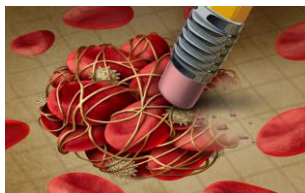




ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

**"ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΣΤΟΧΕΥΟΥΝ ΣΤΟΥΣ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΗΞΗΣ FXI ΚΑΙ FXII"**

υπό

ΤΟΛΗ Β. ΕΛΕΝΗ

Ειδικευμένης Καρδιολόγου

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

Λάρισα, 2022

Επιβλέπων:

Τσελέπης Αλέξανδρος, Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. Τσελέπης Αλέξανδρος, Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (*Επιβλέπων*)
2. Τσιάρα Σταυρούλα, Καθηγήτρια Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
3. Λευκού Ελμίνα, Αιματολόγος, Διδάκτωρ ΑΠΘ

Αναπληρωματικό μέλος:

Ματσάγκας Μιλτιάδης, Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:

“ Anticoagulant drugs that target coagulation factors FXI and FXII”

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Κλινικής Βιοχημείας κ. Τσελέπη Αλέξανδρο για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση που μου προσέφερε για την εκπόνηση αυτής τη διπλωματικής εργασίας. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Αγγειοχειρουργικής κ. Μιλτιάδη Ματσάγκα καθώς και όλους τους διδάσκοντες του μεταπτυχιακού προγράμματος τόσο για την γνώση που μας μεταλαμπάδευσαν, βασισμένη πάντα στα τελευταία επιστημονικά δεδομένα, όσο και για την άποψη συμπεριφορά τους απέναντι στους φοιτητές που με έκανε να αισθανθώ οικεία και να μην διστάσω να συζητήσω μαζί τους οποιοδήποτε θέμα με απασχολούσε κατά τη διάρκεια των διαλέξεων. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην γραμματέα κα Ξανθή Σακκά για την άμεση και πάντα πρόθυμη ανταπόκρισή της σε όποιο ζήτημα προέκυπτε.

Ελένη Τόλη

Στον αγαπημένο μου σύζυγο,

Γιώργο

Στη μητέρα μου,

Αντωνία

Στη μνήμη του πατέρα μου,

Βασίλη

Περίληψη

Η θρόμβωση, είτε αυτή αφορά το αρτηριακό (Οξύ Στεφανιαίο Σύνδρομο, Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο, Περιφερική Αρτηριακή νόσος) είτε το φλεβικό αγγειακό σκέλος (Φλεβική Θρομβοεμβολική Νόσος που περιλαμβάνει την Εν τω βάθει Φλεβοθρόμβωση και την Πνευμονική Εμβολή) συνεχίζει να αποτελεί την κυριότερη αιτία θανάτου παγκοσμίως. Με 1 στους 4 θανάτους⁶ να οφείλεται σε κάποιο από τα ανωτέρω νοσήματα, είναι αυτονόητο πως η ανάγκη για αποτελεσματικά αλλά ταυτόχρονα ασφαλή αντιθρομβωτικά φάρμακα είναι επιτακτική. Παρά την αλματώδη εξέλιξη στον τομέα αυτών των φαρμάκων τις τελευταίες δεκαετίες και τον αρχικό ενθουσιασμό που έφερε η εισαγωγή των νεότερων αντιπηκτικών (NOACs) στη θεραπεία ενός σημαντικού αριθμού ασθενών που έως τότε λάμβαναν αποκλειστικά ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ, καθιστώντας τη θεραπεία τους εξίσου αποτελεσματική αλλά ταυτόχρονα πιο εύκολη λόγω της φαρμακοκινητικής τους και του ευρύτερου φαρμακευτικού παραθύρου τους, υπάρχουν ακόμη σοβαροί προβληματισμοί γύρω από τη χρήση αυτών των φαρμάκων. Πιο συγκεκριμένα, αν και σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με τα κουμαρινικά αντιπηκτικά, ο σημαντικός αριθμός σοβαρών αιμορραγιών που παρόλα αυτά καταγράφεται από τη χρήση τους και αποτελεί την σοβαρότερη παρενέργειά τους καθώς και η αντένδειξη στη χρήση των NOACs σε ειδικές κατηγορίες ασθενών όπως ασθενείς με προσθετικές μηχανικές συσκευές (π.χ. μεταλλικές βαλβίδες) ή ασθενείς με Χρόνια Νεφρική Νόσο τελικού σταδίου, καθιστούν σαφές ότι τα φάρμακα αυτά απέχουν αρκετά από το ‘‘ιδανικό’’ αντιπηκτικό φάρμακο. Εντούτοις, η παρατήρηση από μελέτες καταγραφής ασθενών με συγγενή έλλειψη των παραγόντων XI και XII του ενδογενούς μηχανισμού πήξης ότι εμφανίζουν χαμηλότερα ποσοστά θρομβωτικών επεισοδίων αλλά ταυτόχρονα και ελάχιστες, μη σημαντικές αιμορραγίες, οδήγησε την επιστημονική κοινότητα στην αναζήτηση αντιπηκτικών φαρμάκων έναντι των νέων αυτών αντιπηκτικών στόχων. Τα έως τώρα δεδομένα από μια πληθώρα προκλινικών αλλά και κάποιων κλινικών δοκιμών φαίνονται να είναι ενθαρρυντικά. Η ανάπτυξη μονοκλωνικών αντισωμάτων, αντινοηματικών ολιγονουκλεοτιδίων καθώς και διάφορων πεπτιδομιμητικών μορίων έναντι των παραγόντων πήξης XI και XII δείχνει να είναι πολλά υποσχόμενη. Μένει να πραγματοποιηθούν περισσότερες κλινικές μελέτες ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για το αν αυτοί οι νέοι στόχοι θα αποτελέσουν την επανάσταση στον τομέα των αντιπηκτικών.

Λέξεις- Κλειδιά: παράγοντες πήξης XI και XII, αντιπηκτικά φάρμακα, καταρράκτης πήξης, ενδογενής μηχανισμός πήξης, σύστημα επαφής, αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια, μονοκλωνικά αντισώματα.

Abstract

Thrombosis, whether it implies the arterial (Acute Coronary Syndrome, Stroke, Peripheral Artery Disease) or the venous part of the vascular tree (Venous Thromboembolism including Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism) still remains the leading cause of death worldwide. Considering that 1 out of 4 deaths is caused by one of the mentioned above diseases, it is understandable that the need for effective but at the same time safe antithrombotic drugs is crucial. Despite the outstanding development in this category of drugs during the last few decades and the initial enthusiasm that followed the introduction of the newer anticoagulants (NOACs) in the treatment of an important number of patients dependent solely on vitamin K antagonists, thanks to their equal effectiveness as long as their better pharmacokinetics and broader therapeutic window, there are still major concerns regarding their usage. More specifically, though to a smaller percentage compared to coumarin anticoagulants, the recording of an important number of serious haemorrhages after their use, which is their worst complication, and the fact that NOACs are contraindicated in specific patient populations such as those with prosthetic devices (e.g. mechanical valves) or End-Stage Renal Disease patients, suggest that these drugs are way far from the “ideal” anticoagulant. Nevertheless, observations from recordings of patients with congenital deficiency of FXI and FXII, factors involved in the intrinsic pathway of coagulation, show that those patients suffer less from thrombotic episodes while having minimal and minor bleedings. These led scientists to believe that FXI and FXII could become new anticoagulant targets and design drugs against them. The results deriving at the moment from a plethora of preclinical and a few clinical trials seem to be very encouraging. The development of monoclonal antibodies, antisense oligonucleotides and several peptidomimetics against factors FXI and FXII looks really promising. It remains for more clinical trials to be conducted so that safer results can be exported on whether these new targets will bring revolution in the field of coagulants.

Key words: coagulation factors FXI and FXII, anticoagulant drugs, coagulation cascade, intrinsic coagulation pathway, contact pathway, antisense oligonucleotides, monoclonal antibodies

Πίνακας Περιεχομένων

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1	10
Εισαγωγή	10
1.1 Εισαγωγικά Στοιχεία	10
1.1.1 Αρτηριακή Θρόμβωση	10
1.1.2 Φλεβική θρόμβωση	11
1.2 Καταρράκτης Πήξης	12
1.2.1 Εξωγενής οδός πήξης	13
1.2.2 Ενδογενής οδός πήξης	14
1.3 Οδός επαφής-Σύστημα Καλικρεΐνης-Κινίνης	15
1.3.1 Οδός επαφής και αιμόσταση	16
1.3.2 Οδός επαφής και θρόμβωση	16
1.3.3 Οδός επαφής και σήψη	19
1.4 Σπάνιες αιμορραγικές διαταραχές-Αιμορροφιλία C	22
1.5 Κατηγορίες αναστολέων των παραγόντων XI και XII	24
1.5.1 Αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια (ASOs)	27
1.5.2 Μονοκλωνικά αντισώματα	29
1.5.3 Μικρά πεπτιδομιμικά μόρια	30
1.5.4 Απταμερή	31
1.5.5 Άλλες κατηγορίες αναστολέων	31

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 2	34
Μεθοδολογία	34

2.1 Στόχος μελέτης	34
2.2 Συλλογή υλικού	34
Κεφάλαιο 3	35
Αποτελέσματα	35
3.1 Αποτελέσματα προκλινικών μελετών	35
3.1.1 Αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση	35
3.1.2 Σήψη	36
3.1.3 Τεχνητές επιφάνειες	36
3.2 Κλινικές μελέτες	37
3.2.1 Μελέτη FOXTROT	37
3.2.2 Μελέτη φάσης 2 του αναστολέα IONIS-FXIRX	39
3.2.3 Μελέτη FXI-LICA	40
3.2.4 Σήψη	41
Κεφάλαιο 4	42
Συζήτηση	42
Κεφάλαιο 5	45
Συμπεράσματα	45
Συντομογραφίες	46
Βιβλιογραφία	48
Παράρτημα	51

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

1.1 Εισαγωγικά Στοιχεία

Τα θρομβωτικά επεισόδια στο σύνολό τους (αρτηριακά και φλεβικά) συνεχίζουν να αποτελούν την κυριότερη αιτία θανάτου (1 στους 4 θανάτους) και αναπηρίας παγκοσμίως⁶. Πιο συγκεκριμένα, η αρτηριακή θρόμβωση που περιλαμβάνει το Οξύ Στεφανιαία Σύνδρομο (ΟΣΣ), το Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο (ΑΕΕ) και την Περιφερική Αρτηριακή Νόσο (ΠΑΝ) αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου παγκοσμίως¹¹ ενώ στην τρίτη θέση, μετά το ΟΣΣ και το ΑΕΕ, ακολουθεί η Φλεβική Θρομβοεμβολική Νόσος (ΦΘΕΝ) που περιλαμβάνει την Εν τω Βάθει Φλεβοθρόμβωση (ΕΒΦΘ) και την Πνευμονική Εμβολή (ΠΕ)¹⁷.

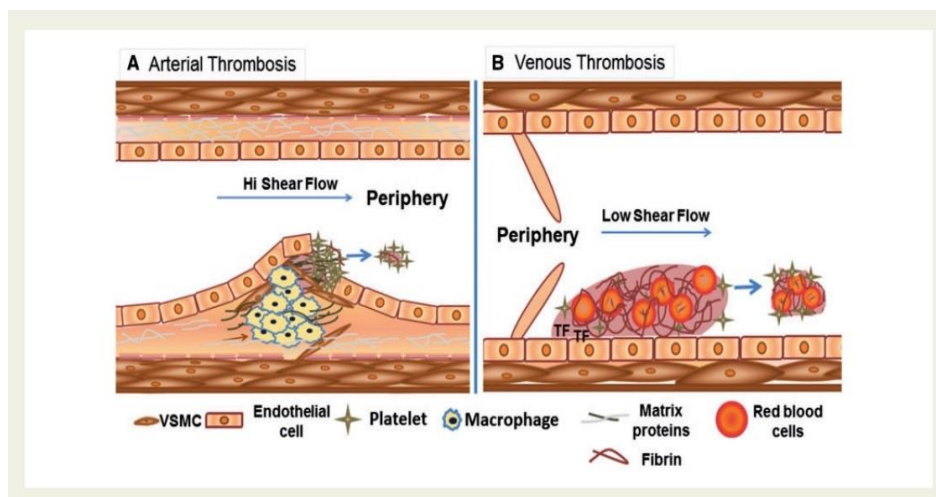
Η σύσταση των θρόμβων περιλαμβάνει συσσωρευμένα αιμοπετάλια, ινική και παγιδευμένα κύτταρα σε αναλογία που ποικίλλει ανάλογα με την προέλευση του θρόμβου από το αρτηριακό ή το φλεβικό σκέλος⁶ (Εικόνα 1).

1.1.1 Αρτηριακή Θρόμβωση

Οι αρτηριακές θρομβώσεις είναι αποτέλεσμα ρήξης μιας αθηρωματικής πλάκας υπό συνθήκες αυξημένης διατμητικής τάσης (high shear stress). Κύριο ρόλο στη δημιουργία του αρτηριακού θρόμβου φέρουν τα αιμοπετάλια τα οποία αρχικά μεταναστεύουν στην περιοχή του τραυματισμένου ενδοθηλίου και προσκολλώνται στο εκτεθειμένο κολλαγόνο και τον παράγοντα von Willebrand (Vw) ενώ στη συνέχεια απελευθερώνουν ουσίες όπως η θρομβοξάνη A₂ (TXA₂) που επάγουν την περαιτέρω συγκόλλησή τους. Ο αρτηριακός θρόμβος αποτελείται επίσης και από ινική, η οποία είναι αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του μηχανισμού πήξης μέσω του Ιστικού Παράγοντα (Tissue Factor-TF). Μάλιστα, σε ασθενείς με ΟΣΣ η δημιουργία θρομβίνης φαίνεται να επιμένει για 6 έως 12 μήνες μετά το αρχικό επεισόδιο. Όμως η συνολική συνεισφορά της στη δημιουργία του θρόμβου είναι μικρότερη από αυτή των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Για το λόγο αυτό, στην αντιμετώπιση των αρτηριακών θρομβώσεων θεραπεία εκλογής είναι τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα, ενώ τα αντιπηκτικά δίνονται συνεπικουρικά⁶.

1.1.2 Φλεβική θρόμβωση

Σε αντίθεση με την αρτηριακή θρόμβωση, η φλεβική θρόμβωση επισυμβαίνει υπό συνθήκες χαμηλής διατμητικής τάσης (low shear stress). Η παρουσία έστω και μίας συνθήκης από την τριάδα του Virchow (στάση αιματικής ροής, τραυματισμός ενδοθηλίου, παρουσία υπερπηκτικής κατάστασης) μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης είτε μέσω της εξωγενούς οδού πήξης (έκφραση TF από το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο) είτε μέσω της ενδογενούς (ενεργοποίηση FXII) με τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία ινικής, που αποτελεί και το κύριο συστατικό του φλεβικού θρόμβου. Φυσικά, στη δημιουργία αυτού του θρόμβου συμμετέχουν, σε μικρότερο βαθμό, και τα αιμοπετάλια τα οποία έλκονται από το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο, τις εξωκυττάρια παγίδες ουδετερόφιλων (Neutrophil Extracellular Traps-NETs)⁶ καθώς και μια πληθώρα άλλων παραγόντων ενώ η παρουσία στην επιφάνειά τους υποδοχέων όπως του GPIIb για τη σύνδεση της θρομβίνης και του HK (High Molecular Weight Kininogen) και του GPIb-IX για τη σύνδεση των παραγόντων FXI/FXII/HK παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση και τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων⁵. Συνεπώς, βάσει του μηχανισμού θρόμβωσης στο φλεβικό αγγειακό σκέλος γίνεται κατανοητό ότι ο ακρογωνιαίος λίθος της θεραπείας είναι τα αντιπηκτικά φάρμακα.



Εικόνα 1 Κυριότερες διαφορές μεταξύ αρτηριακής και φλεβικής θρόμβωσης. Α. Η αρτηριακή θρόμβωση συμβαίνει υπό συνθήκες αυξημένης διατμητικής τάσης, όταν θρόμβοι πλούσιοι σε αιμοπετάλια σχηματίζονται γύρω από ρηγμένες αθηροσκληρωτικές πλάκες και κατεστραμμένο ενδοθήλιο. Β. Η φλεβική θρόμβωση συμβαίνει υπό συνθήκες χαμηλής διατμητικής τάσης και συνήθως γύρω από ακέραιο ενδοθήλιο. Οι φλεβικοί θρόμβοι είναι πλούσιοι σε ινωδογόνο και περικλείουν ερυθρά αιμοσφαίρια επιπλέον των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Πηγή: European Heart Journal (2017) 38,785-791doi:10.1093/eurheartj/ehw550.

