



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία
**"ΕΙΔΗ ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑΣ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΥΤΩΝ"**

υπό

Σαββάινα Αναγνώστου

Τεχνολόγου Ιατρικών Εργαστηρίων

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

Λάρισα, 2023

Επιβλέπων:

Αλέξανδρος Τσελέπης

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. Α. Τσελέπης,
2. Σ.Τσιάρα
3. Κ. Καλαντζή

Αναπληρωματικό μέλος:

Ε. Λεκού

Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:

Types of thrombophilia and their laboratory investigation

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ.Αλέξανδρο Τσελέπη για την πολύτιμη βοήθειά του στην εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας, καθώς χωρίς αυτήν δεν θα ήταν εφικτή η συγγραφή της παρούσας εργασίας.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή και διευθυντή του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών κ. Μιλτιάδη Ματσάγκα, καθώς και όλους τους καθηγητές του μεταπτυχιακού αυτού προγράμματος για τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέδωσαν.

Περίληψη

Με τον όρο θρομβοφιλία αναφερόμαστε σε μία κατάσταση κατά την οποία ένα άτομο εμφανίζει τάση για θρόμβωση. Ο όρος θρόμβωση αναφέρεται στην απόφραξη της φλεβικής ή αρτηριακής κυκλοφορίας και εκδηλώνεται ως εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, πνευμονική εμβολή, ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο ή έμφραγμα του μυοκαρδίου. Τα αίτια της θρομβοφιλίας μπορεί να είναι κληρονομικά, επίκτητα ή συνδυασμός των δύο. Στις μέρες μας υπάρχουν αρκετές εργαστηριακές τεχνικές με τις οποίες μπορεί να διερευνηθεί η ύπαρξη παραγόντων θρομβοφιλίας σε ένα άτομο.

Λέξεις- Κλειδιά:

Θρόμβωση

Θρομβοφιλία

Μετάλλαξη V Leiden

Πρωτεΐνη S

Πρωτεΐνη C

Υπερομοκυστεϊναιμία

Abstract

Thrombophilia refers to a condition in which a person has a tendency to clot. The term thrombosis refers to the blockage of venous or arterial circulation and manifests as deep vein thrombosis, pulmonary embolism, ischemic stroke or myocardial infarction. The causes of thrombophilia can be hereditary, acquired, or a combination of the two. Nowadays there are several laboratory techniques that can be used to investigate the presence of thrombophilia factors in a person.

Key words:

Thrombosis

Thrombophilia

V Leiden mutation

Protein S

Protein C

Hyperhomocysteinemia

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή	8
A. ΘΡΟΒΟΦΙΛΙΑ: ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΙΔΗ	9
1. Τι είναι η θρομβοφιλία.....	9
2. Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση θρόμβωσης.....	11
2.1 Κληρονομικοί παράγοντες θρόμβωσης.....	12
2.1.1 Μετάλλαξη FV Leiden – Αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C	12 13
2.1.2. Μετάλλαξη Προθρομβίνης G20210A.....	13
2.1.3. Έλλειψη πρωτεΐνης S και C	15
2.1.4. Έλλειψη αντιθρομβίνης	15
2.1.5. Υπερομοκυστεϊναιμία – Μετάλλαξη MTCHFR.....	17
2.2 Επίκτητη θρομβοφιλία	17
2.2.1. Ηλικία.....	17
2.2.2. Παχυσαρκία.....	18
2.2.3. Φλεγμονώδη νοσήματα – COVID 19	21
2.2.4. Θρόμβωση σχετιζόμενη με τον καρκίνο (Cancer Associated Thrombosis – CAT)	
2.2.5. Μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα.....	22
2.2.6. Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο	23
2.2.7. Κύηση.....	25
2.2.8. Διάχυτη Ενδαγγειακή Πήξη	26
B. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑΣ	28
1. Ποιοι ασθενείς πρέπει να ελέγχονται για θρόμβωση.....	28
2. Εργαστηριακός έλεγχος για την ύπαρξη θρομβοφιλίας.....	30
2.1. Βασικός έλεγχος θρομβοφιλίας.....	30
2.1.1. Χρόνος προθρομβίνης	30
2.1.2. Χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (activated partial thromboplastin time – aPTT)	30
2.1.3. Χρόνος θρομβίνης (thrombin clotting time – TCT).....	31

2.1.4. Δ- διμερή (D-dimers)	31
2.1.5. Ποσοτικός προσδιορισμός ινωδογόνου	32
2.2. Ειδικές εξετάσεις θρομβοφιλίας	33
2.2.1. Παράγοντας V Leiden (FVL)	33
2.2.2. Εργαστηριακή διερεύνηση έλλειψης πρωτεΐνης S και C.....	35
2.2.3. Μέτρηση επιπέδων αντιθρομβίνης	38
2.2.4. Μέτρηση ομοκυστεΐνης ορού	42
2.2.5. Αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο.....	42
Βιβλιογραφία	44

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο σκοπός της παρούσας συστηματικής ανασκόπησης είναι να γίνει αναφορά σε όλα τα πιθανά είδη θρομβοφιλίας (κληρονομικά και επίκτητα), καθώς και να διερευνήσει τις εργαστηριακές τεχνικές που υπάρχουν σήμερα για την εύρεση της θρομβοφιλίας και την αποτελεσματικότητα των μεθόδων αυτών.

Ειδικότερα:

Να αξιολογηθούν οι βιβλιογραφικές αναφορές πάνω στο θέμα.

Να συλλεχθούν οι έρευνες που αφορούν την εργαστηριακή διερεύνηση της θρομβοφιλίας.

Στο πρώτο μέρος αναφέρονται αναλυτικά τα είδη της θρομβοφιλίας, ενώ στο δεύτερο αναλύονται οι εργαστηριακές μέθοδοι που υπάρχουν σχετικά με την εργαστηριακή τους διερεύνηση.

A. ΘΡΟΒΟΦΙΛΙΑ: ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΙΔΗ

1. Τι είναι η θρομβοφιλία

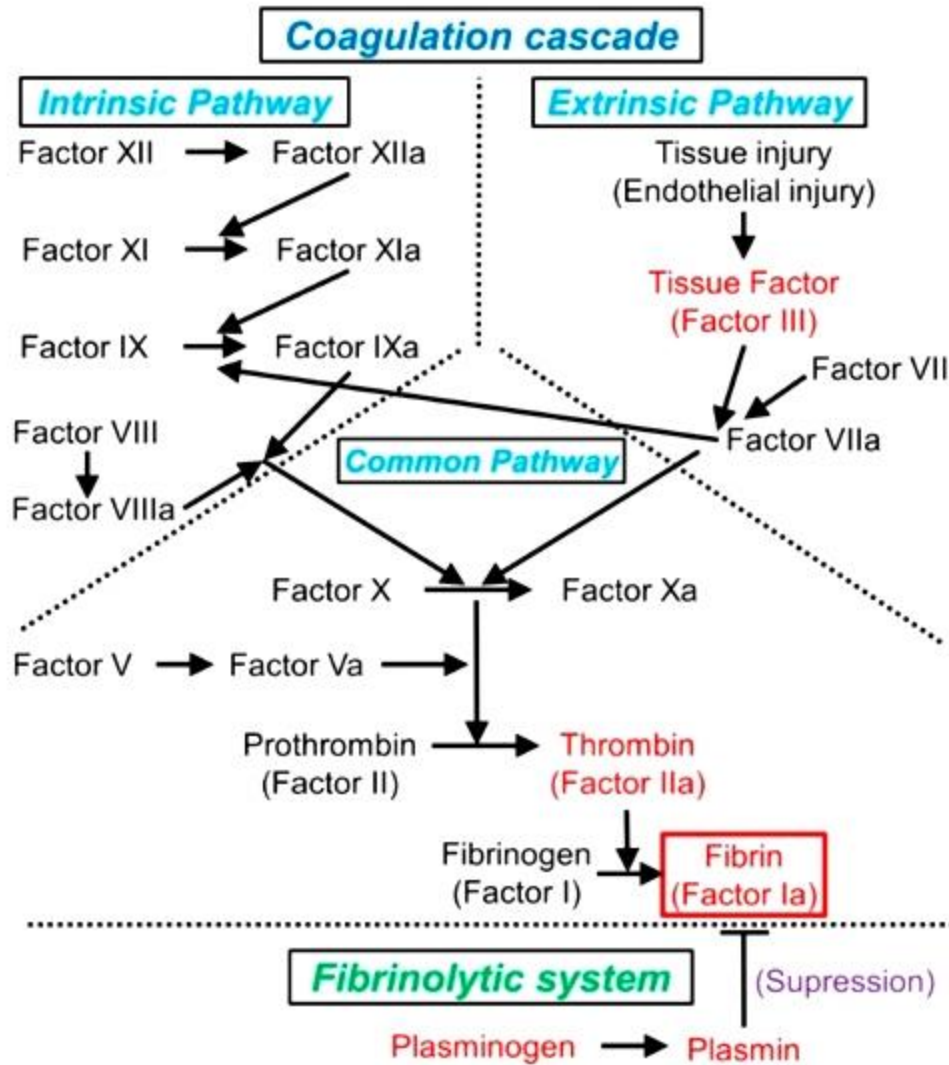
Ο όρος θρομβοφιλία είναι ένας περιγραφικός όρος (θρόμβος + φιλία), ο οποίος περιλαμβάνει ένα σύνολο διαφορετικών νοσημάτων, τα οποία έχουν ως κοινό στοιχείο ότι προκαλούν ή προδιαθέτουν σε θρόμβωση. Εκδηλώνεται συνήθως ως εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, πνευμονική εμβολή, ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο ή έμφραγμα του μυοκαρδίου. Οι παράγοντες οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν τη θρόμβωση είναι κληρονομικοί, επίκτητοι ή συνδυασμός και των δύο. Επομένως, συνιστά ένα πολυγονιδιακό και πολυπαραγοντικό σύνδρομο [1]. Ωστόσο οι παράγοντες αυτοί τις περισσότερες φορές δεν δημιουργούν θρόμβωση παρά μόνο αν συνυπάρχουν και άλλοι επιπρόσθετοι, παροδικοί, επίκτητοι παράγοντες κινδύνου [2].

Ήδη ο Virchow από το 19^ο αιώνα διαπίστωσε ότι τρία είναι τα στοιχεία που αλληλεπιδρούν για να οδηγήσουν σε θρόμβωση: η υπερπηκτικότητα, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και η στάση του αίματος (τριάδα του Virchow).

Η θρόμβωση μπορεί να είναι φλεβική, η οποία συνδέεται με την στάση και την υπερπηκτικότητα ή αρτηριακή που σχετίζεται κυρίως με την αυξημένη δραστητικότητα των αιμοπεταλίων και τη βλάβη του τοιχώματος του αγγείου (πίνακας 1).

Εν τούτοις, σύγχρονες μελέτες αμφισβητούν αυτόν τον διαχωρισμό και εστιάζουν στους πολλούς κοινούς παράγοντες κινδύνου, που μοιράζονται τα δύο αυτά είδη θρόμβωσης.

Στη διαδικασία δημιουργίας του θρόμβου απαιτείται η συνέργεια τόσο κληρονομικών όσο και επίκτητων παραγόντων και είναι απαραίτητη η ύπαρξη αιμοπεταλίων και ο μηχανισμός ενεργοποίησης της πήξης (εικόνα 1).



EIKONA 1: Μηχανισμός ενεργοποίησης της πήξης

<https://www.xn--mxaafdcskbbdjf5cbbqjk8acaf.gr/2020/10/02/%CE%B7-%CF%80%CE%B7%CE%BE%CE%B7-%CF%84%CE%BF%CF%85-%CE%B1%CE%B9%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%BF%CF%83-%CE%B7-%CE%B1%CE%B9%CE%BC%CE%BF%CF%83%CF%84%CE%B1%CF%83%CE%B7-%CE%B7-%CE%B8%CF%81%CE%BF%CE%BC/>

2.Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση θρόμβωσης

Οι παράγοντες κινδύνου που συμβάλλουν στην εμφάνιση θρόμβωσης μπορεί να είναι:

- α) Κληρονομικοί, όπως η μετάλλαξη FV Leiden, η μετάλλαξη προθρομβίνης, η έλλειψη των πρωτεϊνών S και C, η έλλειψη αντιθρομβίνης κλπ.
- β) Επίκτητοι παράγοντες, όπως η έλλειψη άσκησης, η παχυσαρκία, το κάπνισμα, διάφορες λοιμώξεις, οι κακοήθειες, το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.
- γ) Η υπερλιπιδαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης, το μεταβολικό σύνδρομο.
- δ) Τα NETs, όπου νεότερες μελέτες τα συσχετίζουν με την ύπαρξη θρόμβωσης (συσχέτιση λοιμώξεων με θρομβώσεις) [1].

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Μείζονες παράγοντες κινδύνου για θρόμβωση [3]

ΦΛΕΒΙΚΗ ΘΡΟΜΒΩΣΗ	ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΘΡΟΜΒΩΣΗ
Ακινησία	Κάπνισμα
Παχυσαρκία	Άρρεν φύλο
Λήψη από του στόματος αντισυλληπτικών	Υπέρταση
Τραύμα/χειρουργική επέμβαση	Οικογενειακό ιστορικό
Κληρονομικοί παράγοντες (γονίδια)	Υπερλιπιδαιμία
Κύηση	Σακχαρώδης Διαβήτης
Κακοήθεια	Αυξημένο ινωδογόνο
Μεγάλη ηλικία	Μεγάλη ηλικία
Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο	Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο

2.1. Κληρονομικοί παράγοντες θρόμβωσης

2.1.1. Μετάλλαξη FV Leiden – Αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C

Η ενεργοποιημένη μορφή της πρωτεΐνης C (APC – activated PC) είναι ένας φυσικός αναστολέας της πήξης που διασπά τους ενεργοποιημένους παράγοντες VIIIa και Va. Έτσι, οι παράγοντες αυτοί δεν συμμετέχουν στην ενεργοποίηση του X σε Xa και της προθρομβίνης σε θρομβίνη. Παρατηρήθηκε σε ορισμένα άτομα το φαινόμενο της αντίστασης στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APCR – activated protein resistance), δηλαδή τα άτομα αυτά δεν επιμηκύνουν το APTT με την προσθήκη APC. Η APC μπορεί να είναι κληρονομούμενη ή επίκτητη. Η επίκτητη APC παρατηρείται κυρίως σε καταστάσεις όπως: κύηση, αντισυλληπτικά, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο κ.ά. Η κληρονομούμενη APC ενοχοποιείται για ένα πολύ μεγάλο ποσοστό φλεβικών θρομβώσεων και είναι μία ανωμαλία που προκύπτει από μία μετάλλαξη γνωστή ως παράγοντας V-Leiden [1].

