλικός παράγοντας. Ενεργοποιείται από τον παράγοντα IX σε IXa με τη βοήθεια των παραγόντων VIIa και XIa. Η έλλειψη του παράγοντα IX συνήθως υποδεικνύει ότι ο ασθενής πάσχει από αιμορροφιλία Β. Ενώ εργαστηριακά παρατηρείται αυξημένος χρόνος ΑΡΤΤ, ο χρόνος του ΡΤ είναι σε φυσιολογικές τιμές. [33]

A6.7.4 Παράγοντες XI-XII

Ο παράγοντας Hageman (ή παράγοντας XII) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που ενεργοποιείται όταν έρχεται σε επαφή με αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες, λειτουργώντας ως ενεργοποιητής της προκαλλικρεΐνης. Ο παράγοντας XI, γνωστός και ως αντιαιμορροφιλικός παράγοντας C, ανήκει στους παράγοντες επαφής και είναι επίσης μια γλυκοπρωτεΐνη.

Και οι δύο παράγοντες ξεκινούν τη διαδικασία σχηματισμού θρόμβου όταν βρεθούν σε επαφή με αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες. Αρχικά ενεργοποιείται ο παράγοντας XII, ακολουθούμενος από την ενεργοποίηση του παράγοντα XI, του πλασμινογόνου και της προκαλλικρεΐνης. Για τον σχηματισμό του τελικού συμπλέγματος απαιτείται η παρουσία του ΗΜWΚ ως συμπαράγοντα, ο οποίος παίζει σημαντικό ρόλο οδηγώντας το σύμπλεγμα στην αγγειακή επιφάνεια για την ενεργοποίηση του XIIa. Τα ιόντα ασβεστίου και τα φωσφολιπίδια είναι επίσης κρίσιμα για τον σχηματισμό της αρνητικά φορτισμένης επιφάνειας, απαραίτητης για την ενεργοποίηση των παραγόντων πήξης. [34]

A6.7.5 ΗΜWΚ – Καλλικρεΐνη

Η καλλικρεΐνη παράγεται από την προκαλλικρεΐνη, το πρόδρομο μόριο, μέσω της δράσης του παράγοντα XII. Η προκαλλικρεΐνη εντοπίζεται στο πλάσμα σε συνδυασμό με το κινινογόνο υψηλού μοριακού βάρους (ΗΜWΚ). Το σύμπλεγμα που σχηματίζεται μεταξύ της προκαλλικρεΐνης και του ΗΜWΚ ενεργοποιεί τον παράγοντα XII. Στη συνέχεια, η προκαλλικρεΐνη μετατρέπεται σε καλλικρεΐνη μέσω της δράσης του XIIa. Σε περιπτώσεις όπου τα επίπεδα της προκαλλικρεΐνης στο αίμα είναι χαμηλά, παρατηρείται παρατεταμένος χρόνος ΑΡΤΤ. [35]

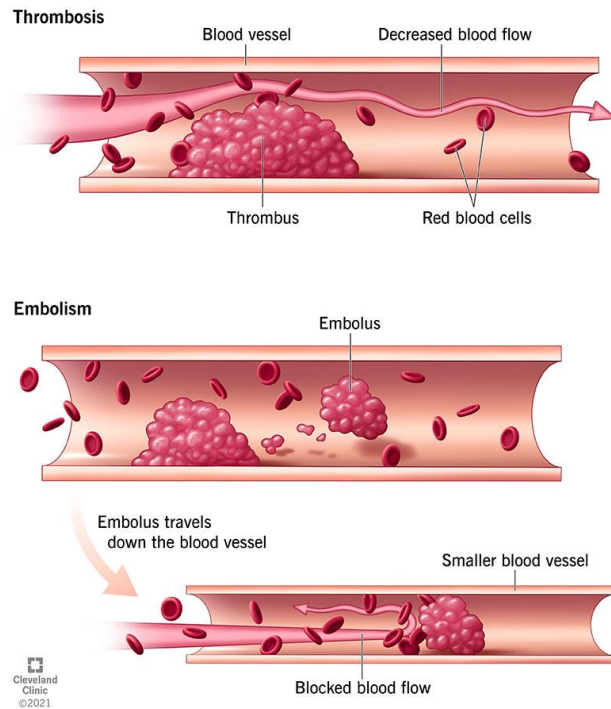
A7. Θρομβώσεις

Η θρόμβωση είναι μια ομάδα παθολογικών καταστάσεων στις οποίες ο καταρράκτης της πήξης ενεργοποιείται μέσα στον αυλό ενός αιμοφόρου αγγείου, οδηγώντας στο σχηματισμό θρόμβου που μπορεί να εμποδίσει τη ροή του αίματος μέσα σε ένα αγγείο. Ο όρος θρομβοφιλία χρησιμοποιήθηκε από τον Egeber για πρώτη φορά το 1965.

Το πήγμα που δημιουργείται προσκολλάται στο μη κατεστραμμένο τμήμα του τοιχώματος του αγγείου. Ένας τέτοιος θρόμβος μπορεί να προκαλέσει φραγή του αγγείου και να σταματήσει την αιματική ροή με αποτέλεσμα να προκαλέσει υποξία στους γύρω ιστούς οδηγώντας στην νέκρωση τους.

Όταν πάνω από το 75% της επιφάνειας του αυλού μιας αρτηρίας έχει καταληφθεί από τον θρόμβο τότε η ροή του αίματος προς τον ιστό αυτό έχει μειωθεί αρκετά ώστε να προκληθούν συμπτώματα υποξίας και της συσσώρευσης των μεταβολικών προϊόντων.

Οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της θρόμβωσης καθορίζονται από την τριάδα του Virchow: ελαττωμένη ροή αίματος, βλάβη του αγγειακού τοιχώματος και παρουσία μιας διαταραχής η οποία ευνοεί τους προπηκτικούς έναντι των αντιπηκτικών παραγόντων. [36]



Εικόνα 3 Θρόμβωση και εμβολή

Εικόνα 3: Στο πρώτο σχήμα βλέπουμε τον σχηματισμό ενός θρόμβου μέσα σε ένα αιμοφόρο αγγείο. Σε συνέχεια της πρώτης εικόνας η δεύτερη απεικονίζει την αποκόλληση ενός «κομματιού» από τον αρχικό θρόμβο, το οποίο θα ταξιδέψει κατά μήκος του αγγείου στο αγγειακό σύστημα μέχρι να «σφηνώσει» σε κάποιο αγγείο μικρότερης διαμέτρου, δημιουργώντας μια εμβολή και έτσι σταματάει την ροή του αίματος.

A7.1 Κληρονομικές Θρομβώσεις

Οι κληρονομικές θρομβοφιλίες μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες. Μπορούν να συμβούν είτε λόγω κληρονομούμενων διαταραχών όπως είναι ο παράγοντας V Leiden, η μετάλλαξη G20210A της προθρομβίνης και η ανεπάρκεια των φυσικών αντιπηκτικών είτε λόγω πολυπαραγοντικών όπως η αύξηση των επιπέδων του παράγοντα VIII και η υπερομοκυστεϊναιμία.

Περαιτέρω οι κληρονομικές θρομβοφιλίες χωρίζονται και σε δύο υποκατηγορίες: στις θρομβοφιλίες που οφείλονται στην αυξημένη δραστηριότητα των παραγόντων της πήξης και στις θρομβοφιλίες που οφείλονται στην ελάττωση των επιπέδων των φυσικών αντιπηκτικών.

Υψηλότερου επιπέδου κινδύνου θεωρούνται οι ασθενείς που ανήκουν στην κατηγορία με τα μειωμένα επίπεδα των φυσικών αντιπηκτικών αλλά εμφανίζονται πιο σπάνια και εμφανίζουν θρομβωτικό επεισόδιο πριν τα 60 έτη τους. Ασθενείς με αύξηση των παραγόντων πήξης εμφανίζονται πιο συχνά και παρουσιάζουν συνήθως θρομβωτική διάθεση ελαφράς μορφής πριν τα 60 έτη. [37] [38] [39]

A7.2 Μείωση των Αντιπηκτικών

Η έλλειψη των πρωτεϊνών S, C (PC) και της αντιθρομβίνης (AT) οδηγεί σε υπερπηκτική κατάσταση, καθώς αυτές οι πρωτεΐνες ρυθμίζουν τον καταρράκτη της πήξης και κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή χαρακτήρα. Η αντιθρομβίνη κανονικά συνδέεται και αδρανοποιεί τη θρομβίνη (FIIa) και τους ενεργούς παράγοντες FXa, FIXa, FXIIa και FXIIIa. Σε συνδυασμό με το σύμπλεγμα της θρομβίνης, η αντιθρομβίνη ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C, η οποία, μόλις ενεργοποιηθεί, μπορεί να αδρανοποιήσει τους παράγοντες FVa και FVIIIa, σταματώντας έτσι την πήξη του αίματος. [40]

A7.3 MTHFR

Η ομοκυστεΐνη παράγεται από τη διάσπαση της μεθειονίνης και έπειτα μετατρέπεται είτε σε κυσταθειονίνη και κυστεΐνη με την βοήθεια του ενζύμου β-συνθεάση της κυσταθειονίνης (CBS) και της βιταμίνης B6, είτε επαναμεθυλιώνεται σε μεθειονίνη. Η διαδικασία επαναμεθυλίωσης πραγματοποιείται με τη βοήθεια των ενζύμων συνθεάση της μεθειονίνης (MS), 5,10-μεθυλενοτετραϋδροφολική αναγωγή (MTHFR) και μεθυλτρανσφεράση βεταΐνης-ομοκυστεΐνης (BHMT), ενώ η βιταμίνη B12 λειτουργεί ως απαραίτητος συμπαράγοντας. Επίσης, η παρουσία του φυλλικού οξέος και της βεταΐνης είναι αναγκαία, καθώς χρησιμεύουν ως δότες μεθυλικών ομάδων για τη διαδικασία αυτή.

Τα ένζυμα που εμπλέκονται στον μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης είναι τα CBS, MS, MTHFR και BHMT. Μεταλλάξεις στα γονίδια αυτών των ενζύμων μπορεί να προκαλέσουν υπερομοκυστεϊναιμία. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο MTHFR (χρωμόσωμα 1 (1p36)) αφορούν κυρίως τις θέσεις 677 (677C > T, όπου η κυτοσίνη αντικαθίσταται από θυμίνη) και 1298 (1298 A > C, όπου η αδεΐνη αντικαθίσταται από κυτοσίνη). Στην περίπτωση της μετάλλαξης στη θέση 677, παρατηρείται μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου στους ομοζυγώτες (κατά 30%) και στους ετεροζυγώτες (κατά 65%), ενώ η μετάλλαξη στη θέση 1298 δεν έχει κλινική επίδραση στα επίπεδα της ομοκυστεΐνης.

Η αυξημένη συγκέντρωση ομοκυστεΐνης συνδέεται με διάφορες δυσλειτουργίες, όπως η ενδοθηλιακή βλάβη, η αναστολή της έκκρισης προστακυκλίνης και νιτρικού οξειδίου (NO), καθώς και η αύξηση των λειών μυϊκών ινών, που οδηγούν σε αγγειακή φλεγμονή, αθηροσκλήρωση και θρόμβωση. Ο ιστικός παράγοντας επίσης βρίσκεται σε αυξημένα επίπεδα καθώς και ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (t-PA) και ο αναστολέας της ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C από τη θρομβομοδοϋλίνη. Τα αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης μπορεί να οφείλονται σε ανεπάρκειες βιταμίνης B12, B6 και φυλλικού οξέος [41] [42] [43] [44] [45].

A7.4 Αντιθρομβίνη (ATIII)

Η αντιθρομβίνη (ATIII) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 58 kDa, και συντίθεται στο ήπαρ και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Είναι ο κυριότερος αναστολέας της θρομβίνης, καθώς και των παραγόντων IXa, Xa, XIa, XIIa, της πλασμίνης, του t-PA, της ουροκινάσης και της καλλικρεΐνης. Ανεπάρκεια στην αντιθρομβίνη κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή χαρακτήρα και ευθύνεται για την εμφάνιση φλεβικών θρομβώσεων. Η επικινδυνότητα αυξάνεται όταν η μετάλλαξη επηρεάζει τη θέση σύνδεσης με τη θρομβίνη, παρά με την ηπαρίνη.

Η ανεπάρκεια στην αντιθρομβίνη γίνεται να είναι είτε επίκτητη είτε κληρονομική, με τον κίνδυνο να αυξάνεται στους ετεροζυγώτες. Δύο οι κατηγορίες της ανεπάρκειας της

αντιθρομβίνης: στην πρώτη, η ποιοτική ανεπάρκεια, η λειτουργικότητα και η αντιγονικότητα μειώνονται κατά 50%. Στη δεύτερη μειώνεται μόνο η δραστηριότητα κάτι που είναι και πιο συχνό. Κλινικά, η φλεβική θρόμβωση εμφανίζεται σε άτομα άνω των 40 ετών, ενώ η αρτηριακή θρόμβωση παρατηρείται σε νεότερα άτομα. [46]

A7.5 Πρωτεΐνη C [PC]

Αποτελεί πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 62 kDa, εξαρτώμενη από τη βιταμίνη K, και αποτελείται από δύο αλυσίδες που συνδέονται με δισουλφιδικές γέφυρες. Παίζει σημαντικό ρόλο στον καταρράκτη της πήξης και κυκλοφορεί στο πλάσμα σε χαμηλή συγκέντρωση. Η ενεργή μορφή της αδρανοποιεί τους παράγοντες V και VIII, που είναι απαραίτητοι για την παραγωγή θρομβίνης. Η επίκτητη ανεπάρκεια της μπορεί να προκληθεί από έλλειψη βιταμίνης K, θεραπεία με βαρφαρίνη ή σοβαρή ηπατική νόσο.

Η κληρονομική ανεπάρκεια οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου ****PROC****, που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 2 (2q13-14) και αποτελείται από 9 εξόνια [I-IX]. Υπάρχουν δύο τύποι ανεπάρκειας: στον τύπο I παρατηρείται μείωση στα επίπεδα της πρωτεΐνης και στη λειτουργικότητά της, ενώ στον τύπο II τα επίπεδα της πρωτεΐνης είναι φυσιολογικά, αλλά η λειτουργικότητά της μειωμένη.

Τα άτομα με ανεπάρκεια της πρωτεΐνης C παρουσιάζουν κλινική εικόνα που περιλαμβάνει πνευμονική εμβολή, εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση, παρεγχυματικούς θρόμβους και διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (ΔΕΠ). [47] [48] [49]

A7.6 Πρωτεΐνη S [PS]

Η πρωτεΐνη S είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 75 kDa, εξαρτώμενη από τη βιταμίνη K. Έχει χαμηλά επίπεδα στο πλάσμα, και έχει κύριο ρόλο στον καταρράκτη της πήξης. Εντοπίζεται σε δύο μορφές, η ελεύθερη μορφή (περίπου 40%) και η συνδεδεμένη μορφή με τον παράγοντα του συμπλέγματος C4b-binding protein (C4BP) (περίπου 60%) [50].

Η πρωτεΐνη S δρα ως συμπαράγοντας της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C (APC), διακόπτοντας τη λειτουργία των παραγόντων πήξης Va και VIIIa. Η πρωτεΐνη S με την APC θα προσδεθούν στην επιφάνεια των πλασμοκυττάρων αφού ενεργοποιηθεί η πρωτεΐνη C και συμμετέχουν στην απενεργοποίηση του FVa. Επίσης μαζί με τον ιστικό ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (TFPI), η πρωτεΐνη S απενεργοποιεί τον παράγοντα Xa και το σύμπλεγμα (TF)/Factor VIIa [51].

Η ανεπάρκεια της πρωτεΐνης S σχετίζεται με το γονίδιο PROS1, το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3 (3p11). Η ανεπάρκεια της πρωτεΐνης S κατηγοριοποιείται σε τρεις τύπους, με βάση τα αντιγονικά επίπεδα, τη λειτουργικότητα και την ελεύθερη μορφή της πρωτεΐνης.

Κλινικά, η έλλειψη της πρωτεΐνης S προκαλεί παρόμοια εικόνα με αυτή της ανεπάρκειας της πρωτεΐνης C. Η ετερόζυγη μορφή της πρωτεΐνης S μπορεί να προκαλέσει θρομβωτικά επεισόδια μετά την ηλικία των 18 ετών. Όταν συνυπάρχει με την ομόζυγη μορφή ή άλλη γενετική θρομβοφιλική ανωμαλία, μπορεί να οδηγήσει σε νεογνική πορφύρα. [52] [53] [54] [55]

A7.7 Επίκτητη Θρομβοφιλία

Η επίκτητη θρομβοφιλία είναι συχνότερη από την κληρονομική μορφή και συνήθως χαρακτηρίζεται από υποτροπιάζουσες θρομβωτικές καταστάσεις που είναι δύσκολα αποκαταστάσιμες, θέτοντας τη ζωή του ασθενούς σε υψηλό κίνδυνο και αυξάνοντας τη θνησιμότητα. Ορισμένες περιπτώσεις επίκτητης θρομβοφιλίας περιλαμβάνουν το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, αιματολογικές κακοήθειες, νεοπλάσματα, καταστάσεις μετά από χειρουργική επέμβαση, κατά τη διάρκεια της κύησης και λοχείας, παροξυσμική αιμοσφαιρινουρία, καθώς και τη χρήση αντισυλληπτικών και ορμονικών σκευασμάτων.

Σύμφωνα με τις σύγχρονες πρακτικές, η διάγνωση της θρομβοφιλίας πραγματοποιείται συχνότερα, ιδιαίτερα σε ασθενείς με εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση (ΕΦΘ), σε άτομα που παρουσιάζουν θρομβωτικά επεισόδια και σε όσους έχουν σχετικό ιστορικό. [56] [57]

A7.8 Παράγοντας V Leiden

Η πιο συχνή κληρονομική διαταραχή που οδηγεί σε φλεβοθρόμβωση (VTE) είναι η μετάλλαξη Leiden (FVL). Περίπου 5% των ατόμων με Ευρωπαϊκή καταγωγή είναι FVL ετεροζυγώτες. Η FVL μετάλλαξη αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης VTE ελαττώνοντας την ευαισθησία του παράγοντα Va στην APC προκαλούμενη αδρανοποίηση και διαταράσσοντας τη δραστηριότητα του παράγοντα V ως APC-συμπαράγοντα στην απενεργοποίηση του παράγοντα VIIIa. Όλα τα παραπάνω οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή θρομβίνης. Η αντίσταση στην APC μπορεί να διαπιστωθεί με ειδικές εξετάσεις σχηματισμού θρόμβου, στις οποίες η προσθήκη APC δεν αναστέλλει την παραγωγή θρομβίνης.

Περίπου το ¼ των ασθενών με ένα επεισόδιο VTE είναι FVL ετεροζυγώτες και το ποσοστό αυτό αυξάνει έως 60% στους ασθενείς με υποτροπιάζουσες VTE ή οικογενειακό ιστορικό VTE.

Η FVL ετεροζυγωτία συνεπάγεται με 7 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης VTE. Ωστόσο, στην ηλικία των 50 ετών, μόνο το 25% των ατόμων με FVL ετεροζυγωτία εμφάνισαν VTE σε σύγκριση με τα πολύ μεγαλύτερα ποσοστά που παρατηρούνται σε άλλες κληρονομικές θρομβοφιλίες.

Ο κίνδυνος ανάπτυξης VTE αυξάνει πολύ σε άτομα με FVL εάν συνυπάρχουν και άλλοι επίκτητοι παράγοντες κινδύνου πχ. Ακίνητοποίηση, κύηση ή λήψη αντισυλληπτικών.

Η μετάλλαξη G20210A της προθρομβίνης φαίνεται να έχει συνεργική δράση με την FVL ενώ η μετάλλαξη MTHFR όχι. Οι FVL ομοζυγώτες έχουν 20-80 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης VTE. Σπάνια αναπτύσσεται αντίσταση στην APC χωρίς την παρουσία FVL μετάλλαξης. [58] [59] [60]

A7.9 Προθρομβίνη G20210A

Η μετάλλαξη αυτή, που σχετίζεται με κληρονομική θρομβοφιλία της προθρομβίνης εντοπίζεται στην 3'-αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου της προθρομβίνης. Αυτή η μετάλλαξη οδηγεί σε υψηλότερα επίπεδα προθρομβίνης από τα φυσιολογικά και διπλασιάζει τον κίνδυνο ανάπτυξης εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης (VTE). Ενδεικτικά, περίπου το 3% του πληθυσμού Ευρωπαϊκής καταγωγής και μόνο το 15% των ασθενών με VTE είναι ετεροζυγώτες για αυτή τη μετάλλαξη.

Οι ομοζυγώτες για τη μετάλλαξη αυτή είναι σπάνιοι, αλλά θεωρείται ότι έχουν δεκαπλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης VTE. Παρόλο που δεν έχει πλήρως καθοριστεί ο τρόπος με τον οποίο η μετάλλαξη της προθρομβίνης επηρεάζει το σχηματισμό θρόμβου, φαίνεται ότι οι αλλαγές στην πολυαδενυλίωση του mRNA της προθρομβίνης κατά τη διαδικασία της μεταγραφής ενδέχεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο. [61] [62] [63]

A8. Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο

Το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ), γνωστό επίσης ως εγκεφαλικό, αποτελεί μια σοβαρή ιατρική κατάσταση που συμβαίνει όταν διαταράσσεται η ροή του αίματος στον εγκέφαλο. Αυτή η διακοπή της παροχής αίματος μπορεί να προκληθεί είτε από απόφραξη αγγείου (ισχαιμικό ΑΕΕ) είτε από ρήξη αιμοφόρου αγγείου (αιμορραγικό ΑΕΕ). Ο εγκέφαλος, στερούμενος επαρκούς οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών, υφίσταται βλάβη, η οποία μπορεί να είναι μόνιμη αν δεν αντιμετωπιστεί άμεσα και αποτελεί τη δεύτερη πιο κοινή αιτία θανάτου στον κόσμο, και την κυριότερη μορφή επίκτητης αναπηρίας σε ενήλικες στις αναπτυγμένες χώρες [64].

Ο εγκέφαλος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος σε βλάβες που σχετίζονται με την αιματική κυκλοφορία, παρά το γεγονός ότι τα αιμοφόρα αγγεία του διαθέτουν εξειδικευμένα ανατομικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά, σχεδιασμένα για να τον προστατεύουν από προβλήματα κυκλοφορίας του αίματος. Όταν αυτοί οι μηχανισμοί αποτυγχάνουν, το αποτέλεσμα είναι ένα αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ) [64].

A8.1 Τύποι Αγγειακού Εγκεφαλικού

Όλα τα κριτήρια είναι περιεκτικά και καλύπτουν διάφορους τύπους εγκεφαλοαγγειακής νόσου, περιλαμβάνοντας ισχαιμικά επεισόδια από αρτηριακή και φλεβική προέλευση, καθώς και αιμορραγικούς τραυματισμούς. Λαμβάνονται υπόψη και οι νόσοι μικρών και μεγάλων αγγείων, οι εμβολές, οι αγγειοπάθειες, καθώς και οι καταστάσεις υποαιμάτωσης [65].