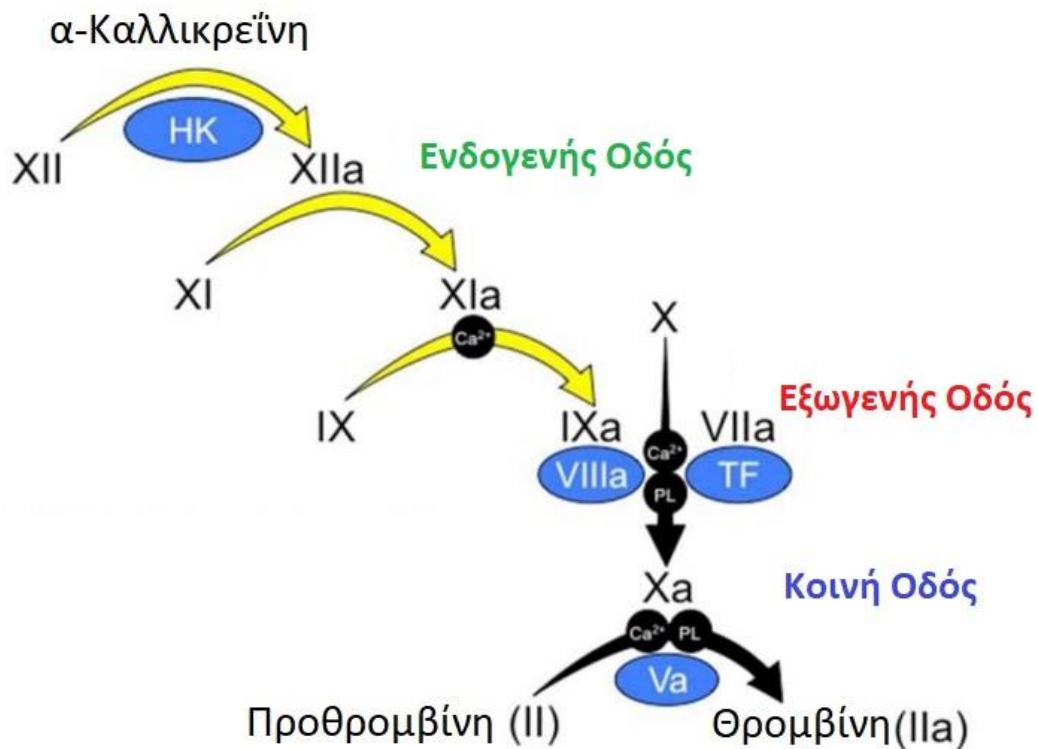
1.2 Καταρράκτης Πήξης

Το 1964 οι R. Gwyn Macfarlane, Earl Davie και Oscar Ratnoff πρότειναν έναν μηχανισμό πήξης του αίματος που έγινε γνωστός ως *''καταρράκτης της πήξης''*^{22,30}. Σύμφωνα με αυτό το μηχανισμό, όπως φαίνεται στην εικόνα 2, πρόκειται για μια σειρά πρωτεολυτικών ενεργοποιήσεων ενζύμων του τύπου της θρυψίνης (trypsin-like enzymes). Σε κάθε βήμα αυτής της διαδικασίας, μια μη ενεργοποιημένη πρόδρομη πρωτεάση (προένζυμο ή αλλιώς ζυμογόνο) μετατρέπεται με εσωτερική διάσπαση σε ενεργή πρωτεάση μέσω μιας έτερης πρωτεάσης η οποία καταλύει τη διαδικασία. Εξάριση σε αυτόν τον κανόνα αποτελεί η ενεργοποίηση του παράγοντα XII σε XIIa όπου υπάρχει αβεβαιότητα σχετικά με τον ακριβή μηχανισμό αυτής της μετατροπής.

Με βάση τον κλασικό καταρράκτη της πήξης, υπάρχουν δύο διακριτοί μηχανισμοί που μπορούν να ξεκινήσουν τη διαδικασία της πήξης και αναφέρονται ως *εξωγενής* και *ενδογενής οδός πήξης*⁸ (Εικόνα 3). Η εξωγενής οδός ενεργοποιείται από τη σύνδεση του FVII με τον TF με αποτέλεσμα τη μετατροπή του FVII στην ενεργή μορφή του FVIIa, ενώ η ενδογενής από τη μετατροπή του FXII σε FXIIa. Και οι δύο οδοί συγκλίνουν στο επίπεδο του FX (κοινή οδός πήξης) ο οποίος μετατρέπεται στον ενεργοποιημένο FXa και μαζί με τον FVa μετατρέπουν την προθρομβίνη σε θρομβίνη, το κύριο παράγωγο αυτής της διαδικασίας. Εν συνεχεία η πρωτεάση θρομβίνη μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες ενώ ταυτόχρονα ευοδώνει την ενεργοποίηση του FXI.

Θα πρέπει όμως να σημειωθεί το εξής: η αλυσιδωτή ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης θεωρητικά υποδηλώνει ότι η πλήρης έλλειψη οποιουδήποτε από του παράγοντες που συμμετέχουν θα έπρεπε να προκαλεί αιμορραγία. Πράγματι, η έλλειψη των FIX/FVIII έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί σοβαρές μορφές αιμορροφιλίας. Όμως, η παρατήρηση ότι η έλλειψη του FXI προκαλεί ελάχιστες και ελάσσονες αιμορραγίες ενώ η πλήρης έλλειψη του FXII δεν σχετίζεται με παθολογικές αιμορραγίες, υποδεικνύει ότι το κλασικό αυτό μοντέλο του καταρράκτη της πήξης δεν ανταποκρίνεται επακριβώς στον τρόπο με τον οποίο η

ενδογενής οδός πήξης συνεισφέρει στη διαδικασία της αιμόστασης *in vivo*²⁸.



Εικόνα 2 Το κλασσικό μοντέλο του καταρράκτη της πήξης. Τροποποίηση από Wheeler και Gailani³⁰.

1.2.1 Εξωγενής οδός πήξης

Η ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού πήξης ξεκινάει με την σύνδεση του TF στον FVII με αποτέλεσμα την μετατροπή αυτού σε FVIIa. Εν συνεχεία, το σύμπλεγμα TF-FVIIa (εξωγενής τενάση-extrinsic tenase) ενεργοποιεί τον FX ο οποίος μετατρέπεται σε FXa και καταλύει τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη ώστε τελικά να σχηματιστεί ινώδες από το ινωδογόνο με τη διαμεσολάβηση της θρομβίνης.

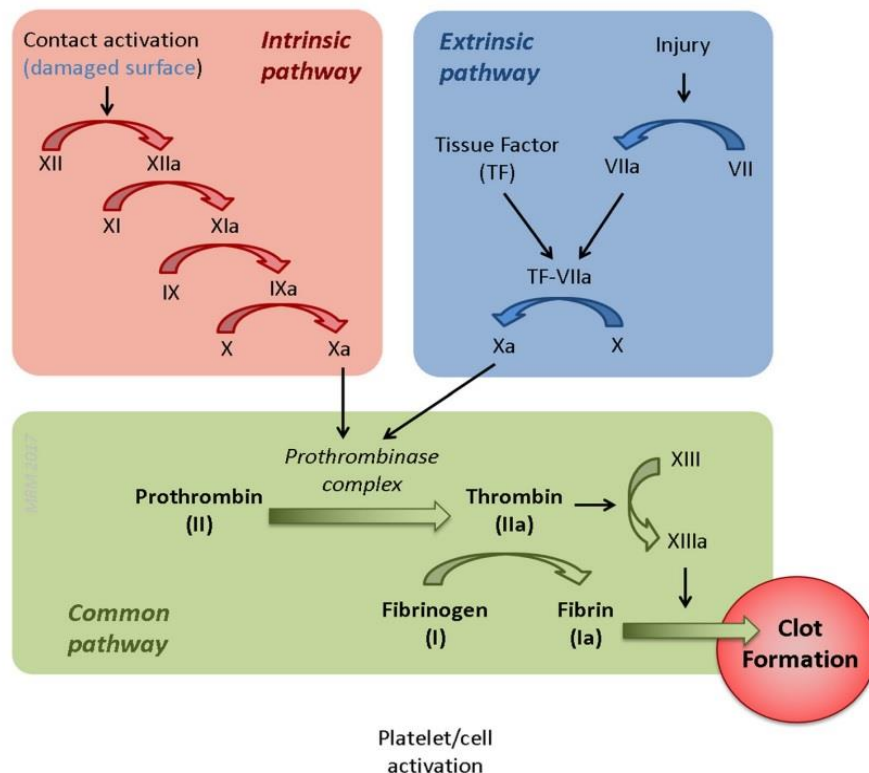
Σημειώνεται ότι η εξωγενής τενάση ενεργοποιεί και τον FIX. Ακολούθως, ο FIXa συνδέεται στον FVIIIa στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων για να δημιουργηθεί η ενδογενής τενάση (intrinsic tenase). Καθώς η ενδογενής τενάση υπερτερεί της εξωγενούς στην ενεργοποίηση του FX, η ενεργοποίηση των FVIII και FIX αποτελεί σημαντικό βήμα ενίσχυσης της ενεργοποίησης του FX. Εν κατακλείδι, ο TF δίνει το έναυσμα για το σχηματισμό θρομβίνης δια μέσου της εξωγενούς τενάσης και την ενισχύει μέσω της ενδογενούς τενάσης⁶.

Η ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού πήξης εκτιμάται με μέτρηση του χρόνου προθρομβίνης (Prothrombin Time-PT)⁶.

1.2.2 Ενδογενής οδός πήξης

Η ενεργοποίηση αυτού του μονοπατιού της πήξης είναι αποτέλεσμα της επαφής του πλάσματος με μία αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια. Μια πληθώρα τέτοιων οργανικών ή ανόργανων επιφανειών ενεργοποιεί την μετατροπή του FXII σε FXIIa, ασκώντας προθρομβωτική δράση. Εν συνεχεία ενεργοποιούνται κατά σειρά ο FXI σε FXIa, ο FIX σε FIXa καταλήγοντας εν τέλει στο κοινό μονοπάτι της πήξης και την ενεργοποίηση του FX²².

Η ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού πήξης εκτιμάται με τη μέτρηση του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (Activated Partial Thromboplastin Time-aPTT)²².



Εικόνα 3 Η ενδογενής οδός, η εξωγενής οδός και η κοινή οδός της πήξης. Πηγή: Robertson, Sarah & Miller, Mark. (2018). Ambient air pollution and thrombosis. Particle and Fibre Toxicology. 15. 10.1186/s12989-017-0237-x.

1.3 Οδός επαφής-Σύστημα Καλλικρεΐνης-Κινίνης

Το σύστημα ενεργοποίησης μέσω επαφής (*Contact Activation System-CAS*) περιλαμβάνει τους παράγοντες πήξης FXI, FXII, τον συμπαράγοντα HK και την προκαλλικρεΐνη ενώ οι παράγοντες αυτοί, εκτός του FXI, αναφέρονται επίσης και ως σύστημα καλλικρεΐνης-κινίνης (*Kallikrein-Kinin System-KKS*). Η σύνθεση αυτών των παραγόντων γίνεται στα ηπατοκύτταρα, όπως συμβαίνει και με τους άλλους παράγοντες πήξης, με τη διαφορά ότι οι συγκεκριμένοι δεν απαιτούν την παρουσία της βιταμίνης K για να γίνουν μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις²⁹. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, ο FXII και η προκαλλικρεΐνη αλληλομετατρέπονται σε FXIIa και καλλικρεΐνη (PKa). Κατόπιν, η PKa διασπά τον συμπαράγοντα HK ώστε να απελευθερωθεί το αγγειοδραστικό πεπτίδιο βραδυκινίνη που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της διαπερατότητας και του τόνου των αγγείων.

Όπως υποδηλώνει και το όνομά του, το σύστημα επαφής ενεργοποιείται όταν το αίμα έρθει σε επαφή με συγκεκριμένου τύπου βιολογικές ή τεχνητές επιφάνειες με αποτέλεσμα την αμοιβαία ενεργοποίηση των FXII και προκαλλικρεΐνης μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται *ενεργοποίηση επαφής* (*contact activation*). Το χαρακτηριστικό αυτών των επιφανειών είναι το αρνητικό φορτίο που φέρουν. Ως τέτοιου είδους επιφάνειες μπορούν να λειτουργήσουν τα εξής:

- Πολυφωσφορικά (Poly-Ps αιμοπεταλίων)
- Πολυνουκλεϊκά οξέα (DNA,RNA)
- Βακτηριακά συστατικά (λιποπολυσακχαρίδια, τειχοϊκό οξύ, πεπτιδογλυκάνες)
- NETs
- Κακώς αναδιπλωμένες πρωτεΐνες
- Ενδοφλέβιοι καθετήρες
- Μεταλλικές καρδιακές βαλβίδες
- Κυκλώματα εξωσωματικής οξυγόνωσης με μεμβράνη (Extracorporeal Membrane Oxygenation-ECMO), καρδιοαναπνευστικής παράκαμψης (Cardiopulmonary Bypass) κι αιμοκάθαρσης

Η ενεργοποίηση επαφής ξεκινά όταν ο FXII συνδεθεί σε μία αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια. Αμέσως αυτοενεργοποιείται σε FXIIa ενώ ταυτόχρονα μετατρέπει την προκαλλικρεΐνη σε PKa η οποία ανατροφοδοτεί την ενεργοποίηση του FXII, ενισχύοντας έτσι τη διαδικασία. Έπειτα, ο FXIIa μετατρέπει τον FXI σε FXIa και η διαδικασία ακολουθεί τον τρόπο ενεργοποίησης της ενδογενούς οδού πήξης²⁹.

Το CAS φαίνεται να αποτελεί σταυροδρόμι μεταξύ της πήξης, της φλεγμονής και διάφορων διαταραχών που αφορούν το καρδιαγγειακό σύστημα⁵. Έχουν αναγνωριστεί δύο προεκτάσεις του CAS :

- i. Εκείνη της φλεγμονής όπου η ενεργοποίηση των FXII και PK στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση βραδυκίνης και
- ii. Εκείνη της πήξης που ξεκινά με την ενεργοποίηση των FXII και FXI στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων.

1.3.1 Οδός επαφής και αιμόσταση

Παρόλο που η οδός επαφής με βάση το κλασικό μοντέλο του καταρράκτη πήξης φαίνεται να αποτελεί πρωταρχικής σημασίας βήμα στη διαδικασία της πήξης, *in vivo* η απουσία των παραγόντων του συστήματος επαφής δεν οδηγεί σε αιμορραγία υποδηλώνοντας ότι το σύστημα επαφής δεν συμμετέχει καθοριστικά στην επίτευξη αιμόστασης⁵. Αυτό το συμπέρασμα προκύπτει από την παρατήρηση ότι ασθενείς με έλλειψη των παραγόντων του συστήματος καλλικρεΐνης-κινίνης δεν εμφανίζουν αιμορραγική τάση ενώ υπάρχουν και ασθενείς με πολύ χαμηλά επίπεδα του FXI που δεν εκδηλώνουν αιμορραγικό φαινότυπο²⁹.