Η μετάλλαξη αυτή πραγματοποιείται στον παράγοντα V της πήξης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία υπερπηκτικότητας. Πήρε το όνομά της από την πόλη Leiden της Δανίας, όπου και ανακαλύφθηκε το 1994..

Αποτελεί την πιο συχνή θρομβοφιλική μετάλλαξη στην Ευρώπη με το 5 – 8% των Καυκάσιων να φέρει τη μετάλλαξη, ενώ είναι πιο σπάνια στους Αμερικανούς. Δύο είναι οι γνωστές μεταλλάξεις: η G1691A και η R2. Σε περίπτωση ετεροζυγωτίας ο θρομβωτικός κίνδυνος αυξάνεται κατά 4-8%, ενώ στους ομοζυγώτες κυμαίνεται από 20-80% (ωστόσο μόνο το 1% των φορέων είναι ομόζυγοι).

Η παρουσία της μετάλλαξης αυτής παρεμποδίζει τη σύνδεση της πρωτεΐνης C με τον παράγοντα V, έχοντας ως αποτέλεσμα να μην μπορεί να απενεργοποιηθεί επαρκώς ο παράγοντας V και να δημιουργείται υπερπαραγωγή θρομβίνης που οδηγεί σε υπερπηκτικότητα.

Στο κανονικό σύστημα πήξης, η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC) λειτουργεί ως φυσικό αντιπηκτικό απενεργοποιώντας τον πηκτικό παράγοντα Va και τον παράγοντα VIIIa παρουσία πρωτεΐνης S. Η αρχική διάσπαση APC στη θέση p.Arg534 του παράγοντα V απαιτείται για τη βέλτιστη έκθεση του παράγοντα V στην επακόλουθη διάσπαση. Στη συνέχεια, λαμβάνει χώρα μια ταχεία αδρανοποίηση του παράγοντα V από τη διάσπαση APC στις θέσεις p.Arg334 και p.Arg707 (προηγούμενως αναφερόμενες ως θέσεις p.Arg306 και p.Arg679 αντίστοιχα). Ο παράγοντας V Leiden

εξαλείφει την πρώτη θέση διάσπασης APC στο p.Arg534. Ως αποτέλεσμα, ο παράγοντας V αδρανοποιείται σε μικρότερο βαθμό από την κανονική πρωτεΐνη και παραμένει περισσότερο στην κυκλοφορία, οδηγώντας σε περισσότερη παραγωγή θρομβίνης. Ο παράγοντας V Leiden βρίσκεται στο 90–95% όλων των ασθενών με αντίσταση APC [4].

2.1.2. Μετάλλαξη Προθρομβίνης G20210A

Η μετάλλαξη της προθρομβίνης αποτελεί τον δεύτερο πιο συχνό θρομβοφιλικό παράγοντα. Προκαλείται από αντικατάσταση της γουανίνης (G) από αδερίνη (A) στη νουκλεοτιδική θέση 20210 του μορίου της προθρομβίνης. Η μετάλλαξη αυτή οδηγεί συνήθως, αν και όχι πάντα, σε αύξηση των επιπέδων της προθρομβίνης, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε θρομβώσεις. Εκδηλώνεται με φλεβική θρόμβωση και ιδιαίτερα με εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (Deep Vein Thrombosis – DVT) [1].

Περιγράφηκε πρώτη φορά το 1996. Αφορά περίπου το 2% των Καυκάσιων και ανευρίσκεται στο 3 – 17% των ασθενών με DVT.

Η μετάλλαξη αυτή, όπως ήδη αναφέρθηκε παραπάνω, βρέθηκε ότι αυξάνει τα επίπεδα της προθρομβίνης και ταυτόχρονα οδηγεί σε αυξημένη έκθεση των miRNA στην προθρομβίνη. Τα αυξημένα επίπεδα προθρομβίνης επιπροσθέτως προκαλούν αύξηση του TAFI (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor), παράγοντας που αναστέλλει την ινωδόλυση και επομένως επηρεάζει την ικανότητα του οργανισμού για λύση των θρόμβων. Το αποτέλεσμα είναι αυξημένη προδιάθεση για DVT.

Η μετάλλαξη αυτή κατά κύριο λόγο προκαλεί αύξηση του κινδύνου για φλεβικές θρομβώσεις και όχι αρτηριακές. Σε άτομα με ετεροζυγωτία ο θρομβωτικός κίνδυνος αυξάνει κατά 2 με 4 φορές, ενώ σε ομοζυγώτες ο κίνδυνος φαίνεται να αυξάνει πάνω από 8 φορές. Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι σε γυναίκες που λαμβάνουν οιστρογονικά αντισυλληπτικά και είναι φορείς της μετάλλαξης ο κίνδυνος εκδήλωσης DVT αυξάνει κατά 15 φορές [5-8].

2.1.3. Έλλειψη πρωτεΐνης S και C

Η έλλειψη των πρωτεϊνών αυτών μπορεί να είναι κληρονομική, αλλά και επίκτητη (ηπατοπάθειες, κύηση, λοχεία, λήψη κουμαρινικών, λήψη οιστρογόνων). Επιπροσθέτως, αξίζει να αναφερθεί ότι στους ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο τα επίπεδα των πρωτεϊνών αυτών εμφανίζονται μειωμένα.

A) Έλλειψη πρωτεΐνης S:

Ανακαλύφθηκε στο Seattle το 1979 και σχετίζεται κυρίως με φλεβικές θρομβώσεις. Στην Ευρώπη είναι πολύ σπάνια (0,03%) και ανευρίσκεται στο 3-7% των ασθενών με DVT. Πολύ σπάνια εμφανίζεται στην ομόζυγη μορφή της, η οποία εκδηλώνεται στη νεογνική ηλικία ως purpura fulminans και τα συμπτώματα είναι θρόμβωση των μικρών αγγείων και η δερματική νέκρωση.

Υπάρχουν δύο μορφές της πρωτεΐνης αυτής: η ολική και η ελεύθερη. Ο βασικός της ρόλος είναι να δρα ως συμπαράγοντας της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C (APC), επιτρέποντάς της να δράσει στους στόχους της, που είναι ο ενεργοποιημένος παράγοντας V (FVa) και ο ενεργοποιημένος παράγοντας VII (FVIIa).

Κληρονομείται με τον αυτοσωμικό κυρίαρχο τύπο και έχει τρεις διαφορετικούς τύπους: Ο τύπος I όπου τα επίπεδα τόσο της ολικής όσο και της ελεύθερης πρωτεΐνης S μειώνονται ποσοτικά, ο τύπος II όπου υπάρχει ελάττωση της λειτουργικότητας της πρωτεΐνης και ο τύπος III όπου η μείωση αφορά μόνο τα επίπεδα της ελεύθερης πρωτεΐνης S [1,3].

B) Έλλειψη πρωτεΐνης C :

Παρουσιάζεται το 0,2-0,5% του γενικού πληθυσμού. Στους ασθενείς με VTE ανευρίσκεται σε ποσοστό 3-5%.

Είναι μια βιταμινω -K εξαρτώμενη γλυκοπρωτεΐνη, κωδικοποιείται από το γονίδιο PROC (protein C gene) στη θέση 2q13-14, παράγεται μόνο στα ηπατικά κύτταρα και είναι ένας από τους σημαντικότερους φυσικούς αναστολείς της πήξης. Η ελάττωσή της προκαλεί αυξημένη ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης και εμφάνιση θρόμβωσης. Η ανεπάρκεια της PC μπορεί να είναι κληρονομική, αλλά και επίκτητη (ηπατοπάθειες, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, χορήγηση αντιπηκτικών κ.λπ.) [1].

Υπάρχουν δύο τύποι έλλειψης της πρωτεΐνης αυτής: Ο τύπος I ο οποίος χαρακτηρίζεται από ποσοτική ελάττωση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης C στο πλάσμα. Σε ασθενείς με ετεροζυγωτία τα επίπεδα και η λειτουργικότητα της πρωτεΐνης C εμφανίζονται μειωμένα κατά 50% σε σχέση με φυσιολογικά άτομα. Είναι χαρακτηριστικό πως παρατηρείται μια μεγάλη φαινοτυπική ποικιλία σε οικογένειες με ετεροζυγωτία, δηλαδή κάποιες οικογένειες εμφανίζουν σοβαρή θρομβοφιλία και άλλες όχι. Ο τύπος II είναι σπανιότερος και χαρακτηρίζεται από ελαττωμένη δραστηριότητα της πρωτεΐνης C, αλλά φυσιολογικά επίπεδα αυτής.

2.1.4. Έλλειψη αντιθρομβίνης

Η αντιθρομβίνη (antithrombin - AT) είναι ο ενεργοποιητής της θρομβίνης και του παράγοντα Χα και ο ισχυρότερος ανασταλτής της πήξης. Οι κληρονομικές ανεπάρκειες της αντιθρομβίνης είναι ασυνήθιστες με επίπτωση στο γενικό πληθυσμό μεταξύ 1/500 και 1/5000. Μπορεί να είναι ποσοτική έλλειψη (τύπος I) ή ποιοτική έλλειψη (τύπος II). Ο τύπος II υποδιαιρείται στον πιο κοινό αλλά λιγότερο θρομβογόνο τύπο IIb και τον λιγότερο κοινό αλλά περισσότερο θρομβογόνο τύπο IIa.

Η μετάλλαξη γίνεται στο γονίδιο SERPINC1 και είναι αυτοσωμική κυρίαρχη. Η ομοζυγωτία είναι ασύμβατη με τη ζωή.

Η επίκτητη ανεπάρκεια της αντιθρομβίνης μπορεί να οφείλεται σε ηπατική ή νεφρική ανεπάρκεια, σε διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, σε οξεία θρόμβωση, σε τραύμα ή στη χορήγηση διαφόρων φαρμάκων.

Σχετίζεται με φλεβικές αλλά και σπανιότερα με αρτηριακές θρομβώσεις καθώς και με καθ' ἑξίν αποβολές. Μπορεί επίσης να προκαλέσει θρομβώσεις ακόμα και σε ασυνήθιστες θέσεις, όπως π.χ. στην κάτω κοίλη φλέβα.

Η μελέτη της ανεπάρκειας της αντιθρομβίνης έχει οδηγήσει σε ενδιαφέροντα και μη αναμενόμενα αποτελέσματα που μπορεί να συσχετίζονται με άλλα είδη θρομβοφιλίας και γενετικές διαταραχές. Μοριακές αναλύσεις στο γονίδιο SERPINC1, το οποίο κωδικοποιεί την αντιθρομβίνη προς το παρόν περιορίζονται σε περιστατικά με επιβεβαιωμένη οικογενή ανεπάρκεια αντιθρομβίνης. Σχεδόν το 80% των ασθενών με ανεπάρκεια αντιθρομβίνης παρουσιάζει γονιδιακή βλάβη στο SERPINC1. Ωστόσο, και άλλα γονίδια ή μηχανισμοί ενδεχομένως να σχετίζονται με την ανεπάρκεια αυτή και επιπλέον στο 10 – 15% δεν ανευρίσκεται κανένα αίτιο [5-8].

2.1.5. Υπερομοκυστεϊναιμία – Μετάλλαξη MTCHFR

Η ομοκυστεΐνη είναι ένα αμινοξύ που προέρχεται από την απομεθυλίωση του βασικού αμινοξέος μεθειονίνη. Η αντίδραση αυτή είναι αμφίδρομα δυναμική, δηλαδή η ομοκυστεΐνη με επανамεθυλίωση μετατρέπεται ξανά σε μεθειονίνη, με κύριο δότη μεθυλικών ομάδων το 5-μεθυλ-τετραϋδροφυλλικό οξύ, αλλά και την παρουσία της βιταμίνης B12 ως συνένζυμο [1] καθώς και των βιταμινών B6 και φυλλικού οξέος [9]. Η ανεπάρκεια των βιταμινών αυτών σε ένα άτομο δεν επιτρέπει την ανακύκλωση της ομοκυστεΐνης στο αίμα, με αποτέλεσμα τη συσσώρευσή της στο αίμα. Επιπροσθέτως, για να είναι επαρκής η ανακύκλωση αυτή είναι απαραίτητη η ύπαρξη ενός ενζύμου που

ονομάζεται αναγωγή του μεθυλ-τετραϋδροφυλλικού οξέος (MTHCFR, methylenetetrahydrofolate reductase). Τα αυξημένα επίπεδα της ομοκυστεΐνης σχετίζονται σε μερικούς ανθρώπους με την ύπαρξη γενετικής προδιάθεσης. Άτομα με ήπια αύξηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης ίσως φέρουν μια μετάλλαξη στο γονίδιο MTCHFR, το οποίο κωδικοποιεί την παραγωγή ενός ενζύμου που ρυθμίζει τα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο σώμα. Η πιο κοινή μετάλλαξη είναι η MTCHFR C677T και είναι συχνή σε ορισμένους πληθυσμούς. Στις ΗΠΑ περίπου το 20 με 40% των λευκών και των ισπανόφωνων είναι ετεροζυγώτες στο γονίδιο αυτό, ενώ είναι λιγότερο συχνό στο μαύρο πληθυσμό (1 – 2%). Στη Β. Αμερική, στην Ευρώπη και στην Αυστραλία το 8 με 20% του πληθυσμού είναι ομοζυγώτες. Σε αυτούς παρουσιάζεται μόνο ένα 30% φυσιολογικής ενζυμικής λειτουργία. Η ύπαρξη του γονιδίου δεν οδηγεί απαραίτητα σε υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης ειδικά σε πληθυσμούς με διατροφή πλούσια σε φυλλικό οξύ.

Κληρονομικές μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό μπορεί να προκαλέσουν την παραγωγή του ενζύμου με μειωμένη δραστηριότητα και συνεπώς στην αύξηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης στο αίμα. Ήπια ως μέτρια αύξηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης είναι συχνή, ενώ είναι σπάνια τα εξαιρετικά υψηλά επίπεδα [9].

Οι κίνδυνοι που υπάρχουν από τα υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης είναι:

Α)Καρδιοαγγειακές παθήσεις, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε στεφανιαία νόσο, έμφραγμα του μυοκαρδίου και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο.

