



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

**«ΤΥΠΟΙ ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑΣ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΥΤΩΝ»**

υπό

ΒΑΣΙΛΙΚΗΣ Γ. ΓΚΑΣΤΑΡΗ

Ειδικού Αιματολόγου

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

Λάρισα, 2023

Επιβλέπων:

Παρασκευή Κώτση, Επίκουρος Καθηγήτρια *Ιατρικής των Μεταγγίσεων, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. Παρασκευή Κώτση, Επίκουρος Καθηγήτρια *Ιατρικής των Μεταγγίσεων, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας- (Επιβλέπουσα)*
2. Ελευθερία - Ελμίνα Λευκού, Αιματολόγος
3. Σταυρούλα Τσιάρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια *Παθολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων*

Αναπληρωματικό μέλος:

Καλλιρόη Καλαντζή, Καρδιολόγος

Τίτλος εργασίας στα αγγλικά: Types of thrombophilia and their laboratory testing

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτριά μου κ. Π. Κώτση για την καθοδήγηση και τις χρήσιμες συμβουλές της σχετικά με την εργασία.

Επιπλέον, ευχαριστώ την αιματολόγο κ. Ελευθερία – Ελμίνα Λευκού για την έμπνευση αλλά και τις πρακτικές συμβουλές για τη συγγραφή αυτής της εργασίας.

Επιπρόσθετα, ευχαριστώ και τους υπόλοιπους καθηγητές που είχα στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών « Θρόμβωση και Αντιθρομβωτική Αγωγή», για την μεταλαμπάδευση των πολύτιμων γνώσεών τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για τη υποστήριξη και την αγάπη τους.

Περίληψη

Η θρομβοφιλία χαρακτηρίζεται από διαταραχές της πήξης του αίματος που οδηγούν στη δημιουργία θρόμβων στον ανθρώπινο οργανισμό. Απαντάται σε μεγάλο ποσοστό στον πληθυσμό και προκαλεί πλήθος συμπτωμάτων, όπως αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση και πνευμονική εμβολή. Η θρομβοφιλία μπορεί να είναι κληρονομική ή επίκτητη ή συνδυασμός των δύο.

Η κληρονομική θρομβοφιλία εμφανίζεται και μπορεί να προκαλέσει συμπτώματα από την γέννηση του ατόμου και οφείλεται συνήθως σε μεταλλάξεις γονιδίων που οδηγούν σε έλλειψη ή μειωμένη παραγωγή ή μειωμένη δράση πρωτεϊνών που συμμετέχουν στον μηχανισμό της πήξης του αίματος. Η επίκτητη θρομβοφιλία εμφανίζεται αργότερα στη ζωή του ατόμου, μπορεί να σχετίζεται και με τον τρόπο ζωής του ατόμου, όπως λήψη φαρμάκων, διατροφή αλλά και με αυτοάνοσα νοσήματα και καρκίνο.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία αναλύονται τόσο οι κληρονομικοί όσο και οι επίκτητοι τύποι θρομβοφιλίας και παρουσιάζονται οι μέθοδοι εργαστηριακής διερεύνησης αυτών.

Λέξεις- Κλειδιά: κληρονομική θρομβοφιλία, επίκτητη θρομβοφιλία, αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S, αντιθρομβίνη III, αντιπηκτικό λύκου, μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα, καρκίνος

Abstract

Thrombophilia refers to blood clotting disorders that lead to the formation of clots in the human body. It occurs in a large percentage of the population and causes several symptoms, such as strokes, deep vein thrombosis and pulmonary embolism. Thrombophilia can be hereditary or acquired.

Hereditary thrombophilia can appear and cause symptoms from birth and is usually due to gene mutations that lead to a lack or reduced production or reduced function of proteins involved in the blood clotting mechanism. Acquired thrombophilia occurs later in a person's life and can be related to the person's lifestyle, such as medication or diet as well as autoimmune disorders and cancer.

Thrombophilia is detected from several lab tests.

In this essay, both the hereditary and the acquired types of thrombophilia are analyzed and the methods of their laboratory investigation are presented.