1.3.2 Οδός επαφής και θρόμβωση

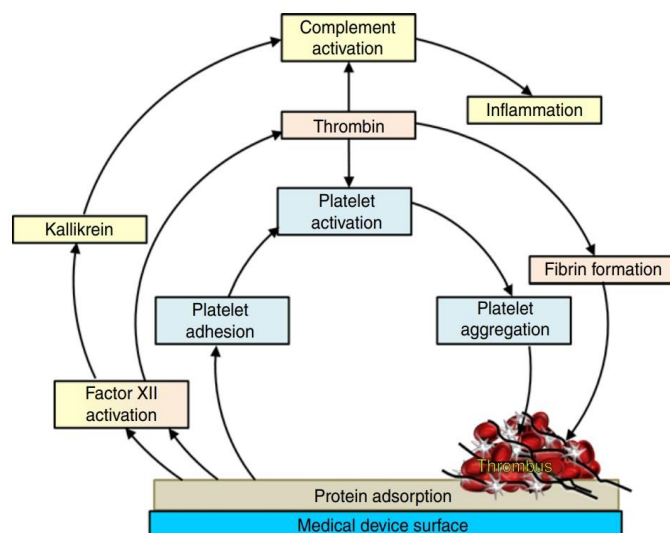
Σε αντίθεση με τον αδύναμο ρόλο του συστήματος επαφής στη διαδικασία της αιμόστασης, η συσχέτισή του με την θρόμβωση φαίνεται να είναι ισχυρή. Στην εξαγωγή αυτού του συμπεράσματος συνέβαλλαν μελέτες σε ασθενείς με διαταραχές των παραγόντων πήξης όπου καταγράφηκε η συχνότητα εμφάνισης θρομβωτικών επεισοδίων (OEM, AEE, ΦΘΕΝ). Τέτοιες μελέτες ήταν η LETS (Leiden Thrombophilia Study), η LITE (Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology), η ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities), η RATIO (Risk of Arterial

Thrombosis In relation to Oral contraceptives), η SMILE (Study of Myocardial Infarction Leiden) και η NHPS-II (Northwick Park Heart Study). Πιο αναλυτικά, οι μελέτες αυτές κατέληξαν στα εξής^{7,9,14}:

- Τα επίπεδα του FXI σχετίζονται στενά με την εμφάνιση ΑΕΕ και ΦΘΕΝ, καθώς ασθενείς με σοβαρή ανεπάρκεια του παράγοντα εμφάνισαν μικρότερη επίπτωση τέτοιων επεισοδίων.
- Η συσχέτιση των επιπέδων του FXI με την επίπτωση του εμφράγματος του μυοκαρδίου δεν είναι ακόμη ξεκάθαρη. Από τη μία η μελέτη SMILE κατέδειξε συσχέτιση των επιπέδων του παράγοντα με την εμφάνιση ΟΣΣ ενώ και η μελέτη του Berliner et al. σε γυναίκες που υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία έδειξε ότι εκείνες που διαγνώστηκαν με στεφανιαία νόσο εμφάνιζαν υψηλότερα επίπεδα FXI. Από την άλλη, από την ARIC, την RATIO και τη μελέτη του Salomon et al. δεν προέκυψε αντίστοιχη συσχέτιση όσον αφορά το OEM ενώ αρνητική για την ύπαρξη συσχέτισης FXI και στεφανιαίας νόσου στους άντρες ήταν και η μελέτη NHPS-II. Φαίνεται λοιπόν, ότι η συμβολή του FXI στην θρόμβωση εξαρτάται από την αγγειακή κοίτη που εμπλέκεται.
- Σε αντίθεση με την ισχυρή συσχέτιση του FXI με την αγγειακή θρόμβωση, δεν παρατηρήθηκαν ανάλογα αποτελέσματα όσον αφορά τους παράγοντες του συστήματος καλλικρεΐνης-κινίνης. Πράγματι, ασθενείς με κληρονομικό αγγειοοίδημα, απότοκο διαταραχής στην ρύθμιση του FXIIa και της α-καλλικρεΐνης, δεν αποδείχθηκαν πιο επιρρεπείς στην εμφάνιση θρομβώσεων είτε αρτηριακών είτε φλεβικών, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι ο John Hageman, ο πρώτος άνθρωπος που διαγνώστηκε με ανεπάρκεια του FXII (εξού και η ονομασία του FXII και ως Hageman factor) πέθανε από πνευμονική εμβολή. Στις παρατηρήσεις αυτές προστίθενται και δύο μελέτες, η LETS και η LITE που δεν κατάφεραν να αναδείξουν συσχέτιση με την εμφάνιση ΕΒΦΘ. Παρομοίως, η ARIC και η RATIO δεν έδειξαν συσχέτιση με την εμφάνιση ΑΕΕ, αν και στην NHPS-II καταγράφηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ ΑΕΕ και συμπλεγμάτων FXIIa-C1-INH (C1-INH: αναστολέας του FXIIa). Επίσης, όσον αφορά την επίπτωση του εμφράγματος, στη RATIO δεν υπήρξε συσχέτιση με το σύμπλεγμα FXIIa-C1-INH και τα αντιγόνα FXII/PK, στην ARIC τα αποτελέσματα ήταν αντίστοιχα ενώ στην NHPS-II παρότι τα αυξημένα επίπεδα FXIIa φάνηκαν να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο OEM, τα αυξημένα

επίπεδα FXIIa-C1-INH έδειξαν το αντίθετο αποτέλεσμα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον είχαν και τα αποτελέσματα της μελέτης SMILE και της μελέτης του Endler et al όπου σημειώθηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ FXII και καρδιαγγειακής νόσου αν και παραδόξως στην τελευταία δεν παρατηρήθηκε αυτή η συσχέτιση σε ασθενείς με σοβαρή ανεπάρκεια του FXII (επίπεδα <10% του φυσιολογικού)⁷.

- Αν και η συσχέτιση των παραγόντων του συστήματος καλικρεΐνης-κινίνης με την επίπτωση των θρομβωτικών επεισοδίων δεν είναι σαφής, φαίνεται πως οι παράγοντες αυτοί διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη θρόμβωση από επαφή με τεχνητές επιφάνειες. Οι επιφάνειες αυτές δεν φέρουν ενδοθήλιο όπως τα φυσιολογικά αγγεία, συνεπώς στερούνται των αντιθρομβωτικών ιδιοτήτων του ενδοθηλίου. Επιπλέον, οι πρωτεΐνες του πλάσματος που προσροφώνται στα περισσότερα μη βιολογικά υλικά σχηματίζουν ένα πρωτεϊνικό στρώμα πάχους αρκετών νανόμετρων όπου η συγκέντρωση των πρωτεϊνών αυτών είναι σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνων του κυκλοφορούντος αίματος. Ακολούθως, επάνω τους εναποτίθενται αλβουμίνη, ινωδογόνο, παράγοντας Vw και φμπρονεκτίνη με αποτέλεσμα τη συγκόλληση αιμοπεταλίων και άλλων κυττάρων του αίματος. Με το χρόνο, οι τύποι των προσκολλημένων πρωτεϊνών αλλάζουν, μία διαδικασία που ονομάζεται φαινόμενο Vroman. Έτσι, σταδιακά το ινωδογόνο αντικαθίσταται από κύτταρα και πρωτεΐνες του ανοσολογικού συστήματος όπως τα αιμοπετάλια, το συμπλήρωμα και οι παράγοντες του συστήματος επαφής. Με τον τρόπο αυτό ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί φλεγμονής και πήξης¹⁴. Για την ακρίβεια, ο FXII ενεργοποιείται από την επαφή του με την αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια, τα αιμοπετάλια συγκολλώνται κυρίως υπό την επίδραση του ινωδογόνου κι απελευθερώνουν TXA₂ και ADP ενισχύοντας κατά αυτό τον τρόπο την συσσώρευσή τους, ενώ η ενεργοποίηση του συμπληρώματος γίνεται μέσω της κλασσικής και της εναλλακτικής οδού (η οδός της λεκτίνης δεν φαίνεται να συμμετέχει)¹⁵ (Εικόνα 4).



Εικόνα 4 Θρόμβωση επαγόμενη από επαφή αίματος με τεχνητές επιφάνειες. Η προσρόφηση των πρωτεϊνών στην επιφάνεια των τεχνητών επιφανειών επάγει την προσκόλληση, την ενεργοποίηση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Ο παράγοντας XII προσροφάται στην επιφάνεια και αυτοενεργοποιείται. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας XII μετατρέπει την προκαλλικρεΐνη σε καλλικρεΐνη και ξεκινά τη διαδικασία της πήξης και τη δημιουργία θρομβίνης. Επιπλέον της επαγωγής εναπόθεσης ινικής στην επιφάνεια, η θρομβίνη επάγει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα συσσωρευμένα στην επιφάνεια αιμοπετάλια σταθεροποιούνται από την ινική και σχηματίζουν ένα θρόμβο αιμοπεταλίων-ινικής. Η καλλικρεΐνη, η θρομβίνη και άλλα ένζυμα της πήξης ενεργοποιούν το συμπλήρωμα επάγοντας τοπική φλεγμονώδη αντίδραση. Τροποποίηση από H. Jaffer et al¹⁵.

Συμπερασματικά, υπάρχει σαφής συσχέτιση των επιπέδων του FXI με την επίπτωση της ΕΒΦΘ και των ΑΕΕ ενώ μένει να διευκρινιστεί αν αντίστοιχη συσχέτιση υπάρχει και για το OEM. Από την άλλη, ο FXII δεν έχει διευκρινιστεί ακόμη αν επηρεάζει την επίπτωση των θρομβωτικών επεισοδίων. Το σίγουρο όμως στην περίπτωση του FXII είναι ότι εμπλέκεται λιγότερο συγκριτικά με τον FXI στην εμφάνιση θρομβωτικών επεισοδίων¹⁴ με εξαίρεση τη θρόμβωση που επάγεται από τεχνητές επιφάνειες, όπου η ενεργοποίηση του FXII από τις επιφάνειες αυτές δίνει το έναυσμα για τη θρόμβωσή τους.

1.3.3 Οδός επαφής και σήψη

Το σύστημα επαφής αποτελεί κομβικό σημείο σύνδεσης του μηχανισμού της πήξης με τον μηχανισμό της φλεγμονής, τα οποία συνεισφέρουν από κοινού στην εκδήλωση της σήψης. Στην περίπτωση της σήψης, το σύστημα επαφής πυροδοτείται από την επαφή με αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες όπως τα poly- Ps των

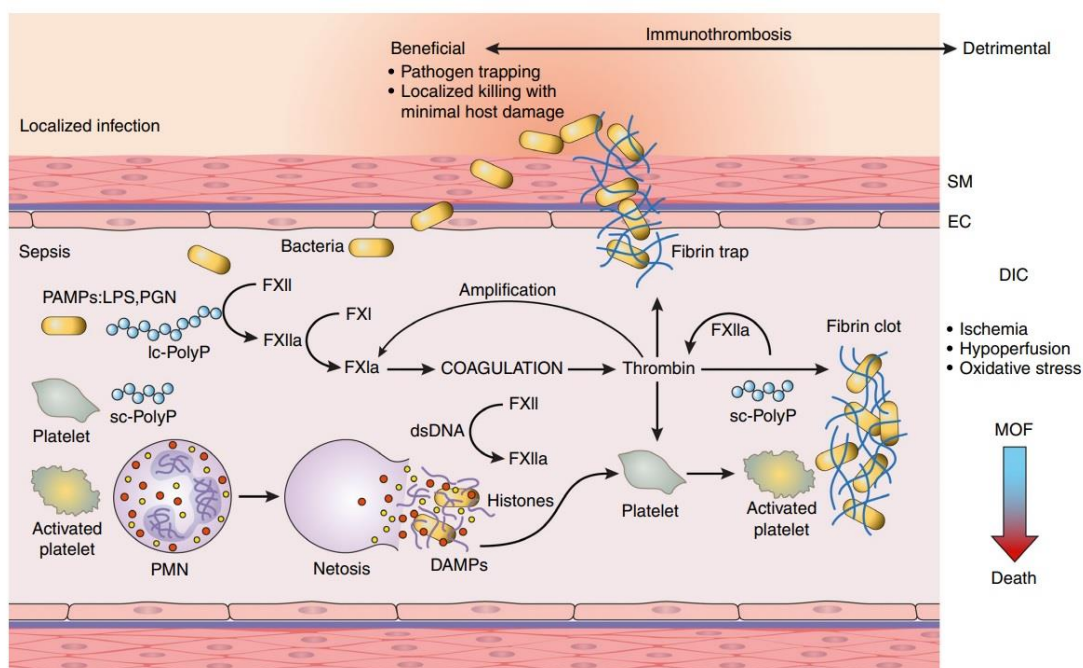
αιμοπεταλίων και στοιχεία της βακτηριακής μεμβράνης (πεπτιδογλυκάνες, τειχοϊκό οξύ, λιποπολυσακχαρίδια). Ως αποτέλεσμα αυτής τη επαφής, ο FXII αλλάζει διαμόρφωση και μετατρέπεται στην ενεργή μορφή του. Εν συνεχεία ενεργοποιεί την PK ώστε να σχηματιστεί καλλικρεΐνη. Η καλλικρεΐνη με τη σειρά της, ευοδώνει την ενεργοποίηση του FXII με αποτέλεσμα την ραγδαία αύξηση της συγκέντρωσης και των δύο ενζύμων. Η ενεργοποίηση των δύο αυτών παραγόντων σημαίνει την ταυτόχρονη ενεργοποίηση των μηχανισμών πήξης και φλεγμονής. Πιο συγκεκριμένα, ο FXIIa ενεργοποιεί τον FXI και μέσω της ενδογενούς οδού πήξης καταλήγει στην ενεργοποίηση του FX που θα καταλύσει το σχηματισμό της προθρομβίνης σε θρομβίνη για να σχηματιστεί τελικά ινώδες από το ινωδογόνο. Ταυτόχρονα, η καλλικρεΐνη διασπά το HK ώστε να απελευθερωθεί το αγγειοδραστικό πεπτίδιο βραδυκινίνη με αποτέλεσμα την αυξημένη ενδοθηλιακή διαπερατότητα, τη χημειοταξία των λευκοκυττάρων και τη δημιουργία κυτοκινών¹⁹.

Επιπρόσθετα, τα αιμοπετάλια φέρουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς σύνδεσης των παραγόντων του συστήματος επαφής. Πιο αναλυτικά, ο υποδοχέας GPIb-IX αποτελεί σημείο σύνδεσης των παραγόντων XI, XII και HK ενώ η PKa συνδέεται στην ιντεγκρίνη α IIb β 3. Κατά αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων⁵.

Υποδοχείς για τους παράγοντες του συστήματος επαφής φέρουν και τα λευκοκύτταρα. Από αυτούς, το σημαντικότερο ρόλο φαίνεται να έχει ο MAC-1 (Activated Integrin Macrophage-1 Antigen Receptor) στον οποίο συνδέεται το HK. Ο εν λόγω υποδοχέας είναι ένας πολυλειτουργικός υποδοχέας που εκφράζεται κυρίως σε μονοκύτταρα, ουδετερόφιλα, μακροφάγα και κύτταρα φυσικούς φονείς (NK cells). Επάνω του προσδένονται κι άλλοι παράγοντες εκτός από το HK όπως το ινωδογόνο και το ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1). Ο MAC-1 λειτουργεί ως διαμεσολαβητής μεταξύ κυτταρικών αλληλεπιδράσεων όπως εκείνη των ουδετερόφιλων με τα αιμοπετάλια μέσω του υποδοχέα τους GPIIb α ⁵. Επιπλέον, ο υποδοχέας αυτός εμπλέκεται και στο σχηματισμό NETs προάγοντας την παγίδευση μικροβίων μέσα σε θρόμβους ινικής, επιβοηθώντας με αυτόν τον τόπο την μικροβιακή κάθαρση μέσω φαγοκυττάρωσης⁵.

Γίνεται κατανοητό λοιπόν, ότι η σήψη αποτελεί μια πολύπλοκη διαδικασία που οδηγεί σε πολλαπλές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αιμοπεταλίων, λευκοκυττάρων και

των παραγόντων του συστήματος επαφής . Το σύνολο αυτών των αλληλεπιδράσεων περιγράφεται ως “ανοσοθρόμβωση” (immunothrombosis) (Εικόνα 5) με το ΗΚ να δρα ως μοριακή γέφυρα μεταξύ των υποδοχέων MAC-1 και GPIIb/IIIa. Κατά αυτόν τον τρόπο, μπορούμε πλέον να κατανοήσουμε γιατί κάποιες λοιμώξεις σχετίζονται με αυξημένη επίπτωση θρομβώσεων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα, η σύνδεση του ΗΚ στα λιποπολυσακχαρίδια των *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *S.minnesota* και *E.coli* με απελευθέρωση υψηλών συγκεντρώσεων βραδυκινίνης, ενώ έχει αναφερθεί και ενεργοποίηση του παράγοντα XII από ιούς όπως ο Hantavirus και ο Simplex Virus1⁵.