Το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο αποτελεί το πιο κοινό εγκεφαλικό με περίπου το 85% των περιπτώσεων. Είναι ένα οξύ εστιακό νευρολογικό έλλειμμα και προκαλείται από μια αγγειακή θρόμβωση, με απότομη εκδήλωση και με συμπτώματα που έχουν διάρκεια πάνω από 24 ώρες. Η εγκεφαλική ισχαιμία προκύπτει από την απόφραξη της αιματικής ροής σε μια συγκεκριμένη περιοχή του εγκεφάλου, με εξαίρεση τις περιπτώσεις γενικής κυκλοφορικής ανεπάρκειας, όπως είναι η καρδιακή ανακοπή ή η συστηματική υπόταση [66].

Με βάση την ταξινόμηση κατά Oxfordshire Community Stroke Project (OCSP), οι υπότυποι του εγκεφαλικού εμφράκτου περιλαμβάνουν:

- **Ολικό έμφρακτο πρόσθιας κυκλοφορίας (ΟΕΠΚ):** Η εμβολή από την καρδιά ή κάποια εγγύς αρτηρία είναι το πιο συχνό αίτιο, που προκαλεί απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας. Αυτό οδηγεί σε κινητικό ή αισθητικό έλλειμμα και δυσλειτουργία των φλοιικών κέντρων.
- **Μερικό έμφρακτο πρόσθιας αρτηρίας:** Αναφέρεται σε έμφρακτο μικρότερης διαμέτρου από αυτό του ΟΕΚΠ, με κοινή αιτία την αρτηριακή απόφραξη. Αυτό το έμφρακτο προκαλεί περιορισμένα κινητικά και αισθητικά ελλείμματα.
- **Κεντοπιώδες έμφρακτο:** Συνήθως προκαλείται από μικρού μεγέθους εν τω βάθει έμφρακτο λόγω αγγειοπάθειας των μικρών αγγείων. Η πρόγνωση είναι σχετικά καλή σε σύγκριση με τα προηγούμενα δύο είδη. Αυτός ο τύπος έμφρακτου οδηγεί σε αταξική ημιπάρεση και αμιγή κινητική ημιπάρεση.

Αντίθετα με το ισχαιμικό, το παροδικό ισχαιμικό διαρκεί λιγότερο από ένα 24ωρο και συνήθως συνοδεύεται από πλήρη κλινική αποκατάσταση. Προκαλείται από εστιακή υποαιμάτωση μέσα στον εγκέφαλο [66].

Το αιμορραγικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ) είναι μια σοβαρή μορφή εγκεφαλικού επεισοδίου που προκαλείται από ρήξη αιμοφόρου αγγείου στον εγκέφαλο, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση αίματος στους εγκεφαλικούς ιστούς. Το αίμα που διαρρέει, εκτός από το ότι διακόπτει την κανονική παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών σε περιοχές του εγκεφάλου, μπορεί να προκαλέσει περαιτέρω βλάβες μέσω της πίεσης που ασκεί στους γύρω ιστούς. Το αιμορραγικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι λιγότερο συχνό από το ισχαιμικό, αλλά συχνά έχει πιο σοβαρές συνέπειες [66].

Τα είδη του αιμορραγικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου είναι δύο: η ενδοεγκεφαλική αιμορραγία και η υπαραχνοειδής αιμορραγία. Η ενδοεγκεφαλική αιμορραγία αφορά την αιμορραγία εντός του εγκεφαλικού ιστού και οφείλεται κυρίως σε υψηλή αρτηριακή πίεση, τραύματα, αγγειοπάθεια από αμυλοειδές, όγκους ή χρήση αντιπηκτικών. Η υπαραχνοειδής αιμορραγία αφορά την αιμορραγία στον χώρο μεταξύ της επιφάνειας του εγκεφάλου και της αραχνοειδούς μεμβράνης, η οποία προκαλείται συνήθως από ρήξη ανευρύσματος ή τραύματα [67].

Τα αίτια του αιμορραγικού ΑΕΕ περιλαμβάνουν την αρτηριακή υπέρταση, τα ανευρύσματα, τις αρτηριοφλεβικές δυσπλασίες (AVM), την αμυλοειδή αγγειοπάθεια, τα τραύματα στο κεφάλι και τη χρήση φαρμάκων όπως αντιπηκτικά ή άλλες ουσίες που επηρεάζουν την αρτηριακή πίεση.

A8.2 Παράγοντες Κινδύνου

Οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την εμφάνιση του αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (ΑΕΕ) χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: μη τροποποιήσιμοι, τεκμηριωμένοι τροποποιήσιμοι και άλλοι πιθανοί παράγοντες κινδύνου [68].

1. Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν την ηλικία, το φύλο, το οικογενειακό ιστορικό και γενετικές διαταραχές [68].
2. Τεκμηριωμένοι τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν:

Κάπνισμα: Συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο ΑΕΕ.

Κατάχρηση ουσιών και αλκοόλ: Επηρεάζει αρνητικά την υγεία των αιμοφόρων αγγείων.

Σωματική αδράνεια: Έλλειψη φυσικής δραστηριότητας συμβάλλει στην ανάπτυξη παραγόντων κινδύνου.

Διατροφική πρόσληψη: Υψηλή χοληστερόλη και παχυσαρκία αυξάνουν τον κίνδυνο [69].

Αγγειακές παθήσεις: Κολπική μαρμαρυγή, υπερλιπιδαιμία, σακχαρώδης διαβήτης.

Διαταραχές του αίματος: Θρομβοφιλίες, πολυκυτταραιμία, δρεπανοκυτταρική αναιμία.

Άλλες καταστάσεις: Ινομυκτική δυσπλασία, αγγειίτιδες.

3. Άλλοι πιθανοί παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν διάφορες άλλες ασθένειες και καταστάσεις που ενδέχεται να σχετίζονται με τον κίνδυνο ΑΕΕ [67].

Οι υψηλοί παράγοντες κινδύνου για την πρόκληση εγκεφαλικού επεισοδίου (ΑΕΕ) εμφανίζονται με σημαντικά ποσοστά, όπως: Υψηλή συστολική αρτηριακή πίεση: Επηρεάζει το 56% των περιπτώσεων και παχυσαρκία: Συμβάλλει στο 24% των περιπτώσεων. [70]

Αν και η γνώση των παραγόντων κινδύνου είναι κατανοητή, η εφαρμογή αλλαγών στον τρόπο ζωής για τη μείωση αυτών των τροποποιήσιμων παραγόντων κινδύνου δεν είναι πάντα επαρκής. Υπάρχει ανάγκη για καλύτερη κατανόηση και στρατηγικές εφαρμογής που θα βοηθήσουν τα άτομα που διατρέχουν κίνδυνο να ενσωματώσουν αποτελεσματικές αλλαγές στη ζωή τους για την πρόληψη του ΑΕΕ. [69]

A8.3 Επιδημιολογία

Το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ) αποτελεί την κύρια αιτία αναπηρίας στους ενήλικες παγκοσμίως με το 40% των ασθενών περίπου, που υποφέρουν από εγκεφαλικό παρουσιάζουν μέτριες λειτουργικές βλάβες. Ετησίως σημειώνονται περίπου 12,2 εκατομμύρια νέα περιστατικά εγκεφαλικού, με ένα νέο περιστατικό να εμφανίζεται κατά μέσο όρο κάθε 3 δευτερόλεπτα. [70]

Άτομα ηλικίας άνω των 65 ετών, που υιοθετούν ανθυγιεινές συμπεριφορές και παρουσιάζουν μεταβολικές διαταραχές όπως υψηλή αρτηριακή πίεση, υψηλή γλυκόζη, μειωμένη νεφρική λειτουργία, παχυσαρκία και υψηλή χοληστερόλη, διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για εγκεφαλικό. Επιπλέον, συχνά προέρχονται από κατώτερες κοινωνικοοικονομικές ομάδες. Ωστόσο, το 2019 καταγράφηκε ότι το 63% των εγκεφαλικών επεισοδίων συνέβησαν σε άτομα νεότερα των 70 ετών, υποδεικνύοντας ότι το ΑΕΕ δεν περιορίζεται πλέον μόνο στους ηλικιωμένους. [70] [71]

Σύμφωνα με τα στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Εγκεφαλικού Επεισοδίου (World Stroke Organization, WSO) για το 2021, 6,5 εκατομμύρια άνθρωποι πεθαίνουν ετησίως από εγκεφαλικό επεισόδιο, με την πλειονότητα αυτών να είναι άνδρες (51%), αν και η διαφορά με το ποσοστό των γυναικών (49%) είναι μικρή. Το 34% αυτών των θανάτων αφορά άτομα κάτω των 70 ετών, ενώ ένα 6% ανήκει στην ηλικιακή ομάδα 15-49 ετών.

Επιπλέον, κάθε χρόνο συμβαίνουν πάνω από 7,6 εκατομμύρια νέα ισχαιμικά επεισόδια, που αντιπροσωπεύουν το 62% του συνόλου των επεισοδίων και από αυτά, τα 3,3 εκατομμύρια περιστατικά καταλήγουν σε θάνατο. Από ενδοκρανιακή αιμορραγία, περίπου 3,4 εκατομμύρια άνθρωποι πεθαίνουν, ποσοστό που αντιστοιχεί στο 28% των θανάτων ετησίως, ενώ από υπαραχνοειδή αιμορραγία καταγράφονται 373.000 θάνατοι.

A8.4 Κλινική Εικόνα ΑΕΕ

Τα δυσλειτουργικά σημεία που προκύπτουν μετά από ένα αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ) εξαρτώνται κυρίως από την περιοχή του εγκεφάλου που έχει πληγεί. Στα εμβολικά ισχαιμικά ΑΕΕ, η έναρξη είναι συνήθως αιφνίδια και συνδέεται με ανώδυνο νευρολογικό έλλειμμα. Αντίθετα, τα θρομβωτικά ΑΕΕ μπορεί να έχουν προοδευτική πορεία λόγω της διακύμανσης της εγκεφαλικής ισχαιμίας και της σταδιακής απόφραξης του αγγείου. [68]

Η κινητική δυσλειτουργία παρατηρείται πιο συχνά ως αποτέλεσμα του εγκεφαλικού επεισοδίου όπου επηρεάζει το 80% περίπου των ασθενών. Η κινητική δυσλειτουργία έχει ως χαρακτηριστικά συμπτώματα την αδυναμία του προσώπου αλλά και των άνω και κάτω

άκρων όμως στην μία πλευρά του σώματος, με την ένταση της δυσλειτουργίας να διαφέρει ανάλογα με την περίπτωση. [72]

Ο ανθρώπινος εγκέφαλος χωρίζεται σε τέσσερις κύριες περιοχές: το αριστερό (κυρίαρχο) ημισφαίριο, το δεξί (μη κυρίαρχο) ημισφαίριο, την παρεγκεφαλίδα και το στέλεχος. Αυτός ο διαχωρισμός βοηθά τους κλινικούς ιατρούς να προβλέψουν και να ερμηνεύσουν τα κλινικά συμπτώματα του εγκεφαλικού επεισοδίου, καθώς κάθε περιοχή ευθύνεται για συγκεκριμένες λειτουργίες. Έτσι, η βλάβη σε κάθε περιοχή προκαλεί τα αντίστοιχα κλινικά συμπτώματα. [72]

Για παράδειγμα, η βλάβη της έσω καρωτίδας μπορεί να οδηγήσει σε ετερόπλευρη τύφλωση και σε σύνδρομο που σχετίζεται με τη μέση εγκεφαλική αρτηρία. Η απόφραξη της μέσης ή πρόσθιας εγκεφαλικής αρτηρίας μπορεί να προκαλέσει ετερόπλευρη ημιπάρεση. Η απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας μπορεί επίσης να προκαλέσει ετερόπλευρη απώλεια της αισθητικότητας, αφασία και ομώνυμη ημιανοψία. Τέλος, η απόφραξη της πρόσθιας εγκεφαλικής αρτηρίας μπορεί να οδηγήσει σε αβουλία. [68]

Κατά την απόφραξη της σπονδυλικής αρτηρίας, παρατηρούνται συμπτώματα όπως ομόπλευρη απώλεια αισθητικότητας στο πρόσωπο, ημι-αταξία, νυσταγμός και ετερόπλευρη απώλεια της αίσθησης της θερμοκρασίας ή του πόνου. Στην περίπτωση απόφραξης της άνω παρεγκεφαλιδικής αρτηρίας, τα κύρια συμπτώματα περιλαμβάνουν αταξία βάδισης, ναυτία και ίλιγγο. Η απόφραξη της βασικής αρτηρίας, η οποία αποτελεί μια από τις συνηθέστερες εικόνες, προκαλεί τετραπάρεση, δυσαρθρία, διπλωπία, υπνηλία και αμνησία. Παρόμοια συμπτώματα παρουσιάζει και η βλάβη της οπίσθιας εγκεφαλικής αρτηρίας. Στις τρεις τελευταίες περιπτώσεις αποφραγμένων αγγείων, η δυσφαγία είναι επίσης ένα κοινό σύμπτωμα. [68]

Η ανάρρωση από ένα ΑΕΕ απαιτεί συνήθως μεγάλο χρονικό διάστημα, με σημαντική βελτίωση να παρατηρείται κυρίως κατά τους πρώτους μήνες της αποκατάστασης. Στους επόμενους 3 με 6 μήνες, η βελτίωση μπορεί να επιβραδυνθεί και η κατάσταση του ασθενούς να σταθεροποιηθεί. Παρ' όλα αυτά, τα πρώτα 1 με 2 χρόνια μετά το εγκεφαλικό επεισόδιο προσφέρουν ευκαιρίες για περαιτέρω ανάκαμψη. [73]

Η πλειονότητα των ασθενών που επιβιώνουν τον πρώτο μήνα μετά από ένα ΑΕΕ έχουν σημαντικές πιθανότητες να βελτιωθούν και να επανέλθουν σε πολλές από τις δραστηριότητες που συμμετείχαν προ του επεισοδίου. Περίπου το 50-60% αυτών θα καταφέρουν να γίνουν λειτουργικά ανεξάρτητοι, με επιφυλάξεις για τους ασθενείς που υπέστησαν εγκεφαλική απόφραξη ή ενδοκρανιακή αιμορραγία.

A8.5 Διάγνωση ΑΕΕ

Η ταχύτατη αναγνώριση και διάγνωση του αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου είναι κρίσιμη για την αποτελεσματική αντιμετώπισή του. Ο ακριβής προσδιορισμός της χρονικής στιγμής έναρξης των συμπτωμάτων και η λήψη ενός λεπτομερούς παθολογικού ιστορικού είναι ζωτικής σημασίας. Μετά από αυτό, είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθεί μια διεξοδική νευρολογική εξέταση και να γίνουν οι κατάλληλες απεικονιστικές εξετάσεις,

όπως η αξονική τομογραφία εγκεφάλου, προκειμένου να απεικονιστεί με ακρίβεια η βλάβη.

Η Αμερικανική Εταιρία Εγκεφαλικού (AHA/ASA) δίνει πρότυπα για δευτερογενείς γραμμές πρόληψης σε ασθενείς που έχουν υποστεί εγκεφαλικό επεισόδιο ή κάποιο άλλο καρδιοαγγειακό επεισόδιο. Οι κατευθυντήριες γραμμές για την πρωτογενή αγγειακή πρόληψη πρέπει επίσης να τηρούνται, καθώς δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να δικαιολογούν την εφαρμογή στρατηγικών δευτερογενούς πρόληψης σε ασθενείς μετά από εγκεφαλικό επεισόδιο. [65]

Είναι σημαντικό να διακρίνεται το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο από άλλες ιατρικές καταστάσεις που μπορεί να εμφανίζουν άτυπα συμπτώματα, όπως εστιακές επιληπτικές κρίσεις, ημικρανική αύρα, συγκοπτικά ή ημισυγκοπτικά επεισόδια, περιφερειακές αγγειοπάθειες, υπογλυκαιμία, όγκοι εγκεφάλου, κακώσεις του νωτιαίου μυελού, και άλλες σωματόμορφες διαταραχές.

A9. Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο

A9.1 Ορισμός

Είναι μια επίκτητη προθρομβωτική διαταραχή. Το APS είναι μια πρωτοπαθής διαταραχή παρά την περιστασιακή συσχέτιση του αντιπηκτικού του λύκου ή των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα.

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα περιλαμβάνουν τα αντισώματα κατά της β2-γλυκοπρωτεΐνης I (αντίβ2GP-I), τα αντισώματα καρδιολιπίνης (ACL IgG, ACL IgM) και τα αντιπηκτικά τύπου Λύκου (LLA). Όλα αυτά τα αντισώματα αποτελούν μια μεγάλη ετερογενή οικογένεια ανοσοσφαιρινών που στοχεύουν φωσφολιπίδια ή πρωτεΐνες του πλάσματος που σχετίζονται με ανιονικά φωσφολιπίδια. Τα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα αποθηκεύουν τις περισσότερες αυτές πρωτεΐνες και εμπλέκονται στη διαδικασία της πήξης.

Οι εκδηλώσεις του APS σχετίζονται με υπερπηκτικότητα όπως επαναλαμβανόμενες φλεβικές ή αρτηριακές θρομβώσεις. Η θρομβοπενία προκαλείται από καταστροφή των αιμοπεταλίων στη μικροκυκλοφορία και οι αποβολές σχετίζονται με ανεπάρκεια της αγγείωσης του πλακούντα. Επίσης υπάρχουν και άλλες κλινικές εκδηλώσεις όπως αιμολυτική αναιμία, θρομβοπενία, δερματικά έλκη, βαλβιδοπάθεια και νεφροπάθεια. [74]

A9.2 Ιστορική Αναδρομή

Η προέλευση του Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου χρονολογείται στις αρχές του 20ού αιώνα με την ταυτοποίηση του αντισώματος Wasserman, το οποίο δεσμεύει την φωσφολιπιδική καρδιολιπίνη και χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της παρουσίας *Treponema pallidum*.

Το 1940 μια επιστημονική ομάδα εντόπισε το αντίσωμα στη συνέχεια σε ασθενείς που δεν είχαν σύφιλη, προκαλώντας ψευδώς θετική ορολογική εξέταση για σύφιλη BFP-STs, αλλά έπασχαν από ερυθματώδη λύκη ή από άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Στη δεκαετία του 1950,

το BFP-STC συνδέθηκε με έναν μη ειδικό αναστολέα της πήξης όπου οι αιματολόγοι ονόμασαν μετέπειτα το 1972 αντιπηκτικό του λύκου (LA). Η παρουσία του LA ενώ δεν μείωνε κανέναν παράγοντα, ούτε συνοδευόταν από αιμορραγική διάθεση προκαλούσε παράταση του χρόνου της πήξης και του χρόνου θρομβίνης. Ενώ στην αρχή νόμιζαν πως το LA προκαλούσε αιμορραγικές εκδηλώσεις, αργότερα τα αντισώματα του LA συσχετίστηκαν με το ΣΕΛ από τον A. Mc Gee Harvey παρουσιάζοντας θρομβοεμβολικά επεισόδια και όχι αιμορραγία. [75]

Την πλήρη εικόνα του συνδρόμου περιέγραψε για πρώτη φορά ο Dr Hughes και η ομάδα του το 1983-1986 και ο όρος αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο τέθηκε το 1985. Το 1983 με δοκιμές ELISA ανίχνευσαν αντισώματα αντικαρδιολιπίνης (aCL) και ακολούθησαν αναφορές που περιγράφουν μια μεγάλη ποικιλία κλινικών εκδηλώσεων που σχετίζονται με τις αντικαρδιολιπίνες που τώρα ονομάζονται APS.

Την δεκαετία του 1990 κατανόησαν ότι τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα συνδέονται κυρίως με την κυκλοφορούσα πρωτεΐνη του πλάσματος, την b2-γλυκοπρωτεΐνη 1 (b2GPI) όταν συνδέεται με φωσφολιπίδια παρά με τα ίδια τα φωσφολιπίδια.

Από το 1984 και κάθε διετία έπειτα, πραγματοποιείται διεθνές συμπόσιο για το APS. Στο 8^ο διεθνές συμπόσιο για το APS το 1998 στο Supporo της Ιαπωνίας οι 56 ερευνητές που συγκροτούσαν το συμπόσιο καθόρισαν τα κριτήρια για τον ορισμό του APS.

A9.3 Ταξινόμηση APS

Το πρωτοπαθές APS είναι αυτό στο οποίο η κλινική εικόνα απουσιάζει ή δεν εμφανίζονται εργαστηριακά ευρήματα ούτε υπάρχει συσχέτιση με ρευματολογική ή αυτοάνοση νόσο. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν:

- Άσηπτη ενδοκαρδίτιδα με εμβολή
- Υποτροπιάζουσες αυτόματες αποβολές
- Αρτηριακή θρομβοεμβολική νόσος, κυρίως ως θρομβωτικό εγκεφαλικό επεισόδιο.
- Φλεβική θρομβοεμβολική νόσος

Το δευτεροπαθές APS μπορεί να συνυπάρχει με τον συστηματικό ερυθηματώδη λύκο καθώς και με διάφορες άλλες αυτοάνοσες διαταραχές όπως η συστηματική σκλήρυνση, σύνδρομο Sjogren, σύνδρομο Behcet, κροταφική αρτηρίτιδα, ψωριασική αρθρίτιδα, άλλα νοσήματα όπως αγγειίτιδες ή μυοσίτιδες, κακοήθειες, φάρμακα ή λοιμώξεις.

Στο δευτεροπαθές APS οι ασθενείς παρουσιάζουν κλινικές εικόνες όπως θρομβωτικά επεισόδια, θρομβοπενία και παράταση του χρόνου πήξεως. Ορισμένες κλινικές εκδηλώσεις όπως εμβολές στο δέρμα, στο νευρικό σύστημα, στα σπλάχνα, ισχαιμία των δακτύλων, γάγγραινα, εν τω βαθεί θρόμβωση ή αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο AEE μπορούν επίσης να εμφανιστούν.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα:

- ΣΕΛ
- ΡΑ
- Συστηματική Σκλήρυνση
- Σύνδρομο Behcet.

Τέλος, σε σπάνιες περιπτώσεις εμφανίζεται το καταστροφικό APS το οποίο έχει δραματική κλινική εικόνα και ποσοστό θνησιμότητας έως και 50%. Η κλινική του εικόνα περιλαμβάνει οξεία θρόμβωση σε αρκετά όργανα (συνήθως πάνω από 3) καθώς και την ανεπάρκεια τους. [76]

A9.4 Παθοφυσιολογία APS

Για την ανίχνευση του APS οι πιο γνωστοί υπότυποι που χρησιμοποιούνται είναι τα a-CL, τα anti-b2GP και τα LA. Το LA δρα με την μεσολάβηση του b2-GP και της προθρομβίνης. Τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα εξαρτώνται μόνο από την δράση της b2-GP. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα πήραν το όνομα τους από τις πρώτες έρευνες που διεξάχθηκαν και έδειξαν ότι τα αντισώματα αυτά στρέφονται εναντίων των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης.

Οι ειδικοί ανακάλυψαν ότι τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα στρέφονται έναντι των πρωτεϊνών του πλάσματος που συνδέονται με αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες φωσφολιπιδίων. Αυτά τα φωσφολιπίδια βρίσκονται σε διάφορα κυτταρικά στοιχεία, όπως ενδοθηλιακά κύτταρα, μονοκύτταρα, τροφοβλάστες και ίνοβλάστες. Ο κύριος αντιγονικός στόχος των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων είναι η β2-γλυκοπρωτεΐνη I. Επιπλέον, άλλα πρωτεϊνικά στόχοι των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων περιλαμβάνουν την προθρομβίνη, την αννεξίνη V, τις πρωτεΐνες C και S, τα χαμηλού και υψηλού βάρους κνινογόνα, τον ιστικό ενεργοποιητή του συμπληρώματος και τον παράγοντα von Willebrand, μεταξύ άλλων. Αυτές οι πρωτεΐνες συμμετέχουν σε κρίσιμους μηχανισμούς της πήξης του αίματος και της ρύθμισης της θρόμβωσής, και η αλληλεπίδρασή τους με τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένο κίνδυνο για θρομβωτικά επεισόδια.