Β)Θρομβώσεις στα αγγεία, που μπορεί να οδηγήσουν σε φλεβική θρομβοεμβολική νόσο (εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση ή πνευμονική εμβολή).

Γ)Μαιευτικές επιπλοκές, όπως προεκλαμψία, αποκόλληση πλακούντα και καθ' έξιν αποβολές. Ωστόσο, φαίνεται πως τα υψηλά επίπεδα της ομοκυστεΐνης ίσως είναι το αποτέλεσμα και όχι η αιτία αυτών των επιπλοκών.

Δεν υπάρχει ένδειξη για έλεγχο της ύπαρξης του γονιδίου αυτού σε έλεγχο ρουτίνας σε καμία ομάδα ασθενών.

Στις έγκυες γυναίκες συνιστάται η πρόσληψη φυλλικού οξέος ανεξαρτήτως της ύπαρξης ή όχι του γονιδίου για την πρόληψη ανωμαλιών του νωτιαίου σωλήνα στο έμβρυο [9].

2.2 Επίκτητη θρομβοφιλία

2.2.1. Ηλικία

Ο κίνδυνος θρόμβωσης αυξάνεται με την ηλικία και σχετίζεται με την ταυτόχρονη ενίσχυση της ενεργοποίησης της πήξης, την σταδιακή ανάπτυξη μιας προθρομβωτικής κατάστασης. Αυτό είναι φανερό από τα αυξημένα επίπεδα πεπτιδίων ενεργοποίησης της πήξης στους ηλικιωμένους, καθώς και από τη μειωμένη δραστηριότητα του ινωδολυτικού συστήματος. Επιπροσθέτως, με την πρόοδο της ηλικίας αυξάνεται η συχνότητα εμφάνισης συννοσηροτήτων, οι οποίες από μόνες τους μπορεί να σχετίζονται με αύξηση του κινδύνου θρόμβωσης. Είναι επομένως απαραίτητες οι στρατηγικές αντιμετώπισης για την θεραπεία και την πρόληψη της VTE και των επιπλοκών αυτής που μπορεί να αποβούν θανατηφόρες, όπως είναι η πνευμονική εμβολή [10].

Πάνω από τους μισούς ασθενείς που παρουσιάζουν θρόμβωση σε νεαρή ηλικία και ιδιοπαθές επεισόδιο θρόμβωσης έχουν κληρονομική θρομβοφιλία. Η εμφάνιση θρόμβωσης στην παιδική και εφηβική ηλικία είναι σπάνια. Η επίπτωση του πρώτου επεισοδίου VTE σε πληθυσμό ηλικίας 25 – 35 ετών είναι 30 περιπτώσεις/100.000 άτομα, μεταξύ 50 – 59 ετών είναι 62/100.000 άτομα και μεταξύ 70 – 79 ετών είναι 300 – 500 περιπτώσεις/100.000, ενώ αυξάνει κατακόρυφα μετά την ηλικία των 80 ετών. Δεν είναι γνωστό αν η αύξηση του κινδύνου σχετίζεται μόνο με την ηλικία ή παίζουν ρόλο άλλοι παράγοντες, όπως ο περιορισμός της κινητικότητας, η ελάττωση του μυϊκού τόνου και οι διάφορες συννοσηρότητες που σχετίζονται με την μεγάλη ηλικία [2].

2.2.2. Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία αποτελεί ανεξάρτητο μέτριας βαρύτητας παράγοντα κινδύνου για VTE σε άνδρες και γυναίκες. Ο κίνδυνος αυξάνει με την αύξηση του δείκτη μάζας σώματος (body mass index – BMI) και δρα αθροιστικά με άλλους παράγοντες κινδύνου. Αυξημένο BMI κατά την εμφάνιση του πρώτου επεισοδίου VTE φαίνεται να σχετίζεται με κίνδυνο υποτροπής [2].

Κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες καταδεικνύουν μία ισχυρή σύνδεση μεταξύ παχυσαρκίας και θρόμβωσης, που σχετίζεται με αυξημένη έκφραση των προθρομβωτικών μορίων του ενεργοποιημένου πλασμινογόνου του αναστολέα 1 και του ιστικού παράγοντα (tissue factor - TF), καθώς και με αυξημένη ενεργοποίηση των

αιμοπεταλίων. Οι καρδιοαγγειακές παθήσεις και οι διαταραχές που σχετίζονται με το μεταβολικό σύνδρομο, συμπεριλαμβανομένης της παχυσαρκίας, της αντίστασης στην ινσουλίνη, του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και της ηπατικής στεάτωσης περιλαμβάνουν φλεγμονή που προκαλείται από τη διήθηση και την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων, ιδιαίτερα των μακροφάγων στο λιπώδη ιστό.

Αν και ο ιστικός παράγοντας έχει σαφώς συνδεθεί με μία προπνηκτική κατάσταση στην παχυσαρκία, τα πρόσφατα γενετικά και φαρμακολογικά στοιχεία δείχνουν ότι η σηματοδότηση TF μέσω υποδοχέων ενεργοποιούμενων από πρωτεάση συζευγμένων με πρωτεΐνη G (protease activated receptor -1,-2, PAR1, PAR2) οδηγεί σε μεταβολικό σύνδρομο.

Η παχυσαρκία ιδιαίτερα η κεντρική (σπλαχνική) σχετίζεται με σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα συμπεριλαμβανομένης και της αυξημένης επίπτωσης και του επιπολασμού των αρτηριακών και φλεβικών θρομβώσεων. Οι διάφοροι μηχανισμοί με τους οποίους η παχυσαρκία μπορεί να προκαλέσει θρόμβωση περιλαμβάνουν τη δράση των λεγόμενων λιποκυτταροκινών από τον λιπώδη ιστό, π.χ. λεπτίνη και αδιπονεκτίνη, αυξημένη δραστηριότητα του καταρράκτη της πήξης και μειωμένη δραστηριότητα του ινωδολυτικού συστήματος, αυξημένη φλεγμονή, οξειδωτικό στρες και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, διαταραχές των λιπιδίων και της ανοχής στη γλυκόζη. Όλοι αυτοί οι προθρομβωτικοί παράγοντες βελτιώνονται με την απώλεια βάρους [11,12].

2.2.3. Φλεγμονώδη νοσήματα – COVID 19

Είναι ήδη γνωστό ότι η θρόμβωση είναι μια δυνητικά θανατηφόρα επιπλοκή των ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού συστήματος. Ειδικότερα κατά τη διάρκεια της πανδημίας με τη νόσο COVID-19 έχει μελετηθεί ιδιαιτέρως. Κατά τη διάρκεια ενεργών λοιμώξεων με ιούς του αναπνευστικού, συμπεριλαμβανομένης της γρίπης και του οξέος αναπνευστικού συνδρόμου του κορωνοϊού, που επιμένει ακόμα και μετά την απομάκρυνση του ιού, έχει παρατηρηθεί αυξημένος κίνδυνος εμφράγματος του μυοκαρδίου. Αυτές οι κλινικές παρατηρήσεις υποδηλώνουν μια συνεχή αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των αναπνευστικών ιών με το σύστημα πήξης και το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή, η οποία ξεκινάει τη στιγμή της μόλυνσης με τον ιό, αλλά είναι δυνατόν να συνεχιστεί ακόμη και πολύ μετά την απομάκρυνση αυτού.

Θρόμβωση και COVID-19

Ο ιός SARS-Cov2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) οδήγησε σε παγκόσμια πανδημία στις αρχές του 2020. Ο ΠΟΥ όρισε ως COVID-19 την επίσημη ονομασία των ασθενειών που προκαλούνται από τον ιό SARS-Cov 2. Πρώτη φορά αναφέρθηκε στην πόλη Γιουχάν της Κίνας στα τέλη του 2019. Η COVID-19 είναι πρωτίστως μία ασθένεια του αναπνευστικού συστήματος, η οποία σε σοβαρές περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσει σε πνευμονία ή σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS). Εν τούτοις, μια σειρά μη αναπνευστικών εκδηλώσεων έχουν επίσης παρατηρηθεί σε ασθενείς με COVID-19, μεταξύ των οποίων είναι τα φλεβικά και αρτηριακά θρομβοεμβολικά επεισόδια.

Τέτοιες θρομβοεμβολικές επιπλοκές έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με COVID-19 διαφόρων ομάδων. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι διάφορα όργανα επηρεάζονται από την επαγόμενη από τον COVID-19 πήξη, συμπεριλαμβανομένων των αγγείων, των πνευμόνων, των ποδιών, του σπλήνα, της καρδιάς και του εγκεφάλου. Αυτές οι επιπλοκές συνδέονται συνήθως με πολυοργανική ανεπάρκεια και υψηλή θνησιμότητα σε σοβαρές περιπτώσεις της νόσου [13,14].

Θρόμβωση και HIV

Η λοίμωξη από τον ιό ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus-HIV) από μία οξεία θανατηφόρα ασθένεια έχει μετατραπεί σε χρόνια, η οποία αντιμετωπίζεται πλέον με αντιρετροϊκή θεραπεία. Επομένως, ο πληθυσμός των ατόμων που ζουν με HIV (population of people living with HIV- PLWH) συνεχίζει να αυξάνεται. Η λοίμωξη με τον ιό HIV έχει ως αποτέλεσμα την απορρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος, όπου τα κύτταρα CD4+4 κύτταρα εξαπλώνονται ιδιαίτερα στον γαστρεντερικό σωλήνα, διαταράσσοντας το επιθήλιο του εντέρου. Η μακροχρόνια λοίμωξη με HIV σχετίζεται με χρόνια φλεγμονή μέσω άμεσων μηχανισμών, οι οποίοι προκαλούνται από ιική αντιγραφή ή σύνθεση σε ικές πρωτεΐνες και έμμεσων μηχανισμών που προκύπτουν από αυξημένη μετατόπιση μικροβιακών προϊόντων από το έντερο ή την έκθεση σε αντιρετροϊκή θεραπεία. Η χρόνια φλεγμονή (όπως χαρακτηρίζεται από την Ιντερλευκίνη-6 και την CRP (C – αντιδρώσα πρωτεΐνη) στον PLWH προάγει την δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αθηροσκλήρυνση. Ο PLWH εμφανίζει σημαντικά αυξημένα ποσοστά καρδιαγγειακών παθήσεων, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο. Επιπροσθέτως, οι ασθενείς με HIV παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα Δ- διμερών και

εμφανίζουν δύο ως δέκα φορές αυξημένο κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό. Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές κλινικές δοκιμές, οι οποίες ανέλυσαν την επίδραση διαφόρων αντιθρομβωτικών παραγόντων στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, την πήξη, τη φλεγμονή και την ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων. Παρότι ορισμένοι δείκτες για την πήξη μειώθηκαν, οι περισσότεροι παράγοντες απέτυχαν να μειώσουν τους φλεγμονώδεις δείκτες στον πληθυσμό των ατόμων με HIV. Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για την κατανόηση των υποκείμενων μηχανισμών, οι οποίοι οδηγούν σε φλεγμονή στα άτομα με HIV, έτσι ώστε να βρεθούν καλύτερες θεραπείες για την επίτευξη της μείωσης της χρόνιας φλεγμονής στα άτομα αυτά. Στόχος των θεραπειών αυτών θα είναι η μείωση των ποσοστών αθηροσκλήρυνσης, καρδιαγγειακής νόσου και θρόμβωσης στους ασθενείς με HIV και επομένως η μείωση της συνολικής θνησιμότητας στον πληθυσμό αυτό [15].

Φλεγμονή, ενδοθήλιο και ανοσοθρόμβωση: Ο ρόλος των NETs και των MPs

Η θρόμβωση κάτω από ορισμένες συνθήκες έχει σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική άμυνα. Το φαινόμενο αυτό λέγεται ανοσοθρόμβωση και υποστηρίζεται από κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος (ουδετερόφιλα, μακροφάγα) και από συγκεκριμένα μόρια που σχετίζονται με τη θρόμβωση: τα NETs (Neutrophil Extracellular Traps- NETs, Ουδετερόφιλες Εξωκυτταρικές παγίδες) και τα μικροκυστίδια (Microparticles – MP, μικροκυστίδια). Η ανοσοθρόμβωση προάγει την αναγνώριση και καταστροφή των παθογόνων, προστατεύοντας τον ξενιστή χωρίς να του προκαλεί σημαντικές βλάβες. Εν τούτοις, σε περιπτώσεις που παραμένει ανεξέλεγκτη ενισχύει τις παθολογίες που σχετίζονται με τη θρόμβωση. Τα MPs είναι μικρού μεγέθους κυστίδια (διαμέτρου 100-1000nm) που αποτελούνται από μια φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα και μεμβρανικές πρωτεΐνες. Περιγράφηκαν πρώτη φορά το 1967 ως «σκόνη αιμοπεταλίων» και αρχικά θεωρούνταν μόνο κυτταρικά υπολείμματα.

Ο ρόλος τους στη θρόμβωση, τη φλεγμονή και την διακυτταρική σηματοδότηση είναι τώρα πια γνωστός [3].

2.2.4. Θρόμβωση σχετιζόμενη με τον καρκίνο (Cancer Associated Thrombosis – CAT)

Η θρόμβωση αποτελεί μία από τις πιο κοινές επιπλοκές που αντιμετωπίζουν οι ασθενείς με καρκίνο και συνδέεται τόσο με την ίδια τη νόσο όσο και με τη θεραπευτική αντιμετώπιση αυτής. Η VTE και οι επιπλοκές αυτής αποτελούν τη δεύτερη αιτία θανάτου στους ασθενείς με καρκίνο [2].