Key words: inherited thrombophilia, acquired thrombophilia, antiphospholipid syndrome, protein C, protein S, antithrombin III, lupus anticoagulant, myeloproliferative disorders, cancer

Πίνακας Περιεχομένων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή

1.1 Εισαγωγή.....	8
1.2 Μέθοδοι.....	8
1.3 Ορισμός της θρομβοφιλίας.....	9
1.4 Ιστορική αναδρομή.....	10

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Κληρονομική θρομβοφιλία

2.1 Μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden.....	11
2.2 Μετάλλαξη G20210A της προθρομβίνης.....	14
2.3 Ανεπάρκεια αντιθρομβίνης III	15
2.4 Ανεπάρκεια της πρωτεΐνης C.....	17
2.5 Ανεπάρκεια πρωτεΐνης S	20
2.6 Αυξημένα επίπεδα παράγοντα VIII της πήξης (FVIII).....	24
2.7 Ομοκυστεϊναιμία και μετάλλαξη στο γονίδιο της 5,10- μεθυλενοτετραϋδροφυλλικής ρεδοκτάσης (MTHFR).....	25
2.8 Πολυμορφισμοί του ανασταλτή ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1).....	26

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Επίκτητη θρομβοφιλία

3.1 Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.....	27
3.2 Καρκίνος.....	38
3.3 Μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα(MYN)	39
3.4 Σήψη και φλεγμονή.....	40
3.5 Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ).....	41
3.6 COVID-19	44
3.7 Θρομβωτική Θρομβοπενική Πορφύρα (TTP).....	45
3.8 Παροξυσμική Νυχτερινή Αιμοσφαιρινουρία (PNH).....	46
3.9 Κύηση και θρόμβωση.....	47

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΩΝ

4.1 Άτομα στα οποία πρέπει να γίνεται ο έλεγχος για θρομβοφιλία.....	48
4.2 Ιδιαίτερες προφυλάξεις κατά τη διενέργεια των εργαστηριακών εξετάσεων για θρομβοφιλία.....	49
4.3 Παρεμβολές των νεότερων αντιπηκτικών στις εργαστηριακές εξετάσεις για τη διάγνωση θρομβοφιλίας.....	50
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	54
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56

Κεφάλαιο 1 Εισαγωγή

1.1 Εισαγωγή

Από το 1965 που περιγράφηκε η πρώτη κληρονομική θρομβοφιλία και με την περιγραφή μετέπειτα άλλων μεταλλάξεων, επικράτησε ενθουσιασμός ότι βρέθηκε το αίτιο «ανεξήγητων» θρομβώσεων. Γρήγορα, ωστόσο, φάνηκε ότι η θρομβοφιλία είναι πολυπαραγοντική και μια γενετική μετάλλαξη δεν έχει τον ίδιο φαινότυπο σε όλους. Σκοπός της παρούσης βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι η μελέτη των σύγχρονων δεδομένων και γνώσεων για τη θρομβοφιλία, η περιγραφή των εργαστηριακών μεθόδων για τη διερεύνησή της και η αποσαφήνιση της επίδρασης των άμεσων από του στόματος αντιπηκτικών που χρησιμοποιούνται ευρέως την τελευταία 15ετία περίπου στις διαγνωστικές μεθόδους.

1.2 Μέθοδοι

Πρόκειται για βιβλιογραφική ανασκόπηση. Αναζητήθηκαν στη βάση του pubmed οι όροι “acquired thrombophilia”, “hereditary thrombophilia”, “factor FV Leiden”, “prothrombin mutation”, “antithrombin III”, “protein C deficiency”, “protein S deficiency”, “increased levels of FVIII”, “homocysteinaemia and MTHFR mutations”, “PAI-1 polymorphisms”, “antiphospholipid syndrome”, “cancer and thrombosis”, “myeloproliferative neoplasms”, “sepsis and thrombosis”, “DIC”, “COVID-19 and thrombosis”, “TTP”, “PNH”, “pregnancy and thrombosis”. Χρησιμοποιήθηκαν άρθρα που αφορούσαν σε ενήλικες και ήταν στην Αγγλική και Ελληνική γλώσσα.

Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση των διαφόρων τύπων θρομβοφιλίας που έχουν δημοσιευθεί από μεγάλες Ιατρικές Εταιρείες που ασχολούνται με το θέμα όπως πχ. η Ελληνική και Βρετανική Εταιρεία Αιματολογίας κ.α.