Όλες αυτές οι πρωτεΐνες περιλαμβάνουν τμήματα στο μόριο τους τα οποία δεσμεύουν τα φωσφολιπίδια όπως είναι η καρδιολιπίνη, φωσφατιδυλοσερίνη κ.α. Η anti-b2GPI ενεργοποιεί τα μονοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα με αποτέλεσμα να εκφράζουν στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων μόρια προσκόλλησης: VCAM-1, ICAM-1, E-σελεκτινή, τα οποία προκαλούν αύξηση της παραγωγής του ιστικού παράγοντα.

Η γλυκοπρωτεΐνη libIIa και η θρομβοξάνη A2 εκφράζονται σε αυξημένα ποσά λόγω των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Έτσι διαταράσσουν την ισορροπία της θρομβοξαζάνης-προστακυκλίνης όπου ευνοεί την θρόμβωση. Η πρωτεϊνική κινάση (p38MAPK), ο πυρηνικός παράγοντας kB (NfκB) και το συμπλήρωμα παίρνουν μέρος στην διαδικασία αυτή. [77]

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα επηρεάζουν τη βιολογία των κυττάρων και τη λειτουργία των αγγείων με πολλούς τρόπους. Έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούν την έκφραση σημαντικών γονιδίων που σχετίζονται με φλεγμονώδεις μεσολαβητές, παράγοντες πήξης, μόρια προσκόλλησης και ενεργοποιητές λευκοκυττάρων. Αυτές οι μεταβολές συμβάλλουν στην πρόκληση προπηκτικών, αθηρωματικών και προφλεγμονωδών αλλοιώσεων στα αγγεία.

Όταν τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα ενεργοποιούν αιμοπετάλια, ενδοθηλιακά κύτταρα και μονοκύτταρα, προκαλούν μια προπηκτική κατάσταση μέσω της αύξησης της θρομβοξάνης A2 και του ιστικού παράγοντα. Αυτό οδηγεί σε θρόμβωση, καθώς ενεργοποιείται το σύστημα συμπληρώματος *in vivo*. Επίσης, η αλληλεπίδραση αυτών των αντισωμάτων με παράγοντες πήξης όπως η πρωτεΐνη C, η πρωτεΐνη S, η προθρομβίνη και η πλασμίνη εμποδίζει την ινωδόλυση, ενισχύοντας περαιτέρω τη θρομβωτική κατάσταση.

Οι μηχανισμοί οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τις αγγειακές θρομβώσεις και για τις αυτόματες αποβολές στους ασθενείς με αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο δεν είναι γνωστοί, όμως γνωρίζουμε πως τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα επηρεάζουν τον καταρράκτη της πήξης. Αναστέλλουν την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C και την αντιθρομβίνη III, αναστέλλουν την ινωδόλυση και αυξάνουν την δράση του ιστικού παράγοντα TF. [76] [78]

A9.5 Επίδραση Αντιφωσφολιπιδικών Αντισωμάτων στον καταρράκτη της πήξης

Η B2 Γλυκοπρωτεΐνη I είναι ένας ανατολέας της πήξης όπου συνδέεται με τα θετικά φορτισμένα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης και εφόσον συνδεθεί, εμποδίζει την σύνδεση άλλων παραγόντων της πήξης το οποίο έχει ως αποτέλεσμα να αναστείλει τον καταρράκτη. Με την παρουσία των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων παρεμποδίζεται ο ρόλος της καθώς στρέφονται εναντίον της. Η κατανόηση του ρόλου του B2GPI και άλλων πρωτεϊνών που δεσμεύουν τα φωσφολιπίδια έχει οδηγήσει σε μεγαλύτερη σαφήνεια σχετικά με τους πολλαπλούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στις χαρακτηριστικές εκδηλώσεις αυτού του συνδρόμου. [79]

Η Αννεξίνη V είναι μια πλακουντιακή πρωτεΐνη, γνωστή επίσης ως αγγειακό αντιπηκτικό. Απομονώνεται κυρίως από τα αγγεία και τον πλακούντα. Η δράση της είναι ισχυρή αντιπηκτική εξαιτίας της μεγάλης συγγένειας της με τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια (PL) και της ιδιότητας της να απομακρύνει τους παράγοντες πήξης από τις φωσφολιπιδικές επιφάνειες. Δημιουργεί ένα προστατευτικό κέλυφος πάνω από τα φωσφολιπίδια, καθιστώντας τους παράγοντες πήξης μη διαθέσιμους για τις αντιδράσεις πήξης.

Η Αννεξίνη V εντοπίζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στον πλακούντα και στα κύτταρα των μικρολαχνών της συγκυτιοτροφοβλάστης. Διαθέτει θρομβορυθμιστική δράση τόσο στον πλακούντα όσο και στο ενδοθήλιο των αιμοφόρων αγγείων. Ο κύριος ρόλος της είναι να εμποδίζει τη σύνδεση των συμπλεγμάτων παραγόντων πήξης, αναστέλλοντας έτσι τη διαδικασία της πήξης.

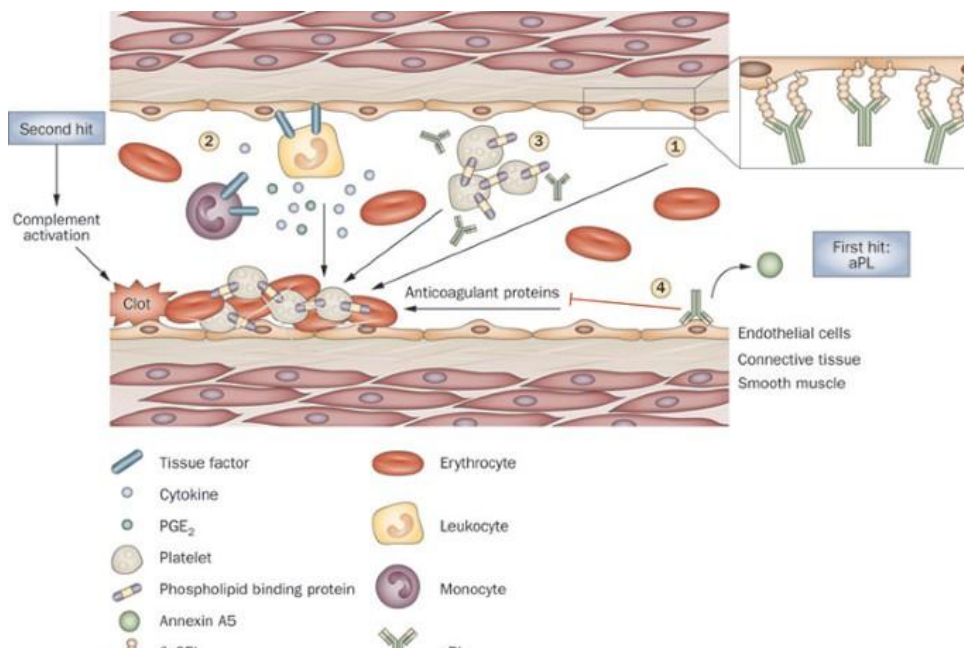
Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα επηρεάζουν τη δράση της Αννεξίνης V εμποδίζοντας την από το να σχηματίσει συμπλέγματα με τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης. Ως αποτέλεσμα, πολλά αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια παραμένουν ελεύθερα, γεγονός που ενισχύει τον σχηματισμό συμπλεγμάτων με παράγοντες πήξης. Αυτό οδηγεί σε θρόμβωση. [80][81]

Ο αντιπηκτικός φαινότυπος του ενδοθηλίου μπορεί να μεταβληθεί σε προπηκτικό και προφλεγμονώδη από την επίδραση των αντισωμάτων που έχουν στα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η αλληλεπίδραση αυτή ξεκινάει πολλές αντιδράσεις όπως για παράδειγμα την έκφραση μορίων προσκόλλησης (E - σελεκτίνη, κυτταροκίνες IL-1, -6, -8), του ιστικού παράγοντα TF στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα μονοκύτταρα.

Ο ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου (t-PA) είναι ένας σημαντικός παράγοντας που συμμετέχει στην ινωδόλυση, την διαδικασία με την οποία διαλύονται οι θρόμβοι αίματος. Παράγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και εκκρίνεται στο αίμα, ενώ η σύνδεσή του με το ινώδες το καθιστά πιο δραστικό. Τα αντισώματα κατά του t-PA που παρατηρούνται στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο εμποδίζουν τη δράση του, προκαλώντας υπερπηκτικές καταστάσεις και ενισχύοντας τη θρόμβωση.

Ο ενδοθηλιακός υποδοχέας της πρωτεΐνης C (EPCR) εντοπίζεται στην κυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων. Κύριος του ρόλος είναι να συνδέεται με φωσφολιπίδια και να υποδέχεται την πρωτεΐνη C, η οποία έχει αντιπηκτική δράση. Ο EPCR εντοπίζεται κυρίως σε μεγάλα αγγεία και αρτηρίες. Έρευνες έχουν δείξει ότι η καταστροφή του EPCR σε ποντίκια έχει ως αποτέλεσμα θρόμβωση στον πλακούντα και ενδομήτριο θάνατο, επισημαίνοντας τη σημασία του στη διατήρηση της κύησης. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα πιθανόν στρέφονται εναντίον του EPCR και σχετίζονται με τις θρομβώσεις και τις αυτόματες αποβολές.

Σχετικά με τα αιμοπετάλια, τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα συνδέονται με τη γλυκοπρωτεΐνη GPIIb ή τον παράγοντα PF4 στην επιφάνειά τους. Αυτή η σύνδεση προκαλεί την απελευθέρωση θρομβοξάνης και PF4, την αύξηση της έκφρασης της GPIIb-IIIa και την ενεργοποίηση της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων. Αυτές οι διαδικασίες οδηγούν στο σχηματισμό θρόμβων και στη διαταραχή της φυσιολογικής αιμόστασης [82].



Εικόνα 4 Παθολογικοί μηχανισμοί πήξης με επίδραση των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL)

Εικόνα 4: 1) Το aPL αλληλεπιδρά με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, κυρίως μέσω της δέσμευσης της β2GPI στην κυτταρική επιφάνεια και επάγει ένα προπηκτικό και προφλεγμονώδες ενδοθηλιακό φαινότυπο. 2) Το aPL αυξάνει την έκφραση ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στο αίμα τα μονοκύτταρα και προάγουν την προσκόλληση των ενδοθηλιακών λευκοκυττάρων, την έκκριση κυτοκίνης και τη σύνθεση PGE2. 3) Τα aPL αναγνωρίζουν πρωτεΐνες που δεσμεύουν φωσφολιπίδια και εκφράζονται στα αιμοπετάλια -

η δέσμευση aPL ενισχύει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων που προκαλείται από άλλο αγωνιστή. 4) Το aPL παρεμβαίνει στα συστατικά του πλάσματος του καταρράκτη πήξης, αναστέλλοντας την αντιπηκτική δραστηριότητα, επηρεάζοντας ινωδόλυση και με μετατόπιση της δέσμευσης της φυσικής αντιπηκτικής αννεξίνης A5 σε ανιονικές δομές. Αυτοί οι μηχανισμοί όλοι συμβάλλουν σε μια προπηκτική κατάσταση που είναι απαραίτητη αλλά όχι επαρκής για την πήξη. Ο σχηματισμός θρόμβου φαίνεται να απαιτεί δύο βήματα: η παρουσία του aPL παρέχει το «πρώτο χτύπημα», το οποίο προκαλεί πήξη όταν συνοδεύεται από άλλη προπηκτική κατάσταση, «δεύτερο χτύπημα». Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος φαίνεται να είναι απαραίτητη για τον σχηματισμό θρόμβου in vivo.

A9.6 B2 Γλυκοπρωτεΐνη (B2-GPI)

Αυτή η πρωτεΐνη έχει μάζα 50 kDa και αποτελείται από 326 αμινοξέα. Η συγκέντρωσή της στο πλάσμα υπολογίζεται σε 200 mg/ml και λειτουργεί ως φυσικός αναστολέας της πήξης. Συντίθεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα κύτταρα του πλακούντα, στο κεντρικό νευρικό σύστημα, αλλά κυρίως στο ήπαρ. Η δομή της περιλαμβάνει πέντε μικρές αλληλουχίες, γνωστές ως domains, οι οποίες δημιουργούν μια τρισδιάστατη μορφή. Οι τέσσερις από αυτές (I, II, III, IV) έχουν παρόμοια διάταξη και περιέχουν επιτόπους για την πρόσδεση των αντισωμάτων. Αντίθετα, η περιοχή V περιλαμβάνει θετικά φορτισμένα λυσίνες, οι οποίες διευκολύνουν την αλληλεπίδραση με τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια. [83]

Οι περιοχές I-IV της β2-GPI αποτελούνται από κοινές αναδιπλώσεις, που παρέχουν τη βασική δομή και τη λειτουργική εστίαση της πρωτεΐνης. Η περιοχή V διαθέτει μια εσοχή, η οποία περιλαμβάνει έξι αμινοξέα και ένα Ο-τελικό τμήμα με 19 αμινοξέα. Συνδυασμένα, αυτά τα στοιχεία δημιουργούν μια θετικά φορτισμένη περιοχή που έχει μήκος περίπου 2000 Å. Σε αυτήν την περιοχή βρίσκεται μια εύκαμπτη υδρόφοβη αγκύλη (Ser311-Lys317) που εισχωρεί στην φωσφολιπιδική μεμβράνη, επιτρέποντας την σύνδεση της β2-GPI με τη μεμβράνη. Τα domains III και IV της β2-GPI είναι γλυκοζυλιωμένα και προστατεύονται από αλληλεπίδραση με άλλες πρωτεΐνες. Από την άλλη πλευρά, τα τμήματα I και II περιλαμβάνουν θέσεις σύνδεσης για τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, με τα περισσότερα αντισώματα να συνδέονται στην περιοχή I.

Μια μετάλλαξη στο domain I της β2-GPI μπορεί να αλλάξει την ικανότητα σύνδεσης με τα αντιβ2-GPI αντισώματα, επηρεάζοντας αρνητικά τη σύνδεση τους. Ειδικότερα, το τμήμα I της β2-GPI, που αποτελείται από τα αμινοξέα Gly40-Arg43, μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό διμερών ή πενταμερών συμπλεγμάτων της β2-GPI. Αυτή η συνδεσιμότητα μπορεί να αυξήσει τη συγγένεια με τα αντιβ2-GPI αντισώματα και να προκαλέσει ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Η ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων οδηγεί σε μεγαλύτερη έκφραση μορίων προσκόλλησης, αύξηση του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος, και έκκριση κυτταροκινών σε μεγαλύτερες ποσότητες, συντελώντας στην προδιάθεση για θρόμβωση και άλλες σχετικές παθολογίες.

Αποτέλεσμα όλων των παραπάνω είναι να δημιουργηθεί μια προφλεγμονώδης κατάσταση και προπηκτικές συνθήκες για το ενδοθήλιο [84].

A9.7 Καρδιολιπίνες

Η καρδιολιπίνη είναι ένα ανιονικό φωσφολιπίδιο που περιέχει τέσσερα ακόρεστα λιπαρά οξέα και βρίσκεται κυρίως στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη της καρδιάς. Τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (ACL IgG και IgM) εντοπίζονται συχνά σε ασθενείς με Ερυθματώδη Λύκο, καθώς και σε περιπτώσεις φλεβικών και αρτηριακών θρομβώσεων, επαναλαμβανόμενων αυτόματων αποβολών (ΕΑΑ) και θρομβοκυτταροπενίας. Στο δευτεροπαθές αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, τα επίπεδα των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων αυξάνονται, και αυτά τα αντισώματα εμφανίζονται παράλληλα με τον Ερυθματώδη Λύκο.

Η διαγνωστική αξία των ACL IgG είναι υψηλότερη από αυτή των IgM, ιδιαίτερα όταν συνδυάζονται με την κλινική εικόνα του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου. Επίσης, παρατηρείται αύξηση των επιπέδων των ACL IgA στον Ερυθματώδη Λύκο, γεγονός που σχετίζεται με αγγειακές επιπλοκές στους ασθενείς.

Ο κλινικός ιατρός ερμηνεύει τα αποτελέσματα των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων, λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό, την κλινική εικόνα του ασθενούς και τα εργαστηριακά αποτελέσματα. Σε περιπτώσεις υποψίας θετικών αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων και αρνητικού τίτλου αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων, είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός του αντιπηκτικού του λύκου.

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα θεωρούνται θετικά όταν τουλάχιστον μία από τις δύο αναλύσεις έχει θετικό αποτέλεσμα. Υπάρχει συνύπαρξη του Αντιπηκτικού του Λύκου με τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα στο 70% των ασθενών με αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, ενώ οι τιμές για το Αντιπηκτικό του Λύκου και τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα παρατηρούνται ξεχωριστά σε 20-40% και 45% αντίστοιχα. Τέλος, θετικά ACL IgG μπορεί να εμφανίζουν περίπου 40% οροθετικοί ασθενείς στη σύφιλη. [85]

A9.8 Τα αντιπηκτικά τύπου λύκου

Τα Αντιπηκτικά τύπου Λύκου (LA) είναι αντισώματα που στοχεύουν σε φωσφολιπίδια και δρουν ως αναστολείς της πήξης, εξαιτίας της εξάρτησής τους από τα φωσφολιπίδια. Για την ανίχνευσή του, απαιτούνται ευαίσθητες δοκιμασίες πήξης. Στην πράξη, η ανίχνευση του LA περιλαμβάνει δύο βασικές διαδικασίες: την εξέταση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) και τη δοκιμασία με το αραιό δηλητήριο οχιάς Russell (d RVVT).

Η μέτρηση του LA απαιτεί ειδική προετοιμασία του δείγματος, περιλαμβάνοντας διπλή φυγοκέντρηση για την απομάκρυνση των αιμοπεταλίων, τα οποία είναι πηγή φωσφολιπιδίων και ενδέχεται να επηρεάσουν τα αποτελέσματα. Η αντιπηκτική θεραπεία μπορεί να προκαλέσει παράταση του χρόνου πήξης, γι' αυτό η μέτρηση του LA συνιστάται να γίνεται είτε μετά τη διακοπή της αντιπηκτικής θεραπείας είτε πριν την έναρξή της. Επίσης, είναι σημαντικό να αποφεύγεται η συλλογή δειγμάτων κατά την κορύφωση του θρομβωτικού επεισοδίου, καθώς τα υψηλά επίπεδα του παράγοντα VIII που παρατηρούνται τότε μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα της δοκιμασίας LA. [86]

Η σωστή προετοιμασία και εκτέλεση των εξετάσεων είναι κρίσιμη για την ακριβή διάγνωση και την αποφυγή ψευδών θετικών ή ψευδών αρνητικών αποτελεσμάτων στον προσδιορισμό του Αντιπηκτικού του Λύκου.

Όταν βγει θετικό ένα αποτέλεσμα LA επιβεβαιώνεται πάντα με δοκιμασία ELISA αντισωμάτων καρδιολιπινών και αντι-β2 γλυκοπρωτεΐνης I. Αν τα επίπεδα της ανίχνευσης είναι μεγάλα τότε επιβεβαιώνεται το αποτέλεσμα και είναι θετικό στο LA. [87]

A9.9 Ταξινόμηση APS Sapporo - Sydney

Πρώτη φορά το 1998 καθιερώθηκαν τα κριτήρια ταξινόμησης του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου και ονομάστηκαν ως κριτήρια Sapporo. Στην συνέχεια το 2004 αυτά έγιναν γνωστά ως κριτήρια Sydney. Με τα κριτήρια αυτά μπορούμε εύκολα να διαγνώσουμε το σύνδρομο και να το ταξινομήσουμε.

Η ταξινόμηση Sapporo κατατάσσει τα κριτήρια σε δύο κατηγορίες: κλινικά και εργαστηριακά. Παρά την υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα των κριτηρίων, παρατηρείται υψηλή συχνότητα εμφάνισης τους σε ασθενείς με Ερυθρηματώδη Λύκο, καθώς και σε ηλικιωμένους που παρουσιάζουν θρομβοεμβολικά επεισόδια. Σύμφωνα με τα κριτήρια, απαιτείται τουλάχιστον ένα κλινικό και ένα εργαστηριακό κριτήριο για τη διάγνωση του APS.

Τα κλινικά κριτήρια είναι τα εξής:

Αγγειακή Θρόμβωση:

- Αρτηριακή ή φλεβική θρόμβωση σε μεγάλα ή μικρά αγγεία σε οποιοδήποτε ιστό ή όργανο. Συνήθως οι θρομβώσεις είναι επαναλαμβανόμενες.
- Τα ευρήματα θα πρέπει να επιβεβαιώνονται με ιστολογικές εξετάσεις.

Νοσηρότητα Εγκυμοσύνης:

- Ένας ή περισσότεροι θάνατοι εμβρύων με φυσιολογική μορφολογία η οποία έχει επιβεβαιωθεί με υπερηχογράφημα κατά την 10^η εβδομάδα κύησης.
- Ένας ή περισσότεροι πρόωροι τοκετοί πριν την 34^η εβδομάδα κύησης, όπου το έμβρυο έχει φυσιολογική μορφολογία και παρατηρείται πλακουντιακή ανεπάρκεια ή εκλαμψία.
- Τρεις ή περισσότερες αποβολές πριν από την 10^η εβδομάδα κύησης, χωρίς παρουσία χρωμοσωμικών ανωμαλιών ή ανατομικών/ορμονικών ανωμαλιών που οφείλονται στη μητέρα [87] [88].

Τα εργαστηριακά κριτήρια είναι τα εξής:

- Παρουσία του αντιπηκτικού τύπου λύκου (LA): Απαιτούνται δύο μετρήσεις οι οποίες έχουν χρονικό διάστημα τουλάχιστον 12 εβδομάδες μεταξύ τους.
- Παρουσία αντισωμάτων αντικαρδιολιπίνης (ACL): Αντισώματα του ισότυπου IgG ή και IgM σε μεσαίο ή υψηλό τίτλο (>40 ή και >90). Οι μετρήσεις και πάλι θα πρέπει να απέχουν τουλάχιστον 12 εβδομάδες μεταξύ τους.
- Παρουσία αντισωμάτων κατά της B2 γλυκοπρωτεΐνης I του ισότυπου IgG ή και IgM με χρονικό διάστημα 12 εβδομάδων μεταξύ των μετρήσεων [87].

Εάν παρέλθει διάστημα λιγότερο από 12 εβδομάδες και περισσότερο από 5 έτη μεταξύ των θετικών εργαστηριακών κριτηρίων και της κλινικής εικόνας του ασθενούς, τότε το περιστατικό δεν θα πρέπει να ταξινομείται στο APS. [89]

A9.10 Δοκιμασίες Διάγνωσης APS

Δύο δοκιμασίες εκτελούνται για την διάγνωση του συνδρόμου:

1. Δοκιμασίες πήξης όπου σχετίζονται με την LAC και κατά πόσο επηρεάζει τον χρόνο πήξης.
2. Δοκιμασία ELISA για την ανίχνευση αντισωμάτων καρδιολιπίνης IgG ή και IgM ή και B2 γλυκοπρωτεΐνη I.