Αξίζει να σημειωθεί ότι η VTE αποτελεί συχνά το πρώτο σημάδι καρκίνου [16]. Το 20% των νέων επεισοδίων με DVT σχετίζονται με ενεργό κακοήθεια και το 25% των ασθενών με VTE έχουν υποκείμενη κακοήθεια και μικρότερη επιβίωση σε σχέση με αυτούς που έχουν κακοήθεια χωρίς θρομβωτικές επιπλοκές [2]. Οι ασθενείς με καρκίνο παρουσιάζουν 4-7 φορές υψηλότερο κίνδυνο VTE σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό. Ο κίνδυνος VTE στον καρκίνο σχετίζεται άμεσα με τον τύπο και τη σοβαρότητα του καρκίνου. Η ενδελεχής γνώση πάνω στους μηχανισμούς της σχετιζόμενης με τον καρκίνο VTE θα μπορούσε πιθανώς να οδηγήσει σε στοχευμένη πρόληψη. Παρότι οι υποκείμενοι μηχανισμοί κινδύνου θρόμβωσης στον καρκίνο είναι μόνο εν μέρει γνωστοί, ο ιστικός παράγοντας (TF), τα μικροκυστίδια (MP) που προέρχονται από καρκινικά κύτταρα και η ποδοπλανίνη, μια σιαλογλυκοπρωτεΐνη που ρυθμίζεται προς τα πάνω σε πολλά καρκινικά κύτταρα ικανά να επάγουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, είναι σημαντικοί παράγοντες στην η παθοφυσιολογία της VTE που σχετίζεται με τον καρκίνο. Το 5% έως 10% των απρόκλητων συμβάντων VTE διαγιγνώσκονται με καρκίνο κατά τη διάρκεια του επόμενου έτους, επομένως ο εκτεταμένος έλεγχος καρκίνου σε πρώιμη ενδεχομένως θα μπορούσε να οδηγήσει σε διάγνωση του καρκίνου και βελτιωμένη πρόγνωση. Ωστόσο, πολλές μελέτες απέτυχαν να δείξουν ότι ο εκτενής προληπτικός έλεγχος οδηγεί στην ανίχνευση καρκίνων πρώιμου σταδίου και στη βελτίωση της πρόγνωσης αυτών. Επιπλέον, έχουν αναπτυχθεί κλινικές βαθμολογίες (score), αλλά δεν έχουν ακόμη επικυρωθεί για την κλινική πρακτική. Επί του παρόντος, οι κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν τη χορήγηση ηπαρίνης μικρού μοριακού βάρους (LMWH) για τη θεραπεία της VTE που σχετίζεται με τον καρκίνο. Δύο ανεξάρτητες μελέτες ανέφεραν πρόσφατα λιγότερες υποτροπές VTE και υψηλότερες συχνότητες μείζονος αιμορραγίας από τη χρήση των άμεσα δρώντων από του στόματος αντιπηκτικά (Direct Oral Anticoagulant -DOAC) σε σύγκριση με LMWH για τη θεραπεία της σχετιζόμενης με τον καρκίνο VTE [16]. Η χρήση των DOAC επομένως έχει προταθεί σε ασθενείς με χαμηλό κίνδυνο

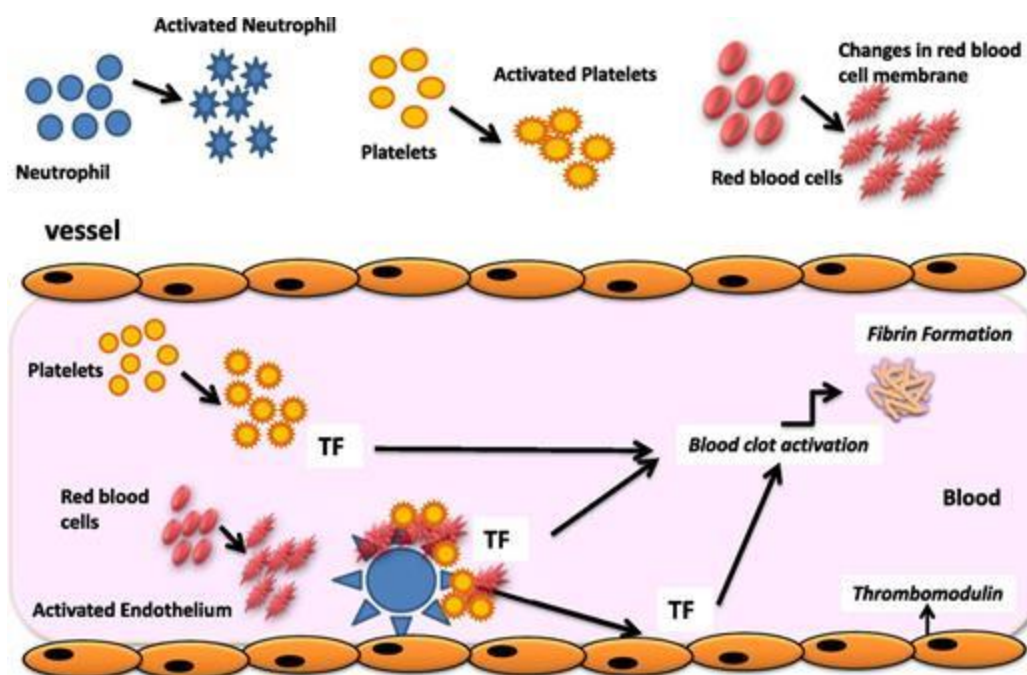
αιμορραγίας, εκτός από τους ασθενείς με καρκίνο στο γαστρεντερικό και το ουροποιητικό σύστημα [2].

2.2.5. Μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα

Τα μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα είναι επίκτητες αιματολογικές κακοήθειες, που προσβάλλουν κυρίως τους ενήλικες και των οποίων η νοσηρότητα και η θνησιμότητα πηγάζουν από διαταραχές αιμόστασης. Οι πιο συχνά εμφανιζόμενες επιπλοκές περιλαμβάνουν θρόμβωση, που επηρεάζει κυρίως την αρτηριακή περιοχή, αλλά και άτυπες θέσεις όπως η θρόμβωση της σπλαχνικής φλέβας. Η παθοφυσιολογία αυτών των θρομβώσεων είναι πολύπλοκη και περιλαμβάνει διαφορετικούς παράγοντες: κύτταρα αίματος, ενδοθήλιο και συνθήκες ροής. Έχουν διεξαχθεί πολυάριθμες μελέτες για τον εντοπισμό παραγόντων κινδύνου για θρόμβωση. Μέχρι σήμερα, μόνο δύο παράγοντες κινδύνου έχουν επικυρωθεί μέσω προοπτικών μελετών (ηλικία άνω των 60 ετών, ιστορικό θρομβωτικών συμβάντων) και επιτρέπουν την ταξινόμηση των ασθενών ως «αυξημένου κινδύνου» και «μειωμένου κινδύνου» ως βάση για τις τρέχουσες θεραπευτικές συστάσεις. Οι αιμορραγικές εκδηλώσεις, λιγότερο συχνές από τη θρόμβωση, σχετίζονται κυρίως με αλλοίωση της πρωτοπαθούς αιμόστασης και επομένως εκδηλώνονται με βλεννογονοδερμική αιμορραγία. Σε αυτούς τους ασθενείς, μπορεί να εντοπιστούν δυσλειτουργίες αιμοπεταλίων και/ή σύνδρομα Willebrand.

Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην παθογένεση της επίκτητης θρομβοφιλικής κατάστασης που σχετίζεται με αυτές τις ασθένειες περιλαμβάνουν ανωμαλίες των κυττάρων του αίματος που προέρχονται από κλώνους MPN (π.χ. ερυθροκύτταρα, αιμοπετάλια και λευκοκύτταρα), τα οποία εμφανίζουν προθρομβωτικά χαρακτηριστικά και ανωμαλίες φυσιολογικών αγγειακών κυττάρων, τα οποία γίνονται προπηκτικά ως απόκριση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα. Μόλις ενεργοποιηθούν, τα ουδετερόφιλα μπορούν επίσης να επηρεάσουν το αιμοστατικό σύστημα μέσω διαφορετικών οδών. Συγκεκριμένα, η απελευθέρωση πρωτεολυτικών ενζύμων και δραστικών ειδών οξυγόνου μπορεί να ενεργοποιήσει ή να βλάψει τα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα και να βλάψει ορισμένες πρωτεΐνες πήξης. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια εκφράζουν P-σελεκτίνη και ιστικό παράγοντα (TF) και απελευθερώνουν MPs. Η αυξημένη έκφραση του CD11b στην επιφάνεια των ουδετερόφιλων επιτρέπει την προσκόλληση των ουδετερόφιλων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αιμοπετάλια και

τη συναρμολόγηση πρωτεασών πήξης στην επιφάνεια των ουδετερόφιλων. Επιπλέον, ανωμαλίες στα ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC), συμπεριλαμβανομένων των βιοχημικών αλλαγών στην κυτταρική μεμβράνη και το περιεχόμενο, μπορεί ανεξάρτητα να επηρεάσουν τη ροή του αίματος και μέσω του σχηματισμού συσσωματωμάτων RBC. Επιπλέον, η συσώρευση RBC διευκολύνει την αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων με το τοίχωμα του αγγείου (εικόνα 2) [17].



ΕΙΚΟΝΑ 2: Παθογένεση της θρομβοφιλίας στο Μυελοϋπερπλαστικό σύνδρομο [17]

2.2.6. Αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο

Τα αυτοάνοσα νοσήματα όπως φαίνεται από την κλινική εμπειρία, αλλά και από διάφορες μελέτες, σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης VTE. Η θρόμβωση εμφανίζεται συχνότερα στα εξής αυτοάνοσα: συστηματικός ερυθρεματώδης λύκος, σύνδρομο Sjogren, σκληρόδερμα, ρευματοειδής αρθρίτιδα [18]. Καθώς στα αυτοάνοσα νοσήματα υπάρχει χρόνια φλεγμονή, αυτή μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση θρόμβωσης είτε μέσω της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και της ενδοθηλιακής βλάβης, είτε με την ενεργοποίηση αιμοπεταλίων, λευκοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων, είτε λόγω υπερέκφρασης ιστικού παράγοντα, χωρίς την παρουσία εξωτερικού αγγειακού τραύματος [18].

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (antiphospholipid syndrome – APS) είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα και μια από τις πιο κοινές επίκτητες αιτίες υπερπηκτικότητας. Οι κύριες εκδηλώσεις του είναι θρόμβωση (αρτηριακή, φλεβική ή μικροαγγειακή) και νοσηρότητα εγκυμοσύνης (καθ' έξιν αποβολές, όψιμος ενδομήτριος θάνατος του εμβρύου και σοβαρή προεκλαμψία). Τα κριτήρια ταξινόμησης περιλαμβάνουν 3 διαφορετικά αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα: αντιπηκτικό λύκου, αντικαρδιολιπίνη και αντι-βήτα 2 γλυκοπρωτεΐνη I. Οι σχετικές κλινικές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν livedo reticularis, δερματικά έλκη, θρομβοπενία, αιμολυτική αναιμία, βαλβιδική καρδιακή νόσο και νεφροπάθεια. Ο βαθμός κινδύνου που σχετίζεται με το αντιφωσφολιπιδικό αντίσωμα εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του προφίλ των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων και από την παρουσία πρόσθετων παραγόντων θρομβωτικού κινδύνου. Η τρέχουσα τυπική θεραπεία για την απρόκλητη θρόμβωση είναι η μακροχρόνια θεραπεία με βαρφαρίνη ή άλλη θεραπεία με ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ. Η θεραπεία για την πρόληψη επαναλαμβανόμενων μαιευτικών επιπλοκών είναι χαμηλή δόση ασπιρίνης και προφυλακτική ηπαρίνης, συνήθως χαμηλού μοριακού βάρους. Η βέλτιστη θεραπεία για αποτυχίες τυπικής θεραπείας ή για ορισμένες μη θρομβωτικές εκδηλώσεις είναι αβέβαιη, αν και διερευνώνται μη αντιπηκτικές θεραπείες που αντιμετωπίζουν πολλαπλούς αποδεδειγμένους μηχανισμούς της νόσου. Ενώ έχουν αποκτηθεί πολλές γνώσεις σχετικά με τις κλινικές εκδηλώσεις του APS, η παθογένεια αυτής της διαταραχής παραμένει ελάχιστα κατανοητή. Για παράδειγμα, είναι δύσκολο να προβλέψουμε ποιος θα αναπτύξει το APS ή γιατί. Αν και τα συγκεκριμένα ορολογικά χαρακτηριστικά του APLA παρέχουν πληροφορίες για το ποιοι ασθενείς με αυτά τα αντισώματα είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν κλινικές εκδηλώσεις, η ικανότητά μας να διαστρωματώνουμε με ακρίβεια τους ασθενείς με αυτά τα αντισώματα παραμένει περιορισμένη. Τέλος, έχει αναφερθεί ένας αριθμός μηχανισμών με τους οποίους το APS μπορεί να προκαλέσει θρόμβωση, αν και αν αυτοί είναι πραγματικά διακριτοί, αντανακλούν την ετερογένεια των αντισωμάτων ή αντιπροσωπεύουν διαφορετικές εκδηλώσεις μιας ενιαίας, κεντρικής οδού που δεν έχει καθοριστεί [19-21].

Το APS διαγνώσκεται μέχρι και στο 40% όλων των περιπτώσεων καθ' έξιν αποβολών και αγγειακών επιπλοκών του πλακούντα (προεκλαμψία, ενδομήτρια καθυστέρηση ανάπτυξης, αποκόλληση πλακούντα). Για τη διάγνωση του APS, σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες 2006, απαιτούνται δύο φορές θετικοί, μέτριοι έως υψηλοί τίτλοι αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (APA) μαζί με κλινική εκδήλωση

(θρόμβωση ή μαιευτική επιπλοκή). Εν τούτοις, σε ένα ποσοστό 50% των επαναλαμβανόμενων αποβολών ή αγγειακής νόσου πλακούνται τα αίτια δεν μπορούν να διευκρινιστούν [22].

Είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι μέσα από μελέτες τέθηκε η υποψία ύπαρξης ενός υποτύπου του APS, το οποίο φαίνεται ότι πυροδοτείται από την κύηση. Σε αυτήν την περίπτωση έχουμε παροδική αύξηση των APA μόνο κατά τη διάρκεια της κύησης [22].

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα APA ονομάστηκαν έτσι διότι αρχικά θεωρήθηκε ότι στρέφονται άμεσα κατά των αρνητικών φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης, ωστόσο έπειτα αποδείχτηκε ότι στρέφονται κατά πρωτεϊνών του πλάσματος με συγγένεια για αυτά τα ανιονικά φωσφολιπίδια [18].

2.2.7. Κύηση

Σε σύγκριση με τις μη έγκυες γυναίκες, η εγκυμοσύνη ενέχει τετραπλάσιο έως πενταπλάσιο κίνδυνο φλεβικής θρομβοεμβολής (VTE). Παρά την αυξανόμενη χρήση της προφύλαξης με ηπαρίνη σε αναγνωρισμένες ασθενείς υψηλού κινδύνου, η πνευμονική εμβολή εξακολουθεί να είναι η κύρια αιτία μητρικής θνησιμότητας στον δυτικό κόσμο. Ωστόσο, τα στοιχεία για τη βέλτιστη χρήση της θρομβοπροφύλαξης είναι ανεπαρκή. Η θρομβοφιλία, η κληρονομική ή επίκτητη τάση για ανάπτυξη VTE, θεωρείται επίσης ότι σχετίζεται με επιπλοκές στην εγκυμοσύνη, όπως επαναλαμβανόμενες αποβολές και προεκλαμψία [22].