Εικόνα 5 Ενεργοποίηση του συστήματος επαφής από βακτήρια με αποτέλεσμα την επαγωγή ανοσοθρόμβωσης και διάχυτης ενδαγγειακής πήξης. Ο παράγοντας XII ενεργοποιείται από ζώντα βακτήρια και μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με παθογόνα που προέρχονται από το βακτηριακό τοίχωμα (Bacterial wall-derived pathogen-associated molecular patterns-PAMPs), όπως τα λιποπολυσακχαρίδια (LPS) των Gram αρνητικών βακτηρίων ή οι πεπτιδογλυκάνες των Gram θετικών ή πολυφωσφορικά μακριάς αλύσου παραγόμενα από βακτήρια (Ic-PolyP). Η ενεργοποίηση του παράγοντα XII επάγει τη δημιουργία θρομβίνης, την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και το σχηματισμό ινικής, τα οποία δρώντας συνεργικά παγιδεύουν παθογόνα. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια προάγουν την απελευθέρωση του περιεχομένου του πυρήνα των ουδετερόφιλων, ώστε να σχηματιστούν εξωκυττάρια παγίδες (netosis) ως μέρος της οδού εκκαθάρισης των παθογόνων. Τα NETs, επίσης, είναι ισχυροί ενεργοποιητές των αιμοπεταλίων και κυτταροτοξικά για τα κύτταρα του ξενιστή. Οι ιστόνες και τα δίκλινα DNA (dsDNA) λειτουργούν ως μόρια μοτίβου που σχετίζεται με βλάβη (Damage associated pattern molecules-DAMPs) που μαζί με τα μικρές αλύσου πολυφωσφορικά που προέρχονται από τα αιμοπετάλια (sc-PolyPs) συνδράμουν στην ενεργοποίηση του συστήματος επαφής μέσω άμεσων και έμμεσων μηχανισμών. Αποτυγχάνοντας με τις πλεονάζουσες οδούς κάθαρσης των παθογόνων που προσφέρουν το ανοσοποιητικό και το σύστημα

πήξης, η ανοσοθρόμβωση μπορεί να οδηγήσει σε εκτεταμένη μικραγγειακή θρόμβωση γνωστή ως διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (Disseminated Intravascular Coagulation-DIC), η οποία ακολουθείται από καταναλωτική πήξη και αιμορραγία. Η θρόμβωση της μικραγγειακής κυκλοφορίας ζωτικών οργάνων οδηγεί σε ισχαιμία, υποάρδευση και οξειδωτικό στρες με τελικό αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία των οργάνων και την πρόκληση πολυοργανικής ανεπάρκειας (Multiple Organ Failure-MOF). Όταν προκληθεί ανεπάρκεια σε περισσότερα από δύο όργανα, αυξάνουν οι πιθανότητες για θάνατο. Πηγή: Vikram et al²⁶.

1.4 Σπάνιες αιμορραγικές διαταραχές-Αιμορροφιλία C

Ως σπάνιες αιμορραγικές διαταραχές ορίζονται οι συγγενείς ελλείψεις ινωδογόνου, FII, FV, FV+FVIII, FVII, FX, FXI και FXIII. Αποτελούν το 3-5% όλων των κληρονομικών ελλείψεων παραγόντων πήξης και σε γενικές γραμμές κληρονομούνται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα και στα δύο φύλα³.

Η συμπτωματολογία τους ποικίλλει ανάλογα με τη διαταραχή αλλά διαφορές παρατηρούνται και μεταξύ των ασθενών ακόμη και αν πάσχουν από την ίδια διαταραχή. Η μεγάλη αυτή ετερογένεια στην συμπτωματολογία σε συνδυασμό με τη σπανιότητά τους αποτελεί τροχοπέδη στη δημιουργία εργαλείων για τη διάγνωση και την πρόγνωση των νοσημάτων καθώς και για τη σύνταξη πρωτοκόλλων θεραπείας. Πολλές προσπάθειες έγιναν στο πέρασμα των χρόνων για να δημιουργηθούν τέτοιου είδους εργαλεία. Έως τώρα, η μεγαλύτερη μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί δημοσιεύθηκε στο European Network of Rare Bleeding Disorders (EN-RBD) και συμπεριέλαβε 489 ασθενείς. Στόχος ήταν η ανάδειξη της σχέσης μεταξύ των επιπέδων των παραγόντων πήξης και της βαρύτητας της αιμορραγίας σε ασθενείς που πάσχουν από σπάνιες αιμορραγικές διαταραχές. Από τη μελέτη αυτή προέκυψε το συμπέρασμα ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων και της βαρύτητας της κλινικής εικόνας σε έλλειψη ινωδογόνου, FX, FXII, και FV+FVIII ενώ ασθενέστερη ήταν η συσχέτιση σε έλλειψη των FV και FVII. Το πιο ενδιαφέρον όμως αποτέλεσμα αποτελεί ίσως η απουσία συσχέτισης των επιπέδων του FXI με τη βαρύτητα των αιμορραγιών, κάτι που καθιστά την αντιμετώπιση αυτής της διαταραχής πρόκληση³. Παρά τους περιορισμούς αυτούς, υπάρχουν ενδείξεις ότι ο παράγοντας XI φέρει χαρακτηριστικά που θα μπορούσαν να τον καταστήσουν ενδιαφέροντα στόχο για τη δημιουργία νέων αντιπηκτικών φαρμάκων³.

Η πρώτη αναφορά στον παράγοντα XI γίνεται μεταξύ του 1953 και του 1955 όταν ο Robert Rosenthal μαζί με την ομάδα του στο Beth Israel Hospital της Νέας Υόρκης, βασιζόμενοι σε παρατηρήσεις 4 γενεών της ίδιας οικογένειας, περιέγραψαν μια αιματολογική διαταραχή όπου οι πάσχοντες εμφάνιζαν ήπιες έως μέτριες αιμορραγικές διαταραχές μετά από οδοντιατρικές ή χειρουργικές επεμβάσεις. Ο παράγοντας που βρέθηκε να είναι υπεύθυνος για την διαταραχή αυτή αρχικά ονομάστηκε PTA (Plasma Thromboplastin Antecedent) και το 1961 μετονομάστηκε σε fXI από την International Committee for the Nomenclature of Blood Clotting Factors ενώ η νόσος αποκαλείται και Αιμορροφιλία C ή Rosenthal Syndrome προς τιμήν του ερευνητή που την ανακάλυψε.

Μέχρι σήμερα γνωρίζουμε τα εξής για τον παράγοντα XI:

- Ο παράγοντας XI έχει προκύψει από αναδιπλασιασμό του γονιδίου της PK και μοιράζεται κοινά χαρακτηριστικά με την PK όπως η σύνδεσή του στο HK και η ενεργοποίησή του από τον FXIIa, ενώ ταυτόχρονα διατηρεί και μοναδικές λειτουργίες που του επιτρέπουν να συμμετέχει στο σχηματισμό της θρομβίνης⁷.
- Εκτός από την ενεργοποίησή του από τον FXIIa (υπενθυμίζεται ότι και ο ίδιος ανατροφοδοτεί την ενεργοποίηση του FXII), ενεργοποιείται και από την θρομβίνη, αλληλεπιδρώντας έτσι μεταξύ της ενδογενούς και της εξωγενούς οδού πήξης⁷.
- Αποτελεί τον μοναδικό παράγοντα του συστήματος επαφής που είναι απαραίτητος για την διαδικασία της αιμόστασης, αν και ο ρόλος του στη διαδικασία αυτή είναι περιορισμένος⁷.
- Σε αντίθεση με την αιμόσταση, ο ρόλος του στη θρόμβωση είναι σημαντικός. Έχει ισχυρή συσχέτιση με την ΕΒΦΘ και τα ΑΕΕ ενώ αμφίβολη είναι ακόμη η συσχέτισή του με τα ΟΣΣ.
- Στον γενικό πληθυσμό, η σοβαρή έλλειψη του παράγοντα XI είναι πολύ σπάνια (~ 1/1.000.000 πληθυσμού) ενώ είναι πιο συχνή στην Εβραϊκή φυλή των Ασκενάζι (1/450 άτομα)³⁰.
- Δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της παράτασης του aPTT, των επιπέδων του XI και της βαρύτητας της αιμορραγίας. Για αυτό , απαιτείται η δημιουργία νέων μεθόδων μελέτης της λειτουργίας του XI³⁰.

- Παρά τη μεγάλη ετερογένεια στην κλινική εικόνα του νοσήματος είναι σίγουρο ότι: 1) δεν σχετίζεται με αυτόματες αιμορραγίες (με εξαίρεση τη μηνορραγία), 2) οι αιμορραγίες συνήθως επισυμβαίνουν μετά από τραυματισμό ιστών με αυξημένη ινωδολυτική δράση όπως η ρινική κοιλότητα, η στοματική κοιλότητα και το ουροποιογεννητικό σύστημα και 3) η αιμορραγία από άλλα σημεία είναι πολύ σπάνια και τείνει να συμβεί σε ασθενείς με επίπεδα XI < 10% του φυσιολογικού^{3,7,9,30}.
- Τέλος, ο παράγοντας XI φαίνεται να διαδραματίζει επίσης ρόλο στη διαδικασία της φλεγμονής και της σήψης^{23,26,30}.

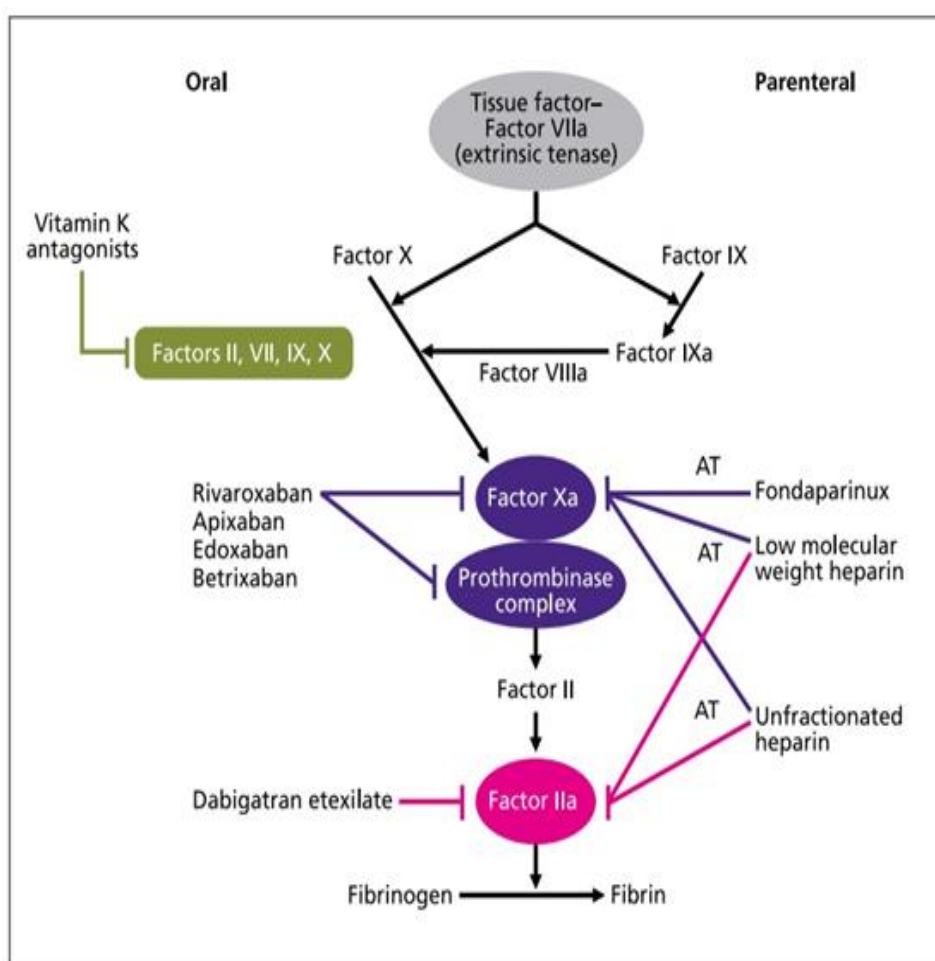
Όπως γίνεται λοιπόν κατανοητό, παρά τις δυσκολίες που μπορεί να συνεπάγεται η φαινοτυπική ετερογένεια του παράγοντα XI, η συμμετοχή του στις διαδικασίες της θρόμβωσης και της πήξης σε συνδυασμό με το ευνοϊκό αιμορραγικό του προφίλ, τον καθιστούν σημαντικό στόχο για τον σχεδιασμό νέων αντιπηκτικών φαρμάκων.

1.5 Κατηγορίες αναστολέων των παραγόντων XI και XII

Τα αντιπηκτικά που χρησιμοποιούνται έως και σήμερα στοχεύουν σε 2 βασικές πρωτεάσες του καταρράκτη της πήξης, τη θρομβίνη ή/και τον παράγοντα Xa. Στα αντιπηκτικά που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη ανήκουν: 1) οι ενεργοποιητές της αντιθρομβίνης, δηλαδή η κλασσική ηπαρίνη (unfractionated heparin-UFH), οι χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνες (Low Molecular Weight Heparins-LMWHs) και το Fondaparinux, 2) οι ανταγωνιστές της βιταμίνης K (βαρφαρίνη, ασενοκουμαρόλη) και 3) οι άμεσοι αναστολείς της θρομβίνης (ιρουδίνες, αργατρομπάνη, νταμπιγκατράνη) και του FXa (ριβαροξαμπάνη, απιξαμπάνη, εντοξαμπάνη,μπετριξαμπάνη) (Εικόνα6).

Το κοινό όλων αυτών των αντιπηκτικών είναι η δράση τους σε παράγοντες της κοινής οδού της πήξης με αποτέλεσμα, πέραν της αποτελεσματικότητάς τους στην αναστολή της πήξης, η πρόκληση σημαντικών αιμορραγιών¹⁰. Επιπλέον, τα αντιπηκτικά αυτά εμφανίζουν σημαντικούς περιορισμούς σε συγκεκριμένες κατηγορίες ασθενών, όπως για παράδειγμα η μη αποτελεσματικότητα των DOACs σε μεταλλικές βαλβίδες και το ευρύ θεραπευτικό παράθυρο της βαρφαρίνης που καθιστά τη συμμόρφωση στη θεραπεία δύσκολη.

Με βάση τα νεότερα δεδομένα που δείχνουν ότι η ενδογενής οδός πήξης δεν φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επίτευξη αιμόστασης αλλά εμπλέκεται κυρίως στην θρόμβωση, οι παράγοντες του συστήματος επαφής φαίνεται να αποτελούν ιδανικούς στόχους για την πρόληψη της θρόμβωσης με ελάχιστες, μη σημαντικές αιμορραγίες (Πίνακας 1). Έτσι, αναπτύχθηκαν διάφορες κατηγορίες αναστολέων των παραγόντων του συστήματος επαφής και κυρίως έναντι των παραγόντων XI και XII. Παρακάτω αναφέρονται οι κυριότερες κατηγορίες και τα χαρακτηριστικά αυτών των αναστολέων¹⁰ (Πίνακες 2 και 3, Παράρτημα 2).



Εικόνα 6 Στόχοι των παραδοσιακών και νεότερων αντιπηκτικών. Πηγή: Turpie, Alexander & Esmon, Charles. (2011). Venous and arterial thrombosis - Pathogenesis and the rationale for anticoagulation. *Thrombosis and haemostasis*. 105. 586-96. 10.1160/TH10-10-0683.