Ανάλογα με τα εργαστηριακά ευρήματα οι ασθενείς ταξινομούνται σε:

1. Θετικό Αντιπηκτικό του Λύκου.
2. Θετικά αντισώματα αντικαρδιολιπίνης IgG ή και IgM.
3. Θετικά αντι - B2 γλυκοπρωτεΐνη IgG ή και IgM.
4. Συνδυασμός δύο ή περισσότερων εργαστηριακών ευρημάτων θετικά [87].

A9.11 Διαφορές ανάμεσα σε Sapporo και Sydney

Υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα κριτήρια Sapporo και Sydney όσον αφορά τη διάγνωση και την κλινική εικόνα του APS.

Αρχικά, ως προς την ποσοτικοποίηση των τίτλων των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων (ACL), τα κριτήρια Sapporo καθορίζουν συγκεκριμένες τιμές για τη διάγνωση του APS, ενώ τα κριτήρια Sydney απαιτούν διαφορετική ποσοτικοποίηση των τίτλων, γεγονός που επηρεάζει τη διάγνωση.

Επιπλέον, υπάρχει διαφορά στην ένταξη της B2 γλυκοπρωτεΐνης I ως ανεξάρτητου εργαστηριακού κριτηρίου. Στα κριτήρια Sapporo, η μέτρηση αυτή δεν περιλαμβάνεται, ενώ στα κριτήρια Sydney θεωρείται ανεξάρτητο εργαστηριακό κριτήριο.

Η ενσωμάτωσή του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου και της παροδικής εγκεφαλικής ισχαιμίας στην κλινική εικόνα διαφέρει επίσης. Τα κριτήρια Sapporo αναγνωρίζουν αυτά τα επεισόδια ως μέρος της κλινικής εικόνας, ενώ τα κριτήρια Sydney έχουν διαφορετική προσέγγιση.

Τέλος, όσον αφορά την επανάληψη των εργαστηριακών μετρήσεων, τα κριτήρια Sapporo απαιτούν επανάληψη μετά από 6 εβδομάδες, ενώ τα κριτήρια Sydney ζητούν επανάληψη μετά από 12 εβδομάδες.

Οι παραπάνω διαφορές αντικατοπτρίζουν την εξέλιξη στη κατανόηση του APS και τη σημασία της λεπτομερούς αξιολόγησης των κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων για τη διάγνωση. Αυτή η διάκριση μπορεί να έχει κλινικές επιπτώσεις, καθώς μπορεί να επηρεάσει τη θεραπευτική προσέγγιση και την παρακολούθηση των ασθενών [90] [91].

A9.12 Κλινικές Εκδηλώσεις

Οι κλινικές εκδηλώσεις του Αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου ποικίλλουν, με τα συμπτώματα να σχετίζονται στενά με τη φύση των θρομβωτικών επεισοδίων που προκαλούνται από την παρουσία των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων. Η απλή παρουσία αυτών των αντισωμάτων δεν επαρκεί για να προκαλέσει θρόμβωση· χρειάζεται η συνύπαρξη με κλινικά συμπτώματα για την εκδήλωση ενός θρομβωτικού επεισοδίου. Τα πιο συχνά κλινικά συμπτώματα του Αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου σε περιπτώσεις θρομβωτικών επεισοδίων περιλαμβάνουν:

Τα θρομβωτικά επεισόδια είναι το πιο συχνό σύμπτωμα του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου. Μπορεί να προσβάλει μεγάλα και μικρά αγγεία σε ιστούς ή όργανα. Οι φλεβικές επιπλοκές είναι συχνό φαινόμενο με παραδείγματα όπως η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση η οποία εντοπίζεται στο 55% των ασθενών και οδηγούνται συνήθως σε πνευμονική εμβολή επειδή τμήμα του θρόμβου εκτοπίζεται και προκαλεί απόφραξη της πνευμονικής αρτηρίας. Η θρομβοφλεβίτιδα επίσης εντοπίζεται ως θρομβωτικό επεισόδιο στο ΑΣΦ. Επίσης υπάρχουν και αρτηριακές επιπλοκές οι οποίες είναι το ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ), το παροδικό (ΑΕΕ), άλλες αρτηριακές θρομβώσεις άνω και κάτω άκρων καθώς και το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (ΟΕΜ).

Το μαιευτικό ΑΦΣ προσβάλλει γυναίκες που βρίσκονται στην αναπαραγωγική ηλικία και παρουσιάζουν μαιευτικές επιπλοκές όπως είναι η απώλεια του εμβρύου μετά το πέρας της 12^{ης} εβδομάδας της κύησης ή πρόωρο τοκετό εξαιτίας κάποιας πλακουντιακής ανεπάρκειας ή εκλαμψίας. Οι μαιευτικές επιπλοκές αυτές δημιουργούνται επειδή ο πλακούντας δεν μπορεί να αιματωθεί σωστά λόγω της παρουσίας θρόμβων. Ο ρόλος των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στο μαιευτικό ΑΦΣ είναι να αλληλεπιδρούν με την αννεξίνη V την τροφοβλάστη έτσι ώστε να χάνεται η αντιπηκτική δράση της. Μπορούν επίσης να μειώσουν και την έκκριση ορμονών από την τροφοβλάστη με αποτέλεσμα να υπάρξει πλακουντιακή ανεπάρκεια και άρα αυτόματες αποβολές [92].

Τέλος, το καταστροφικό αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (ΑΦΣ) εντοπίζεται σπάνια στους ασθενείς και σχετίζεται με υψηλή θνησιμότητα, που φτάνει το 50%. Η κλινική εικόνα που εμφανίζει είναι απειλητική για την ζωή καθώς προσβάλλει μεγάλα αγγεία, προκαλώντας πολλαπλές θρομβώσεις σε όργανα και συστήματα όπως τα νεφρά, το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), την καρδιά, τους πνεύμονες και το δέρμα [93].

A9.13 Κλινικές εκδηλώσεις εκτός των κριτηρίων

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο εκδηλώνει μια ποικιλία κλινικών συμπτωμάτων που συχνά συνδυάζονται με θρομβώσεις και επιπλοκές στην κύηση, αλλά υπάρχουν και περιπτώσεις όπου οι θρομβώσεις δεν είναι παρούσες. Αυτές οι εκδηλώσεις μπορούν να παρατηρηθούν σε διάφορα όργανα και συστήματα του σώματος, επηρεάζοντας κυρίως το κεντρικό νευρικό σύστημα, το καρδιαγγειακό σύστημα και το νεφρικό σύστημα.

Στο κεντρικό νευρικό σύστημα, εκτός από τις βασικές φλεβικές και αρτηριακές θρομβώσεις, παρατηρούνται και νευρολογικές εκδηλώσεις. Η πιο συχνή νευρολογική εκδήλωση είναι η ημικρανία ή η κεφαλαλγία, που εμφανίζεται στο 25% των περιπτώσεων, ακολουθούμενη από επιληψία στο 14%.

Στις καρδιολογικές διαταραχές, οι βαλβιδοπάθειες είναι οι πιο συχνές, με ποσοστό 14,3%. Άλλες σημαντικές καρδιολογικές επιπλοκές περιλαμβάνουν τη στηθάγχη (2,7%) και την πνευμονική υπέρταση (2,2%).

Οι δερματικές εκδηλώσεις του συνδρόμου περιλαμβάνουν τη δικτυωτή πελίωση, που παρατηρείται στο 24,1% των ασθενών, έλκη (5,5%) και γάγγραινα δακτύλων (3,3%).

Από αιματολογικής πλευράς, η θρομβοπενία είναι ένα από τα πιο συχνά εργαστηριακά ευρήματα, παρατηρήθηκε στο 29,6% των ασθενών. Επιπλέον, παρατηρείται αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (9,7%) και λευκοπενία.

Τέλος, υπάρχουν και άλλες διαταραχές που σχετίζονται με το σύνδρομο, όπως διαταραχές όρασης (5,4%), οστική νέκρωση (2,1%), απώλεια ακοής και ενδοκοιλιακές θρομβώσεις, περιλαμβάνοντας νεφρικές θρομβώσεις, ισχαιμία μεσεντερίου και σύνδρομο Addison [87] [94].

B. Πειραματική Διαδικασία

B1. Σκοπός

Η έρευνα έλαβε χώρα στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ κατά το χρονικό διάστημα 2022 έως 2024 όπου συλλέχθηκαν τα δεδομένα. Για την πραγματοποίηση της συγκεκριμένης εργασίας καταγράφηκαν αποτελέσματα αιματολογικών εξετάσεων από 150 ασθενείς που είχαν υποστεί ένα αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και εξετάστηκαν για θρομβοφιλία. Στα συγκεκριμένα άτομα πραγματοποιήθηκε screening test (PT, APTT, DD, FIB), μέτρηση των παραγόντων πήξεως όπως PrC, PrS, πλασμινογόνο, ομοκυστεΐνη, μεταλλάξεις γονιδίων όπως MTHRF και μετρήσεις για PTT-LA, TR-IL, TR-STAGO, ACA IgG/IgM και anti-B2 IgG/IgM. Η συλλογή των δειγμάτων και οι εργαστηριακές αναλύσεις έλαβαν χώρα στην αιμοδοσία και κέντρο αιμορροφιλικών ασθενών του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ.

Τα δείγματα που φθάνουν στο εργαστήριο αριθμούνται με βάση το πρωτόκολλο του εργαστηρίου και χρησιμοποιούνται διαφορετικοί αναλυτές για τις διάφορες εξετάσεις.

Έγινε στατιστική ανάλυση στα αποτελέσματα των εξετάσεων με σκοπό να εντοπιστεί κάποια συσχέτιση μεταξύ του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου και αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου καθώς και άλλων παραγόντων όπως είναι μερικές μεταλλάξεις που είναι γνωστό ότι σχετίζονται με την θρομβοφιλία αλλά ακόμη και την ηλικία και το φύλο των ασθενών.

B2. Υλικά και Μέθοδοι

Συσκευές και όργανα

- Φυγόκεντρος
- Αιματολογικός αναλυτής Siemens BCS XP
- Triturus
- ACL TOP 750^{cts}
- Siemens PFA 100
- TEG6s
- Star Max³

2.1 Χρόνος Προθρομβίνης (PT)

Για την μέτρηση του χρόνου προθρομβίνης χρησιμοποιείται το THROMBOREL® όπου είναι λυοφιλοποιημένο in vitro διαγνωστικό αντιδραστήριο θρομβοπλαστίνης που προέρχεται από ανθρώπινο πλακούντα. Αυτό το αντιδραστήριο χρησιμεύει για την διάγνωση ανωμαλιών της πήξης και ξεκινάει την πήξη μέσω της εξωγενούς και της κοινής οδού από τον χρόνο προθρομβίνης.

Η διαδικασία ξεκινάει όταν η πήξη πυροδοτείται από την επώαση του πλάσματος με την κατάλληλη ποσότητα θρομβοπλαστίνης και Ca⁺. Θα μετρηθεί ο χρόνος που απαιτείται για να σχηματιστεί ο θρόμβος ινώδους.

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου.

Για το αντιδραστήριο THROMBOREL® S πραγματοποιείται ανασύσταση με ποσότητα νερού όση αναγράφεται στην ετικέτα του αντιδραστηρίου. Αναδεύεται το φιαλίδιο 8-10 φορές και θερμαίνεται στους 37°C.

Διαδικασία

Η εξέταση του χρόνου προθρομβίνης γίνεται στον αυτόματο αναλυτή BCSXP από την SIEMENS και απαιτούνται συγκεκριμένα υλικά ελέγχου και βαθμονόμησης όπως το REFOPAT03 PTMulti-Calibrator, το οποίο χρησιμοποιείται για τη βαθμονόμηση των αποτελεσμάτων, καθώς και το REFORKL17 Standard plasma, που είναι φυσιολογικό πλάσμα και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του χρόνου αντίδρασης του φυσιολογικού πλάσματος σε εξετάσεις πήξης.

Τα υλικά ελέγχου ControlN και ControlP είναι απαραίτητα για την αξιολόγηση της ακρίβειας και της απόκλισης των αναλύσεων, τόσο στο φυσιολογικό εύρος τιμών (ControlN) όσο και στο παθολογικό εύρος τιμών (ControlP), για παραμέτρους όπως ο χρόνος προθρομβίνης (PT), ο ενεργοποιημένος μερικός χρόνος θρομβοπλαστίνης (APTT) και τα επίπεδα ινωδογόνου.

Οι αναμενόμενες τιμές για το ControlN και το ControlP παρέχονται σε πίνακες αποδιδόμενων τιμών ανά παρτίδα και μέθοδο, για να εξασφαλιστεί η ακρίβεια των αποτελεσμάτων.

2.2 Χρόνος Μερικής Θρομβοπλαστίνης (APTT)

Για τον προσδιορισμό του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης χρησιμοποιείται το ToPathromtin® SL το οποίο είναι ένα υγρό αντιδραστήριο που βασίζεται σε φυτικά φωσφολιπίδια, με σωματίδια διοξειδίου του πυριτίου για να ενεργοποιηθεί το πλάσμα.

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου.

Το αντιδραστήριο Pathromtin® SL όταν χρησιμοποιηθεί για πρώτη φορά χρειάζεται απαλές αναδεύσεις και χρησιμοποιείται σε θερμοκρασία δωματίου.

Χρησιμοποιείται ο αναλυτής BCSXP από την SIEMENS και τα υλικά που χρησιμοποιούνται είναι OQGS29 Pathromtin® SL 10× →5mL, OQGS35 Pathromtin® SL 20×→5mL, διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου (CaCl₂solution), πλάσμα ελέγχου N και πλάσμα ελέγχου P.

2.3 Ινωδογόνο

Για τον προσδιορισμό του ινωδογόνου χρησιμοποιείται το αντιδραστήριο Multifibren® U με την μέθοδο Clauss. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στο γεγονός ότι στο κιτρικό πλάσμα επέρχεται η πήξη με μεγάλη ποσότητα θρομβίνης και έτσι ο χρόνος της πήξης θα εξαρτάται από το περιεχόμενο του δείγματος σε ινωδογόνο.

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου.

Το αντιδραστήριο Multifibren® U χρειάζεται ανασύσταση με απεσταγμένο νερό σε ποσότητα η οποία αναγράφεται στην ετικέτα του αντιδραστήριου. Αφού γίνει η ανασύσταση, γίνεται ανάδευση και θερμαίνεται στους 37°C.

Για την διενέργεια της εξέτασης του ινωδογόνου με τον αυτόματο αναλυτή BCSXP από τη SIEMENS χρησιμοποιούνται τα εξής υλικά: OWZG19 Multifibren® U 10×→ 2mL, OWZG23 Multifibren® U 10×→ 5mL, εναιώρημα 39 καολίνης (kaolin) για fibrintimer, ControlN και ControlP και το κιτ του βαθμονομητή ινωδογόνου (fibrinogen calibrator), όπου η χρήση του είναι για τις καμπύλες αναφοράς του ινωδογόνου.

2.4 Δ-Διμερή (d-Dimers)

Για τον προσδιορισμό του D-Dimers χρησιμοποιείται το αντιδραστήριο INNOVANCE® D-Dimer το οποίο χρησιμεύει σε ανίχνευση καταστάσεων σχετικές με υπερπηκτικότητα.

Τα σωματίδια πολυστυρενίου τα οποία είναι ομοιοπολικά επικαλυμμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα, συσσωρεύονται κατά την ανάμειξη με δείγματα που φέρουν δ-διμερές. Ο επίτοπος για το μονοκλωνικό αντίσωμα εμφανίζεται δύο φορές και έτσι ένα αντίσωμα είναι επαρκές για να πυροδοτήσει μια αντίδραση συσσωμάτωσης, η οποία στη συνέχεια ανιχνεύεται θολοσιμετρικά από την αύξηση της θολερότητας.

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου. Επειδή χρειάζεται πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια θα επαναλάβουμε την φυγοκέντρωση για 10 λεπτά στις 1500 στροφές.

Η ανασύσταση των αντιδραστηρίων απαιτεί 4 mL απεσταγμένου νερού, γίνεται ανάδευση και αφήνεται το φιαλίδιο σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά μέχρι να χρησιμοποιηθεί. Όταν χρησιμοποιηθεί γίνεται και πάλι ελαφριά ανάδευση. Το Buffer Supplement Diluent είναι έτοιμο προς χρήση και δεν απαιτεί κάποια ενέργεια.

Για τη διενέργεια της εξέτασης των D-dimers με τον αυτόματο αναλυτή BCSXP της SIEMENS χρησιμοποιούνται τα εξής υλικά: OPBP03 INNOVANCE® D-Dimer Reagent 3×→4mL, INNOVANCE® D-Dimer Buffer 3×→5mL, INNOVANCE® D-Dimer Supplement 3×→2,6 mL, INNOVANCE® D-Dimer Diluent 3×→5mL, INNOVANCE® D-Dimer Calibrator 2×→1mL, INNOVANCED-Dimer Control 1 (5×→1mL) και Control 2 (5×→1 mL).

Τα αποτελέσματα για το INNOVANCE® D-Dimer δίνονται σε mg/LFEU.

2.5 PTT-LA

Η μέτρηση του PTT-LA βασίζεται στην μέτρηση του χρόνου επανασβεστοποίησης στο πλάσμα με την παρουσία κεφαλίνης. Όταν υπάρχει παρουσία αντιπηκτικών του λύκου στο πλάσμα τότε εμφανίζεται παράταση του χρόνου της πήξης. Το αντιδραστήριο της DIAGNOSTICA STAGO S.A.S. ενισχύει την παράταση του χρόνου πήξης λόγω του LA.

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου. Επειδή χρειάζεται πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια θα επαναλάβουμε την φυγοκέντρωση για 10 λεπτά στις 1500 στροφές.

Το PTT-LA περιέχει κεφαλίνη, παρασκευάζεται από εγκεφαλικούς ιστούς κουνελιού και σωματιδιακό ενεργοποιητή (πυρίτια) σε ρυθμισμένο μέσο (γλυκίνη), λυοφιλοποιημένο.

Το αντιδραστήριο του PTT-LA χρειάζεται ανασύσταση με 2ml απεσταγμένο νερό και έπειτα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για μισή ώρα. Έπειτα χρειάζεται ανάδευση.

Στους 37°C τοποθετείται 0,1 ml PTT-LA και 0,1 ml πλάσματος ασθενούς σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα. Γίνεται ανάδευση και επώαση για 3 λεπτά στους 37°C. Ξεκινώντας ένα χρονόμετρο προστέθηκε 0,1 mL 28 (0,025M) CaCl₂ στους 37°C. Τέλος σημειώθηκαν οι χρόνοι πήξης του φυσιολογικού πλάσματος και του πλάσματος που εξετάζεται.

Οι τιμές κυμαίνονται στο εύρος ± 2 τυπικές αποκλίσεις ($X + 2 SD$). Σε περίπτωση παράτασης του χρόνου PTT-LA θα πρέπει πρώτα να αποκλειστούν άλλες αιτίες για την παράταση πρώτα για να ερμηνευτεί ότι οφείλεται στο LA.

2.6 STACLOT DRVV SCREEN – STACLOT DRVV CONFIRM (ΜΕΘΟΛΟΣ STAGO)

Το αντιδραστήριο το οποίο είναι προϊόν της DIAGNOSTICA STAGO S.A.S. χρησιμοποιείται για ανίχνευση αντιπηκτικών του λύκου (LA) στο πλάσμα με τη δοκιμή αραιωμένου δηλητηρίου της οχιάς Russell.

Ο ρόλος του δηλητηρίου της οχιάς που περιέχεται στα αντιδραστήρια STA-Staciot dRVV Screen και STA-Staclor dRVV Confirm με παρουσία ασβεστίου και φωσφολιπιδίων είναι να προάγει την ενεργοποίηση του ανενεργού παράγοντα X στον ενεργό Xa. Ο ενεργοποιημένος Xa θα ενώσει την προθρομβίνη στην θρομβίνη και έτσι το ινώδες θα μετατραπεί σε ινώδες ώστε να σχηματιστεί το πήγμα.

Ο ρόλος των φωσφολιπιδίων στο αντιδραστήριο είναι να προσδίδει μεγαλύτερη αύξηση της ευαισθησίας και της ειδικότητας στην εξέταση του αντιπηκτικού τύπου λύκου. Το dRVV confirm διαθέτει υψηλά επίπεδα φωσφολιπιδίων όπου σε συνδυασμό με το dRVV Screen βοηθούν στην εντόπιση των αντιπηκτικών του λύκου. Ενώ το dRVV Screen έχει χαμηλή συγκέντρωση φωσφολιπιδίων, το dRVV confirm έχει υψηλή συγκέντρωση τα οποία εξουδετερώνουν το LA που υπάρχει στο εξεταζόμενο πλάσμα.

Για την διενέργεια της εξέτασης με τον αυτόματο αναλυτή STA-R® απαιτούνται τα εξής υλικά: το αντιδραστήριο το οποίο περιέχει το δηλητήριο της οχιάς Russell, φωσφολιπίδια, ασβέστιο αναστολέα ηπαρίνης (UFH), αζίδιο του νατρίου και STA®- Control LA 1+2 : πλάσμα ελέγχου, LA αρνητικό και θετικά πλάσματα.

Το Staclor dRVV Screen και το STA-Staclor dRVV γίνονται ανασύσταση με 2 ml απεσταγμένου νερού και παραμένουν σε θερμοκρασία δωματίου για μισή ώρα και έπειτα αναδεύονται. Γίνεται η τοποθέτηση του νέου STA mini Reducer και εγκατάσταση στο διάτρητο καπάκι.

Τα πλάσματα των ασθενών χρησιμοποιήθηκαν σε αδιάλυτη μορφή. Τοποθετήθηκαν στο μηχάνημα. Ο έλεγχος ποιότητας είναι απαραίτητος να χρησιμοποιείται ώστε να διασφαλίζεται η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα και γίνεται με τα STA® Control LA 1+2 σε αδιάλυτη μορφή.

Το αποτέλεσμα του STA – Staciot Drvv Screen εκφράζεται ως αναλογία:

Screen ratio = εξαρτώμενο πλάσμα/ δεξαμενή αναφοράς

Όταν η αναλογία Screen του ασθενούς είναι μεγαλύτερη από 1,20 τότε το αποτέλεσμα δεν είναι φυσιολογικό και υπάρχει υποψία για LA.

Το αποτέλεσμα του STA – Staclot dRVV Confirm, εκφράζεται ως φυσιολογική αναλογία:

Confirm ratio = εξεταζόμενο πλάσμα/ δεξαμενή αναφοράς

Φυσιολογικό ratio = *Screen ratio* / *Confirm ratio*

Αν η φυσιολογική αναλογία είναι μεγαλύτερη ή ίση με 1,20 τότε επιβεβαιώνεται η παρουσία του αντιπηκτικού λύκου LA στο δείγμα. Για να επιβεβαιωθεί η παρουσία LA πρέπει να τηρηθούν οι συστάσεις της Επιστημονικής Επιτροπής και της Επιτροπής Τυποποίησης του LA. Εάν η αναλογία είναι μεγαλύτερη από 1,20 τότε γίνονται μελέτες ανάμειξης για να διαφοροποιηθεί η ανεπάρκεια του παράγοντα πήξης. Όταν η φυσιολογική αναλογία είναι υψηλότερη ή ίση με 1,20 η δοκιμή STA – Staclot dRVV Confirm επιβεβαιώνει την αντιφωσφολιπιδική φύση του αντιπηκτικού.