Περίπου 1 έως 2 στις 1.000 έγκυες γυναίκες εμφανίζουν φλεβικές θρομβοεμβολικές επιπλοκές. Στο πλαίσιο της VTE που σχετίζεται με την εγκυμοσύνη, η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (DVT) αντιπροσωπεύει περίπου το 75 έως 80% όλων των περιπτώσεων VTE και περίπου το 20 έως 25% εκδηλώνεται ως πνευμονική εμβολή (PE). Ο κίνδυνος εμφανίζεται από την αρχή του πρώτου τριμήνου, αλλά με την πρόοδο της εγκυμοσύνης ο κίνδυνος αυτός αυξάνεται συνεχώς, φτάνοντας τα υψηλότερα ποσοστά στην πρώιμη περίοδο μετά τον τοκετό. Εδώ έχει αναφερθεί 15 έως 35 φορές αύξηση του κινδύνου VTE σε σύγκριση με μη έγκυο πληθυσμό, ενώ άλλοι έχουν εκτιμήσει έως και 84 φορές αύξηση του κινδύνου εντός των πρώτων 6 εβδομάδων της λοχείας. Ως αποτέλεσμα, η μισή PE που σχετίζεται με την εγκυμοσύνη και περίπου το ένα τρίτο της DVT εμφανίζονται μετά τον τοκετό, υπογραμμίζοντας την ύπαρξη επίμονα υψηλού κινδύνου μετά τον τοκετό. Ο κίνδυνος αρχίζει να μειώνεται ταχέως μετά από 6 εβδομάδες μετά τον τοκετό με επιστροφή στα φυσιολογικά επίπεδα μετά

από περίπου 12 εβδομάδες μετά τον τοκετό. Ο μητρικός θάνατος λόγω VTE κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και της λοχείας αντιπροσωπεύει περίπου το 14% των θανάτων κατά τον τοκετό στις ανεπτυγμένες χώρες. Τον κίνδυνο αυτό τον ξεπερνάει μόνο ο κίνδυνος θανάτου από αιμορραγία (16,3%), με αποτέλεσμα περίπου 1 ανά 100.000 εγκύους να πεθαίνουν από VTE που σχετίζεται με την εγκυμοσύνη. Η θρόμβωση της πυελικής φλέβας και της λαγονομηριαίας φλέβας, ασυνήθιστη εκτός εγκυμοσύνης, αποτελούν υψηλό ποσοστό VTE που σχετίζεται με την εγκυμοσύνη. Η DVT στην εγκυμοσύνη εμφανίζεται πιο κοντά και πιο συχνά στο αριστερό πόδι. Μια ανασκόπηση το 2010 παρατήρησε 71% μεμονωμένες εγγύς DVT χωρίς εκδήλωση στις περιφερικές φλέβες και ένα ποσοστό 17% μεμονωμένης θρόμβωσης της λαγόνιας φλέβας κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η απομονωμένη εγγύς VTE (δηλαδή, χωρίς συμμετοχή των φλεβών της γάμπας) είναι συχνή κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και είναι σημαντική για διαγνωστικούς λόγους. Δεδομένου ότι η DVT που σχετίζεται με την εγκυμοσύνη εμφανίζεται σε νεαρή ηλικία και λόγω της εγγύς εντόπισης πολλών από αυτές τις DVT, οι μακροχρόνιες συνέπειες είναι πολύ συχνές. Η εμφάνιση μεταθρομβωτικού συνδρόμου περιπλέκει την κλινική πορεία και έχει πολύ αρνητικό αντίκτυπο στην ποιότητα ζωής. Ο αντίκτυπος στην ποιότητα ζωής εξαρτάται από τη βαρύτητα του μεταθρομβωτικού συνδρόμου. Ευτυχώς, το σοβαρό μεταθρομβωτικό σύνδρομο είναι μια σπάνια πάθηση, αλλά εξακολουθεί να εμφανίζεται σε έως και στο 7% περίπου των VTE που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη [23].

2.2.8. Διάχυτη Ενδαγγειακή Πήξη

Η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ) αποτελεί σύνθετο κλινικό σύνδρομο που περιλαμβάνει διάφορα βαριά νοσήματα και χαρακτηρίζεται από ενδαγγειακή εναπόθεση ινώδους και ινωδογόνου λόγω υπερβολικής δραστηριότητας πρωτεασών, ειδικότερα θρομβίνης και πλασμίνης στο αίμα. Παρουσιάζει ετερογένεια τόσο στην παθοφυσιολογία όσο και στις κλινικές της εκδηλώσεις. Συνήθως, εμφανίζεται ύστερα από έκθεση του κυκλοφορούντος αίματος σε ιστικό παράγοντα, ο οποίος εκλύεται από τραυματισμένους ιστούς, κακοήθη κύτταρα ή τραυματισμένο ενδοθήλιο. Στη συνέχεια ακολουθεί ο σχηματισμός θρομβίνης, η οποία επάγει τον σχηματισμό διαλυτού ινώδους, την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και τη δευτερογενή ινωδόλυση.

Η ΔΕΠ μπορεί να προκαλέσει αιμορραγία, θρόμβωση μεγάλων αγγείων και αιμορραγική ιστική νέκρωση. Λόγω της κατανάλωσης των παραγόντων πήξης και των αιμοπεταλίων καθώς και σε αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα μπορεί να έχουμε έλλειμα πήξης και αιμορραγία. Συνήθως, στην κλινική πράξη η οξεία διάχυτη ενδαγγειακή πήξη εκδηλώνεται ως εκτεταμένη αιμορραγία επί επικείμενης νόσου. Η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη δεν εκδηλώνεται πάντα κεραυνοβόλα. Μπορεί να παρατηρηθούν και χρόνιες μορφές, όπως π.χ. σε διάφορες κακοήθειες.

Η διάγνωση βασίζεται στα εργαστηριακά ευρήματα, όπου καταδεικνύεται η επιταχυνόμενη ινωδόλυση σε συνδυασμό με την ελάττωση των παραγόντων πήξης σε ασθενή με γνωστή υποκείμενη νόσο [24].

Οι εργαστηριακές παράμετροι που διερευνώνται είναι:

Ο αριθμός των αιμοπεταλίων που παρουσιάζεται ελαττωμένος.

Η παράταση του χρόνου προθρομβίνης (PT) και συνήθως παράταση και του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT).

Παράταση του χρόνου θρομβίνης.

Μείωση των επιπέδων του ινωδογόνου.

Υψηλά επίπεδα D-dimers (προϊόντα αποικοδόμησης του ινώδους).

Συχνά αίτια διάχυτης ενδαγγειακής πήξης είναι οι διάφορες λοιμώξεις, κυρίως η σηψαιμία, οι κακοήθειες, μαιευτικά επείγοντα περιστατικά, καταπληξία (χειρουργικό τραύμα, εγκαύματα), βαριά αιμολυτική αντίδραση μετά από μετάγγιση, ηπατική νόσος.

B. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑΣ

1. Ποιοι ασθενείς πρέπει να ελέγχονται για θρόμβωση

Ο προσυμπτωματικός έλεγχος θρομβοφιλίας χρησιμοποιείται σε συγκεκριμένα άτομα όταν το αποτέλεσμα της εξέτασης είναι πιθανό να επηρεάσει τις αποφάσεις διαχείρισης, αντί για τον καθολικό έλεγχο σε όλους τους ασθενείς με θρόμβωση. Όταν πραγματοποιείται έλεγχος θρομβοφιλίας, τα αποτελέσματα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στο πλαίσιο προαναλυτικών, αναλυτικών και μεταναλυτικών μεταβλητών για να ελαχιστοποιηθεί η παρερμηνεία.

Η διενέργεια εξετάσεων θρομβοφιλίας επομένως είναι ένα θέμα αμφιλεγόμενο, κυρίως λόγω του υψηλού κόστους των εξετάσεων αυτών. Επειδή ο ολοκληρωμένος έγκυρος έλεγχος απαιτεί τυποποιημένη συλλογή αίματος κοντά στο εξειδικευμένο εργαστήριο και ερμηνεία των ευρημάτων μαζί με κλινικά δεδομένα, συχνά μόνο μέρος των απαραίτητων εργαστηριακών αναλύσεων μπορεί να πραγματοποιηθεί σε απομακρυσμένα κεντρικά εργαστήρια [25].

Επομένως, είναι σημαντικό να τεθούν κριτήρια και παράμετροι σχετικά με το ποιοι ασθενείς είναι απαραίτητο να εξετάζονται για θρομβοφιλία. Η λήψη ενός λεπτομερούς ιστορικού είναι πολύ σημαντική για την απόφαση αυτή. Περισσότερη προσοχή πρέπει να δοθεί στην περίπτωση πρόσφατου θρομβωτικού επεισοδίου, στην περίπτωση συνύπαρξης παραγόντων κινδύνου, το ιστορικό παλαιότερης θρόμβωσης καθώς και στην ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού. Είναι δύσκολο να οριστεί το «θετικό οικογενειακό ιστορικό θρόμβωσης». Αν λάβουμε υπόψη τα απλά κριτήρια της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης ή της πνευμονικής εμβολής σε συγγενή πρώτου ή δεύτερου βαθμού, τότε θα πρέπει να συμπεράνουμε ότι ένα 25% των ασθενών εμφανίζει θετικό οικογενειακό ιστορικό θρόμβωσης. Ωστόσο, ακόμη και στους ασθενείς με έντονα θετικό οικογενειακό ιστορικό, μόνο σε μια μειοψηφία θα μπορέσει να εντοπιστεί το αίτιο της θρομβοφιλίας [3].

Ξεκινώντας τη διερεύνηση της ύπαρξης θρομβοφιλίας είναι απαραίτητη η γενική αίματος, ώστε να αποκλειστούν η πολυερυθραιμία και η ύπαρξη άλλων μυελοϋπερπλαστικών συνδρόμων. Στη συνέχεια, ακολουθούν οι τυπικές δοκιμασίες πήξης: χρόνος προθρομβίνης, χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης, χρόνος θρομβίνης και ινωδογόνο. Περαιτέρω εργαστηριακός έλεγχος καθοδηγείται από τα πιθανά αίτια της οικογενούς ή επίκτητης θρομβοφιλίας.

Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι ο έλεγχος για θρομβοφιλία δεν πρέπει να διενεργείται κατά τη διάρκεια οξέος επεισοδίου VTE, διότι είναι λογικό στη φάση αυτή να ανευρεθούν χαμηλά επίπεδα παραγόντων πήξης. Επιπροσθέτως, οι συστηματικές παθήσεις όπως η ηπατική νόσος ή η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη είναι πιθανόν να προκαλέσουν μείωση των επιπέδων των παραγόντων πήξης και επομένως να επηρεάσουν τα εργαστηριακά αποτελέσματα [25].

Στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 2) αναφέρονται οι βασικοί λόγοι για τους οποίους πρέπει να οδηγούμαστε σε έλεγχο θρομβοφιλίας σε έναν ασθενή, ενώ στον πίνακα 3 αναφέρονται οι σημαντικότεροι παράγοντες κινδύνου για θρομβοφιλία.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Κριτήρια για έλεγχο θρομβοφιλίας

Φλεβική θρόμβωση σε ασθενή κάτω των 40 ετών
Υποτροπιάζοντα επεισόδια φλεβικής θρόμβωσης ή θρομβοφλεβίτιδας
Φλεβική θρόμβωση σε ασυνήθιστη θέση (π.χ. μασχαλιαία φλέβα)
Αρτηριακή θρόμβωση σε ασθενή κάτω των 30 ετών
Έντονο οικογενειακό ιστορικό φλεβικής θρόμβωσης
Καθ' ἑξιν αποβολές
Δερματική νέκρωση σε ασθενή που λαμβάνει βαρφαρίνη

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Παράγοντες κινδύνου για θρομβοφιλία

Ακινησία	Κάπνισμα
Παχυσαρκία	Άρρεν φύλο
Λήψη αντισυλληπτικών	Υπέρταση
Τραύμα/Χειρουργική επέμβαση	Θετικό οικογενειακό ιστορικό
Οικογενής θρομβοφιλία	Υπερλιπιδαιμία
Κύηση	Σακχαρώδης διαβήτης
Κακοήθεια	Αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου
Ηλικία	

2. Εργαστηριακός έλεγχος για την ύπαρξη θρομβοφιλίας

2.1. Βασικός έλεγχος θρομβοφιλίας

Ο βασικός εργαστηριακός έλεγχος για τη διερεύνηση της θρομβοφιλίας περιλαμβάνει:

Γενική αίματος

Βασικός βιοχημικός έλεγχος (έλεγχος ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, LDH).

Χρόνος προθρομβίνης (PT)

Χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT)

Χρόνος θρομβίνης (TCT)

Δ-διμερή (D-dimer)

Ποσοτικός προσδιορισμός ινωδογόνου [2,26].

2.1.1.Χρόνος προθρομβίνης

Ο χρόνος προθρομβίνης (prothrombin time – PT) είναι ο χρόνος που χρειάζεται για να σχηματιστεί ο θρόμβος ινικής μετά από προσθήκη ιστικού παράγοντα (TF), φωσφολιπιδίων και ασβεστίου σε PPP πλάσμα με κιτρικό. Ο PT μετράει τη δραστηριότητα των παραγόντων πήξης του εξωγενούς και του κοινού μονοπατιού της αιμόστασης, δηλαδή των παραγόντων II, X, V, VII και του ινωδογόνου [2]. Επειδή είναι διαθέσιμα πολλά και διαφορετικά παρασκευάσματα αντιδραστηρίων θρομβοπλαστίνης αυτά μπορούν να δώσουν διαφορετικά αποτελέσματα PT, ακόμη και όταν χρησιμοποιείται το ίδιο πλάσμα. Για αυτό το λόγο ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) εισήγαγε τη χρήση ενός διεθνούς κανονικοποιημένου λόγου (International Normalised Ratio – INR). Το INR αντιπροσωπεύει την αναλογία της PT του ασθενούς διαιρεμένη με μια τιμή PT ελέγχου που λαμβάνεται με τη χρήση ενός διεθνούς αντιδραστηρίου αναφοράς θρομβοπλαστίνης που αναπτύχθηκε από τον ΠΟΥ [26].