Πίνακας 1 Πιθανές ενδείξεις για τις θεραπευτικές στρατηγικές έναντι των παραγόντων XI και XIIΠηγή: Τροποποίηση από Jeffrey et al¹²

Ένδειξη	Λογική
Πρωτογενής προφύλαξη από φλεβική θρομβοεμβολική νόσο	Στρατηγικές χορήγησης σκευασμάτων μακροχρόνιας δράσης όπως τα αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια ή τα μονοκλωνικά αντισώματα, επιτρέπουν τη χορήγηση απλής και ασφαλούς μονοδοσικής αγωγής για παρατεταμένη θρομβοπροφύλαξη σε νοσούντες ασθενείς ή μετά από μείζονα ορθοπεδική επέμβαση
Παρατεταμένη θεραπεία φλεβικής θρομβοεμβολικής νόσου	Μπορεί να είναι πιο ασφαλή από τις τρέχουσες θεραπείες για παρατεταμένη θεραπεία φλεβικής θρομβοεμβολικής νόσου σε ασθενείς με φλεβική θρομβοεμβολική νόσο χωρίς εμφανή αιτία ή σχετιζόμενη με τον καρκίνο
Πρόληψη υποτροπής ισχαιμίας μετά από οξύ στεφανιαίο σύνδρομο σε ασθενείς με ή χωρίς κολπική μαρμαρυγή	Μπορεί να προσφέρουν πιο ασφαλές αντιπηκτικό προφίλ ως επιπρόσθετη αγωγή στη μονή ή διπλή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία
Τελικού σταδίου νεφρική νόσος	Μπορεί να είναι ασφαλή και αποτελεσματικά για τη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου, του εμφράγματος του μυοκαρδίου και του εγκεφαλικού σε ασθενείς υπό αιμοδιάλυση
Υψηλού κινδύνου κολπική μαρμαρυγή	Μπορεί να είναι πιο ασφαλή σε σχέση με τις τρέχουσες θεραπείες για την πρόληψη του εγκεφαλικού στην κολπική

	μαρμαρυγή σε ασθενείς υψηλού κινδύνου για αιμορραγία, όπως εκείνοι με ιστορικό μείζονος αιμορραγίας ή τελικού σταδίου νεφρική νόσο
Ιατρικές συσκευές	Μπορεί να είναι πιο αποτελεσματικά και ασφαλή από τις τρέχουσες θεραπείες στην πρόληψη της θρόμβωσης των μηχανικών καρδιακών βαλβίδων, των συσκευών υποβοήθησης της αριστερής κοιλίας, μοσχευμάτων μικρού διαμετρήματος ή κεντρικών φλεβικών καθετήρων
Κυκλώματα εξωσωματικής κυκλοφορίας	Μπορεί να είναι πιο αποτελεσματικά και ασφαλή από την ηπαρίνη στην πρόληψη της θρόμβωσης κυκλωμάτων εξωσωματικής κυκλοφορίας

1.5.1 Αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια (ASOs)

Τα αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια (ASOs ή αλλιώς garmers) είναι σχετικά μικρές (8-50 νουκλεοτίδια), συνθετικές μονόκλωνες αλληλουχίες νουκλεϊκών οξέων (DNA ή RNA) που συνδέονται επιλεκτικά σε συγκεκριμένες περιοχές του συμπληρωματικού mRNA στόχου, με σύζευξη βάσεων κατά Watson-Crick. Γενικά, 2 χημικές τάξεις ASOs χρησιμοποιούνται επί του παρόντος² (Εικόνα 7):

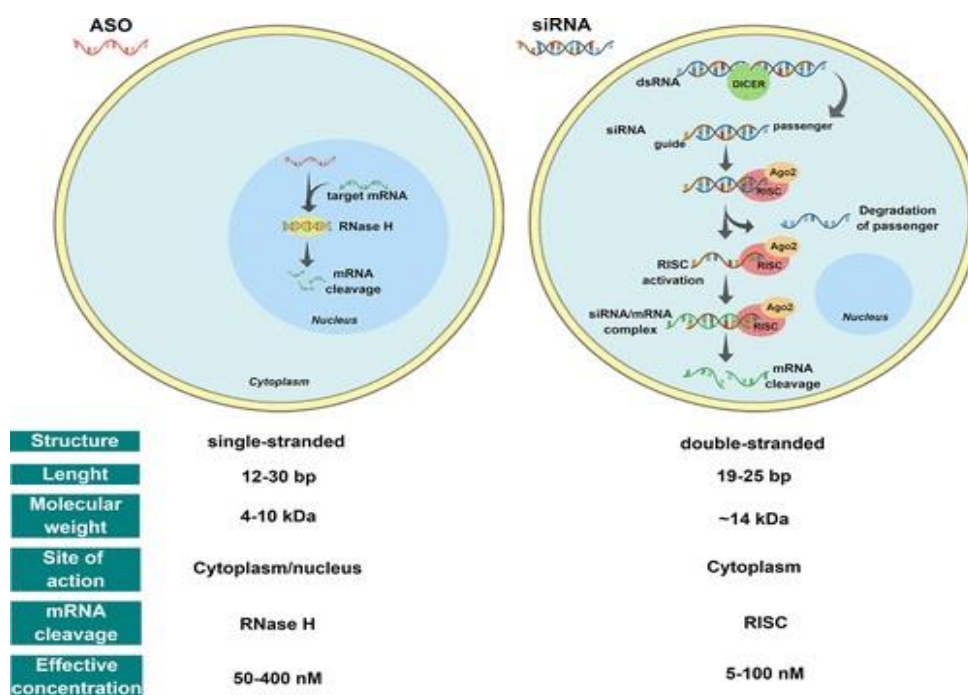
1. *Μονόκλωνα* αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια που διαμορφώνουν τη λειτουργία του RNA στόχου μέσω διάφορων μηχανισμών όπως α) αποδόμηση του RNA στόχου μέσω του ενζύμου RNase H και β) ρύθμιση του ενδιάμεσου μεταβολισμού του RNA όπως το μάτισμα²
2. *Δίκλωνα* συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια που δρουν μέσω ενός συμπλέγματος αποσιώπησης επαγόμενο από ένα μόριο RNA (RNA-induced silencing complex-RISC) με σκοπό την αποδόμηση του RNA στόχου². Η μία αλυσίδα από τα δίκλωνα

αυτά μόρια, γνωστά και ως *siRNAs* (μικρά παρεμβαλλόμενα RNAs-short interfering RNAs), “φορτώνεται” σε μια πρωτεΐνη Αργοναύτη 2 (Ago2) σχηματίζοντας το σύμπλεγμα RISC το οποίο εν συνεχεία συνδέεται στο mRNA στόχο σε συγκεκριμένα, απόλυτα συμπληρωματικά σημεία σύνδεσης με αποτέλεσμα η Ago2 να διασπά το mRNA οδηγώντας το σε αποδόμηση και αναστολή της μετάφρασής του. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα, το siRNA ανταγωνίζεται το ενδογενές miRNA για τη σύνδεση στην πρωτεΐνη Ago2²⁴.

Από μεριάς φαρμακοκινητικής, είναι υδατοδιαλυτά, ανθεκτικά για μεγάλα χρονικά διαστήματα εφόσον καταψυχθούν και χορηγούνται σε απλά αλατούχα διαλύματα. Η χορήγησή τους είναι παρεντερική, είτε ενδοφλέβια είτε ενδομυϊκή. Μετά την απορρόφησή τους προσλαμβάνονται με ενδοκύττωση από τα κύτταρα και φθάνουν στη μέγιστη συγκέντρωσή τους εντός 3-4 ωρών. Η σύνδεσή τους με τις πρωτεΐνες του πλάσματος εξαρτάται από τη σύσταση του σκελετού τους. Ο μεγάλος χρόνος ημιζωής τους (2-4 εβδομάδες) τα καθιστά ελκυστικά για μακροχρόνιες θεραπείες. Οι ιστοί στους οποίους κατανέμονται είναι κυρίως το ήπαρ, οι νεφροί κι ο μυελός των οστών ενώ ανιχνεύονται και στα λιποκύτταρα και τους λεμφαδένες. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα ASOs δεν διαπερνούν τον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό εφόσον αυτός είναι ακέραιος^{2,10}.

Όσον αφορά τα ASOs που στοχεύουν τον παράγοντα XI, αποτελούνται από <20 νουκλεοτίδια και η σχεδιάσή τους επιτρέπει την επιλεκτική σύνδεσή τους με mRNA στόχους στο ήπαρ. Κατά τον τρόπο αυτό, επιτυγχάνεται αποδόμηση του mRNA στόχου μέσω της νουκλεάσης RNase H οδηγώντας έτσι σε μείωση των επιπέδων του XI στο πλάσμα. Τα πλεονεκτήματά τους είναι 1) η προβλεπόμενη φαρμακοκινητική, 2) η υψηλή εκλεκτικότητα του στόχου, 3) ο μεγάλος χρόνος ημιζωής που δίνει τη δυνατότητα χορήγησης τους ανά μεγάλα χρονικά διαστήματα επιτυγχάνοντας έτσι καλύτερη συμμόρφωση των ασθενών και τέλος 4) η απουσία των κοινών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των φαρμάκων (δεν αποτελούν υπόστρωμα για το κυτόχρωμα P450¹⁹).

Αντιστοίχως, τα ASOs που στοχεύουν στον παράγοντα XII έχουν ως στόχο την μείωση της σύνθεσής του στα ηπατοκύτταρα μέσω αποδόμησης του mRNA που κωδικοποιεί τον FXII¹⁷.



Εικόνα 7 Κατηγορίες χρησιμοποιούμενων επί του παρόντος ASOs. Α. Τα ASOs, μόλις συνδεθούν στο mRNA στόχο, δημιουργούν ένα υβρίδιο RNA-DNA το οποίο αποτελεί υπόστρωμα για την RNase H, με αποτέλεσμα την αποδόμηση του mRNA στόχου. Β. Το δίκλωνο RNA (dsRNA) μετατρέπεται από την ενδοριβονουκλεάση Dicer σε siRNA. Η οδηγός RNA αλυσίδα του siRNA ενσωματώνεται στο σύμπλεγμα αποσίωπησης επαγόμενο από RNA (RNA-Induced Silencing Complex) και την πρωτεΐνη Αργοναυτή-2 (Ago-2). Η Ago-2 διασπά τη δεύτερη αλυσίδα του siRNA (Passenger Strand) κι έπειτα το σύμπλεγμα siRNA/RISC συνδέεται στη συμπληρωματική αλυσίδα του mRNA στόχου με αποτέλεσμα την αποδόμηση του μεταγραφικού στόχου. Πηγή: Monique C. P. Mendonça, Ayse Kont, Maria Rodriguez Aburto, John F. Cryan, and Caitriona M. O’Driscoll *Molecular Pharmaceutics* 2021 18 (4), 1491-1506, DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.0c01238 .

1.5.2 Μονοκλωνικά αντισώματα

Πρόκειται για μονοκλωνικά IgGs έναντι του FXI ή του FXII τα οποία έχουν την ιδιότητα να προσδένονται με μεγάλη ειδικότητα σε στόχους με μεγάλο χρόνο ημιζωής, καθιστώντας τους μη λειτουργικούς, προκαλώντας κατά αυτό τον τρόπο μια φαινομενική ανεπάρκεια του παράγοντα στόχου. Λόγω της ευρείας φυσιολογικής διακύμανσης των επιπέδων του παράγοντα στόχου, είναι δύσκολο να τιτλοποιηθεί η επίδραση του φαρμάκου. Για το λόγο αυτό, τα μονοκλωνικά αντισώματα θα πρέπει να χορηγηθούν σε δόσεις που θα προκαλέσουν κορεσμό του στόχου, ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη αναστολή του²¹.

Όσον αφορά τα IgGs που στοχεύουν σε ενεργές πρωτεάσες (FXIa/FXIIa) δεν θα συνδεθούν με τον στόχο μέχρι αυτός να μεταβεί σε ενεργή κατάσταση. Μόλις

αυτό συμβεί, το μονοκλωνικό αντίσωμα θα συνδεθεί στο ενεργό τμήμα της πρωτεΐνης ανταγωνιζόμενο το φυσιολογικό προς πρόσδεση υπόστρωμα. Σε αυτή την περίπτωση η τιτλοποίηση του φαρμακευτικού αποτελέσματος ίσως είναι πιο εύκολη καθώς για να προκληθεί πλήρης αναστολή, η χορηγούμενη συγκέντρωση των IgGs θα πρέπει να είναι πολύ υψηλή²¹.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα, όπως και τα ASOs που αναφέρθηκαν προηγουμένως, έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής κι επιπλέον τείνουν να εξισορροπούν μεταξύ ενδο- και εξω- αγγειακού χώρου. Αυτό στην πράξη σημαίνει ότι η δυνατότητα άμεσης αναστροφής της ανασταλτικής δράσης των αντισωμάτων μπορεί να είναι δύσκολη²¹.

Το πιο καλά μελετημένο έως τώρα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του παράγοντα XI είναι το *Osocimab* στη μελέτη *FOXTROT*, που θα αναλυθεί παρακάτω.

1.5.3 Μικρά πεπτιδομιμητικά μόρια

Σε αυτή την κατηγορία αναστολέων ανήκουν δομές ανασυνδυασμένης καταλυτικής περιοχής του ανθρώπινου παράγοντα XI (recombinant human FXIa-rhFXIa). Το πρώτο τέτοιου είδους μικρό μόριο κατάφερε να κατασκευαστεί το 2005. Τα μόρια αυτά αποτελούνται από διάφορες ουσίες όπως κλαβαταδίνες, παράγωγα β-λακταμικών, φαινυλανανίνες, παράγωγα ιμιδαζόλης και διάφορα άλλα²³.

Στην πλειοψηφία τους είναι παρεντερικώς χορηγούμενα με χρόνους ημιζωής αρκετά βραχύτερους από τα ASOs και τα μονοκλωνικά αντισώματα, καθιστώντας τα ιδανικά ως βραχεία αντιπηκτική θεραπεία. Προσπάθειες γίνονται όμως και για τη δημιουργία από του στόματος σκευασμάτων που θα χορηγούνται 1-2 φορές ημερησίως²¹.

Ένα πρόβλημα που έχει ανακύψει όμως με τα μικρά μόρια είναι η ειδικότητα ως προς τον στόχο καθώς το καταλυτικό τμήμα του παράγοντα XI ανήκει σε μια μεγάλη οικογένεια πρωτεασών του τύπου της θρυψίνης, με αποτέλεσμα την πιθανότητα εμφάνισης διασταυρούμενης αντίδρασης²¹.

Τόσο τα παρεντερικώς όσο και από του στόματος χορηγούμενα μικρά μόρια βρίσκονται σε φάση μελετών 1 ή 2.

1.5.4 Απταμερή

Τα απταμερή είναι μικρά, μονόκλωνα ολιγονουκλεοτίδια (single-stranded oligonucleotides-ssDNA/ssRNA) τα οποία αναδιπλώνονται και συνδέονται με μεγάλη συγγένεια στην πρωτεΐνη στόχο. Είναι μη ανταγωνιστικοί αναστολείς του FXIa και το πρώτο απταμερές έναντι του FXIa είναι ένα μονόκλωνο DNA 80 βάσεων που ονομάστηκε Factor Eleven Inhibitory Aptamer (FELIAP)^{21,23}.

1.5.5 Άλλες κατηγορίες αναστολέων

- Sulfated pentagalloyl glucopyranoside
- Αναστολείς πρωτεασών τύπου Kunitz
- Αναστολείς πρωτεασών τύπου Kazal
- Πολυπεπτίδια (Desmolaris, Fasxiator, PN-2)
- Polymeric GAGs
- Non polymeric GAG Mimetics

Πίνακας 2 Μηχανισμός δράσης των αναστολέων που στοχεύουν στους παράγοντες πήξης XI και XII

Πηγή: Τροποποίηση από James et al⁶

Στρατηγική	Μηχανισμός δράσης
Αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια	Μείωση ηπατικής σύνθεσης του παράγοντα XI ή XII
Απταμερή	Σύνδεση με τον παράγοντα XI ή XII και αναστολή της δραστικότητάς τους
Αντισώματα	Σύνδεση με τον παράγοντα XI ή XII και αναστολή της ενεργοποίησης ή της δραστικότητας τους
Μικρά μόρια	Αναστρέψιμη σύνδεση στο σημείο ενεργότητας του παράγοντα XIa ή XIIa και αναστολή της δραστικότητάς τους
Πολυανιονικοί ανταγωνιστές	Εξουδετέρωση των πολυφωσφορικών ή των νουκλεϊκών οξέων μέσω ιονικών αλληλεπιδράσεων, προκαλώντας έτσι εξασθένηση της ενεργοποίησης της οδού επαφής

Πίνακας 3 Φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά των αναστολέων των παραγόντων XI και XII Πηγή:
Τροποποίηση από James et al⁶

Χαρακτηριστικό	Αντισηματικά ολιγονουκλεοτίδια	Αντισώματα	Απταμερή	Μικρά μόρια
Οδός χορήγησης	Παρεντερική	Παρεντερική	Παρεντερική	Παρεντερική ή από του στόματος
Ειδικό	Ναι	Ναι	Ναι	Ναι
Έναρξη δράσης	Καθυστερημένη	Ενδιάμεση	Ενδιάμεση	Ενδιάμεση
Λήξη δράσης	Καθυστερημένη	Καθυστερημένη	Ταχεία	Ταχεία
Νεφρική κάθαρση	Όχι	Όχι	Όχι	Ποικίλλει
Ηπατικός μεταβολισμός	Όχι	Όχι	Όχι	Ποικίλλει
Ενδεχόμενη κλινική ένδειξη	Χρόνια	Οξεία ή χρόνια	Οξεία ή χρόνια	Οξεία ή χρόνια

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 2

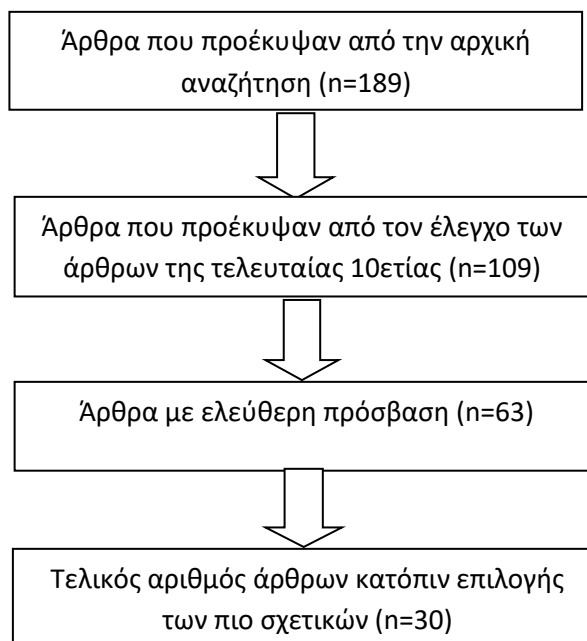
Μεθοδολογία

2.1 Στόχος μελέτης

Ο στόχος της μελέτης είναι να αναδείξει παράγοντες του καταρράκτη πήξης που θα μπορούσαν να αποτελέσουν νέους στόχους αντιπηκτικής θεραπείας, ώστε να καλυφθούν τα κενά που αφορούν τη θεραπευτική προσέγγιση συγκεκριμένων ομάδων ασθενών, όπως οι ασθενείς με ΧΝΝ τελικού σταδίου ή οι ασθενείς με προσθετικές βαλβίδες, ενώ ταυτόχρονα οι παράγοντες αυτοί θα εμφανίζουν πιο ευνοϊκό αιμορραγικό προφίλ σε σχέση με τα έως τώρα χορηγούμενα αντιπηκτικά.