2.7 IL DRVVT Screen -IL DRVVT Confirm

Οι εξετάσεις dRVV Screen και dRVV Confirm της εταιρίας Hemosil είναι ποιοτικά in vitro διαγνωστικά προϊόντα που βοηθούν στην ανίχνευση αντιπηκτικών του λύκου σε ανθρώπινο κίτρινο πλάσμα με την μέθοδο αραιωμένου δηλητηρίου οχιάς στα συστήματα πήξης IL. Χρησιμοποιούνται σε ασθενείς που έχουν παρατεταμένη τιμή APTT και ως ολοκληρωμένο τεστ για την ανίχνευση του αντιπηκτικού λύκου.

Οι δοκιμές dRVV Screen και dRVV Confirm αποτελούν βελτιωμένα αντιδραστήρια για την ανίχνευση του αντιπηκτικού του λύκου (LA) και είναι σχεδιασμένες να απλοποιούν και να τυποποιούν τη διαδικασία σε κλινικές αξιολογήσεις. Το dRVV Screen είναι φτωχό σε φωσφολιπίδια, κάτι που το καθιστά ιδιαίτερα ευαίσθητο στην παρουσία του LA, επιμηκύνοντας τον χρόνο πήξης. Αντίθετα, το dRVV Confirm περιέχει αυξημένη ποσότητα φωσφολιπιδίων, η οποία εξουδετερώνει το LA, μειώνοντας έτσι τον χρόνο πήξης.

Η βασική αρχή αυτών των δοκιμών στηρίζεται στη χρήση του δηλητηρίου της οχιάς με την παρουσία ασβεστίου, που ενεργοποιεί άμεσα τον παράγοντα X, παρακάμπτοντας τους παράγοντες επαφής. Αυτό σημαίνει ότι οι δοκιμές δεν επηρεάζονται από ανωμαλίες στους παράγοντες επαφής, ούτε από ανεπάρκειες ή αναστολές των παραγόντων VII, VIII και IX.

Επιπλέον, η παρεμβολή της ηπαρίνης εξουδετερώνεται έως και 1 U/ml μέσω του πολυβρενίου, διασφαλίζοντας την ακρίβεια των αποτελεσμάτων ακόμα και παρουσία ηπαρίνης. Ως αποτέλεσμα το dRVV Screen και το dRVV Confirm είναι πιο συγκεκριμένες δοκιμές για την αξιολόγηση του LA από το APTT. Το dRVV Screen και το dRVV Confirm είναι ένα ολοκληρωμένο τεστ όπως αναφέρεται στην σύσταση της επιτροπής ISTH 2009 για την ανίχνευση Αντιπηκτικών Λύκου.

Κάθε ανάλυση dRVV Screen και dRVV Confirm αποτελείται από 10 φιαλίδια των 2 ml λυοφιλοποιημένου παρασκευάσματος που περιέχει δηλητήριο της οχιάς, από φωσφολιπίδια, ασβέστιο, πολυβρένιο, στεθεροποιητές, χρωστικές ουσίες, ρυθμιστικά διαλύματα και συντηρητικά. Πρόσθετα αντιδραστήρια είναι το καθαριστικό, ο LA θετικός και αρνητικός μάρτυρας.

Το περιεχόμενο κάθε φιαλιδίου διαλύεται με 2 ml απιονισμένου νερού και αναδεύεται. Το αντιδραστήριο μένει σε θερμοκρασία δωματίου για μισή ώρα και τοποθετείται σε αναποδογυρισμένη θέση μέχρι την χρήση του.

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου. Επειδή χρειάζεται πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια θα επαναλάβουμε την φυγοκέντρωση για 10 λεπτά στις 1500 στροφές.

Για τον υπολογισμό των αναλογιών dRVV Screen και dRVV Confirm σε κάθε νέα παρτίδα προσδιορίζεται ένα νέο κανονικό εύρος, ο προσδιορισμός της μέσης τιμής κάθε κανονικού εύρους σε δευτερόλεπτα, ο μέσος όρος του κανονικού εύρους χρησιμοποιείται ως σταθερός παρανομαστής στους υπολογισμούς των λόγων. Το αποτέλεσμα του δείγματος ασθενούς σε δευτερόλεπτα διαιρείται με την μέση τιμή του κανονικού εύρους της οθόνης DRVVT.

2.8 Μέτρηση B2 γλυκοπρωτεΐνης

Για την μέτρηση των αντισωμάτων IgG και IgM B2 γλυκοπρωτεΐνης πραγματοποιείται ενζυμική ανοσοδοκιμασία (ELISA). Τα αντισώματα των προτύπων, ο θετικός μάρτυρας και τα αραιωμένα δείγματα των ασθενών αντιδρούν με το B2-GP-1 το οποίο βρίσκεται στην στερεή φάση της πλάκας μικροτιτλοδότησης.

Πρώτα γίνεται επώαση για μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα γίνεται πλύση για να αφαιρεθούν τα μη δεσμευμένα αντισώματα. Τα δεσμευμένα αντισώματα αντέδρασαν με τα ειδικά αντιανθρώπινα IgG ή IgM εντός της περιόδου επώασης (μισή ώρα). Η υπερβολική σύζευξη διαχωρίστηκε από τα ανοσοσύμπλοκα στερεής φάσης με πλύση που πραγματοποιήθηκε.

Η οπτική πυκνότητα (OD) του διαλύματος στο 450nm είναι ευθέως ανάλογη με την ποσότητα των ειδικών αντισωμάτων που δεσμεύτηκαν. Η τυπική καμπύλη καθορίζεται με την γραμμική παράταση των συγκεντρώσεων αντισωμάτων των βαθμονομητών (άξονα χ) και των αντίστοιχων τιμών OD (άξονα ψ) που μετρήθηκαν.

Χρησιμοποιείται ορός για την συγκεκριμένη εξέταση αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί και πλάσμα. Το δείγμα αφού έρθει σε θερμοκρασία δωματίου πραγματοποιείται αραιώση 1/100.

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Παρασκευάστηκε επίσης επαρκής ποσότητα διαλύματος πλύσης. Στα πηγαδάκια τοποθετήθηκαν 100μl calibrators 1-4, 100μl μάρτυρες έναν θετικό και έναν αρνητικό και 100μl αραιωμένου ορού. Ακολούθησε επώαση για μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα πλύσεις με x3 διαλύματος πλύσης 300μl. Σε κάθε φρεάτιο τοποθετήθηκαν 100μl conjugate και έγινε πάλι επώαση μισής ώρας σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε πάλι πλύση με x3 διάλυμα πλύσης και έγινε προσθήκη 100μl υποστρώματος σε όλα τα φρεάτια. Επώαση 15 λεπτών απουσία φωτός σε θερμοκρασία δωματίου και τοποθέτηση 100μl διαλύματος τερματισμού σε όλα τα φρεάτια. Η μέτρηση γίνεται στα 450nm έναντι 620nm μισή ώρα αφού έχει γίνει η προσθήκη του διαλύματος τερματισμού.

2.9 Μέτρηση Καρδιολιπίνης

Η μέθοδος που περιγράφεται είναι μια ενζυμική ανοσοδοκιμασία ELISA, η οποία χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG και IgM έναντι της καρδιολιπίνης. Η διαδικασία βασίζεται στη δέσμευση των αντισωμάτων από τα δείγματα (πρότυπα, δείγματα ελέγχου και δείγματα ασθενών) με το σύμπλεγμα αντιγόνου καρδιολιπίνης και του συμπαραγόνα β2 GPI, το οποίο είναι ακινητοποιημένο σε μικροτιτλοδοτικές πλάκες (στερεή φάση).

Κατά τη διαδικασία, τα αντισώματα του δείγματος επωάζονται με το σύμπλεγμα αντιγόνου για 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά την επώαση, τα μη δεσμευμένα αντισώματα απομακρύνονται με πλύσεις. Τα δεσμευμένα αντισώματα αντιδρούν ειδικά με αντισώματα anti-human IgG ή anti-human IgM που είναι συζευγμένα με υπεροξειδάση αγριοραπανίδας (HRP) για μισή ώρα σε θερμοκρασία δωματίου.

Μετά από αυτή την αντίδραση, τα μη δεσμευμένα συζευγμένα αντισώματα απομακρύνονται με πλύσεις, ενώ η υπεροξειδάση που παραμένει μετατρέπει το υπόστρωμα TMB σε μπλε προϊόν. Η αντίδραση σταματά με την προσθήκη ενός όξινου διαλύματος, το οποίο αλλάζει το χρώμα του διαλύματος από μπλε σε κίτρινο.

Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας (OD) πραγματοποιείται στα 450 nm. Η οπτική πυκνότητα του δείγματος είναι ευθέως ανάλογη με την ποσότητα των δεσμευμένων αντισωμάτων. Η συγκέντρωση των αντισωμάτων στο δείγμα προσδιορίζεται μέσω της γραφικής παράστασης των γνωστών συγκεντρώσεων αντισωμάτων των βαθμονομητών (άξονας χ) και των αντίστοιχων τιμών OD (άξονας ψ), δημιουργώντας μια τυπική καμπύλη.

Πριν ξεκινήσει η διαδικασία όλα τα εξαρτήματα μένουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν γίνει η χρήση. Παράγεται επίσης αρκετή ποσότητα διαλύματος πλύσης.

Αρχικά πραγματοποιείται αραιώση στους εξεταζόμενους ορούς 1/100, έπειτα τοποθετούνται 100μl calibrators (0 προαιρετικά) 1-4 ποσοτικά ή 100μl calibrator 1 100μl μάρτυρες (αρνητικό και θετικό) 100μl αραιωμένο δείγμα ασθενών στα αντίστοιχα πηγαδάκια. Πραγματοποιείται επώαση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και ακολουθούν πλύσεις x3 με διάλυμα πλύσης 300μl. Γίνεται προσθήκη 100μl conjugate για κάθε φρεάτιο και επώαση για μισή ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα γίνεται πλύση με x3 διάλυμα και προσθέτονται 100μl υποστρώματος για κάθε φρεάτιο. Γίνεται επώαση 15 λεπτών απουσία φωτός και τοποθετούνται 100μl διαλύματος τερματισμού σε κάθε φρεάτιο. Η μέτρηση

γίνεται στα 450nm έναντι 620nm μισή ώρα αφού έχει γίνει η προσθήκη του διαλύματος τερματισμού.

2.10 Πρωτεΐνη S (PrS)

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου. Η φυγοκέντρηση επαναλαμβάνεται για 15 λεπτά στις 2000 στροφές στο υπερκείμενο πλάσμα που απομονώσαμε στην πρώτη φυγοκέντρηση.

Για το αντιδραστήριο 1 γίνεται ανασύσταση στα φιαλίδια του (που περιέχει ανθρώπινο λυοφιλοποιημένο πλάσμα χωρίς πρωτεΐνη S), καθώς γίνεται ανασύσταση και για το αντιδραστήριο 2 (που περιέχει λυοφιλιωμένη ενεργοποιημένη ανθρώπινη πρωτεΐνη C) και για το αντιδραστήριο 3 (λυοφιλιωμένο παρασκεύασμα από βόειο παράγοντα Va) με = ποσότητα 1 mL απιονισμένου νερού και αφήνεται να σταθεροποιηθεί για 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και ακολουθεί έπειτα ανάδευση πριν την χρήση.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της δραστηριότητας του συμπαραγόντα της πρωτεΐνης S ενισχύει την αντιπηκτική δράση της πρωτεΐνης C και προκαλεί παράταση του χρόνου πήξης σε ένα σύστημα πλούσιο σε παράγοντα Va, που αποτελεί φυσικό υπόστρωμα αυτού του αναστολέα.

Αφού έχει πραγματοποιηθεί βαθμονόμηση τους αναλυτή StarMax 3 της Stago με το STA® Unicalibrator τότε τα πλάσματα που θα εξεταστούν τοποθετούνται στον αναλυτή. Τοποθετούνται οι θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες και χρησιμοποιείται η συσκευασία STA® - System ControlN+P. Αφού ο αναλυτής κάνει αυτόματα τον προσδιορισμό της πρωτεΐνης S αν κάποιο δείγμα βγάλει αποτέλεσμα εκτός εύρους μέτρησης γίνεται αυτόματη αραίωση.

2.11 ΠρωτεΐνηS Ag Free (PrSAgFree)

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου. Επειδή χρειάζεται πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια θα επαναλάβουμε την φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 2500 στροφές.

Η περιγραφόμενη μέθοδος αφορά τον ποσοτικό προσδιορισμό της ελεύθερης πρωτεΐνης S στο πλάσμα μέσω του αυτοματοποιημένου αναλυτή, του StarMax 3 της Stago. Η μέθοδος βασίζεται σε μια ανοσολογική αντίδραση μεταξύ αντιγόνου (πρωτεΐνης S) και αντισώματος, η οποία προκαλεί αύξηση της θολερότητας λόγω συγκόλλησης των μικροσφαιριδίων Latex, στα οποία είναι προσκολλημένα μονοκλωνικά αντισώματα ειδικά για την πρωτεΐνη S.

Αρχικά, πραγματοποιείται βαθμονόμηση του αναλυτή με τα αντιδραστήρια της παρτίδας, διασφαλίζοντας έτσι την ακρίβεια και την αναπαραγωγικότητα των αποτελεσμάτων. Πριν την ανάλυση των δειγμάτων, επαληθεύεται η σωστή λειτουργία του συστήματος με τη χρήση θετικών (παθολογικών) και αρνητικών (φυσιολογικών) μαρτύρων.

Ο αναλυτής στη συνέχεια εκτελεί αυτόματα τον ποσοτικό προσδιορισμό της ελεύθερης πρωτεΐνης S σε κάθε δείγμα πλάσματος, με βάση τη θολερότητα που προκαλείται κατά τη

μέτρηση στα 540 nm. Σε περιπτώσεις που κάποιο δείγμα βρεθεί εκτός του εύρους μέτρησης, ο αναλυτής μπορεί να εκτελέσει αυτόματη αραιώση του δείγματος και να επαναλάβει τη μέτρηση, εφόσον αυτή η ρύθμιση έχει οριστεί.

Η διαδικασία είναι πλήρως αυτοματοποιημένη και επιτρέπει τον ακριβή και γρήγορο προσδιορισμό της ελεύθερης πρωτεΐνης S σε πολλαπλά δείγματα πλάσματος, αξιοποιώντας τη μέτρηση της θολερότητας που προκύπτει από τη συγκόλληση των μικροσφαιριδίων Latex με αντισώματα της πρωτεΐνης S.

2.12 Πρωτεΐνη C (PrC)

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου. Επειδή χρειάζεται πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια θα επαναλάβουμε την φυγοκέντρωση για 10 λεπτά στις 2500 στροφές.

Τα αντιδραστήρια 1 και 2 χρειάζονται ανασύσταση με 3 και 6 ml απιονισμένου νερού αντίστοιχα. Το αντιδραστήριο 1 χρειάζεται ανάδευση μετά την ανασύσταση ενώ το 2 όχι. Εφόσον μείνουν σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα τα αναδεύουμε ελαφρώς και τα τοποθετούμε σε νέο STA® - mini Reducer και το καψύλλιο.

Αρχικά, πραγματοποιείται βαθμονόμηση του αναλυτή Star Max 3 της Stago με τη χρήση του STA® Unicalibrator. Στη συνέχεια, τα δείγματα πλάσματος τοποθετούνται στον αναλυτή σε καθαρή μορφή και προγραμματίζεται η εξέταση για την πρωτεΐνη C. Για την εξασφάλιση της ακρίβειας και αναπαραγωγιμότητας των αποτελεσμάτων, χρησιμοποιούνται θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες, ενώ η συσκευασία STA® - System Control N+P τοποθετείται επίσης στον αναλυτή.

Ο αναλυτής εκτελεί αυτόματα τον ποσοτικό προσδιορισμό της πρωτεΐνης S στα πλάσματα κατά τη διαδοχική φόρτωση των δειγμάτων. Αν το αποτέλεσμα για κάποιο δείγμα βρεθεί εκτός του εύρους μέτρησης, το μηχάνημα εκτελεί αυτόματη αραιώση και επαναλαμβάνει τη μέτρηση, εφόσον έχει οριστεί αυτή η ρύθμιση. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της πρωτεΐνης C πραγματοποιείται επίσης αυτόματα από το μηχάνημα, μετρώντας στα 405 nm.

2.13 Αντιθρομβίνη III (ATIII)

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου. Επειδή χρειάζεται πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια θα επαναλάβουμε την φυγοκέντρωση για 10 λεπτά στις 2500 στροφές.

Για κάθε φιαλίδιο του αντιδραστηρίου 1 γίνεται ανασύσταση με απεσταγμένο νερό. Γίνεται ανάδευση του αντιδραστηρίου 3 και σταθεροποιείται σε θερμοκρασία δωματίου έπειτα γίνεται ομογενοποίηση και τοποθετείται σε ένα νέο STA® - mini Reducer. Στο αντιδραστήριο 2 γίνεται ανασύσταση κάθε φιαλιδίου με 3 ml απιονισμένου νερού στο καθένα και αφού σταθεροποιηθεί σε θερμοκρασία δωματίου ομογενοποιείται και τοποθετείται ένα νέο STA® - mini Reducer.

Αφού γίνει βαθμονόμηση στον αναλυτή Star Max 3 της STAGO με το STA® Unicalibrator, θα τοποθετηθούν τα πλάσματα και θα προγραμματιστεί η εξέταση. Θα χρησιμοποιηθούν

θετικοί και αρνητικοί μάρτηρες και STA® - System ControlN+P. Ο αναλυτής πραγματοποιεί αυτόματα τον ποσοτικό προσδιορισμό αντιθρομβίνης στα εξεταζόμενα πλάσματα, κατά την διαδοχική φόρτωση των δειγμάτων. Αν δείγμα βρεθεί εκτός του ορίου μέτρησης θα γίνει αυτόματη αραιώση από τον αναλυτή. Ο προσδιορισμός της αντιθρομβίνης στον αναλυτή γίνεται στα 405nm.

2.14 Πλασμινογόνο

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μπλε σωληνάριο που περιέχει κιτρικό νάτριο σε αναλογία 9 μέρη αίματος και 0,12 κιτρικού νατρίου και αφού φυγοκεντρηθεί για 15 λεπτά στις 1500 xg φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου. Επειδή χρειάζεται πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια θα επαναλάβουμε την φυγοκέντρωση για 10 λεπτά στις 2500 στροφές.

Για το αντιδραστήριο 1 και 2 κάνουμε ανασύσταση με 3 ml απιονισμένου νερού στο καθένα και περιμένουμε να σταθεροποιηθούν σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα και μετά γίνεται η ανάδευση.

Αφού γίνει βαθμονόμηση στον αναλυτή Star Max 3 της STAGO με το STA® Unicalibrator, θα τοποθετηθούν τα πλάσματα και θα προγραμματιστεί η εξέταση. Θα χρησιμοποιηθούν θετικοί και αρνητικοί μάρτηρες και STA® - System ControlN+P. Ο αναλυτής πραγματοποιεί αυτόματα τον ποσοτικό προσδιορισμό πλασμινογόνου στα εξεταζόμενα πλάσματα, κατά την διαδοχική φόρτωση των δειγμάτων. Αν δείγμα βρεθεί εκτός του ορίου μέτρησης θα γίνει αυτόματη αραιώση από τον αναλυτή. Ο προσδιορισμός του πλασμινογόνου στον αναλυτή γίνεται στα 405nm.

2.15 Ομοκυστεΐνη

Η αρχή μεθόδου ποσοτικού προσδιορισμού της ομοκυστεΐνης βασίζεται στην πολικότητα φθορισμού μέσω ανοσοανάλυσης (FPIA). Μετατρέπεται η δεσμευμένη HCY σε ελεύθερη και μετατρέπεται ενζυμικά σε s-αδενοσυλ-L-χομοκυστεΐνη (SAH), η τελευταία μεταβάλλεται σε ομοκυστεΐνη σε ομαλές συνθήκες.

Η συλλογή του δείγματος γίνεται σε μωβ σωληνάριο που περιέχει αντιπηκτικό φυλάσσεται σε πάγο. Ο ασθενής θα πρέπει να είναι νηστικός 12 ώρες πριν την αιμοληψία.

Το γεγονός ότι ένα αποτέλεσμα για την ομοκυστεΐνη μπορεί να βγει αρνητικό σημαίνει πως δεν ανιχνεύεται αλλά δεν σημαίνει πως δεν υπάρχουν άλλες αιτίες για την αύξηση της ομοκυστεΐνης όπως για παράδειγμα η στεφανιαία νόσος.

2.16 Μοριακός έλεγχος MTHFR

Η real time PCR (RT-PCR) είναι μια διαδικασία όπου στην οποία πολλαπλασιάζεται μια νουκλεοτιδική αλληλουχία με την μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) και καθώς πολλαπλασιάζεται ανιχνεύεται το προϊόν σε πραγματικό χρόνο και μικρό χρονικό διάστημα με χρήση φθορίζοντων χρωστικών που εισάγονται στην αλληλουχία.

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την RT-PCR είναι τα εξής: ξυλόλη και αιθανόλη, πιπέτες, εκκινητές DNA πολ, dNTPs, ταq πολυμεράση, αντιδραστήρια 20 rxns, MTHFR 1298 wildtype και mutant PCR βασικού μείγματος 430 μl και DNA control 20 μl.

Το πρωτόκολλο απομόνωσης του DNA ξεκινά με την προσθήκη πυκνής αιθανόλης στο διάλυμα, καθώς, παρουσία άλατος, το DNA μετατρέπεται σε υδρόφοβο. Το διάλυμα στη συνέχεια εφαρμόζεται σε στήλη από silica, όπου φυγοκεντρείται και το DNA προσδένεται στη στήλη. Οι πρωτεΐνες και τα κυτταρικά στοιχεία απομακρύνονται, ενώ εφαρμόζεται αραιή αιθανόλη για περαιτέρω καθαρισμό. Με φυγοκέντρηση, τα άλατα απομακρύνονται και το DNA μετατρέπεται ξανά σε υδρόφιλο. Στο επόμενο βήμα, προστίθεται αλκαλικό διάλυμα έκλουσης στη στήλη και με νέα φυγοκέντρηση το DNA αποδεσμεύεται από τη στήλη.

Σε δεύτερη φάση, το απομονωμένο DNA εισάγεται στον θερμικό κυκλοποιητή για την PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης). Η PCR περιλαμβάνει τρία επαναλαμβανόμενα στάδια:

1. Αποδιάταξη: Το εκμαγείο DNA αποδιάσσεται σε υψηλή θερμοκρασία (94-95°C) για περίπου 30 δευτερόλεπτα, διαχωρίζοντας τις δύο αλυσίδες του.
2. Υβριδισμός: Όταν η θερμοκρασία πέσει στους 55-65°C μπορούν οι εκκινητές να συνδεθούν με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA εκμαγείου για περίπου μισό λεπτό.
3. Επιμήκυνση: Η θερμοκρασία αυξάνεται στους 72°C, τη βέλτιστη θερμοκρασία για τη δράση της Taq πολυμεράσης. Η πολυμεράση εισάγει τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια στις συμπληρωματικές θέσεις, επιμηκώνοντας το DNA.

Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, το DNA φθορίζει όταν συνδέεται με φθορίζουσες ουσίες, με την ένταση του φθορισμού να είναι ανάλογη της ποσότητας του παραγόμενου προϊόντος. Ο φθορισμός μετριέται σε κάθε κύκλο και είναι ανάλογος με τον αριθμό των αλληλουχιών που παράγονται σε κάθε θερμοδυναμικό κύκλο.