2.1.2. Χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (activated partial thromboplastin time – aPTT)

Ο aPTT εξαρτάται από την δραστηριότητα των παραγόντων πήξης του ενδογενούς (XII, XI, IX, VIII) και του κοινού μονοπατιού (V, X, II, ινωδογόνο), των παραγόντων του συστήματος επαφής (προκαλλικρεΐνη και μεγάλου μοριακού βάρους κινινογόνο)

καθώς και από την παρουσία ανασταλτών και αντιπηκτικών λύκου. Σε πλάσμα PPP που επωάζεται στους 37° C προστίθενται φωσφολιπίδια (κεφαλίνη) και ενεργοποιητής (π.χ. καολίνη). Αυτό προκαλεί την ενεργοποίηση του παράγοντα XI. Στη συνέχεια προστίθεται επίσης χλωριούχο ασβέστιο κι μετριέται ο χρόνος σχηματισμού του θρόμβου ινικής [2].

Ο aPTT είναι φυσιολογικός όταν τα επίπεδα των παραγόντων είναι >30% σε μεμονωμένη ανεπάρκεια παράγοντα ή ακόμη και >50% όταν πρόκειται για ταυτόχρονη ανεπάρκεια περισσότερων παραγόντων [1].

2.1.3. Χρόνος θρομβίνης (thrombin clotting time – TCT)

Μετράει το χρόνο πήξης του πλάσματος μετά από προσθήκη θρομβίνης. Δεν επηρεάζεται από τυχόν ανεπάρκεια άλλων παραγόντων της πήξης [1]. Έχει χρησιμότητα στη διερεύνηση της υποϊνωδογοναιμίας, δυσινωδογοναιμίας, παρουσία ηπαρίνης ή ανασταλτών θρομβίνης και παρουσία προϊόντων αποικοδόμησης ινώδους (FDPs) [2].

2.1.4. Δ- διμερή (D-dimers)

Τα δ-διμερή αποτελούν θραύσματα που προκύπτουν από τη λύση του θρόμβου ινικής από την πλασμίνη, μετά από την σταθεροποίησή του από τον παράγοντα XIIIa [2]. Η μέτρησή τους είναι χρήσιμη κυρίως στον αποκλεισμό της DVT και της PE, αλλά και στη διάγνωση της ΔΕΠ. Είναι χρήσιμη επίσης στη διαφορική διάγνωση καταστάσεων που εκδηλώνονται με οίδημα των άνω ή κάτω άκρων, οξύ θωρακικό άλγος, θρομβοπενία ή επιμηκυμένο χρόνο προθρομβίνης (πίνακας 4) [1].

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Χρησιμότητα των Δ-Διμερών στη διαφορική διάγνωση νοσημάτων [1]

	Αυξημένα επίπεδα D-Dimers	Φυσιολογικά επίπεδα D-Dimers
Οίδημα και διόγκωση άκρων	DVT Τραύμα Κακοήθεια	Καρδιακή ανεπάρκεια Λεμφικό οίδημα
Οξύ θωρακικό άλγος	Πνευμονική εμβολή Διαχωριστικό ανεύρυσμα αορτής Πνευμονία	Έμφραγμα του μυοκαρδίου Μη αντιρροπούμενη καρδιακή ανεπάρκεια
Θρομβοπενία	ΔΕΠ, σύνδρομο HELLP	Αυτοάνοση θρομβοπενία Κεντρική θρομβοπενία (δυσλειτουργία του μυελού των οστών) Φαρμακευτική θρομβοπενία Καλοήγηθ θρομβοπενία από χορήγηση ηπαρίνης (HIT)
Επιμήκυνση του PT	ΔΕΠ Οξεία ηπατική ανεπάρκεια	Ανεπάρκεια της βιταμίνης Κ

2.1.5. Ποσοτικός προσδιορισμός ινωδογόνου

Η δοκιμασία αυτή βασίζεται στο χρόνο που απαιτείται για να πήξει αραιωμένο πλάσμα μετά από προσθήκη ισχυρού διαλύματος θρομβίνης [1]. Ως μέθοδος αναφοράς θεωρείται η λειτουργική μέθοδος κατά Claus. Γίνεται αραιώση του πλάσματος του ασθενούς ώστε να ελαχιστοποιηθεί η δράση ανασταλτών (π.χ. ηπαρίνης). Χρησιμοποιείται υψηλή συγκέντρωση θρομβίνης, έτσι ώστε να διασφαλιστεί ότι ο χρόνος πήξης είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωση της θρομβίνης σε ένα μεγάλος εύρος επιπέδων ινωδογόνου. Γίνεται χρήση πλάσματος αναφοράς με γνωστή συγκέντρωση ινωδογόνου και βαθμονομημένο έναντι γνωστού διεθνούς προτύπου αναφοράς έτσι ώστε να γίνει η καμπύλη βαθμονόμησης. Ο χρόνος πήξης που μετράται

μετά την επώαση του αραιωμένου πλάσματος στους 37° C και την προσθήκη θρομβίνης συγκρίνεται με την καμπύλη βαθμονόμησης και εξάγεται η συγκέντρωση του ινωδογόνου [2].

2.2. Ειδικές εξετάσεις θρομβοφιλίας

2.2.1. Παράγοντας V Leiden (FVL)

Η μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden (FVL) είναι ο πιο κοινός κληρονομικός παράγοντας κινδύνου για φλεβική θρόμβωση. Με τη σειρά του, ο FVL είναι η κύρια αιτία ενός φαινοτύπου αντίστασης στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APCR), στον οποίο η προσθήκη εξωγενούς ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C στο πλάσμα δεν οδηγεί στην αναμενόμενη αντιπηκτική δράση. Στη συνήθη εργαστηριακή προσέγγιση για την επίσημη διάγνωση της μετάλλαξης FVL, πραγματοποιείται συχνά μια αρχική θετική μέθοδος διαλογής με βάση το πλάσμα για APCR, και μόνο εάν χρειάζεται, ακολουθείται από μια επιβεβαιωτική δοκιμασία με βάση το DNA για FVL [31].

Αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APCR)

Η ύπαρξη μετάλλαξης V Leiden προκαλεί αντίσταση του παράγοντα FVa στην APC. Η μέθοδος αυτή είναι πηξιολογική και βασίζεται στην προσθήκη APC και την παράταση του aPTT που επάγει με την αδρανοποίηση των Va και VIIIa. Τελευταία έχει βελτιωθεί τόσο η ευαισθησία όσο και η ειδικότητα της μεθόδου με προδιάλυση του πλάσματος με υπόστρωμα πλάσματος φτωχό σε FV. Με αυτόν τον τρόπο εξαλείφονται εξωγενείς επιδράσεις από τη λήψη αντιπηκτικών ή η παράταση του aPTT λόγω έλλειψης άλλων παραγόντων πήξης πλην του FV, καθώς και καταστάσεις όπου υπάρχει χαμηλή PC, παρουσία αντιπηκτικού λύκου ή σε οξεία φάση. Η βάση της μεθόδου είναι η μέτρηση του aPTT με την προσθήκη και χωρίς την προσθήκη εξωγενούς APC. Ύστερα υπολογίζεται ο λόγος του χρόνου πήξης: $aPTT+APC/aPTT-APC$. Υπάρχουν, ωστόσο, και επίκτητες καταστάσεις που σχετίζονται με APCR, όπως η κύηση, η λήψη αντισυλληπτικών και τα υψηλά επίπεδα FVIII [2].

Έλεγχος για γονιδιακές μεταλλάξεις με ανάλυση αλυσιδωτής πολυμεράσης (PCR)

Η μετάλλαξη V Leiden προέρχεται από αντικατάσταση της αργινίνης από γλουταμίνη στη θέση 506 [2]. Τα τελευταία χρόνια συνηθίζεται η ανεύρεση της μετάλλαξης V Leiden με τη χρήση μοριακών μεθόδων (PCR).

Γενικές ενδείξεις ελέγχου για τη μετάλλαξη V Leiden

Ο έλεγχος για τον παράγοντα V Leiden συνιστάται σε ασθενείς με VTE όταν τα αποτελέσματα μπορούν να επηρεάσουν τις θεραπευτικές αποφάσεις και την κλινική διαχείριση του ασθενούς, καθώς επίσης και σε ορισμένους ασυμπτωματικούς συγγενείς για μείωση του κινδύνου προκληθείσας VTE μέσω συμβουλευτικής σχετικά με προληπτικά μέτρα σε περιπτώσεις αυξημένου κινδύνου. Η ανεύρεση της μετάλλαξης αυτής παρέχει πληροφορίες σχετικά με τον κίνδυνο υποτροπής της VTE και μπορεί να επηρεάσει αποφάσεις που σχετίζονται με αποτρεπτικούς περιστασιακούς κινδύνους όπως παρατεταμένα ταξίδια, χρήση αντισυλληπτικών, προσέγγιση για μακροχρόνια ακινητοποίηση. Σε περίπτωση ομοζυγωτίας ή διπλής ετεροζυγωτίας η θρομβοφιλία χαρακτηρίζεται υψηλού κινδύνου και η σοβαρότητα της κληρονομικής θρομβοφιλίας (υψηλού ή χαμηλού κινδύνου) αποτελεί εξέταση για αποφάσεις θεραπείας. Συνιστάται η δοκιμή για ορισμένους στοχευμένους πληθυσμούς ή περιστάσεις, ενώ δεν συνιστάται αδιακρίτως για όλους τους ασθενείς με VTE ή για τον γενικό πληθυσμό. Οι ενδείξεις δοκιμών από διαφορετικούς επαγγελματικούς οργανισμούς ποικίλλουν. Ορισμένοι προτείνουν ότι υπάρχει περιορισμένη κλινική χρησιμότητα του ελέγχου για κληρονομική θρομβοφιλία στην πλειονότητα των ασθενών με VTE. Ωστόσο, αναγνωρίζεται ότι αυτή η προσέγγιση θα μπορούσε να περιορίσει την ταυτοποίηση ομοζυγωτών, για τους οποίους η γνώση της ύπαρξης της μετάλλαξης θα επηρέαζε τη θεραπεία ή την πρόληψη. Άλλοι συνιστούν στοχευμένο έλεγχο ασθενών και συγγενών με αυξημένο κίνδυνο [31].

Πιο συγκεκριμένα η δοκιμή για τον παράγοντα V Leiden συνιστάται στις ακόλουθες περιπτώσεις:

1. Ένα πρώτο απρόκλητο επεισόδιο VTE, ειδικά σε ηλικία <50 ετών
2. VTE σε ασυνήθιστες θέσεις (όπως ηπατική πύλη, μεσεντέριες και εγκεφαλικές φλέβες)
3. Υποτροπιάζουσα VTE

4. Προσωπικό ιστορικό VTE με (α) δύο ή περισσότερα μέλη της οικογένειας με ιστορικό VTE ή (β) έναν συγγενή πρώτου βαθμού με VTE σε νεαρή ηλικία
5. Ασθενείς με χαμηλή δραστηριότητα αντίστασης στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC).

Η δοκιμή μπορεί να εξεταστεί στις ακόλουθες περιπτώσεις:

1. Γυναίκες κάτω των 50 ετών που καπνίζουν και έχουν ιστορικό οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου.
2. Αδέρφια ατόμων που είναι γνωστό ότι είναι ομόζυγοι στην μετάλλαξη V Leiden επειδή έχουν 1 στις 4 πιθανότητες να είναι ομοζυγώτες.
3. Σε ασυμπτωματική έγκυο ή σε γυναίκα που σκέφτεται εγκυμοσύνη, με συγγενή πρώτου βαθμού με απρόκλητη VTE ή VTE που προκαλείται από εγκυμοσύνη ή χρήση αντισυλληπτικών.
4. Σε έγκυο γυναίκα ή γυναίκα που σκέφτεται εγκυμοσύνη ή κάνει χρήση οιστρογόνων και έχει συγγενή πρώτου βαθμού με ιστορικό VTE και είναι γνωστός φορέας του παράγοντα V Leiden.
5. Σε έγκυο γυναίκα ή γυναίκα που σκέφτεται εγκυμοσύνη με προηγούμενη μη σχετιζόμενη με οιστρογόνα VTE ή VTE που προκαλείται από παράγοντα κινδύνου μικρής σημασίας, επειδή η γνώση του παράγοντα V Leiden μπορεί να αλλάξει την προληπτική θεραπεία που θα ακολουθηθεί.

Ο έλεγχος ρουτίνας δεν συνιστάται γενικά για ασθενείς με προσωπικό ή οικογενειακό ιστορικό αρτηριακών θρομβωτικών διαταραχών (όπως στεφανιαία νόσο ή ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο) λόγω έλλειψης στοιχείων συσχέτισης μεταξύ θρομβοφιλίας οφειλόμενης στη μετάλλαξη V Leiden και αρτηριακών ισχαιμικών επεισοδίων [31].

2.2.2. Εργαστηριακή διερεύνηση έλλειψης πρωτεΐνης S και C

Η ανεπάρκεια πρωτεΐνης C (PC) σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για VTE. Στην καθημερινή πρακτική, ο αποκλεισμός μιας κληρονομικής ανεπάρκειας PC βασίζεται συχνά σε έναν και μόνο προσδιορισμό της δραστηριότητας της PC, είτε με βάση το χρόνο πήξης είτε με χρωμογόνο ανάλυση. Ωστόσο, η διάγνωση της κληρονομικής ανεπάρκειας της πρωτεΐνης C είναι δύσκολη λόγω αρκετών εργαστηριακών και κλινικών περιορισμών.

Οι ανεπάρκειες φυσικών ανασταλτών της πήξης (αντιθρομβίνη -AT, πρωτεΐνη C - PC και πρωτεΐνη S -PS) αποτελούν έναν σοβαρό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση ενός πρώτου φλεβικού θρομβοεμβολικού επεισοδίου και επίσης σχετίζονται με υψηλότερο κίνδυνο υποτροπιάζουσας φλεβικής θρομβοεμβολής (VTE). Επομένως, η απουσία ή η παρουσία κληρονομικής ανεπάρκειας AT, PC και PS είναι σημαντική στη λήψη κλινικών αποφάσεων όταν εξετάζεται το ενδεχόμενο λήψης μόνιμης αντιπηκτικής αγωγής για προφύλαξη από VTE.