2.2 Συλλογή υλικού

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μια ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας. Για την αναζήτησή της χρησιμοποιήθηκαν ως ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων η PubMed και η Elsevier Science Direct. Ως λέξεις-κλειδιά χρησιμοποιήθηκαν οι εξής: FXI, FXII, FXI AND FXII INHIBITORS. Η αρχική αναζήτηση ανέδειξε 189 άρθρα από τα οποία επιλέχθηκαν εκείνα της τελευταίας δεκαετίας, 109 στον αριθμό, ώστε να συμπεριληφθεί η πιο πρόσφατη γνώση. Επιπλέον, προτιμήθηκαν άρθρα με ελεύθερη πρόσβαση ώστε να είναι προσιτά στους αναγνώστες, οπότε ο αριθμός τους μειώθηκε στα 63 εκ των οποίων τελικά επιλέχθηκαν τα 30 πιο σχετικά. Όλα τα άρθρα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν δημοσιευμένα στα Αγγλικά.



Διάγραμμα ροής επιλογής άρθρων μελέτης

Κεφάλαιο 3

Αποτελέσματα

3.1 Αποτελέσματα προκλινικών μελετών για τους παράγοντες XI /XII

3.1.1 Αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση

- Μελέτες σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια, όπου έγινε αποσιώπηση των γονιδίων υπεύθυνων για την έκφραση των παραγόντων XI και XII, έδειξαν αντίσταση των ποντικών στην ανάπτυξη τόσο αρτηριακής όσο και φλεβικής θρόμβωσης και για τους δύο παράγοντες. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν κι από μελέτες σε πρωτεύοντα με τη διαφορά ότι η αντιθρομβωτική δράση του FXI ήταν σαφώς σημαντικότερη εκείνης του FXII, κάτι που πιθανώς αντανακλά τις διαφορές στον μηχανισμό πήξης μεταξύ των ειδών.
- **Προκλινικές μελέτες με ASOs:** Μελέτες σε ποντίκια με χρήση ASOs έναντι των παραγόντων XI και XII έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα όσον αφορά την αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση με μελέτες από γενετικά τροποποιημένα ποντίκια που δεν εκφράζουν αυτούς τους παράγοντες. Το IONIS-FX1 Rx (ή BAY23060001) δοκιμάστηκε και σε πρωτεύοντα, μαϊμούδες και μπαμπούνους, κι έδειξε αντιθρομβωτικό αποτέλεσμα όταν τα επίπεδα του FXI μειωθούν κατά ~50% ενώ το μέγιστο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε σε επίπεδα ~20% του φυσιολογικού. Όσον αφορά την αιμόσταση, δεν παρατηρήθηκαν διαταραχές ούτε στα τρωκτικά ούτε στα πρωτεύοντα ακόμη και σε επίπεδα FXI < 5% του φυσιολογικού²¹.
- **Προκλινικές μελέτες με siRNAs:** Σε ένα μοντέλο αυτόματης θρόμβωσης σε ποντίκια, χρησιμοποιήθηκαν siRNAs έναντι του παράγοντα XII. Παραδόξως και σε αντίθεση με άλλες μελέτες έναντι του FXII, παρατηρήθηκε επιτάχυνση της θρόμβωσης το οποίο υποδηλώνει ότι ίσως ο παράγοντας XII να ασκεί κάποια μη αναγνωρισμένη αντιθρομβωτική λειτουργία ή ότι το siRNA μπορεί να έδρασε εναντίον κάποιου μη θεμιτού στόχου²¹.

3.1.2 Σήψη

Μελέτες σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια με αποσιώπηση του παράγοντα XI, στα οποία προκλήθηκε σήψη μέσω απολίνωσης του τυφλού, έδειξαν ότι παρουσίαζαν καλύτερα ποσοστά επιβίωσης με λιγότερες βλάβες από τα όργανα (π.χ. λιγότερη ηπατική νέκρωση) σε σχέση με τα μη τροποποιημένα ποντίκια. Μάλιστα, τα επίπεδα των κυτοκινών και οι δείκτες συστηματικής φλεγμονής ήταν μειωμένοι ενώ παρατηρήθηκε και μειωμένη ενεργοποίηση των παραγόντων XII και PK με αποτέλεσμα την μικρότερη απελευθέρωση βραδυκίνινης. Ακόμη, το όφελος από την αναστολή του FXI φαίνεται να επεκτείνεται και στην σήψη πολυμικροβιακής αιτιολογίας. Επιπλέον, *in vitro* παρατηρήθηκε ότι ο παράγοντας XI ρυθμίζει τη μετανάστευση των ουδετερόφιλων, οπότε η απουσία του θα μπορούσε να προκαλέσει αλλαγές στη συμπεριφορά των ουδετερόφιλων κατά τη διάρκεια μιας φλεγμονώδους διαδικασίας^{9,26}.

Αντίστοιχα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε μελέτες γενετικά τροποποιημένων ποντικών ώστε να μην εκφράζουν τον παράγοντα XII ενώ τα αποτελέσματα αυτά, και για τον FXI και τον FXII, φαίνεται να επιβεβαιώνονται και από μελέτες σε πρωτεύοντα (μπαμπούνους)²⁶.

Παρόλα αυτά, η παρατήρηση ότι ποντίκια με αποσιώπηση του παράγοντα XI τα οποία εισέπνευσαν ακάρεα εμφάνισαν υπερβολική φλεγμονώδη αντίδραση στους πνεύμονες σε σχέση με τα άγριου τύπου ποντίκια ενώ κατά αντιστοιχία κακή πρόγνωση εμφάνισαν και τα αποσιωποιημένα ποντίκια που εκτέθηκαν σε *Streptococcus pneumoniae* και *Klebsiella pneumoniae* εγείρουν ερωτήματα κατά πόσο το όφελος από την αναστολή των παραγόντων αυτών είναι καθολικό ή αν θα πρέπει η χρήση τους να εξατομικεύεται ανάλογα με το μικροβιακό υπόστρωμα²⁶.

Όσον αφορά το θέμα της αιμορραγίας, παρά την σημαντική παράταση του a PTT, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αιμορραγίες.

3.1.3 Τεχνητές επιφάνειες

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το σύστημα επαφής έχει κεντρικό ρόλο στην πρόκληση θρόμβωσης μετά από επαφή με τεχνητή επιφάνεια, όπως στην περίπτωση των μεταλλικών βαλβίδων, των ενδαγγειακών ενδοπροθέσεων και των κυκλωμάτων

εξωσωματικής κυκλοφορίας και αιμοδιήθησης. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από προκλινικές μελέτες φαίνεται να επιβεβαιώνουν την υπόθεση αυτή καθώς μετά την αναστολή είτε του παράγοντα XI είτε του XII παρατηρείται σημαντική μείωση των θρομβωτικών επεισοδίων.

Ο Larsson et al μελέτησε την αναστολή του παράγοντα XII με μονοκλωνικό IgG αντίσωμα σε σχέση με τη χορήγηση κλασσικής ηπαρίνης για την πρόληψη της θρόμβωσης σε ένα πειραματικό μοντέλο με κουνέλια συνδεδεμένα σε παιδιατρικό κύκλωμα ECMO. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, το μονοκλωνικό αντίσωμα δεν ήταν κατώτερο σε σχέση με την κλασσική ηπαρίνη ενώ ήταν ανώτερο από άποψη παρενεργειών καθώς τα ζώα που έλαβαν κλασσική ηπαρίνη εμφάνισαν σημαντικές αιμορραγίες σε αντίθεση με εκείνα που έλαβαν το μονοκλωνικό αντίσωμα, όπου δεν παρατηρήθηκαν διαταραχές στην αιμόσταση¹⁴.

Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν και από τη μελέτη του David et al όπου ένα μονοκλωνικό IgG έναντι του παράγοντα XI (DEF) συγκρίθηκε με τη ριβαροξαμπάνη για την πρόληψη θρόμβωσης στις σφαγίτιδες φλέβες κουνελιών στον αυλό των οποίων τοποθετήθηκε θρομβογόνο υλικό. Το μονοκλωνικό αντίσωμα έδειξε συγκρίσιμη αποτελεσματικότητα με τη ριβαροξαμπάνη ενώ φάνηκε να υπερτερεί σαφώς της ριβαροξαμπάνης στο κομμάτι των αιμορραγιών¹⁴.

3.2 Κλινικές μελέτες

3.2.1 Μελέτη FOXTROT

Πρόκειται για μια τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης 2 στην οποία συμπεριλήφθηκαν 813 ασθενείς (>18 ετών) που υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένη αρθροπλαστική γόνατος. Στόχος της μελέτης ήταν η σύγκριση του ανθρώπινου μονοκλωνικού IgG αντισώματος (Osocimab) που αναστέλλει τον παράγοντα XIa έναντι της ενοξαπαρίνης και της απιξαμπάνης για την ανάδειξη μη κατωτερότητας του μονοκλωνικού αντισώματος. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η εμφάνιση φλεβοθρόμβωσης (ΕΒΦΘ ή ΠΕ) μεταξύ 10^{ης} και 13^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας (επιβεβαίωση είτε με υποχρεωτική φλεβογραφία άμφω μεταξύ 10^{ης} και 13^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας είτε με επιβεβαιωμένη συμπτωματική ΕΒΦΘ ή ΠΕ). Το δε πρωτογενές σημείο ασφάλειας ήταν η εμφάνιση μείζονος ή κλινικά συναφούς μη σημαντικής αιμορραγίας 10-13 ημέρες μετεγχειρητικά¹⁸.

Τα δοσολογικά σχήματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής:

- Μονήρεις i.v. μετεγχειρητικές δόσεις Osocimab: 0.3mg/kg, 0.6mg/kg, 1.2mg/kg ή 1.8mg/kg
- Προεγχειρητικές δόσεις:
 - i.v. Osocimab: 0.3mg/kg ή 1.8mg/kg
 - Sc Enoxaparin: 40mg για τουλάχιστον 10 ημέρες ή έως τη διενέργεια φλεβογραφίας
 - P.os Apixaban 2.5mgx2 για τουλάχιστον 10 ημέρες ή έως και τη διενέργεια φλεβογραφίας

Τα αποτελέσματα για τις μετεγχειρητικές δόσεις του Osocimab στις δόσεις 0.6mg/kg, 1.2mg/kg και 1.2mg/kg έδειξαν μη κατωτερότητα σε σχέση με την ενοξαπαρίνη ενώ η προεγχειρητική δόση των 1.8mg/kg ήταν ανώτερη της ενοξαπαρίνης. Φαίνεται έτσι πως το Osocimab είναι αποτελεσματικό είτε χορηγηθεί προεγχειρητικά είτε μετεγχειρητικά αλλά η προεγχειρητική χορήγησή του επιτυγχάνει ακόμη καλύτερα αποτελέσματα. Όσον αφορά τη διερευνητική σύγκριση με την απιξαμπάνη, δεν ορίστηκε στατιστική υπόθεση και υπολογίστηκαν μόνο τα διαστήματα ασφαλείας¹⁸.

Τέλος, ως προς τις αιμορραγίες, μείζονες ή κλινικά συναφείς μέχρι 10-13 ημέρες μετεγχειρητικά παρατηρήθηκαν με ποσοστά¹⁸:

- Για το Osocimab μετεγχειρητικά: 2% για τα 0.3mg/kg, 1% για τα 1.2mg/kg, 3% για τα 1.8mg/kg
- Για το Osocimab προεγχειρητικά: 1.9% για τα 0.3mg/kg, 4.7% για τα 1.8mg/kg
- Για την Enoxaparin: 5.9%
- Για το Apixaban: 2%
- ❖ Όλες οι αιμορραγίες, μείζονες ή κλινικά συναφείς στις 10-13 ημέρες μετεγχειρητικά, είχαν σχέση με τη χειρουργική περιοχή. Δεν παρατηρήθηκαν ενδοκράνιες αιμορραγίες ή αιμορραγίες σε κρίσιμα σημεία. Καμία στατιστική υπόθεση δεν ορίστηκε, υπολογίστηκαν μόνο τα διαστήματα ασφαλείας¹⁸.

3.2.2 Μελέτες φάσης 1 και 2 του αναστολέα IONIS-FXI_{RX}

Το IONIS-FXI_{RX} (γνωστό και ως BAY2306001, πρώην ISIS-416858)^{19,20,21} είναι ένα αντινοσηματικό νουκλεοτίδιο που στοχεύει στη μείωση των επιπέδων του παράγοντα XI. Η πρώτη μελέτη φάσης 1 αναφέρεται το 2011 σε υγιείς εθελοντές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δόσεις της τάξεως των 200mg ή 300mg πέτυχαν να μειώσουν τα επίπεδα του παράγοντα XI στο 20% του φυσιολογικού (κάποιοι εμφάνισαν και επίπεδα < 5%) και το μέγιστο αποτέλεσμα σημειώθηκε 2-3 εβδομάδες μετά την θεραπεία. Παρά την παράταση του aPTT δεν παρατηρήθηκαν εκτεταμένες αιμορραγίες. Άλλες σοβαρές παρενέργειες δεν παρατηρήθηκαν και οι περισσότερες σχετιζόνταν με ήπιο ερεθισμό στο σημείο της έγχυσης²¹.

Αμέσως μετά μελετήθηκε σε μια μελέτη φάσης 2 με ασθενείς που υπεβλήθησαν σε ολική αρθροπλαστική γόνατος. Το IONIS-FXI_{RX} συγκρίθηκε με την ενοξαπαρίνη για την πρόληψη της εμφάνισης ΦΘΕΝ μετεγχειρητικά. Η δόση των 200mg μείωσε τα επίπεδα του παράγοντα XI στο 38% και την επίπτωση της εμφάνισης θρόμβου στο 27%, επίπεδα όμοια με την ενοξαπαρίνη όπως επιβεβαιώθηκε μετά τη διενέργεια φλεβογραφίας 8-12 ημέρες μετεγχειρητικά. Την διαφορά έκανε η δόση των 300mg (μείωση των επιπέδων του FXI στο 20% του φυσιολογικού) που όχι μόνο έδειξε ανωτερότητα σε σχέση με την ενοξαπαρίνη ως προς τη μείωση της επίπτωσης σχηματισμού θρόμβου (εμφάνιση σε μόλις 4% των ασθενών) αλλά φάνηκε να προκαλεί και μικρότερου μεγέθους θρόμβους σε σχέση με την ενοξαπαρίνη. Παρότι η μελέτη δεν σχεδιάστηκε για να αναδείξει διαφορές και ως προς τις αιμορραγίες, γενικά παρατηρήθηκε μια τάση για λιγότερες κλινικά συναφείς αιμορραγίες με το IONIS-FXI_{RX} (3%) έναντι της ενοξαπαρίνης (8%) κι ενώ οι ασθενείς είχαν υποβληθεί σε ορθοπαιδική επέμβαση υπό τη μέγιστη δράση του φαρμάκου. Επιπλέον, τα επίπεδα του παράγοντα XI παρέμειναν χαμηλά για αρκετές εβδομάδες μετά την τελευταία δόση, υποδεικνύοντας έτσι ότι το IONIS-FXI_{RX} είναι κατάλληλο για μακροχρόνια προφύλαξη²¹.