Με τις ίδιες μοριακές μεθόδους που αναφέρθηκαν παραπάνω διεξήχθη η μέτρηση για το FVLEIDEN και το FIIG20210A.

1. Στατιστικός Έλεγχος – Συμπεράσματα

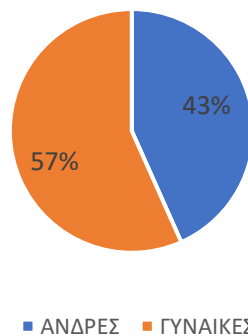
Στην έρευνα πήραν μέρος 150 ασθενείς. Παρακάτω παρατίθενται διαγράμματα στα οποία περιγράφεται ο πληθυσμός της έρευνας, οι ηλικίες της κάθε ομάδας και η μέση ηλικία των ασθενών που πήραν μέρος σε αυτήν.

ΦΥΛΟ	ΑΣΘΕΝΕΙΣ
ΑΝΔΡΕΣ	65
ΓΥΝΑΙΚΕΣ	85
ΣΥΝΟΛΟ	150

Πίνακας 1 Πληθυσμός Έρευνας

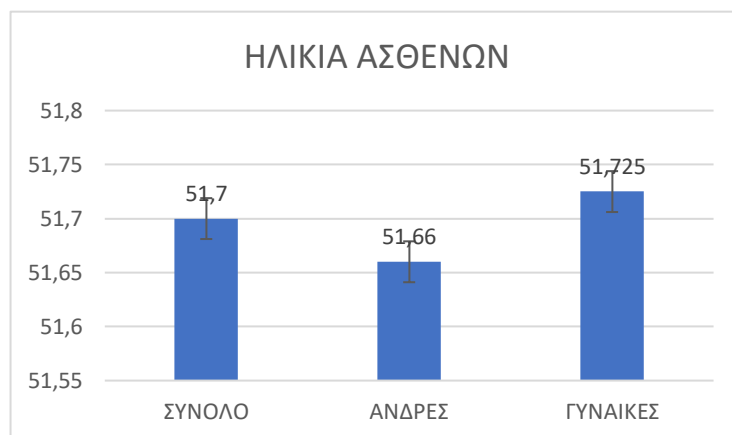
Ο παραπάνω πίνακας απεικονίζει ποσοτικά τον αριθμό του κάθε φύλου που πήραν μέρος στην έρευνα.

ΦΥΛΟ ΑΣΘΕΝΩΝ



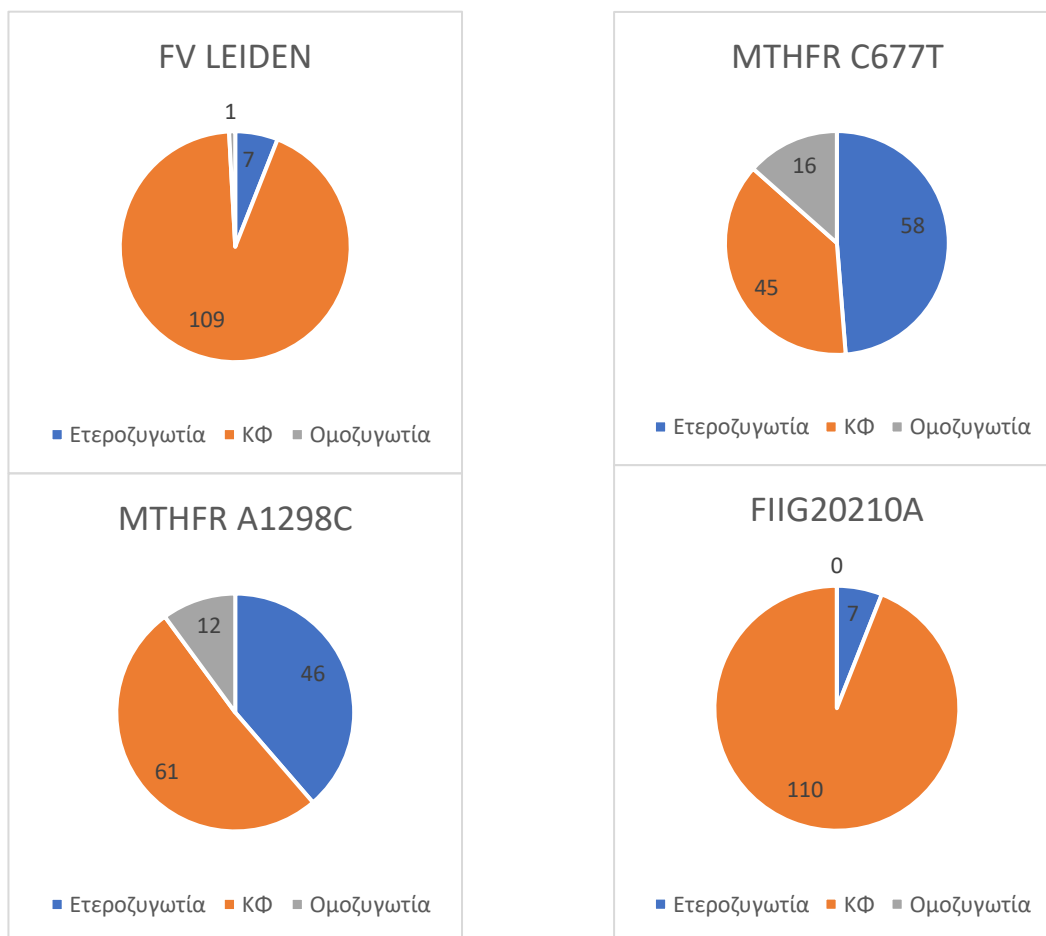
Εικόνα 5 Διάγραμμα πίτας με ποσοστά των δύο φύλων

Στην εικόνα 5 απεικονίζονται σε διάγραμμα πίτας τα ποσοστά των δύο φύλων που έλαβαν μέρος στην έρευνα.



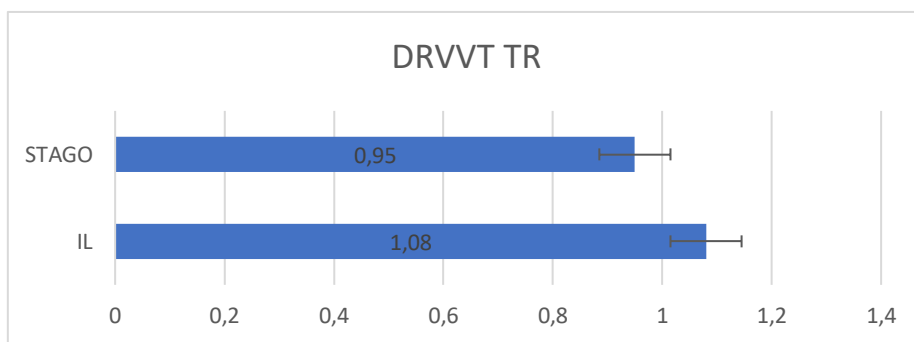
Εικόνα 6 Διάγραμμα μέσης ηλικίας ασθενών

Στην εικόνα 6 παρατηρείται η μέση τιμή ηλικίας των ασθενών η οποία ανέρχεται στα 51,7 έτη. Η μέση ηλικία στους άνδρες ανέρχεται στα 51,66 έτη ενώ στις γυναίκες 51,72 έτη.



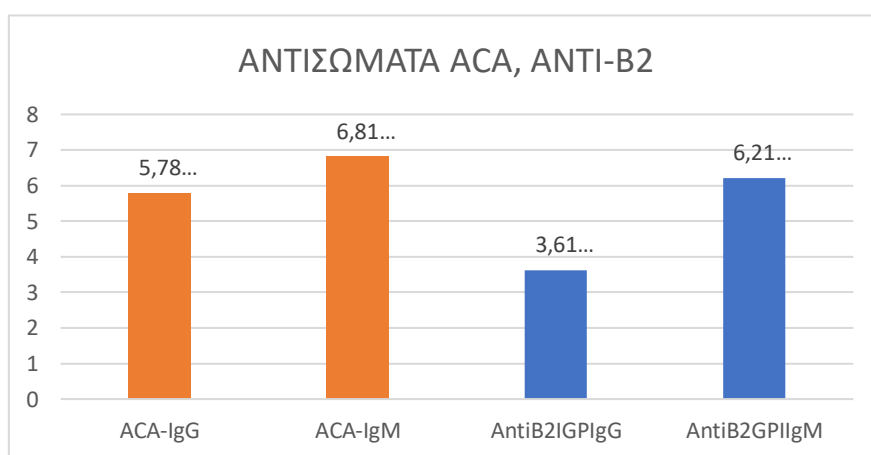
Εικόνα 7 Γραφήματα πίτας με ποσοτική απεικόνιση των μοριακών εξετάσεων

Στην εικόνα 5 φαίνονται ποσοτικά σε διαγράμματα πίτας οι ασθενείς που είναι ομόζυγοι, ετερόζυγοι ή δεν φέρουν καθόλου τα γονίδια. Για το γονίδιο FV Leiden από τους 117 ασθενείς που έχουν εξεταστεί μόνο 1 (0,85%) είναι ομόζυγος, 7 (5,98%) είναι ετερόζυγοι και 109 (93,16 %) δεν φέρουν το γονίδιο. Για το γονίδιο FIIG2021A κανένας ασθενής από τους 117 δεν ήταν ομόζυγος, 7 (5,98%) ήταν ετερόζυγοι και 110 (94,01%) ασθενείς δεν είχαν κανένα αντίγραφο του γονιδίου. Για το γονίδιο MTHFR C677T από τους 119 ασθενείς, οι 16 (13,55%) ήταν ομόζυγοι, 58 (48,74%) ήταν ετερόζυγοι και 45 (37,81%) δεν έφεραν κανένα αντίγραφο του γονιδίου. Τέλος για το γονίδιο MTHFR A1298C από τους 119 ασθενείς, οι 12 (10,08%) ήταν ομόζυγοι, 46 (38,65%) ετερόζυγοι και 61 (51,26%) δεν είχαν κανένα αντίγραφο του γονιδίου.



Εικόνα 8 Σύγκριση εξέτασης TR DRVVT STAGO-IL

Στην εικόνα 6 φαίνεται η διαφορά μεταξύ των δύο μέσων τιμών των μεθόδων μέτρησης αντιπηκτικού του λύκου (LA) DRVVT-STAGO και DRVVT-IL.



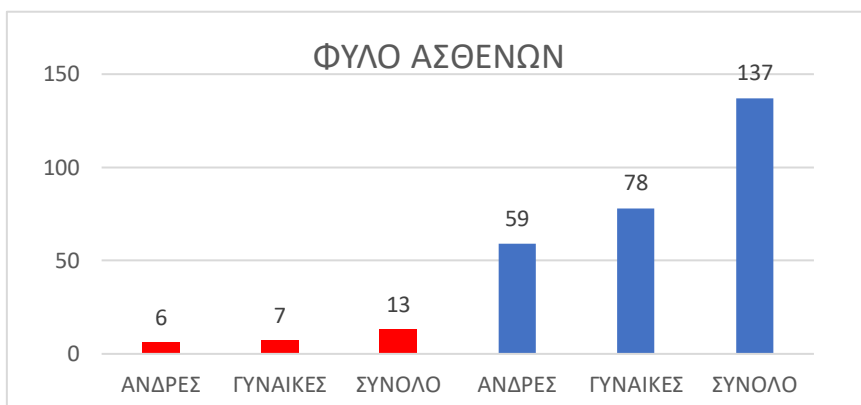
Εικόνα 9 Ποσοτική απεικόνιση τιμών αντισωμάτων ACA και Anti-B2GPI

Στην εικόνα 7 απεικονίζονται οι μέσες τιμές των αντισωμάτων IgG, IgM των καρδιολιπίνων και της β2 γλυκοπρωτεΐνης.

Από τους 150 ασθενείς, οι 13, δηλαδή 8,66%, είναι θετικοί στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο. Από αυτούς:

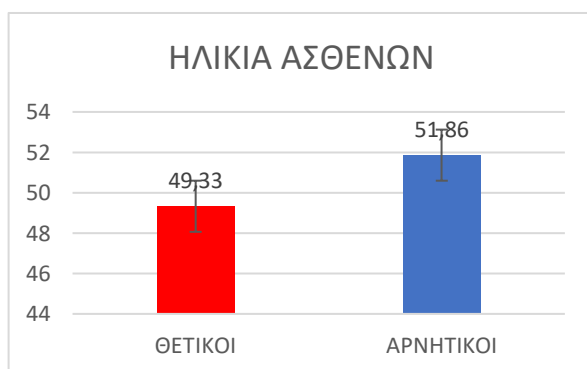
- 9 ήταν θετικοί στο αντιπηκτικό του Λύκου
- 12 ήταν θετικοί στα αντισώματα αντικαρδιολιπίνης
- 8 ήταν θετικοί στα αντισώματα αντι-B2 γλυκοπρωτεΐνης

Παρακάτω γίνεται σύγκριση των ασθενών θετικών με αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο σε σχέση με τον υπόλοιπο πληθυσμό ασθενών.



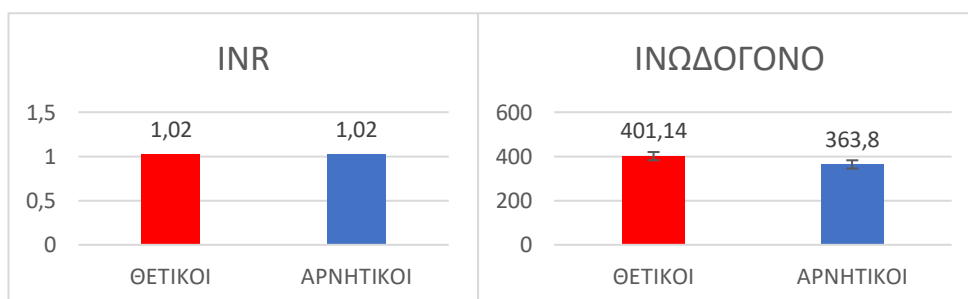
Εικόνα 10 Απεικόνιση Φύλου ασθενών θετικών και αρνητικών στο Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.

Στην εικόνα 8 βλέπουμε στις κόκκινες στήλες τον πληθυσμό των ασθενών θετικών στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο και πιο συγκεκριμένα είναι 6 άνδρες (46,15%) και 7 γυναίκες (53,85%), συνολικά 13 ασθενείς θετικοί. Στις μπλε στήλες είναι οι πληθυσμοί ασθενών αρνητικών στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, 59 άνδρες (43,06%) και 78 γυναίκες (56,94%), σύνολο 137 ασθενείς αρνητικοί.

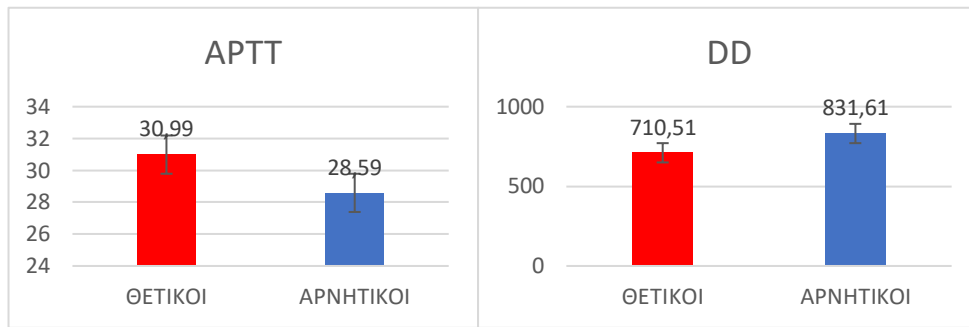


Εικόνα 11 Μέση Ηλικία αρνητικών και θετικών ασθενών

Στην εικόνα 9 φαίνεται η μέση ηλικία θετικών στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο που ανέρχεται στα 49,33 έτη και των αρνητικών 51,86 έτη.



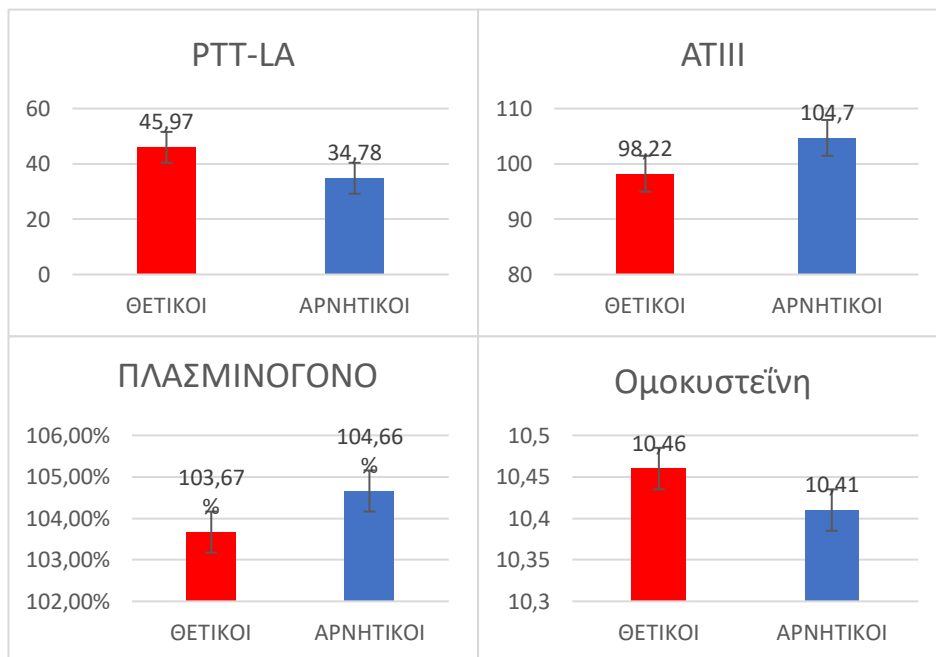
Εικόνα 12 INR και Ινωδογόνο σε θετικούς και αρνητικούς ασθενείς



Εικόνα 13 APTT και DD σε θετικούς και αρνητικούς ασθενείς

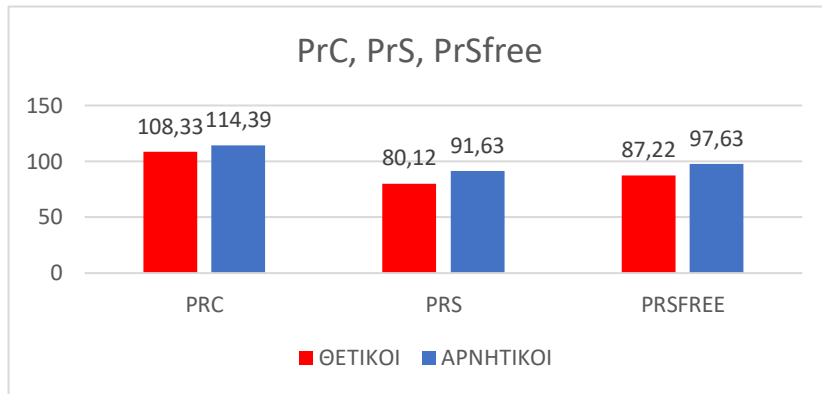
Στην εικόνα 10 απεικονίζονται οι μέσες τιμές του INR ανάμεσα στους θετικούς ασθενείς: 1,02 και τους αρνητικούς ασθενείς: 1,02. Επίσης συγκρίνονται και οι μέσες τιμές του ινοδωγόνου που για τους θετικούς ασθενείς είναι 401,14 ενώ για τους αρνητικούς είναι 363,8.

Στην εικόνα 11 συγκρίνονται οι τιμές APTT μεταξύ θετικών και αρνητικών ασθενών. Στους θετικούς η μέση τιμή είναι 30,99 sec ενώ στους αρνητικούς είναι 28,59. Αντίστοιχα συγκρίνονται και οι μέσες τιμές για τα Δ-διμερή. Στους θετικούς η μέση τιμή είναι 710,51 ενώ στους αρνητικούς 831,61.



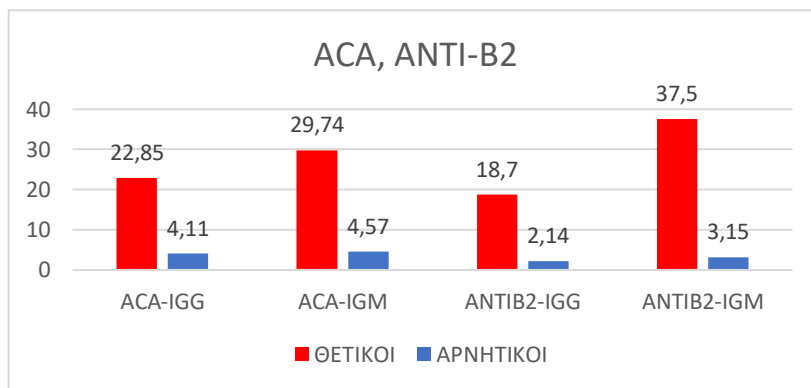
Εικόνα 14 Σύγκριση μέσων τιμών PTT-LA, ATIII, Πλασμινογόνου και Ομοκυστεΐνης

Στην εικόνα 12 συγκρίνονται οι μέσες τιμές του PTT-LA με τους θετικούς να έχουν μέση τιμή 45,97 και οι αρνητικοί 34,78. Για το ATIII οι θετικοί έχουν μέση τιμή 98,22 και οι αρνητικοί ασθενείς 104,7. Για το πλασμινογόνο η μέση τιμή των θετικών ασθενών είναι 103,67% και για τους αρνητικούς 104,66%. Για την ομοκυστεΐνη η μέση τιμή των θετικών είναι 10,46 για για τους αρνητικούς 10,41.