Ο προσυμπτωματικός έλεγχος θρομβοφιλίας περιλαμβάνει τον προσδιορισμό των επιπέδων AT, PC και PS στο πλάσμα. Στην κλινική καθημερινή πρακτική λόγω του αυξημένου κόστους των εξετάσεων αυτών ο έλεγχος γίνεται συχνά μόνο μία φορά. Αν και μια μειωμένη δραστηριότητα ενός φυσικού αναστολέα πήξης οδηγεί συχνά σε επαναλαμβανόμενες δοκιμές για τον αποκλεισμό μιας επίκτητης ανεπάρκειας, αυτό συμβαίνει σπάνια για μια δραστηριότητα εντός του εύρους αναφοράς, παρά τα δυνητικά ψευδώς αρνητικά ευρήματα. Μια απαγωγική ερμηνεία των επιπέδων πρωτεΐνης στο πλάσμα ως προς ένα δυνητικά υποκείμενο γενετικό ελάττωμα μπορεί να είναι πρόκληση ακόμη και για εξειδικευμένους αιματολόγους ή/και εργαστηριακούς γιατρούς. Η γνώση των ακριβών κλινικών και προαναλυτικών περιστάσεων κατά τη στιγμή της αιμοληψίας θα μπορούσε να βελτιώσει την αφαίρεση ενός υποκείμενου γενετικού ελαττώματος.

Από εργαστηριακή άποψη, η κληρονομική ανεπάρκεια PC μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε 2 τύπους. Ο τύπος I (βρίσκεται στο 75%-80% των περιπτώσεων) χαρακτηρίζεται από ομοιόμορφη μείωση της δραστηριότητας του PC και της ανοσολογικά μετρούμενης συγκέντρωσης PC. Ο τύπος II (στο 20%-25% των περιπτώσεων), από την άλλη πλευρά, χαρακτηρίζεται από μειωμένη δραστηριότητα PC σε κανονικές συγκεντρώσεις PC, υποδεικνύοντας ότι ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης PC και μόνο θα αποτύχει να ανιχνεύσει τον τύπο II. Επομένως, οι λειτουργικές δοκιμές για τη μέτρηση της δραστηριότητας της πρωτεΐνης C (με βάση το χρόνο πήξης ή χρωμογονικές δοκιμασίες) χρησιμοποιούνται επιπρόσθετα ως τεστ διαλογής για ελλείψεις PC. Το πρώτο βήμα και στις δύο εμπορικά διαθέσιμες αναλύσεις είναι η ενεργοποίηση της PC σε ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC). Αυτή η αντίδραση καταλύεται από το Protac, ένα ένζυμο που προέρχεται από το δηλητήριο του φιδιού Southern Copperhead (*Agkistrodon contortrix*). Οι χρωμογονικές δοκιμασίες μετρούν την ικανότητα της APC να διασπά ένα αμιδολυτικό υπόστρωμα φασματοφωτομετρικά.

Η μεταβλητότητα των προσδιορισμών τελικού σημείου πήξης μπορεί να αποδοθεί στο χρησιμοποιούμενο αντιδραστήριο APTT και τη σύνθεση φωσφολιπιδίων που είναι ειδική για τη δοκιμή επηρεάζοντας την ευαισθησία APC ή την εξάρτησή του από την πρωτεΐνη C. Θεραπεία με από του στόματος ή παρεντερικά άμεσα αντιπηκτικά (από του στόματος αντιπηκτικά χωρίς βιταμίνη K και οι άμεσοι αναστολείς θρομβίνης) οδηγούν σε ψευδώς υψηλή δραστηριότητα PC που μετράται με προσδιορισμούς που βασίζονται στον χρόνο πήξης. Επιπλέον, η δοκιμασία που βασίζεται στον χρόνο πήξης επηρεάζεται από τα υψηλά επίπεδα ηπαρίνης, την αυξημένη δραστηριότητα του παράγοντα VIII, το αντιπηκτικό λύκου (LA), ή την αντίσταση APC. Αντίθετα, η χρωμογόνης μέθοδος δεν επηρεάζεται. Ως εκ τούτου, οι τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν τη χρήση χρωμογόνων μεθόδων για τον προσδιορισμό της PC, καθώς επηρεάζονται λιγότερο από την παρουσία ηπαρίνης, υψηλών επιπέδων FVIII, αντιπηκτικού του λύκου και αναστολέων θρομβίνης. Ωστόσο, υπάρχουν περιπτώσεις όπου οι πηξιολογικές μέθοδοι μπορεί να δώσουν καλύτερα αποτελέσματα [2].

Ο τακτικός προσδιορισμός των φυσικών αναστολέων πήξης πραγματοποιείται συνήθως ως προσέγγιση βήμα προς βήμα. Σε περίπτωση μειωμένης δραστηριότητας PC, η συγκέντρωση PC μετράται για να γίνει διάκριση μεταξύ των τύπων ανεπάρκειας PC I και II. Ο τύπος I χαρακτηρίζεται από ομοιόμορφη μείωση της δραστηριότητας και συγκέντρωσης του PC, ενώ ο τύπος II χαρακτηρίζεται από μια κανονική συγκέντρωση και μια δυσανάλογα μειωμένη δραστηριότητα. Η διαγνωστική ροή εργασίας ολοκληρώνεται με γενετική ανάλυση για επιβεβαίωση και έρευνες για συγκεκριμένες οικογένειες. Σε περίπτωση δραστηριότητας PC εντός του εύρους αναφοράς, η γενετική ανάλυση φαίνεται συχνά να είναι απαραίτητη στην κλινική πράξη, καθώς συνήθως παρέχεται από λίγα μόνο εξειδικευμένα εργαστήρια.

Ωστόσο, η κλινική πρακτική συχνά στερείται λεπτομερών πληροφοριών σχετικά με αναλυτικές συνθήκες, όπως η διεξαγόμενη ανάλυση για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας του PC. Επιπλέον, οι κλινικοί γιατροί συχνά δεν γνωρίζουν τους περιορισμούς των διαφόρων εξετάσεων, φέρνοντας τον κίνδυνο μιας ερμηνείας που βασίζεται αποκλειστικά στο εύρος αναφοράς. Επομένως, απαιτούνται καλύτεροι ορισμοί των κλινικά άσχετων τιμών χαμηλής δραστηριότητας των φυσικών αναστολέων πήξης για τη βελτίωση της αφαίρεσης ενός γονότυπου από έναν εργαστηριακό φαινότυπο. Επομένως, υπάρχει ανάγκη να καθοριστεί μια τιμή αποκοπής της «πολύ χαμηλής» δραστηριότητας της πρωτεΐνης C, η οποία οδηγεί σε επακόλουθο γενετικό έλεγχο [32].

2.2.3.Μέτρηση επιπέδων αντιθρομβίνης

Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι αναλύσεων των επιπέδων της αντιθρομβίνης: αυτές που μετρούν τη δραστηριότητα της πρωτεΐνης (λειτουργικές δοκιμασίες) και αυτές που μετρούν την ποσότητα (ανοσοδοκιμασίες αντιγόνου). Οι τιμές αναφοράς στους ενήλικες κυμαίνονται συνήθως μεταξύ 80 και 120 IU/dL, αν και συνιστάται κάθε εργαστήριο να ορίζει το δικό του εύρος αναφοράς. Η ανεπάρκεια αντιθρομβίνης τύπου I έχει τυπικά χαμηλά επίπεδα τόσο αντιθρομβίνης όσο και αντιγόνου, συχνά κάτω από 70 IU/dL,5. αν και μπορεί να προκύψουν υψηλότερες τιμές. Η ανεπάρκεια τύπου II είναι ένα ποιοτικό ελάττωμα, που παράγει μια παραλλαγή πρωτεΐνης με μειωμένη λειτουργία. Επειδή οι αναλύσεις αντιγόνου μετρούν την ποσότητα της πρωτεΐνης αντιθρομβίνης ανεξάρτητα από το αν έχει δραστηριότητα ή όχι, τα επίπεδα αντιγόνου είναι συχνά φυσιολογικά σε ανεπάρκεια αντιθρομβίνης τύπου II. Επομένως, συνιστούμε η αρχική μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη διάγνωση της ανεπάρκειας αντιθρομβίνης να είναι η λειτουργική.

Τόσο ο τύπος I όσο και ο τύπος II (συμπεριλαμβανομένων όλων των υποτύπων) παρουσιάζουν μειωμένη δραστηριότητα. Οι ανεπάρκειες HBS και RS τύπου II έχουν φυσιολογικά αποτελέσματα αντιγόνου ή τουλάχιστον χαμηλή αναλογία δραστηριότητας προς αντιγόνο (το αντιγόνο είναι συνήθως δύο φορές υψηλότερο από τη δραστηριότητα). Οι πλειοτροπικές ανεπάρκειες τύπου II καταδεικνύουν μέτριες μειώσεις τόσο στη δράση της αντιθρομβίνης όσο και στο αντιγόνο (συνήθως χαμηλότερη δραστηριότητα από το αντιγόνο) που προκαλούνται από μεταλλάξεις στην περιοχή s1C-s4B.11. Ο θρομβωτικός κίνδυνος είναι χαμηλότερος στους ετεροζυγώτες HBS, αν και αυτό μπορεί να εξαρτάται από την αιτιολογική μετάλλαξη. Για παράδειγμα, ο κίνδυνος μπορεί να είναι υψηλότερος με το AT Budapest III (p.Leu131Phe) σε σύγκριση με άλλες μεταλλάξεις HBS. Επομένως, μια ανάλυση που διακρίνει τα ελαττώματα HBS από άλλα ελαττώματα τύπου II μπορεί να είναι χρήσιμη, όπως η προοδευτική ανάλυση.

Χρωμογόνες λειτουργικές μέθοδοι

Οι δοκιμασίες δραστικότητας αντιθρομβίνης είναι χρωμογονικές αμιδολυτικές μέθοδοι που βασίζονται στον παράγοντα IIa (θρομβίνη) ή στον παράγοντα Xa. Αυτές οι αναλύσεις εκτελούνται συνήθως χρησιμοποιώντας εμπορικά κιτ σε αυτοματοποιημένους αναλυτές πήξης. Σε μια δοκιμασία με βάση τη θρομβίνη, η περίσσεια θρομβίνης και ηπαρίνης προστίθενται στο πλάσμα του ασθενούς, βασιζόμενη στην ενδογενή αντιθρομβίνη για την αναστολή της θρομβίνης. Η μη ανασταλμένη θρομβίνη μετράται με την προσθήκη ενός χρωμογόνου πεπτιδικού υποστρώματος για τη θρομβίνη. Όταν η θρομβίνη διασπά το υπόστρωμα, απελευθερώνεται μια χρωμογόνος ένωση. Η ποσότητα της αλλαγής στην απορρόφηση που ανιχνεύεται από ένα φασματοφωτόμετρο, συνήθως στα 405 nm, είναι αντιστρόφως ανάλογη με τη δραστηριότητα της αντιθρομβίνης στο πλάσμα του ασθενούς. Η ανάλυση με βάση τον παράγοντα Xa εκτελείται με την ίδια ιδέα, εκτός του ότι ο παράγοντας Xa χρησιμοποιείται αντί για θρομβίνη. Αρκετές συνθήκες, όπως ο τύπος της δοκιμασίας και ο χρόνος επώασης, μπορούν να επηρεάσουν την ευαισθησία και την ειδικότητα των δοκιμασιών δραστικότητας. Οι δοκιμές που βασίζονται σε αντι-IIa που χρησιμοποιούν θρομβίνη βοοειδών και όλες οι δοκιμασίες που βασίζονται στον παράγοντα Xa δεν επηρεάζονται από τον συμπαράγοντα ηπαρίνης II, έναν δεύτερο φυσικό αναστολέα της θρομβίνης στο πλάσμα. Αντίθετα, ο συμπαράγοντας ηπαρίνης II προκαλεί υπερεκτίμηση της δράσης της αντιθρομβίνης όταν χρησιμοποιείται ανθρώπινη θρομβίνη σε μια ανάλυση που βασίζεται στο αντι-IIa. Στο πρόγραμμα επάρκειας ECAT του 2017, στο οποίο συμμετείχαν εκατοντάδες εργαστήρια σε όλο τον κόσμο, οι δοκιμασίες anti-IIa με χρήση ανθρώπινης θρομβίνης δεν ήταν σε τρέχουσα κλινική χρήση [33].

Οι διαφορές μεταξύ των δοκιμασιών με βάση τη θρομβίνη και των δοκιμασιών που βασίζονται στον παράγοντα Xa μπορεί να οδηγήσουν σε λανθασμένη διάγνωση ορισμένων ελλείψεων αντιθρομβίνης τύπου II. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ο προσδιορισμός που βασίζεται στον παράγοντα Xa μπορεί να μην ανιχνεύει καλά ορισμένες ανεπάρκειες RS τύπου II, σε σύγκριση με τον προσδιορισμό με βάση τη θρομβίνη, για παράδειγμα AT Cambridge II, AT Denver (p.Ser426Leu) και AT Stockholm (p.Gly424Asp). Ακόμη και αν χρησιμοποιηθεί θρομβίνη βοοειδών, η ανάλυση με βάση τη θρομβίνη μπορεί να μην λάβει AT Glasgow (p.Arg425His) εάν ο χρόνος επώασης είναι μεγαλύτερος από 1-2 λεπτά, ενώ η ανάλυση με βάση το Xa δεν επηρεάζεται από τον χρόνο επώασης με αυτόν τον τύπο II RS παραλλαγή. Ορισμένες

αναλύσεις που βασίζονται σε Πα ή Χα είναι καλύτερες από άλλες στην ανίχνευση παραλλαγών HBS. Η μείωση του χρόνου επώασης του δείγματος με ηπαρίνη και παράγοντα Χα ή ιδιαίτερα με αντιδραστήριο θρομβίνης μπορεί να βελτιώσει την ευαισθησία (βελτίωση της ικανότητας η ανάλυση για τη δημιουργία χαμηλού αποτελέσματος) και για ελαττώματα τύπου II HBS και RS [33].