Το IONIS-FXI_{RX} μελετήθηκε και σε πολυκεντρική μελέτη φάσης 2 σε ασθενείς 18-80 ετών με τελικού σταδίου Νεφρική Νόσο υπό χρόνια αιμοκάθαρση για τουλάχιστον 3 μήνες. Ο στόχος της μελέτης ήταν η ανάδειξη ασφάλειας και ανεκτικότητας του φαρμάκου. Η μελέτη χωρίστηκε σε 2 μέρη. Στο πρώτο, open-label, χορηγήθηκαν 300mg IONIS-FXI_{RX} υποδορίως αμέσως μετά την αιμοκάθαρση και

μία ακόμη δόση 28 ημέρες αργότερα, ακριβώς πριν τη συνεδρία αιμοκάθαρσης. Στο δεύτερο, που διενεργήθηκε ως τυχαιοποιημένη διπλή τυφλή μελέτη, οι ασθενείς έλαβαν 200mg, 300mg ή placebo. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν ηπαρίνη κατά την αιμοκάθαρση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το φάρμακο δεν συσσωρεύθηκε κατά τις 12 εβδομάδες της μελέτης. Η δόση των 200mg μείωσε τα επίπεδα ενεργότητας του FXI κατά 56% και των 300mg κατά 70.7% έναντι 3.9% με το placebo με αποτέλεσμα τη μείωση των σοβαρών επεισοδίων θρόμβωσης του κυκλώματος αιμοκάθαρσης. Καταγράφηκε δοσοεξαρτώμενη παράταση του aPTT χωρίς μεταβολές στο INR ενώ δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές παρενέργειες σχετιζόμενες με φάρμακα. Όσον αφορά τις σοβαρές αιμορραγίες, από την τυχαιοποιημένη μελέτη προέκυψαν 0% για τα 200mg, 6.7% για τα 300mg και 7.7% για το placebo. Οι αιμορραγίες αυτές δεν θεωρήθηκαν σχετικές με τη θεραπεία¹⁹. Ήπιες αιμορραγίες σημειώθηκαν σε αρτηριοφλεβικές φίστουλες στους ασθενείς που έλαβαν τη μέγιστη δόση των 300mg αλλά χωρίς να υπάρχει συσχέτιση με τα επίπεδα FXI²¹. Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή ανέδειξε ασφάλεια και καλή ανοχή του φαρμάκου με τους περιορισμούς του μικρού και συγκεκριμένου δείγματος (λευκοί, Καναδοί ασθενείς) καθώς και της μικρής διάρκειας της μελέτης (12 εβδομάδες). Μια νέα μελέτη φάσης 2, διάρκειας >26 εβδομάδες σε ασθενείς με τελικού σταδίου XNN σχεδιάζεται ώστε να εκτιμηθούν οι δόσεις του IONIS-FXI_{RX}²¹.

3.2.3 Μελέτη FXI-LICA

Το FXI-LICA²⁰ (γνωστό και ως BAY2976217) είναι ένα αντινοσηματικό νουκλεοτίδιο έναντι του παράγοντα XI που μοιράζεται κοινή αλληλουχία RNA με το IONIS-FXI_{RX}, με τη διαφορά ότι φέρει επιπλέον ένα μόριο GalNAc (N-acetyl Galactosamine). Το επιπλέον αυτό μόριο διευκολύνει την απορρόφηση του φαρμάκου από τα ήπαρ, που είναι και το όργανο στόχος για την αναστολή της παραγωγής του FXI, μέσω του ASGPR (Asialoglycoprotein Receptor). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ανάγκη για χαμηλότερες και πιο αραιά χρησιμοποιούμενες δόσεις του φαρμάκου σε σχέση με τα ASOS που δεν φέρουν αυτή την προσθήκη. Το FXI-LICA μελετήθηκε για την ασφάλεια του και την ανεκτικότητά του σε μελέτη φαρμακοκινητικής/φαρμακοδυναμικής που έγινε σε υγιείς εθελοντές και τώρα ελέγχεται σε μελέτη φάσης 2b για προσδιορισμό της δόσης σε ασθενείς με τελικού σταδίου XNN υπό αιμοκάθαρση.

3.2.4 Σήψη

Ο Minnema et al σχεδίασε μια μελέτη όπου 8 υγιείς εθελοντές έλαβαν χαμηλή δόση ενδοτοξίνης με σκοπό να μετρηθεί η ενεργοποίηση του συστήματος επαφής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το σύστημα επαφής συνεισφέρει στην παθολογία της σήψης στους ανθρώπους, όμως απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα.

Κεφάλαιο 4

Συζήτηση

Η θρόμβωση, είτε αρτηριακή είτε φλεβική, παραμένει η κυριότερη αιτία θανάτου παγκοσμίως. Παρά τις εξελίξεις στον τομέα των φαρμάκων τόσο για την πρόληψη όσο και για την θεραπεία της, η επιστήμη δεν έχει καταφέρει ακόμη να προσεγγίσει ικανοποιητικά το ιδανικό αντιπηκτικό. Τα αντιπηκτικά φάρμακα που βρίσκονται σε ευρεία χρήση επί του παρόντος δεν μπορούν να καλύψουν πλήρως τις ανάγκες των ασθενών καθώς κάποια από τις παραμέτρους τους (φαρμακοκινητική, ενδείξεις, παρενέργειες) θα αποκλίνει από το επιθυμητό.

Οι αδυναμίες αυτές των ήδη υπάρχοντων αντιπηκτικών οδήγησαν τους επιστήμονες στην αναζήτηση νέων στόχων. Με οδηγό την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία από ασθενείς με κληρονομικές διαταραχές των παραγόντων πήξης, έθεσαν τους παράγοντες XI και XII υπό το μικροσκόπιο της έρευνας ως πιθανούς νέους στόχους για την αναστολή της πήξης. Τα έως τώρα δεδομένα από προκλινικές και κλινικές μελέτες φάσεις 1 και 2 είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά. Όμως, υπάρχουν ακόμη αρκετά ερωτήματα που περιμένουν απάντηση.

Πρώτα από όλα, οι περισσότερες μελέτες πάνω στους νέους αυτούς στόχους βρίσκονται ακόμη σε προκλινικό επίπεδο. Δεδομένων των διαφορών που υπάρχουν μεταξύ του συστήματος πήξης των πειραματόζωων και του ανθρώπινου, γίνεται κατανοητό ότι χρειάζονται περισσότερες κλινικές μελέτες πριν καταφέρουμε να γενικεύσουμε τα θετικά αποτελέσματα των προκλινικών μελετών και στον άνθρωπο.

Ένα άλλο ερώτημα που προκύπτει, είναι ποιος εκ των δύο παραγόντων αποτελεί καταλληλότερο στόχο. Από άποψη ασφάλειας ο παράγοντας XII αποτελεί ιδανικό στόχο καθώς δεν διαδραματίζει ρόλο στην αιμόσταση και συνεπώς δεν προκαλεί αιμορραγίες. Όμως, όσον αφορά την αποτελεσματικότητά του, η συσχέτισή του με την πρόληψη της θρόμβωσης, αρτηριακής ή φλεβικής, είναι ασθενής με εξαίρεση τη θρόμβωση που επάγεται από τεχνητές επιφάνειες. Από την άλλη, ο παράγοντας XI φαίνεται πολλά υποσχόμενος στην πρόληψη καθώς και την επέκταση της αγγειακής θρόμβωσης αλλά και της θρόμβωση από επαφή με τεχνητή επιφάνεια, εμφανίζοντας όμως περισσότερες αιμορραγίες σε σχέση με τον XII, αν και αυτές είναι ηπιότερες και λιγότερες συγκριτικά με τα ήδη υπάρχοντα αντιπηκτικά, χωρίς

ταυτόχρονα να είναι κατώτερος αυτών. Και σε αυτή την περίπτωση, η εκπόνηση περισσότερων κλινικών μελετών θα μας δώσει τα απαραίτητα δεδομένα για την εξατομίκευση της θεραπείας. (Πίνακας 4)

Ακόμη ένα θέμα που απασχολεί, είναι εκείνο της φαρμακοκινητικής των αναστολέων των παραγόντων XI και XII. Τα περισσότερα σκευάσματα χορηγούνται παρεντερικά και παρότι ο μεγάλος χρόνος ημιζωής τους τείνει να εξισορροπήσει το κομμάτι της συμμόρφωσης των ασθενών, ταυτόχρονα τίθεται θέμα ασφαλείας σε περίπτωση που απαιτηθεί άμεση αναστροφή των παραγόντων. Αυτομάτως, αυτό συνεπάγεται και την ανάγκη εύρεσης αντιδότων. Αλλά και τα από του στόματος χορηγούμενα σκευάσματα χρήζουν βελτίωσης καθότι δεν εμφανίζουν ικανοποιητική ειδικότητα στη σύνδεση με τον παράγοντα στόχο.

Όσον αφορά την επίδραση των παραγόντων XI και XII στην πορεία της σήψης, η ετερογένεια στα αποτελέσματα που απαντάται μεταξύ των ειδών (τροφκτικά, πρωτεύοντα, άνθρωπος) και του παθογόνου που μελετάται εγείρουν τα ερωτήματα σε "ποιους" και "σε ποια φάση της σήψης" θα βοηθούσε η χορήγηση των αναστολέων τους.

Τέλος, τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις μελέτες σχετικά με τη δράση των παραγόντων XI και XII αφορούν την πρόληψη των θρομβωτικών επεισοδίων ενώ δεν υπάρχουν μελέτες που να προσδιορίζουν τη θέση τους στην άμεση θεραπεία της θρόμβωσης. Άλλωστε, όπως έχει ήδη αναφερθεί, η επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος απαιτεί χρονικό διάστημα αρκετών εβδομάδων κάτι που καθιστά τους αναστολείς έναντι των FXI και FXII περισσότερο κατάλληλους για μακροχρόνια παρά για άμεση θεραπεία.

Τα δεδομένα, λοιπόν, που έχουμε στα χέρια μας αυτή τη στιγμή μπορεί να μας κάνουν να αισθανόμαστε ένα βήμα πιο κοντά στο ιδανικό αντιπηκτικό, χρειάζονται όμως ακόμη πολλές κλινικές μελέτες και βελτιώσεις στη φαρμακοκινητική των σκευασμάτων μέχρι να καταφέρουμε να φθάσουμε στο επιθυμητό αποτέλεσμα.

Πίνακας 4 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των παραγόντων XI και XII ως θεραπευτικοί στόχοι για νεότερα αντιπηκτικά. Πηγή: Τροποποίηση από James et al⁶

	Παράγοντας XII	Παράγοντας XI
Επιδημιολογικά δεδομένα	Ασθενή	Ισχυρότερα
Κίνδυνος αιμορραγίας	Κανένας	Χαμηλός
Επίπεδο αποδείξεων για τον ρόλο στη θρόμβωση	Προκλινικό	Φάση 2
Δυνατότητα παράκαμψης της αναστολής	Η μεσολαβούμενη από τη θρομβίνη ενεργοποίηση του παράγοντα XI μπορεί να παρακάμψει την ενεργοποίηση του παράγοντα XII	Καμία
Δυνατότητα για επιδράσεις εκτός του στόχου	Μπορεί να ρυθμίσει τη φλεγμονή αναστέλλοντας τη δημιουργία βραδυκινίνης	Απίθανη

Κεφάλαιο 5

Συμπεράσματα

Η θρόμβωση παραμένει η πρώτη αιτία θανάτου παγκοσμίως και τεράστιες προσπάθειες γίνονται γύρω από την πρόληψη και τη θεραπεία της. Στο πέρασμα των χρόνων τα αντιπηκτικά εξελίχθηκαν, έγιναν πιο εύχρηστα και πιο ασφαλή για τους ασθενείς. Εξακολουθούν όμως να έχουν σημαντικά μειονεκτήματα ως προς τις ενδείξεις τους σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών, ενώ η αιχίλλειός τους πτέρνα παραμένει η αιμορραγία. Για το λόγο αυτό γίνονται προσπάθειες ανεύρεσης νέων αντιπηκτικών στόχων με μεγαλύτερο εύρος ενδείξεων, ευνοϊκότερη φαρμακοκινητική και φυσικά λιγότερες αιμορραγίες. Τα δεδομένα από καταγραφές ασθενών με διαταραχές πήξης υποδεικνύουν ως τέτοιους πιθανούς στόχους τους παράγοντες XI και XII της ενδογενούς οδού πήξης και οι πρώτες ενδείξεις από προκλινικές και μερικές κλινικές μελέτες φάσεις 1 και 2 φαίνεται να επιβεβαιώνουν αυτή τη σκέψη. Ο παράγοντας XI φαίνεται να είναι αποτελεσματικός χωρίς κατωτερότητα, και σε συγκεκριμένες δόσεις με ανωτερότητα, σε σχέση με τα έως τώρα χρησιμοποιούμενα αντιπηκτικά ως προς την πρόληψη της θρόμβωσης, αρτηριακής και φλεβικής, με ταυτόχρονα λιγότερες και ηπιότερες αιμορραγίες σε σχέση με τα γνωστά αντιπηκτικά. Αλλά και ο παράγοντας XII φαίνεται να έχει καλά αποτελέσματα χωρίς κατωτερότητα σε μελέτες που αφορούν τη επαγόμενη από επαφή με τεχνητή επιφάνεια θρόμβωση, με εξαιρετικό αιμορραγικό προφίλ. Όλη όμως αυτή η έρευνα βρίσκεται ακόμη σε πρωταρχικό στάδιο και θα πρέπει να διενεργηθούν πολλές ακόμη κλινικές μελέτες ώστε σε πρώτη φάση να επιβεβαιωθούν τα ευνοϊκά αυτά αποτελέσματα και στη συνέχεια να γίνουν βελτιώσεις στη φαρμακοκινητική των σκευασμάτων. Τέλος, δεν πρέπει να ξεχνάμε ότι οι ενδείξεις για τις οποίες μιλάμε αφορούν επί του παρόντος την πρόληψη της θρόμβωσης και ίσως τη μακροχρόνια θεραπεία της, πράγμα που σημαίνει πως υπάρχει ακόμη αρκετός δρόμος να διανυθεί ώστε αυτοί οι νέοι στόχοι να μπορέσουν να αξιοποιηθούν και στην άμεση θεραπεία της θρόμβωσης.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

aPTT	Activated Partial Thromboplastin Time
Ago2	Argonaut 2 Protein
ASGPR	Asialoglycoprotein Receptor
ASO	Antisense Oligonucleotide
CAS	Contact Activation System
DOACS	Direct Oral Anticoagulants
ECMO	Extracorporeal Membrane Oxygenation
GalNAc	N-acetyl Galactosamine
HK	High Molecular Weight Kininogen
KKS	Kallikrein Kinin System
LMWH	Low Molecular Weight Heparin
MAC-1	Activated Integrin Macrophage-1 Antigen
NETs	Neutrophil Extracellular Traps
NK cells	Natural Killer cells
PKa	Kallikrein
PT	Prothrombin Time
rhFXIa	Recombinant Human Factor XIa
siRNA	Small Interfering RNA
TF	Tissue Factor
TXA ₂	Thromboxane A ₂
UFH	Unfractionated Heparin

ΑΕΕ	Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο
ΕΒΦΘ	Εν τω Βάθει Φλεβοθρόμβωση
ΟΕΜ	Οξύ Έμφραγμα του Μυοκαρδίου
ΟΣΣ	Οξύ Στεφανιαίο Σύνδρομο
ΠΑΝ	Περιφερική Αρτηριακή Νόσος
ΠΕ	Πνευμονική Εμβολή
ΦΘΕΝ	Φλεβική Θρομβοεμβολική Νόσος
ΧΝΝ	Χρόνια Νεφρική Νόσος

Βιβλιογραφία

- [1] **Pireaux, V., Tassignon, J., Demoulin, S., Derochette, S., Borenstein, N., Ente, A., Fiette, L., ... Godfroid, E.** (October 29, 2019). Anticoagulation With an Inhibitor of Factors XIa and XIIa During Cardiopulmonary Bypass. *Journal of the American College of Cardiology*, 74, 17, 2178-2189.
- [2] **Geary, R. S., Norris, D., Yu, R., & Bennett, C. F.** (June 29, 2015). Pharmacokinetics, biodistribution and cell uptake of antisense oligonucleotides. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 87, 46-51.
- [3] **James, P., Salomon, O., Mikovic, D., & Peyvandi, F.** (May 01, 2014). Rare bleeding disorders - bleeding assessment tools, laboratory aspects and phenotype and therapy of FXI deficiency. *Haemophilia*, 20, 71-75.
- [4] **Schaefer, Martina, Anja Buchmueller, Frank Dittmer, Julia Straßburger, and Andreas Wilmen.** 2019. "Allosteric Inhibition as a New Mode of Action for BAY 1213790, a Neutralizing Antibody Targeting the Activated Form of Coagulation Factor XI". *Journal of Molecular Biology*.
- [5] **Pathak, M., Kaira, B. G., Slater, A., & Emsley, J.** (March 21, 2018). Cell Receptor and Cofactor Interactions of the Contact Activation System and Factor XI. *Frontiers in Medicine*, 5.
- [6] **Fredenburgh, J. C., Gross, P. L., & Weitz, J. I.** (January 12, 2017). Emerging anticoagulant strategies. *Blood*, 129, 2, 147-154.
- [7] **Gailani, D., Bane, C. E., & Gruber, A.** (August 01, 2015). Factor XI and contact activation as targets for antithrombotic therapy. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 13, 8, 1383-1395.
- [8] **Müller, Felicitas, David Gailani, and Thomas Renné.** 2011. "Factor XI and XII as antithrombotic targets". *Current Opinion in Hematology*. 18 (5): 349-355.
- [9] **Gailani D., and Gruber A.** 2016. "Factor XI as a Therapeutic Target". *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 36 (7): 1316-1322.
- [10] **Al-Horani, Rami A., and Umesh R. Desai.** 2016. "Factor XIa inhibitors: A review of patent literature". *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 26 (3): 323-345.