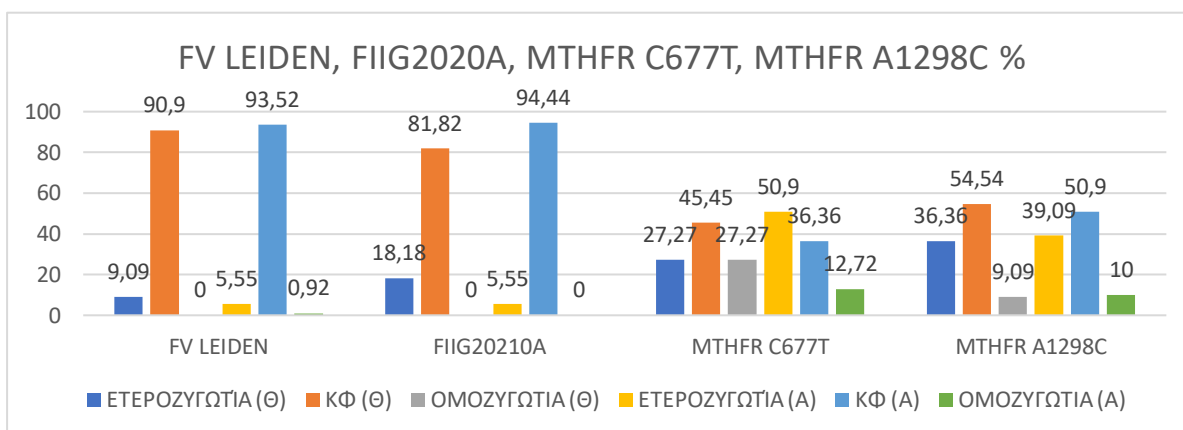
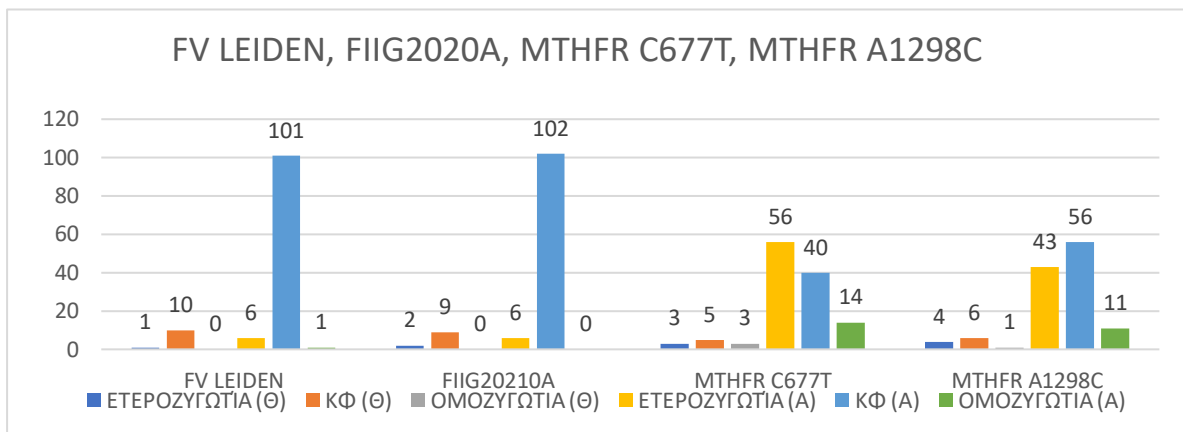
Εικόνα 15 Σύγκριση τιμών PrC, PrS, PrSfree θετικών και αρνητικών ασθενών.

Στην εικόνα 13 συγκρίνεται η μέση τιμή για την PrC, PrS και PrSfree. Για την PrC οι θετικοί ασθενείς είχαν μέση τιμή 108,33 ενώ οι αρνητικοί 114,39. Για την PrS οι θετικοί είχαν 80,12 και οι αρνητικοί 91,63. Για την PrSfree οι θετικοί είχαν μέση τιμή 87,22 και οι αρνητικοί 97,63.



Εικόνα 16 Σύγκριση αντισωμάτων καρδιολιπίνων και anti-b2 μεταξύ θετικών και αρνητικών ασθενών.

Στην εικόνα 14 γίνεται σύγκριση των αντισωμάτων των καρδιολιπίνων και της αντι-β2 γλυκοπρωτεΐνης. Για τα αντισώματα των καρδιολιπίνων οι θετικοί ασθενείς είχαν 22,85 μέση τιμή για τα IgG και 29,74 για τα IgM. Οι αρνητικοί ασθενείς είχαν μέση τιμή 4,11 για τα IgG και 4,57 για τα IgM. Για τα anti-b2 αντισώματα οι θετικοί ασθενείς είχαν μέση τιμή 18,7 για τα IgG και 37,5 για τα IgM ενώ οι αρνητικοί 2,14 για τα IgG και 3,15 για τα IgM.



Εικόνα 17 Σύγκριση θετικών και αρνητικών ασθενών στις Μοριακές Εξετάσεις

Στην εικόνα 15 βλέπουμε στο πρώτο γράφημα την ποσοτική απεικόνιση των θετικών και αρνητικών ασθενών στις μεταλλάξεις: FV Leiden, FIIG2020A, MTHFR C677T και MTHFR1298C. Το δεύτερο γράφημα είναι συνέχεια του πρώτου με την διαφορά ότι οι τιμές είναι σε ποσοστά. Για το FVLEIDEN γονίδιο οι θετικοί ασθενείς είχαν: 1 ετεροζυγώτη – 9,09%, 10 φυσιολογικούς – 90,9%, 0 ομοζυγώτες, οι αρνητικοί ασθενείς είχαν: 6 ετεροζυγώτες – 5,55%, 101 φυσιολογικούς – 93,52% και 1 ομοζυγώτη – 0,92%. Για το γονίδιο FIIG2020A οι θετικοί ασθενείς είχαν: 2 ετεροζυγώτες – 18,18%, 9 φυσιολογικούς – 81,82% και 0 ομοζυγώτες, οι αρνητικοί ασθενείς είχαν: 6 ετεροζυγώτες – 5,55%, 102 φυσιολογικούς – 94,44% και κανένα ομοζυγώτη. Για το γονίδιο MTHFR C677T οι θετικοί ασθενείς είχαν 3 ετεροζυγώτες – 27,27%, 5 φυσιολογικούς – 45,45% και 3 ομοζυγώτες – 27,27%, οι αρνητικοί ασθενείς είχαν: 56 ετεροζυγώτες – 50,9%, 40 φυσιολογικούς – 36,36% και 14 ομοζυγώτες – 12,72%. Για το γονίδιο MTHFR A1298C οι θετικοί ασθενείς είχαν: 4 ετεροζυγώτες – 36,36%, 6 φυσιολογικούς 54,54% και 1 ομοζυγώτη – 9,09%, οι αρνητικοί ασθενείς είχαν: 43 ετεροζυγώτες – 39,09%, 56 φυσιολογικούς – 50,9% και 11 ομοζυγώτες – 10%.

2. Συζήτηση

Το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ), γνωστό επίσης ως εγκεφαλικό, αποτελεί μια σοβαρή ιατρική κατάσταση που συμβαίνει όταν διαταράσσεται η ροή του αίματος στον εγκέφαλο. Αυτή η διακοπή της παροχής αίματος μπορεί να προκληθεί είτε από απόφραξη αγγείου (ισχαιμικό ΑΕΕ) είτε από ρήξη αιμοφόρου αγγείου (αιμορραγικό ΑΕΕ). Ο εγκέφαλος, στερούμενος επαρκούς οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών, υφίσταται βλάβη, η οποία μπορεί να είναι μόνιμη αν δεν αντιμετωπιστεί άμεσα και αποτελεί τη δεύτερη πιο κοινή αιτία θανάτου στον κόσμο, και την κυριότερη μορφή επίκτητης αναπηρίας σε ενήλικες στις αναπτυγμένες χώρες. Οι αιτίες για την αγγειακή αυτή απόφραξη σχετίζονται με την θρομβοφιλία και μπορούν να είναι πολλές. Η περίπτωση που εξετάζουμε σε αυτή την εργασία είναι η συσχέτιση με το Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο είναι μια επίκτητη προθρομβωτική διαταραχή. Το APS είναι μια πρωτοπαθής διαταραχή παρά την περιστασιακή συσχέτιση του αντιπηκτικού του λύκου ή των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα περιλαμβάνουν τα αντισώματα κατά της β2-γλυκοπρωτεΐνης I (αντίβ2GP-I), τα αντισώματα καρδιολιπίνης (ACL IgG, ACL IgM) και τα αντιπηκτικά τύπου Λύκου (LLA). Όλα αυτά τα αντισώματα αποτελούν μια μεγάλη ετερογενή οικογένεια ανοσοσφαιρινών που στοχεύουν φωσφολιπίδια ή πρωτεΐνες του πλάσματος που σχετίζονται με ανιονικά φωσφολιπίδια. Τα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα αποθηκεύουν τις περισσότερες αυτές πρωτεΐνες και εμπλέκονται στη διαδικασία της πήξης.

Μετά από ανάλυση μελετών που έχουν γίνει τα προηγούμενα χρόνια, παρατηρείται ότι οι αντιγονικοί στόχοι των αντισωμάτων περιλαμβάνουν την προθρομβίνη, την αννεξίνη V, την πρωτεΐνη S, την πρωτεΐνη C και τον παράγοντα von Willebrand. Αυτά τα αντισώματα έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούν την έκφραση σημαντικών γονιδίων σχετιζόμενα με διάφορες καταστάσεις στις οποίες εντοπίζονται οι παράγοντες πήξης.

Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, των ενδοθηλιακών κυττάρων και των μονοκυττάρων συμβάλλει στη δημιουργία ενός προπηκτικού περιβάλλοντος. Παράλληλα, η αλληλεπίδραση των αντισωμάτων με τους παράγοντες πήξης αναστέλλει τη διαδικασία της ινωδόλυσης. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα επηρεάζουν την πορεία της πήξης, εμποδίζοντας την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C και της αντιθρομβίνης III, ενώ αυξάνουν τη δραστηριότητα του ιστικού παράγοντα και επιβραδύνουν την ινωδόλυση. [95][96]

Η B2 γλυκοπρωτεΐνη I έχει σημαντικό ρόλο στην πήξη, καθώς λειτουργεί ως αναστολέας, αποτρέποντας τη σύνδεση των παραγόντων πήξης και αναστέλλοντας τον καταρράκτη της πήξης. Παρομοίως, η αννεξίνη V παρεμποδίζει τη σύνδεση των συμπλεγμάτων παραγόντων πήξης, εμποδίζοντας τη διαδικασία πήξης. [97] Το αντιπηκτικό του λύκου, μια ομάδα αντισωμάτων, στοχεύει πολύπλοκα αντιγόνα όπως η B2 γλυκοπρωτεΐνη I και η προθρομβίνη, και παρεμβαίνει στην πήξη μέσω της αναστολής των φωσφολιπιδίων. [98]

Οι ασθενείς που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη είχαν περάσει κάποιο εγκεφαλικό επεισόδιο. Από τους 150, οι 13 είναι θετικοί στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, δηλαδή το 8,66% των συνολικών ασθενών. Σε έρευνα που πήρε μέρος το 2000-2015 έδειξε ότι το APS εμφανίζεται ανά 2 άτομα περίπου ανά 100.000 ετησίως – 0,002% στον γενικότερο πληθυσμό ενώ ο εκτιμώμενος επιπολασμός είναι 50 ανά 100.000. [99] Φαίνεται έτσι πως υπάρχει

συσχέτιση του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου σε ασθενείς που έχουν υποστεί αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο.

Άλλες έρευνες έχουν δείξει την άμεση συσχέτιση του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου με αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο. Πιο συγκεκριμένα σε έρευνα που έγινε το 2009 – 2022 σε 361 ασθενείς με αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, το 25,8% (93/361) είχε κάποια στιγμή υποστεί εγκεφαλικό επεισόδιο. Αυτό επιβεβαιώνει ότι το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από θρόμβωση, μπορεί να προκαλέσει και εγκεφαλικό. [100]

Όμως από τις συνολικές περιπτώσεις εγκεφαλικών επεισοδίων, πόσες από αυτές οφείλονται από το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο; Σε άτομα ηλικίας κάτω των 45 ετών τα αντιφωσφολιπιδικά προκαλούμενα εγκεφαλικά αποτελούν περίπου το 20% των συνολικών εγκεφαλικών. [101] Αυτό συμβαδίζει με την στατιστική ανάλυση που έγινε καθώς ο μέσος όρος ηλικίας για τους θετικούς ασθενείς ήταν 49,33 χρόνια, 2,53 χρόνια λιγότερα από τον μέσο όρο των αρνητικών ασθενών με μέσο όρο ηλικίας 51,86 χρόνια. [102]

Όσον αφορά τις υπόλοιπες εξετάσεις, οι ασθενείς που ήταν θετικοί στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο είχαν σημαντική συσχέτιση μεταξύ των αντισωμάτων anti-ACA IgM και anti-B2 IgM καθώς και μεταξύ anti-ACA IgG και anti-B2 IgG. Συσχέτιση υπήρχε επίσης μεταξύ των anti-ACA IgG και anti-B2 IgG με την μέθοδο TR-IL και με την μέθοδο TR-STAGO. Θετική συσχέτιση σε μικρότερο βαθμό εντοπίστηκε ανάμεσα στα anti-ACA IgM και anti-B2 IgM με την μέθοδο TR-IL και TR-STAGO.

Το PTT-LA σε σχέση με το APTT είχε ψηλότερες τιμές και στους θετικούς και στους αρνητικούς ασθενείς. Η παρουσία του αντιπηκτικού τύπου λύκου προκαλεί παράταση του χρόνου του APTT, επειδή τα αντιδραστήρια του APTT δεν επαρκούν για την εντόπιση LA χρησιμοποιούμε συνδυαστικά την εξέταση PTT-LA όπου είναι ευαισθητοποιημένη στο LA και σε αυτήν παρατηρείται αυξημένη παράταση. Το PTT-LA προκαλεί παράταση του χρόνου πήξης όταν σε αυτό υπάρχει παρουσία αντιπηκτικού του λύκου. Σε θετικούς ασθενείς το PTT-LA είχε αρκετά μεγαλύτερη τιμή – 45,97 σε σχέση με τους αρνητικούς – 34,78 ενώ αντίθετως η διαφορά μεταξύ των δύο πληθυσμών στο APTT ήταν σημαντικά μικρότερη.

Επιπρόσθετα η πραγματοποίηση των μεθόδων TR-IL και TR-STAGO γίνεται για την απλοποιημένη ανίχνευση του LA. Η βασική διαφορά μεταξύ των δύο μεθόδων είναι ότι το αντιδραστήριο TR-STAGO περιέχει υψηλή συγκέντρωση φωσφολιπιδίων. Αυτή η υψηλή συγκέντρωση φωσφολιπιδίων εξουδετερώνει τα αντισώματα του LA, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο χρόνος πήξης. Αντίθετα, το TR-IL προκαλεί παράταση του χρόνου πήξης.

Ο παράγοντας επαφής ή η ανεπάρκεια του καθώς και αντισώματα του παράγοντα VIII δεν επηρεάζουν το TR-IL για αυτό συνιστάται η χρήση του αντί του APTT. Ο πληθυσμός που ήταν θετικός στο σύνδρομο εμφάνισε στατιστική συσχέτιση των τιμών των δύο μεθόδων TR-IL και του TR-STAGO, με τη μέση τιμή του TR-IL να ανέρχεται στο 1,2 και τη μέση τιμή του TR-STAGO στο 1,36. Αυτά τα αποτελέσματα φανερώνουν την παρουσία του LA στους ασθενείς.

Πραγματοποιήθηκε επίσης μέτρηση με την μέθοδο ELISA για τα αντισώματα της καρδιολιπίνης IgG/IgM καθώς και των anti-B2 IgG/IgM. Η μέση τιμή των αντισωμάτων της καρδιολιπίνης για τους θετικούς ασθενείς για τα anti-ACA IgM είναι στο 29,74 ενώ για τα anti-ACA IgG στο 22,85. Για τον αρνητικό πληθυσμό τα η μέση τιμή για τα anti-ACA IgM

είναι 4,57 και για τα IgG 4,11. Η μέση τιμή των anti-B2 IgM για τον θετικό πληθυσμό ανέρχεται στο 37,5 ενώ για τα anti-B2 IgG στο 18,7. Αντίστοιχα για τον αρνητικό πληθυσμό η μέση τιμή για το anti-B2 IgM είναι 3,15 και για anti-B2 IgG είναι 2,14. Η διαφορά αυτή στα αποτελέσματα μεταξύ του θετικού και του αρνητικού πληθυσμού επιβεβαιώνει την εγκυρότητα στη σωστή διαλογή των ασθενών με αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο.

Όσον αφορά τους μοριακούς ελέγχους που έγιναν, το MTHFR που είναι ένα γονίδιο του οποίου οι μεταλλάξεις αυξάνουν τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης και συμπερασματικά αυξάνει την θρομβοφιλική διάθεση. Έχει δύο βασικές μεταλλάξεις, την C677T και την A1298C η οποία δεν έχει συσχετιστεί άμεσα με τη θρόμβωση ακόμα. [103] Από τα γραφήματα φαίνεται πως η ομοζυγωτία για την μετάλλαξη C677T στον συνολικό πληθυσμό είναι ελαφρώς αυξημένο το ποσοστό σε αντίθεση με τους ασθενείς που εμφάνισαν ομοζυγωτία για τη μετάλλαξη A1298C. Όμως και τα δύο γονίδια είχαν αρκετά αυξημένο τον αριθμό των ετεροζυγωτών.

Η μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden αποτελεί την πιο συχνή αιτία θρομβοφιλικής διάθεσης. Το ποσοστό των ετεροζυγωτών (7) που παρατηρήθηκε μειωμένο για το FV Leiden σε όλο τον πληθυσμό στην παρούσα έρευνα που εξετάστηκε και ένα ελάχιστο ποσοστό αυτών εμφάνισαν ομοζυγωτία (μόνο ένας).

Έρευνες έχουν δείξει πως η μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης, εμφανίζει μια ευρεία κατανομή τάξεως 0,7-6,5% στον γενικό πληθυσμό [104]. Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε πως το ποσοστό των ετεροζυγωτών υπερτερούσε καθώς δεν βρέθηκε ούτε ένας ομοζυγώτης. Το συμπέρασμα που μπορεί να προκύψει είναι πως η πιθανότητα να εμφανιστεί ομοζυγωτία για την μετάλλαξη αυτή είναι αρκετά σπάνια και όπως έχουν δείξει οι μελέτες έχει πολύ μεταλύτερο θρομβωτικό κίνδυνο σε σχέση με την ετεροζυγωτία [105].

Τέλος εντοπίστηκε πως οι ασθενείς που έφεραν μετάλλαξη για το γονίδιο FV Leiden είχαν επίσης και μετάλλαξη για το γονίδιο FII G20210A πράγμα που έχει επιβεβαιωθεί και από άλλες μελέτες. [106]

Συμπέρασμα

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε ένα σύνολο 150 ασθενών με αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και εύρος ηλικίας από 19 έως 80 έτη με μέση ηλικία τα 51,7 έτη. Σε αυτούς τους ασθενείς πραγματοποιήθηκαν δοκιμασίες ελέγχου για θρομβοφιλία. Παρατηρήθηκε ότι 13 εκ των 150 είναι θετικοί στο Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο, ποσοστό 8,66% πράγμα που αποκαλύπτει την συσχέτιση του συνδρόμου με αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο εφόσον στον γενικότερο πληθυσμό το ποσοστό αυτό είναι της τάξης του 0,002-0,05%.

Η αξιολόγηση των ασθενών θετικών με αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο έγινε με την μέτρηση των αντισωμάτων ACA IgG, IgM, Anti-B2 IgG, IgM, και αντιπηκτικών λύκου. Οι θετικοί ασθενείς είχαν αρκετά πιο αυξημένες τιμές. Οι δύο μέθοδοι ανίχνευσης του αντιπηκτικού λύκου TR-IL και TR-STAGO παρουσίασαν μεγάλη στατιστική συσχέτιση.

Οι μοριακοί έλεγχοι που έγιναν έδειξαν ότι στο γονίδιο MTHFR C677T υπήρχε αυξημένος αριθμός ετεροζυγωτών με ποσοστό 48,74% καθώς και για το γονίδιο MTHFR A1298C με ποσοστό 38,65%, πράγμα που υποδηλώνει ότι υπάρχει μεγαλύτερη προδιάθεση για φλεβικές και αρτηριακές θρομβώσεις.

Παρόλο που το αποτέλεσμα της έρευνας υποδεικνύει την συσχέτιση του αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου με το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο ο πληθυσμός των ασθενών και οι διάφοροι παράμετροι πραγματοποίησης των εξετάσεων και των στατιστικών αποτελεσμάτων, μπορούν μερικώς να αποδείξουν αυτό το πόρισμα και είναι απαραίτητη η περαιτέρω μελλοντική διερεύνηση με μεγαλύτερο δείγμα και πιο αποτελεσματική στατιστική ανάλυση.

ΣΤ. Βιβλιογραφία

1. Sierra C, Moreno M, García-Ruiz JC. The physiology of hemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2022 Jan 1;33(Suppl 1):S1-S2. doi: 10.1097/MBC.0000000000001099. PMID: 35088768.
2. Silverthorn DU, Johnson BR, Ober WC, Garrison CW, Silverthorn AC. *Human Physiology : An Integrated Approach*. 6th ed. Pearson Education; 2013.
3. Geddings JE, Mackman N. New players in haemostasis and thrombosis. *Thromb Haemost*. 2014 Apr 1;111(4):570-4. doi: 10.1160/TH13-10-0812. Epub 2014 Feb 27. PMID: 24573314; PMCID: PMC4080798.
4. 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. doi: 10.3109/10409238.2015.1050550. Epub 2015 May 28. PMID: 26018600; PMCID: PMC4826570.
5. Speth C, Rambach G, Würzner R, Lass-Flörl C, Kozarcanin H, Hamad OA, Nilsson B, Ekdahl KN. Complement and platelets: Mutual interference in the immune network. *Mol Immunol*. 2015 Sep;67(1):108-18. doi: 10.1016/j.molimm.2015.03.244. Epub 2015 Apr 14. PMID: 25886718.
6. Semple JW, Italiano JE Jr, Freedman J. Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol*. 2011 Apr;11(4):264-74. doi: 10.1038/nri2956. PMID: 21436837.
7. Mezger, M., Nording, H., Sauter, R., Graf, T., Heim, C., von Bubnoff, N., . . . Langer, H. F. (2019). Platelets and Immune Responses During Thromboinflammation. *Front Immunol*, 10, 1731. doi:10.3389/fimmu.2019.01731
8. Portier I, Campbell RA. Role of Platelets in Detection and Regulation of Infection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021 Jan;41(1):70-78. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314645. Epub 2020 Oct 29. PMID: 33115274; PMCID: PMC7770024.
9. White JG, Conard WJ. The fine structure of freeze-fractured blood platelets. *Am J Pathol*. 1973 Jan;70(1):45-56. PMID: 4566474; PMCID: PMC1903921.
10. Melki I, Tessandier N, Zufferey A, Boilard E. Platelet microvesicles in health and disease. *Platelets*. 2017 May;28(3):214-221. doi: 10.1080/09537104.2016.1265924. Epub 2017 Jan 19. PMID: 28102737.
11. Colberg L, Cammann C, Greinacher A, Seifert U. Structure and function of the ubiquitin-proteasome system in platelets. *J Thromb Haemost*. 2020 Apr;18(4):771-780. doi: 10.1111/jth.14730. Epub 2020 Jan 29. PMID: 31898400.
12. Clemetson KJ, Clemetson JM. Platelet receptors. In: Michelson AD ed. *Platelets*, 3rd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press; 2013: 169–194
13. Andrews RK, Gardiner EE, Shen Y, Berndt MC. Platelet interactions in thrombosis. *IUBMB Life* 2004;56(1):13–18
14. Furihata K, Clemetson KJ, Deguchi H, Kunicki TJ. Variation in human platelet glycoprotein VI content modulates glycoprotein VI-specific prothrombinase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21(11):1857–1863
15. Best D, Senis YA, Jarvis GE, et al. GPVI levels in platelets: relationship to platelet function at high shear. *Blood* 2003; 102(8):2811–2818
16. Samaha FF, Hibbard C, Sacks J, et al. Density of platelet collagen receptors glycoprotein VI and alpha2beta1 and prior myocardial infarction in human subjects, a pilot study. *Med Sci Monit* 2005; 11(5):CR224–CR229

17. Senis YA, Tomlinson MG, Ellison S, et al. The tyrosine phosphatase CD148 is an essential positive regulator of platelet activation and thrombosis. *Blood* 2009;113(20):4942–4954
18. Bennett JS. The molecular biology of platelet membrane proteins. *Semin Hematol* 1990;27(2):186–204
19. Plow EF, Byzova T. The biology of glycoprotein IIb-IIIa. *Coron Artery Dis* 1999;10(8):547–551
20. Leger AJ, Covic L, Kuliopulos A. Protease-activated receptors in cardiovascular diseases. *Circulation* 2006;114(10):1070–1077
21. Dörmann D, Clemetson KJ, Kehrel BE. The GPIIb thrombin-binding site is essential for thrombin-induced platelet procoagulant activity. *Blood* 2000;96(7):2469–2478
22. Adam F, Guillin MC, Jandrot-Perrus M. Glycoprotein Ib-mediated platelet activation. A signalling pathway triggered by thrombin. *Eur J Biochem* 2003;270(14):2959–2970
23. Cattaneo M. The platelet P2 receptors. In: Michelson AD ed. *Platelets*, 3rd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press; 2013: 261–281
24. van Hinsbergh VW. The endothelium: vascular control of haemostasis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001 Apr;95(2):198-201. doi: 10.1016/s0301-2115(00)00490-5. PMID: 11301171.
25. Mackman N, Tilley RE, Key NS. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007 Aug;27(8):1687-93. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.141911. Epub 2007 Jun 7. PMID: 17556654.
26. Bhattarai A, Shah S, Bagherieh S, Mirmosayyeb O, Thapa S, Paudel S, Gyawali P, Khanal P. Endothelium, Platelets, and Coagulation Factors as the Three Vital Components for Diagnosing Bleeding Disorders: A Simplified Perspective with Clinical Relevance. *Int J Clin Pract.* 2022 Aug 27;2022:5369001. doi: 10.1155/2022/5369001. PMID: 36101812; PMCID: PMC9440837.
27. Belyaev AV, Kushchenko YK. Biomechanical activation of blood platelets via adhesion to von Willebrand factor studied with mesoscopic simulations. *Biomech Model Mechanobiol.* 2023 Jun;22(3):785-808. doi: 10.1007/s10237-022-01681-3. Epub 2023 Jan 10. PMID: 36627458; PMCID: PMC9838538.
28. Chen X, Gupta S, Cooper M, DeHelian D, Zhao X, Naik MU, Wurtzel JGT, Stalker TJ, Goldfinger LE, Benovic J, Brass LF, McKenzie SE, Naik UP, Ma P. GRK6 regulates the hemostatic response to injury through its rate-limiting effects on GPCR signaling in platelets. *Blood Adv.* 2020 Jan 14;4(1):76-86. doi: 10.1182/bloodadvances.2019000467. PMID: 31899801; PMCID: PMC6960467.
29. Key NS, Mackman N. Tissue factor and its measurement in whole blood, plasma, and microparticles. *Semin Thromb Hemost.* 2010 Nov;36(8):865-75. doi: 10.1055/s-0030-1267040. Epub 2010 Nov 3. PMID: 21049387.
30. Rijken DC, Lijnen HR. New insights into the molecular mechanisms of the fibrinolytic system. *J Thromb Haemost.* 2009 Jan;7(1):4-13. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03220.x. Epub 2008 Nov 8. PMID: 19017261.
31. Huang JN, Koerper MA. Factor V deficiency: a concise review. *Haemophilia.* 2008 Nov;14(6):1164-9. doi: 10.1111/j.1365-2516.2008.01785.x. PMID: 19141156.
32. Antonarakis SE. Molecular genetics of coagulation factor VIII gene and hemophilia A. *Thromb Haemost.* 1995 Jul;74(1):322-8. PMID: 8578479.