Προσδιορισμός προοδευτικής δραστηριότητας

Για τη διάκριση των παραλλαγών HBS από άλλες παραλλαγές τύπου II, μπορεί να πραγματοποιηθεί ο προσδιορισμός προοδευτικής δραστηριότητας. Αυτή η δοκιμασία είναι μια δοκιμασία δραστηριότητας με δύο κύριες αλλαγές: η ηπαρίνη δεν υπάρχει στο αντιδραστήριο και ο χρόνος επώασης παρατείνεται (300 δευτερόλεπτα, για παράδειγμα). Η αντίδραση είναι πολύ πιο αργή (προοδευτική δραστηριότητα), μετρώντας τη δράση της αντιθρομβίνης ανεξάρτητα από το HBS. Για ασθενείς με μεταλλάξεις HBS, τα αποτελέσματα αντιθρομβίνης είναι τυπικά φυσιολογικά όταν χρησιμοποιείται ένας προσδιορισμός προοδευτικής δραστηριότητας, αλλά χαμηλά όταν χρησιμοποιείται ένας κλασικός προσδιορισμός δραστηριότητας. Αντίθετα, με ελαττώματα τύπου II RS, τα αποτελέσματα αντιθρομβίνης είναι χαμηλά τόσο με την προοδευτική όσο και με την κλασική δοκιμασία δραστηριότητας. Μία εξαίρεση είναι η AT Cambridge II, μια μετάλλαξη RS που έχει προοδευτική δραστηριότητα (χαμηλά αποτελέσματα με μια δοκιμασία κλασικής δραστηριότητας αλλά φυσιολογικά αποτελέσματα με δοκιμασία προοδευτικής δραστηριότητας). Ο προσδιορισμός προοδευτικής δραστηριότητας έχει χαμηλότερη ειδικότητα επειδή μπορεί να επηρεαστεί από άλλους αναστολείς όπως ο αναστολέας θρυψίνης και η α2-μακροσφαιρίνη, αν και δεν διατίθεται συνήθως στα περισσότερα κλινικά εργαστήρια [33].

Ανοσολογικές αναλύσεις

Οι τρέχουσες μέθοδοι που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μέτρηση του αντιγόνου της αντιθρομβίνης περιλαμβάνουν την ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμασία (ELISA), την ανοσοηλεκτροφόρηση πυραύλων, την ακτινική ανοσοδιάχυση και τις ανοσοθολοσιμετρικές μεθόδους. Τα επίπεδα αντιγόνου που μετρώνται με τα αποτελέσματα της συγκόλλησης λατέξ μπορεί να μειωθούν ψευδώς στην εγκυμοσύνη. Η δισδιάστατη ανοσοηλεκτροφόρηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση παραλλαγών HBS, αλλά είναι διαθέσιμη μόνο σε επιλεγμένα εργαστήρια [33].

Γενετικός έλεγχος

Σήμερα αναφέρονται 399 διαφορετικές μεταλλάξεις στο γονίδιο της αντιθρομβίνης (SERPINC1). Οι μοριακές δοκιμές δεν είναι συνήθως διαθέσιμες εκτός από εξειδικευμένα εργαστήρια, αν και λόγω της προόδου της τεχνολογίας είναι πιθανό να γίνουν πιο διαθέσιμες στο εγγύς μέλλον. Οι περισσότερες μεταλλάξεις τύπου I είναι μεταλλάξεις που εντοπίζονται σε όλο το γονίδιο (αυτού του τύπου οι μεταλλάξεις είναι σπάνιες, συνήθως απαντώνται σε μία μόνο οικογένεια). Ορισμένες μεταλλάξεις τύπου II είναι κοινές σε ορισμένους πληθυσμούς, όπως το AT Budapest III στην Ουγγαρία, AT Basel (p.Pro73Leu) στη Φινλανδία και AT Cambridge II στη Σκωτία και την Ισπανία. Μια πρόσφατη μελέτη που εξέτασε τον κίνδυνο VTE μεταξύ ετερόζυγων μεταλλάξεων τύπου I και τύπου II RS, HBS ή πλειοτροπικών μεταλλάξεων βρήκε χαμηλότερο κίνδυνο για AT Cambridge II και AT Dublin (p.Val30Glu) και ακόμη χαμηλότερο κίνδυνο για μεταλλάξεις HBS.

Ο γενετικός έλεγχος βοηθά στην ανίχνευση AT Dublin, AT Wibble (p.Thr117Met) και AT Rouen VI (p.Asn219Asp), τα οποία μπορούν να έχουν φυσιολογικά αποτελέσματα για τη δραστηριότητα και το αντιγόνο αντιθρομβίνης, πιθανώς μειώνοντας μόνο σε ορισμένες καταστάσεις όπως ο πυρετός ή εγκυμοσύνη. Επομένως, η αναπαραγώγιμη φυσιολογική δραστηριότητα αντιθρομβίνης σε έναν ασθενή με προηγουμένως διαπιστωμένη ανεπάρκεια αντιθρομβίνης δεν ανατρέπει απαραίτητα τη διάγνωση. Επειδή ο θρομβωτικός κίνδυνος φαίνεται να εξαρτάται από τον υπότυπο της ανεπάρκειας αντιθρομβίνης και οι αναλύσεις πλάσματος είναι μερικές φορές αδιευκρίνιστες για τον προσδιορισμό αυτών των υποτύπων, ο γενετικός έλεγχος μπορεί να δικαιολογηθεί σε επιλεγμένους ασθενείς, εάν είναι διαθέσιμος. Επιπλέον, η μοριακή ανάλυση είναι ο μόνος τρόπος για την οριστική αναγνώριση των ομόζυγων ατόμων

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Οι επίκτητες αιτίες για μειωμένα επίπεδα αντιθρομβίνης είναι πολύ πιο συχνές από τις κληρονομικές ανεπάρκειες αντιθρομβίνης. Επομένως, οι πιθανές επίκτητες αιτίες μειωμένης αντιθρομβίνης πρέπει να αποκλειστούν πριν από τη διάγνωση κληρονομικής ανεπάρκειας αντιθρομβίνης. Ορισμένα άμεσα αντιπηκτικά μπορεί να αυξήσουν λανθασμένα τη δράση της αντιθρομβίνης, προκαλώντας δυνητικά μη διάγνωση. Η βαρφαρίνη (και πιθανώς άλλοι ανταγωνιστές της βιταμίνης K) δεν παρεμβαίνουν στις τρέχουσες αναλύσεις αντιθρομβίνης [33].

2.2.4. Μέτρηση ομοκυστεΐνης ορού

Η μέτρηση των επιπέδων ομοκυστεΐνης μπορεί να γίνει με υγρή χρωματογραφία υψηλής ευκρίνειας (HPLC) και ηλεκτροχημικές ή φωτομετρικές μεθόδους. Τα τελευταία χρόνια έχουν χρησιμοποιηθεί ανοσοενζυμικές μέθοδοι, οι οποίες είναι ευκολότερα διαθέσιμες αλλά το ίδιο αποτελεσματικές. Πρέπει να σημειωθεί ότι η πρόσφατη λήψη καφεΐνης καθώς και το κάπνισμα αυξάνουν τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης [2]. Επιπλέον, πριν την αιμοληψία απαιτείται βραχεία νηστεία, καθώς τα αυξημένα επίπεδα μεθειονίνης με την τροφή μπορεί να οδηγήσουν σε εύρεση αυξημένων επιπέδων ομοκυστεΐνης. Τέλος είναι σημαντικό να γίνεται άμεση φυγοκέντρηση του δείγματος, διότι καθώς τα κύτταρα του αίματος παράγουν συνεχώς ομοκυστεΐνη, κάθε ώρα που το δείγμα παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου τα επίπεδά της αυξάνονται κατά 10% [1].

2.2.5. Αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο

Η διάγνωση του αντιφωσfolιπιδικού συνδρόμου (APS) βασίζεται στην παρουσία ενός κλινικού κριτηρίου (θρόμβωση και/ή νοσηρότητα εγκυμοσύνης), σε συνδυασμό με επίμονα κυκλοφορούντα αντιφωσfolιπιδικά αντισώματα (aPL) (πίνακας 5). Τα εργαστηριακά κριτήρια aPL είναι το αντιπηκτικό λύκου (LAC), τα αντισώματα αντικαρδιολιπίνης (aCL) IgG και IgM και τα αντισώματα αντι-β2 γλυκοπρωτεΐνης I (aβ2GPI) IgG και IgM [34]. Η παρουσία των αντισωμάτων θα πρέπει να επιβεβαιωθεί τουλάχιστον ακόμη μία φορά μετά από 12 εβδομάδες [1]. Αντιφωσfolιπιδικά αντισώματα ανιχνεύονται στο 2% του γενικού πληθυσμού και η πιθανότητα εμφάνισης κλινικών προβλημάτων είναι αντίστοιχη του τίτλου των αντισωμάτων [3]. Η διάγνωση και η διαστρωμάτωση κινδύνου του APS είναι πολύπλοκες και οι προσπάθειες τυποποίησης και βελτιστοποίησης των εργαστηριακών εξετάσεων συνεχίζονται από τότε που περιγράφηκε αρχικά το σύνδρομο. Η ανίχνευση LAC βασίζεται σε προσδιορισμούς λειτουργικής πήξης, ενώ το aCL και το aβ2GPI μετρώνται με ανοσολογικούς προσδιορισμούς στερεάς φάσης. Οι δοκιμασίες LAC επηρεάζονται αρκετά από την ύπαρξη αντιπηκτικής θεραπείας, ωστόσο τελευταία ανακαλύπτονται μέθοδοι στις οποίες δεν παρεμβαίνει ο παράγοντας αυτός. Εναλλακτικές τεχνικές όπως η παραγωγή θρομβίνης για την ανίχνευση LAC και για την εκτίμηση της παθογένειας της LAC έχουν προταθεί, αλλά δεν είναι ακόμη εφαρμόσιμες σε συνθήκες ρουτίνας. Για το aCL και το aβ2GPI, είναι διαθέσιμες πολλές διαφορετικές δοκιμασίες και

τεχνικές ανίχνευσης, όπως ανοσοπροσροφητικές και μέθοδοι χημειοφωταύγειας. Επιπροσθέτως, η έλλειψη γενικών βαθμονομητών ή προτύπων έχει ως αποτέλεσμα υψηλή μεταβλητότητα μεταξύ των διαφορετικών δοκιμασιών στερεάς φάσης [34].

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: Διάγνωση αντιφωσfolιπιδικού συνδρόμου [3].

Κλινικά χαρακτηριστικά	Εργαστηριακός έλεγχος
Υποτροπιάζοντα επεισόδια αρτηριακής ή φλεβικής θρόμβωσης	Αντιπηκτικό λύκου LA – lupus anticoagulant
Καθ' ἑξιν αποβολές	Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (ACA – anticardiolipin antibodies)
Δικτυωτή πελίωση	Αντισώματα αντι-β2 γλυκοπρωτεΐνης I

Βιβλιογραφία

- [1] **Ιωάννης Γεωργούλης.** “Εργαστηριακή αιματολογία”, 2012
- [2] **Ελισάβετ Γρουζή.** “Αιμορραγία και θρόμβωση. Παθογένεια – Κλινική εικόνα – Αντιμετώπιση”, 2021
- [3] **Martin R. Howard.** “Βασικές αρχές αιματολογίας”, 2008
- [4] **Kujovich JL.** “Factor V Leiden Thrombophilia”, 1999
- [5] **Patnaik MM et al.** "Inherited antithrombin deficiency: a review". 2008
- [6] **Elaheh Rahbar.** “Acquired antithrombin deficiency is a risk factor for venous thromboembolism after major trauma”. 2021
- [7] **Peter S Maclean.** “Hereditary and acquired antithrombin deficiency: epidemiology, pathogenesis and treatment options”. 2007
- [8] **Javier Corral.** “The genetics of antithrombin”. 2018
- [9] **Stephan Moll.** “Homocysteine and MTJFR mutations”, 2015
- [10] **M T Nurmohamed.** “Physiological changes due to age. Implications for the prevention and treatment of thrombosis in older patients”. 1994
- [11] **Fahumiya Samad.** “Inflammation, obesity and thrombosis”. 2013
- [12] **K A Darvall.** “Obesity and thrombosis”, 2006
- [13] **Marcel Levi.** “Infection and inflammation as risk factors for thrombosis and atherosclerosis”, 2012
- [14] **Mohammad A M Ali.** “COVID-19 and thrombosis: From bench to bedside”, 2020
- [15] **Megan V Perkins.** “Cardiovascular disease and thrombosis in HIV infection”, 2022
- [16] **Jonh – Bjarne Hansen.** “Cancer – Associated thrombosis (CAT)”, 2019
- [17] **C Mornet.** “Thrombosis and platelet dysfunction in myeloproliferative neoplasms”, 2019
- [18] **Eleftheria – Elmina Lefkou.** “Thrombosis in autoimmune diseases: The model of antiphospholipid syndrome”, 2019
- [19] **M. Petri.** “Antiphospholipid Syndrome”, 2021
- [20] **Sammaritano LR.** “Antiphospholipid syndrome”, 2019
- [21] **Shruti Chaturvedi.** “Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrome”, 2017

- [22] **E-E Λευκού.** “Μαιευτικό αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο πυροδοτούμενο μέσα στην κύηση – Ένας νέος υπότυπος του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου?”, 2019
- [23] **Saskia Middeldorp.** “Thrombophilia, thrombosis and thromboprophylaxis in pregnancy. For what and in whom?”, 2022
- [24] **Chrysoula Papageorgiou.** “Disseminated intravascular coagulation: An update on pathogenesis, diagnosis and therapeutic strategies”, 2018
- [25] **Jeremy Ong.** “A review of laboratory considerations in thrombophilia testing”, 2022
- [26] **Guiesepe Colucci.** “Thrombophilia screening revisited: an issue of personalized medicine”, 2020
- [27] **Mehran Bahraini.** “Laboratory Diagnosis of Activated Protein C Resistance and Factor V Leiden”, 2023
- [28] **Lars Asmis.** “Thrombophilia Testing – A systematic Review”, 2022
- [29] **Jeremy Ong.** “A review of laboratory considerations in thrombophilia testing”, 2022
- [30] **Zsuzsanna Bereczky.** “Deficiencies of the Natural Anticoagulants – Novel Clinical Laboratory Aspects of Thrombophilia Testing”, 2016
- [31] **Shuhin Zhan.** “Venous thromboembolism laboratory testing (factor V Leiden and factor II c.*97G>A), 2018 update: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)”, 2018
- [32] **Holger Seidel.** “Laboratory Limitations of Excluding Hereditary Protein C Deficiency by Chromogenic Assay: Discrepancies of Phenotype and Genotype”, 2020
- [33] **J Thromb Haemost.** “Recommendations for clinical laboratory testing for antithrombin deficiency; Communication form the SSC of the ISTH”, 2020
- [34] **Arne Vandeveld.** “Laboratory diagnosis of antiphospholipid syndrome: insights and hindrances”, 2022