- [11] **Rai V, Balters MW, Agrawal DK.** Factors IX, XI, and XII: potential therapeutic targets for anticoagulant therapy in atherothrombosis. *Rev Cardiovasc Med.* 2019 Dec 30;20(4):245-253. doi: 10.31083/j.rcm.2019.04.56. PMID: 31912715.
- [12] **Weitz, J. I., & Fredenburgh, J. C.** (February 24, 2017). Factors XI and XII as Targets for New Anticoagulants. *Frontiers in Medicine, 4.*
- [13] **Gailani, D.** (December 05, 2014). Future prospects for contact factors as therapeutic targets. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program, 2014, 1, 52-59.*
- [14] **Tillman, B., & Gailani, D.** (2017). *Inhibition of Factors XI and XII for Prevention of Thrombosis Induced by Artificial Surfaces.* (Seminars in thrombosis and hemostasis.)
- [15] **Jaffer, I. H., Fredenburgh, J. C., Hirsh, J., & Weitz, J. I.** (June 01, 2015). Medical device-induced thrombosis: what causes it and how can we prevent it?. *Journal of Thrombosis and Haemostasis, 13.*
- [16] **Schmaier, A. H., Emsley, J., Feener, E. P., Gailani, D., Govers-Riemslog, J. W. P., Kaplan, A. P., Maas, C., ... Meijers, J. C. M.** (January 01, 2019). Nomenclature of factor XI and the contact system. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.*
- [17] **Weitz, J. I., & Chan, N. C.** (January 30, 2020). Novel antithrombotic strategies for treatment of venous thromboembolism. *Blood, 135, 5, 351-359.*
- [18] **Weitz, Jeffrey I., Rupert Bauersachs, Bastian Becker, Scott D. Berkowitz, Maria C. S. Freitas, Michael R. Lassen, Carola Metzigg, and Gary E. Raskob.** 2020. "Effect of Osocimab in Preventing Venous Thromboembolism Among Patients Undergoing Knee Arthroplasty". *JAMA.* 323 (2): 130-139.
- [19] **Walsh, Michael, Claudette Bethune, Andrew Smyth, Jessica Tyrwhitt, Shiangtung W Jung, Rosie Z Yu, Yanfeng Wang, Richard S Geary, Jeffrey Weitz, and Sanjay Bhanot.** 2022. "Phase 2 Study of the Factor XI Antisense Inhibitor IONIS-FXIRx in Patients With ESRD.". *Kidney International Reports.* 7 (2): 200-209.
- [20] **Willmann, Stefan, Eleonora Marostica, Nelleke Snelder, Alexander Solms, Markus Jensen, Maximilian Lobmeyer, Anthonie W. A. Lensing, et al.** 2021.

"PK/PD modeling of FXI antisense oligonucleotides to bridge the dose-FXI activity relation from healthy volunteers to end-stage renal disease patients". *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 10 (8): 890-901.

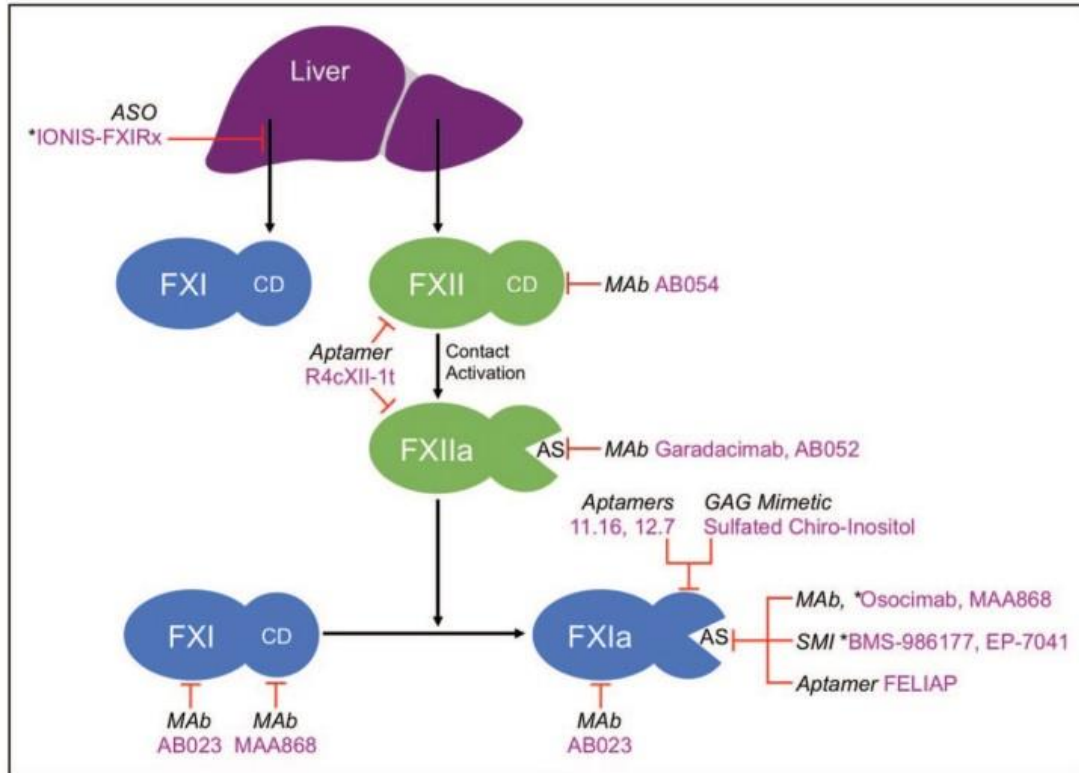
- [21] **Tillman, Benjamin F., Andras Gruber, Owen J.T. McCarty, and David Gailani.** 2018. "Plasma contact factors as therapeutic targets". *Blood Reviews*. 32 (6): 433-448.
- [22] **Shamanaev, Aleksandr, Jonas Emsley, and David Gailani.** 2021. "Proteolytic activity of contact factor zymogens". *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 19 (2): 330-341.
- [23] **Al-Horani, Rami A., and Daniel K. Afosah.** 2018. "Recent advances in the discovery and development of factor XI/XIa inhibitors". *Medicinal Research Reviews*. 38 (6): 1974-2023.
- [24] **Bajan, Sarah, and Gyorgy Hutvagner.** 2020. "RNA-Based Therapeutics: From Antisense Oligonucleotides to miRNAs". *Cells*. 9 (1): 137.
- [25] **Ivanov, Ivan, Anton Matafonov, and David Gailani.** 2017. "Single-chain factor XII: a new form of activated factor XII.". *Current Opinion in Hematology*. 24 (5): 411-418.
- [26] **Vikram Raghunathan, Jevgenia Zilberman-Rudenko, Sven R. Olson, Florea Lupu, Owen J. T. McCarty, and Joseph J. Shatzel.** 2019. "The contact pathway and sepsis". *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*. 3 (3): 331-339.
- [27] **Puy, Cristina, Rachel A. Rigg, and Owen J.T. McCarty.** 2016. "The hemostatic role of factor XI". *Thrombosis Research*. 141: S8-S11.
- [28] **Wheeler, Allison P., and David Gailani.** 2016. "The Intrinsic Pathway of Coagulation as a Target for Antithrombotic Therapy". *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 30 (5): 1099-1114.
- [29] **Srivastava, Priyanka, and David Gailani.** 2020. "The rebirth of the contact pathway: a new therapeutic target". *Current Opinion in Hematology*. 27 (5): 311-319.
- [30] **Wheeler, Allison P., and David Gailani.** 2016. "Why factor XI deficiency is a clinical concern". *Expert Review of Hematology*. 9 (7): 629-637.

Παράρτημα

Preferred protein designation	Preferred abbreviation	Synonyms
H-kininogen	HK	high molecular weight kininogen high molecular mass kininogen HMW kininogen alpha ₁ -cysteine proteinase inhibitor alpha ₁ -thiol proteinase inhibitor Williams or Fitzgerald Factor
Cleaved H-kininogen	cHK	Cleaved high molecular weight kininogen Activated H-kininogen Bradykinin-free H-kininogen HKa
Bradykinin	BK	Bk
Plasma prekallikrein	PK	prekallikrein plasma prokallikrein Fletcher Factor PPK
Plasma kallikrein	PKa	plasma kallikrein PK
Factor XII	FXII	Zymogen Factor XII XII, αFXII Hageman Factor
Factor XIIa	FXIIa	Activated Factor XII Activated Hageman Factor
	αFXIIa	Activated Factor XII with full heavy chain
	βFXIIa	Activated Factor XII with small heavy chain Factor XIIa fragment Hageman Factor fragment, HFf
Factor XI	FXI	Factor XI XI, Rosenthal Factor
Factor XIa	FXIa	Activated FXI

* Approved at the meeting of the SSC subcommittee on Factor XI and the Contact System in Dublin, Ireland in 2018

Παράρτημα 1 Προτεινόμενη ονοματολογία για τον παράγοντα XI και το σύστημα επαφής. Πηγή: Schmaier et al¹⁶



Παράρτημα 2 Μηχανισμοί δράσης των φαρμάκων που δρουν στο σύστημα επαφής. Πηγή: Shrivastava et al²⁹

Preclinical data supporting a role for the plasma contact system in thrombosis

Species	Contact factor	Thrombosis type	Reference	Study finding	
Mouse	Factor XI	Arterial	Rosen et al ³⁹	FXI-deficient mice are resistant to FeCl ₃ -induced thrombosis of the carotid artery	
			Wang et al ⁴⁰	FXI deficiency protects mice from arterial thrombosis similar to fIX deficiency	
			Kleinschnitz et al ⁴¹	FXI deficiency is protective in a model of cerebral ischemia-reperfusion injury	
			Cheng et al ¹²	Deficiency of fXI and fXII produce similar antithrombotic phenotypes in mice	
			Zhang et al ²²	Decreasing fXI with ASOs reduces arterial thrombus formation	
			Leung et al ⁴²	Inhibiting fXI with an antibody reduces cerebral ischemia-reperfusion injury	
			Wu et al ⁴³	FXIa inhibitor protease nexin 2 inhibits arterial thrombosis	
		Van Montfoort et al ⁴⁴	FXI deficiency regulates thrombus formation on ruptured atherosclerotic plaques		
		Venous	Wang et al ⁴⁵	FXI-deficient mice are resistant to FeCl ₃ -induced inferior vena cava thrombosis	
			Cheng et al ¹²	FXI-deficient mice are resistant to formation of TF-induced pulmonary emboli	
			Zhang et al ²²	Decreasing fXI with ASOs reduces size of venous thrombi	
			Wong et al ²⁸	Small-molecule inhibitor to fXIa prevents venous thrombosis	
			van Montfoort et al ⁴⁶	Anti-factor XI antibodies reduce venous thrombus formation	
			Factor XII	Arterial	Renné et al ⁴⁷
	Kleinschnitz et al ⁴¹				FXII deficiency is protective in a model of cerebral ischemia-reperfusion injury
	Müller et al ¹³	Polyphosphate induces thrombosis in a fXII dependent manner			
	Cheng et al ¹²	FXII-deficient mice are resistant to FeCl ₃ -induced carotid artery thrombosis			
	Venous	Hagedorn et al ³²		FXIIa inhibitor infestin-4 blocks arterial thrombus formation	
		Revenko et al ¹⁴		Reducing fXII with ASOs inhibits arterial thrombus formation	
	Prekallikrein	Arterial	Renné et al ⁴⁷	FXII-deficient mice are resistant to collagen-epinephrine-induced pulmonary emboli	
Revenko et al ¹⁴			Reducing fXII with ASOs inhibits stasis-induced vena cava thrombus formation		
Revenko et al ¹⁴			Reducing PK with ASOs inhibited arterial thrombus formation		
Venous		Bird et al ⁴⁸	PK deficiency inhibits FeCl ₃ -induced arterial thrombus formation		
		Revenko et al ¹⁴	Decreasing PK with ASOs inhibits stasis-induced venous thrombus formation		
		Bird et al ⁴⁸	PK deficiency inhibits venous thrombus formation induced by oxidative damage		
HK	Arterial	Merkulov et al ⁴⁹	HK deficiency inhibits laser-induced arterial thrombus formation		
		Langhauser et al ⁵⁰	Arterial thrombosis was reduced in HK knockout mice		
Rat	Factor XII	A-V Shunt	Xu et al ³³	FXIIa inhibitor infestin-4 reduces thrombus formation	
Rabbit	Factor XI	Arterial	Yamashita ⁵¹	Inhibiting fXIa reduces thrombus propagation in an iliac artery injury model	

Παράρτημα 3Α Προκλινικές μελέτες FXI και FXII στη θρόμβωση. Πηγή: Gailani et al¹³

Species	Contact factor	Thrombosis type	Reference	Study finding
Baboon	Factor XII	Venous	Wong et al ²⁸	Small-molecule inhibitor to fXIa reduces arterial thrombus growth
			Minnema et al ⁵²	Inhibiting fXI with IgG enhances fibrinolysis of injury-induced venous thrombi
			Takahashi et al ⁵³	Inhibiting fXIa reduces thrombus growth in jugular vein injury and stasis models
			Wong et al ²⁸	Small-molecule inhibitor to fXIa reduces venous thrombus growth
			Yau et al ¹⁷	Decreasing fXI with ASOs inhibits catheter-induced venous thrombus formation
	Factor XI	Venous	Yau et al ¹⁷	Decreasing fXII with ASOs inhibits catheter-induced venous thrombus formation
			Larsson et al ¹⁸	Anti-fXIIa IgG prevents thrombus formation in an extracorporeal circuit
		A-V Shunt	Xu et al ³³	fXIIa inhibitor infestin-4 reduces thrombus formation
		A-V Shunt	Gruber & Hanson ²⁰	Inhibiting fXI with polyclonal IgG inhibits collagen or TF-induced thrombosis
			Tucker et al ¹⁵	Inhibiting fXI with monoclonal IgG inhibits collagen-induced thrombosis
Factor XII	A-V Shunt	Cheng et al ¹²	Blocking fXI activation by fXIIa inhibits collagen-induced thrombosis	
		Crosby et al ²⁴	Decreasing fXI with ASOs inhibits collagen-induced thrombosis	
		Matafonov et al ¹⁶	Blocking fXII activation with monoclonal IgG inhibits collagen-induced thrombosis	

A-V indicates arterial-venous.

Παράρτημα 3B Προκλινικές μελέτες FXI και FXII στη θρόμβωση. Πηγή: Gailani et al¹³