33. Di Scipio RG, Kurachi K, Davie EW. Activation of human factor IX (Christmas factor). *J Clin Invest*. 1978 Jun;61(6):1528-38. doi: 10.1172/JCI109073. PMID: 659613; PMCID: PMC372679.
34. Stavrou E, Schmaier AH. Factor XII: what does it contribute to our understanding of the physiology and pathophysiology of hemostasis & thrombosis. *Thromb Res*. 2010 Mar;125(3):210-5. doi: 10.1016/j.thromres.2009.11.028. PMID: 20022081; PMCID: PMC2851158.
35. Lijnen HR. Elements of the fibrinolytic system. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;936:226-36. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb03511.x. PMID: 11460480.
36. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet*. 1999 Apr 3;353(9159):1167-73. doi: 10.1016/s0140-6736(98)10266-0. PMID: 10209995.
37. Davenport WB, Kutteh WH. Inherited thrombophilias and adverse pregnancy outcomes: a review of screening patterns and recommendations. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2014 Mar;41(1):133-44. doi: 10.1016/j.ogc.2013.10.005. Epub 2013 Dec 10. PMID: 24491988.
38. Crowther MA, Kelton JG. Congenital thrombophilic states associated with venous thrombosis: a qualitative overview and proposed classification system. *Ann Intern Med*. 2003 Jan 21;138(2):128-34. doi: 10.7326/0003-4819-138-2-200301210-00014. PMID: 12529095.
39. Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, Taioli E, Rossi V, Crosti F, Paciaroni K, Leone G, Faioni EM. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood*. 1998 Oct 1;92(7):2353-8. PMID: 9746774.
40. Bucalossi A, Marotta G, Bigazzi C, Galieni P, Dispensa E. Reduction of antithrombin III, protein C, and protein S levels and activated protein C resistance in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients with thrombosis. *Am J Hematol*. 1996 May;52(1):14-20. doi: 10.1002/(SICI)1096-8652(199605)52:1<14::AID-AJH3>3.0.CO;2-9. PMID: 8638606.
41. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr*. 1999;19:217-46. doi: 10.1146/annurev.nutr.19.1.217. PMID: 10448523.
42. Rozen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Thromb Haemost*. 1997 Jul;78(1):523-6. PMID: 9198208.
43. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab*. 1998 Jul;64(3):169-72. doi: 10.1006/mgme.1998.2714. PMID: 9719624.
44. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA*. 1993 Dec 8;270(22):2693-8. doi: 10.1001/jama.1993.03510220049033. PMID: 8133587.
45. Perła-Kaján J, Twardowski T, Jakubowski H. Mechanisms of homocysteine toxicity in humans. *Amino Acids*. 2007;32(4):561-72. doi: 10.1007/s00726-006-0432-9. Epub 2007 Feb 7. PMID: 17285228.
46. Thaler E, Lechner K. Antithrombin III deficiency and thromboembolism. *Clin Haematol*. 1981 Jun;10(2):369-90. PMID: 7032781.

47. Tait RC, Walker ID, Reitsma PH, Islam SI, McCall F, Poort SR, Conkie JA, Bertina RM. Prevalence of protein C deficiency in the healthy population. *Thromb Haemost.* 1995 Jan;73(1):87-93. PMID: 7740502.
48. Alhenc-Gelas M, Gandrille S, Aubry ML, Aiach M. Thirty-three novel mutations in the protein C gene. French INSERM network on molecular abnormalities responsible for protein C and protein S. *Thromb Haemost.* 2000 Jan;83(1):86-92. PMID: 10669160.
49. Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH. The cytoprotective protein C pathway. *Blood.* 2007 Apr 15;109(8):3161-72. doi: 10.1182/blood-2006-09-003004. Epub 2006 Nov 16. PMID: 17110453.
50. Castoldi E, Hackeng TM. Regulation of coagulation by protein S. *Curr Opin Hematol.* 2008 Sep;15(5):529-36. doi: 10.1097/MOH.0b013e328309ec97. PMID: 18695379.
51. Dahlbäck B. Vitamin K-Dependent Protein S: Beyond the Protein C Pathway. *Semin Thromb Hemost.* 2018 Mar;44(2):176-184. doi: 10.1055/s-0037-1604092. Epub 2017 Sep 13. PMID: 28905350.
52. Esmon CT. The protein C pathway. *Chest.* 2003 Sep;124(3 Suppl):26S-32S. doi: 10.1378/chest.124.3_suppl.26s. PMID: 12970121.
53. Koster T, Rosendaal FR, Briët E, van der Meer FJ, Colly LP, Trienekens PH, Poort SR, Reitsma PH, Vandenbroucke JP. Protein C deficiency in a controlled series of unselected outpatients: an infrequent but clear risk factor for venous thrombosis (Leiden Thrombophilia Study). *Blood.* 1995 May 15;85(10):2756-61. PMID: 7742536.
54. Zöller B, Svensson PJ, He X, Dahlbäck B. Identification of the same factor V gene mutation in 47 out of 50 thrombosis-prone families with inherited resistance to activated protein C. *J Clin Invest.* 1994 Dec;94(6):2521-4. doi: 10.1172/JCI117623. PMID: 7989612; PMCID: PMC330087.
55. Mahasandana C, Veerakul G, Tanphaichitr VS, Suvatte V, Opartkiattikul N, Hathaway WE. Homozygous protein S deficiency: 7-year follow-up. *Thromb Haemost.* 1996 Dec;76(6):1122. PMID: 8972044.
56. Middeldorp S, van Hylckama Vlieg A. Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients? *Br J Haematol.* 2008 Nov;143(3):321-35. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07339.x. Epub 2008 Aug 15. PMID: 18710381.
57. Baglin T, Gray E, Greaves M, Hunt BJ, Keeling D, Machin S, Mackie I, Makris M, Nokes T, Perry D, Tait RC, Walker I, Watson H; British Committee for Standards in Haematology. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol.* 2010 Apr;149(2):209-20. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.08022.x. Epub 2010 Jan 28. PMID: 20128794.
58. Thorelli E, Kaufman RJ, Dahlbäck B. Cleavage of factor V at Arg 506 by activated protein C and the expression of anticoagulant activity of factor V. *Blood.* 1999 Apr 15;93(8):2552-8. PMID: 10194434.
59. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature.* 1994 May 5;369(6475):64-7. doi: 10.1038/369064a0. PMID: 8164741.
60. Dahlbäck B, Hildebrand B. Inherited resistance to activated protein C is corrected by anticoagulant cofactor activity found to be a property of factor V. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 Feb 15;91(4):1396-400. doi: 10.1073/pnas.91.4.1396. PMID: 8108421; PMCID: PMC43165.

61. Degen SJ, Davie EW. Nucleotide sequence of the gene for human prothrombin. *Biochemistry*. 1987 Sep 22;26(19):6165-77. doi: 10.1021/bi00393a033. PMID: 2825773.
62. Ehrenforth S, Ludwig G, Klinke S, Krause M, Scharrer I, Nowak-Gottl U. The prothrombin 20210 A allele is frequently coinherited in young carriers of the factor V Arg 506 to Gln mutation with venous thrombophilia. *Blood*. 1998 Mar 15;91(6):2209-10. PMID: 9490711.
63. Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, Margaglione M, De Stefano V, Cumming T, Arruda V, Hillarp A, Reny JL. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism--pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost*. 2001 Sep;86(3):809-16. Erratum in: *Thromb Haemost* 2001 Dec;86(6):1598. PMID: 11583312.
64. García-Pérez P, Rodríguez-Martínez MC, Gallardo-Tur A, Blanco-Reina E, de la Cruz-Cosme C, Lara JP. Early Occupational Therapy Intervention post-stroke (EOTIPS): A randomized controlled trial. *PLoS One*. 2024 Aug 19;19(8):e0308800. doi: 10.1371/journal.pone.0308800. PMID: 39159190; PMCID: PMC11332918.
65. Biesbroek JM, Biessels GJ. Diagnosing vascular cognitive impairment: Current challenges and future perspectives. *Int J Stroke*. 2023 Jan;18(1):36-43. doi: 10.1177/17474930211073387. Epub 2022 Jan 30. PMID: 35098817; PMCID: PMC9806474.
66. Party, I. S. W. (2012). *National clinical guideline for stroke (Vol. 25)*. London: Royal College of Physicians.
67. Πλούμης, Α. (2021). *Θέματα Φυσικής Ιατρικής και Αποκατάστασης με Κλινικά Σενάρια και Επεμβατικές Μεθόδους*. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Νέον
68. Boehme AK, Esenwa C, Elkind MS. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circ Res*. 2017 Feb 3;120(3):472-495. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308398. PMID: 28154098; PMCID: PMC5321635.
69. Asaba E, Bergström A, Patomella AH, Guidetti S. Engaging occupations among persons at risk for stroke: A health paradox. *Scand J Occup Ther*. 2022 Feb;29(2):116-125. doi: 10.1080/11038128.2020.1829036. Epub 2020 Oct 6. PMID: 33021851.
70. Feigin VL, Brainin M, Norrving B, Martins S, Sacco RL, Hacke W, Fisher M, Pandian J, Lindsay P. World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022. *Int J Stroke*. 2022 Jan;17(1):18-29. doi: 10.1177/17474930211065917. Erratum in: *Int J Stroke*. 2022 Apr;17(4):478. doi: 10.1177/17474930221080343. PMID: 34986727.
71. Murrell JE, Piseña JL, Juckett LA. Implementation strategies and outcomes for occupational therapy in adult stroke rehabilitation: a scoping review. *Implement Sci*. 2021 Dec 18;16(1):105. doi: 10.1186/s13012-021-01178-0. PMID: 34922568; PMCID: PMC8684217.
72. Whitehead, S., & Baalbergen, E. (2019). Post-stroke rehabilitation. *South African Medical Journal*, 109(2), 81-83.
73. Rapolienė J, Endzelytė E, Jasevičienė I, Savickas R. Stroke Patients Motivation Influence on the Effectiveness of Occupational Therapy. *Rehabil Res Pract*. 2018 Jul 30;2018:9367942. doi: 10.1155/2018/9367942. PMID: 30155309; PMCID: PMC6091285.

74. Keswani SC, Chauhan N. Antiphospholipid syndrome. *J R Soc Med.* 2002 Jul;95(7):336-42. doi: 10.1177/014107680209500705. PMID: 12091507; PMCID: PMC1279937.
75. MOORE JE, MOHR CF. Biologically false positive serologic tests for syphilis; type, incidence, and cause. *J Am Med Assoc.* 1952 Oct 4;150(5):467-73. doi: 10.1001/jama.1952.03680050033010. PMID: 14955455.
76. Arreola-Diaz R, Majluf-Cruz A, Sanchez-Torres LE, Hernandez-Juarez J. The Pathophysiology of The Antiphospholipid Syndrome: A Perspective From The Blood Coagulation System. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2022 Jan-Dec;28:10760296221088576. doi: 10.1177/10760296221088576. PMID: 35317658; PMCID: PMC8950029.
77. Gonzalo-Gil E, García-Herrero C, Toldos O, Usategui A, Criado G, Pérez-Yagüe S, Barber DF, Pablos JL, Galindo M. Microthrombotic Renal Vascular Lesions Are Associated to Increased Renal Inflammatory Infiltration in Murine Lupus Nephritis. *Front Immunol.* 2018 Aug 28;9:1948. doi: 10.3389/fimmu.2018.01948. PMID: 30210500; PMCID: PMC6120987.
78. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, Martinuzzo M, Ortel TL, Pengo V, Rand JH, Tripodi A, Wahl D, Cohen H. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost.* 2020 Nov;18(11):2828-2839. doi: 10.1111/jth.15047. PMID: 33462974.
79. Krone KA, Allen KL, McCrae KR. Impaired fibrinolysis in the antiphospholipid syndrome. *Curr Rheumatol Rep.* 2010 Feb;12(1):53-7. doi: 10.1007/s11926-009-0075-4. PMID: 20425534; PMCID: PMC2862601.
80. Rand JH, Wu XX, Andree HA, Lockwood CJ, Guller S, Scher J, Harpel PC. Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome--a possible thrombogenic mechanism. *N Engl J Med.* 1997 Jul 17;337(3):154-60. doi: 10.1056/NEJM199707173370303. Erratum in: *N Engl J Med* 1997 Oct 30;337(18):1327. PMID: 9219701.
81. Rand JH, Wu XX, Andree HA, Ross JB, Rusinova E, Gascon-Lema MG, Calandri C, Harpel PC. Antiphospholipid antibodies accelerate plasma coagulation by inhibiting annexin-V binding to phospholipids: a "lupus procoagulant" phenomenon. *Blood.* 1998 Sep 1;92(5):1652-60. PMID: 9716593.
82. Corban MT, Duarte-Garcia A, McBane RD, Matteson EL, Lerman LO, Lerman A. Antiphospholipid Syndrome: Role of Vascular Endothelial Cells and Implications for Risk Stratification and Targeted Therapeutics. *J Am Coll Cardiol.* 2017 May 9;69(18):2317-2330. doi: 10.1016/j.jacc.2017.02.058. PMID: 28473138.
83. Khamashta M, Taraborelli M, Sciascia S, Tincani A. Antiphospholipid syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2016 Feb;30(1):133-48. doi: 10.1016/j.berh.2016.04.002. Epub 2016 May 4. PMID: 27421221.
84. Lutters BC, Derksen RH, Tekelenburg WL, Lenting PJ, Arnout J, de Groot PG. Dimers of beta 2-glycoprotein I increase platelet deposition to collagen via interaction with phospholipids and the apolipoprotein E receptor 2'. *J Biol Chem.* 2003 Sep 5;278(36):33831-8. doi: 10.1074/jbc.M212655200. Epub 2003 Jun 13. PMID: 12807892.
85. Cohen H, Mackie IJ, Anagnostopoulos N, Savage GF, Machin SJ. Lupus anticoagulant, anticardiolipin antibodies, and human immunodeficiency virus in haemophilia. *J Clin*

- Pathol. 1989 Jun;42(6):629-33. doi: 10.1136/jcp.42.6.629. PMID: 2500459; PMCID: PMC1141992.
86. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, Martinuzzo M, Ortel TL, Pengo V, Rand JH, Tripodi A, Wahl D, Cohen H. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost.* 2020 Nov;18(11):2828-2839. doi: 10.1111/jth.15047. PMID: 33462974.
 87. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006 Feb;4(2):295-306. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x. PMID: 16420554.
 88. Harris EN, Chan JK, Asherson RA, Aber VR, Gharavi AE, Hughes GR. Thrombosis, recurrent fetal loss, and thrombocytopenia. Predictive value of the anticardiolipin antibody test. *Arch Intern Med.* 1986 Nov;146(11):2153-6. PMID: 3535715.
 89. Noureldine MHA, Nour-Eldine W, Khamashta MA, Uthman I. Insights into the diagnosis and pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 2019 Apr;48(5):860-866. doi: 10.1016/j.semarthrit.2018.08.004. Epub 2018 Aug 23. PMID: 30217394.
 90. Galli M, Borrelli G, Jacobsen EM, Marfisi RM, Finazzi G, Marchioli R, Wisloff F, Marziali S, Morboeuf O, Barbui T. Clinical significance of different antiphospholipid antibodies in the WAPS (warfarin in the antiphospholipid syndrome) study. *Blood.* 2007 Aug 15;110(4):1178-83. doi: 10.1182/blood-2007-01-066043. Epub 2007 Apr 17. PMID: 17440049.
 91. Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet.* 1990 Jul 21;336(8708):177-8. doi: 10.1016/0140-6736(90)91697-9. PMID: 1973491.
 92. Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Taatjes DJ. The annexin A5-mediated pathogenic mechanism in the antiphospholipid syndrome: role in pregnancy losses and thrombosis. *Lupus.* 2010 Apr;19(4):460-9. doi: 10.1177/0961203310361485. PMID: 20353989.
 93. Asherson RA. The catastrophic antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol.* 1992 Apr;19(4):508-12. PMID: 1593568.
 94. Meroni PL, Chighizola CB, Rovelli F, Gerosa M. Antiphospholipid syndrome in 2014: more clinical manifestations, novel pathogenic players and emerging biomarkers. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(2):209. doi: 10.1186/ar4549. PMID: 25166960; PMCID: PMC4060447.
 95. Arreola-Diaz R, Majluf-Cruz A, Sanchez-Torres LE, Hernandez-Juarez J. The Pathophysiology of The Antiphospholipid Syndrome: A Perspective From The Blood Coagulation System. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2022 Jan-Dec;28:10760296221088576. doi: 10.1177/10760296221088576. PMID: 35317658; PMCID: PMC8950029.
 96. Cohen H, Cuadrado MJ, Erkan D, Duarte-Garcia A, Isenberg DA, Knight JS, Ortel TL, Rahman A, Salmon JE, Tektonidou MG, Williams DJ, Willis R, Woller SC, Andrade D. 16th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force Report on

- Antiphospholipid Syndrome Treatment Trends. *Lupus*. 2020 Oct;29(12):1571-1593. doi: 10.1177/0961203320950461. PMID: 33100166; PMCID: PMC7658424.
97. Krone KA, Allen KL, McCrae KR. Impaired fibrinolysis in the antiphospholipid syndrome. *Curr Rheumatol Rep*. 2010 Feb;12(1):53-7. doi: 10.1007/s11926-009-0075-4. PMID: 20425534; PMCID: PMC2862601.
 98. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, Martinuzzo M, Ortel TL, Pengo V, Rand JH, Tripodi A, Wahl D, Cohen H. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost*. 2020 Nov;18(11):2828-2839. doi: 10.1111/jth.15047. PMID: 33462974.
 99. Duarte-García A, Pham MM, Crowson CS, Amin S, Moder KG, Pruthi RK, Warrington KJ, Matteson EL. The Epidemiology of Antiphospholipid Syndrome: A Population-Based Study. *Arthritis Rheumatol*. 2019 Sep;71(9):1545-1552. doi: 10.1002/art.40901. Epub 2019 Aug 1. Erratum in: *Arthritis Rheumatol*. 2020 Apr;72(4):597. doi: 10.1002/art.41241. PMID: 30957430; PMCID: PMC6717037.
 100. Fan Y, Xu Y, Zhang S, Song X, Liu Z, Tu W, Li C. Stroke and Risk Factors in Antiphospholipid Syndrome. *J Pers Med*. 2023 Dec 24;14(1):24. doi: 10.3390/jpm14010024. PMID: 38248725; PMCID: PMC10821242.
 101. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, Jacobsen S, Lakos G, Tincani A, Kontopoulou-Griva I, Galeazzi M, Meroni PL, Derksen RH, de Groot PG, Gromnica-Ihle E, Baleva M, Mosca M, Bombardieri S, Houssiau F, Gris JC, Quéré I, Hachulla E, Vasconcelos C, Roch B, Fernández-Nebro A, Boffa MC, Hughes GR, Ingelmo M; Euro-Phospholipid Project Group. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum*. 2002 Apr;46(4):1019-27. doi: 10.1002/art.10187. PMID: 11953980.
 102. Hughes GR. Migraine, memory loss, and "multiple sclerosis ". Neurological features of the antiphospholipid (Hughes') syndrome. *Postgrad Med J*. 2003 Feb;79(928):81-3. doi: 10.1136/pmj.79.928.81. PMID: 12612321; PMCID: PMC1742609.
 103. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab*. 1998 Jul;64(3):169-72. doi: 10.1006/mgme.1998.2714. PMID: 9719624.
 104. Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, Arruda VR, Aiach M, Siscovick DS, Hillarp A, Watzke HH, Bernardi F, Cumming AM, Preston FE, Reitsma PH. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost*. 1998 Apr;79(4):706-8. PMID: 9569177.
 105. Koster T, Rosendaal FR, Briët E, van der Meer FJ, Colly LP, Trienekens PH, Poort SR, Reitsma PH, Vandenbroucke JP. Protein C deficiency in a controlled series of unselected outpatients: an infrequent but clear risk factor for venous thrombosis (Leiden Thrombophilia Study). *Blood*. 1995 May 15;85(10):2756-61. PMID: 7742536.
 106. Ehrenforth S, Ludwig G, Klinke S, Krause M, Scharrer I, Nowak-Gottl U. The prothrombin 20210 A allele is frequently coinherited in young carriers of the factor V Arg 506 to Gln mutation with venous thrombophilia. *Blood*. 1998 Mar 15;91(6):2209-10. PMID: 9490711.