Τέλος, επιλεκτικά, αναζητήθηκαν και άρθρα ιστορικά που αποτέλεσαν σταθμό για τη μελέτη της θρομβοφιλίας και πάνω στα οποία βασίστηκαν οι μετέπειτα μελετητές.

1.3 Ορισμός θρομβοφιλίας

Δεν υπάρχει ευρέως αποδεκτός ορισμός για τη θρομβοφιλία. Με τα χρόνια, αυτός ο όρος έχει χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό εκείνων των διαταραχών της αιμόστασης που είναι πιθανό να προδιαθέτουν σε θρόμβωση.

Αργότερα, ορίστηκε ως η τάση για ανάπτυξη θρόμβωσης ως συνέπεια προδιαθεσικών παραγόντων που μπορεί να είναι γενετικά καθορισμένοι, επίκτητοι ή και τα δύο. Ο τελευταίος ορισμός μπορεί να είναι πιο χρήσιμος επειδή περιλαμβάνει καταστάσεις που προφανώς δεν συνδέονται άμεσα με το αιμοστατικό σύστημα (π.χ. υπερομοκυστεϊναιμία).¹

Ο όρος θρομβοφιλία χρησιμοποιείται γενικά για να περιγράψει κληρονομικές και/ή επίκτητες καταστάσεις που σχετίζονται με αυξημένη προδιάθεση για θρομβώσεις. Η κληρονομική θρομβοφιλία αναφέρεται σε γενετικές διαταραχές συγκεκριμένων πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην αιμόσταση².

Η θρομβοφιλία κατηγοριοποιείται γενικά σε κληρονομική και επίκτητη.

Στην κληρονομική μπορεί να υπάρξει:

- Ελάττωση των φυσικών αντιπηκτικών όπως οι πρωτεΐνες C και S, η αντιθρομβίνη III
- Αύξηση των παραγόντων πήξης όπως ο FVIII, FIX, FXI και ο παράγον von Willebrand
- Έλλειψη παραγόντων πήξης όπως XIII και το ινωδογόνο
- Γονιδιακή μετάλλαξη όπως σε FV Leiden, FII G20210A, MTHFR, PAI-I (4G/4G) κá.

Στις επίκτητες θρομβοφιλίες ανήκουν το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (ΑΦΣ), η κύηση, η νυχτερινή παροξυσμική πρωτεϊνουρία (PNH), τα μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα (MYN) και ιδιαίτερα η παρουσία της μετάλλαξης JAK2 ακόμη και χωρίς

φαινότυπο μυελοϋπερπλαστικού νοσήματος κά. ενώ επίκτητα αίτια είναι η λήψη φαρμάκων, η παχυσαρκία, το κάπνισμα, η ακινησία κλπ².

Όποιος κι αν είναι ο ορισμός, είναι σημαντικό για αυτήν την ανασκόπηση ότι η θρομβοφιλία μπορεί να είναι δευτερογενής σε πολλές καταστάσεις που μπορούν να διερευνηθούν με εργαστηριακές εξετάσεις.

1.4 Ιστορική Αναδρομή

Πρώτος ο Olav Egeberg το 1965 αναγνώρισε την ύπαρξη της κληρονομικής θρομβοφιλίας σε μια νορβηγική οικογένεια με ανεπάρκεια αντιθρομβίνης, και έτσι ξεκίνησε η έρευνα για την κληρονομική θρομβοφιλία που εμφανίζεται σε κατά τα άλλα υγιείς νεαρούς ενήλικες.

Σχεδόν 10 χρόνια μετά από αυτή την ανακάλυψη, η Ewa Marciniak και οι συνεργάτες της στο Κεντάκι περιέγραψαν την εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση και πνευμονική εμβολή μετά από κάταγμα μηριαίου οστού σε ένα 15χρονο αγόρι με ανεπάρκεια αντιθρομβίνης, ενώ ο Björn Björke και οι συνεργάτες του ανέφεραν τη θανατηφόρα θρόμβωση αορτής σε δύο νεογέννητα νεογνά.³

Επιπλέον, ο Virchow τον 19^ο αιώνα παρουσίασε την τριάδα που οδηγεί στην δημιουργία θρόμβων και περιλαμβάνει: τη στάση του αίματος στην κυκλοφορία, την βλάβη του ενδοθηλίου στο αγγείο και την υπερπηκτική κατάσταση.⁴

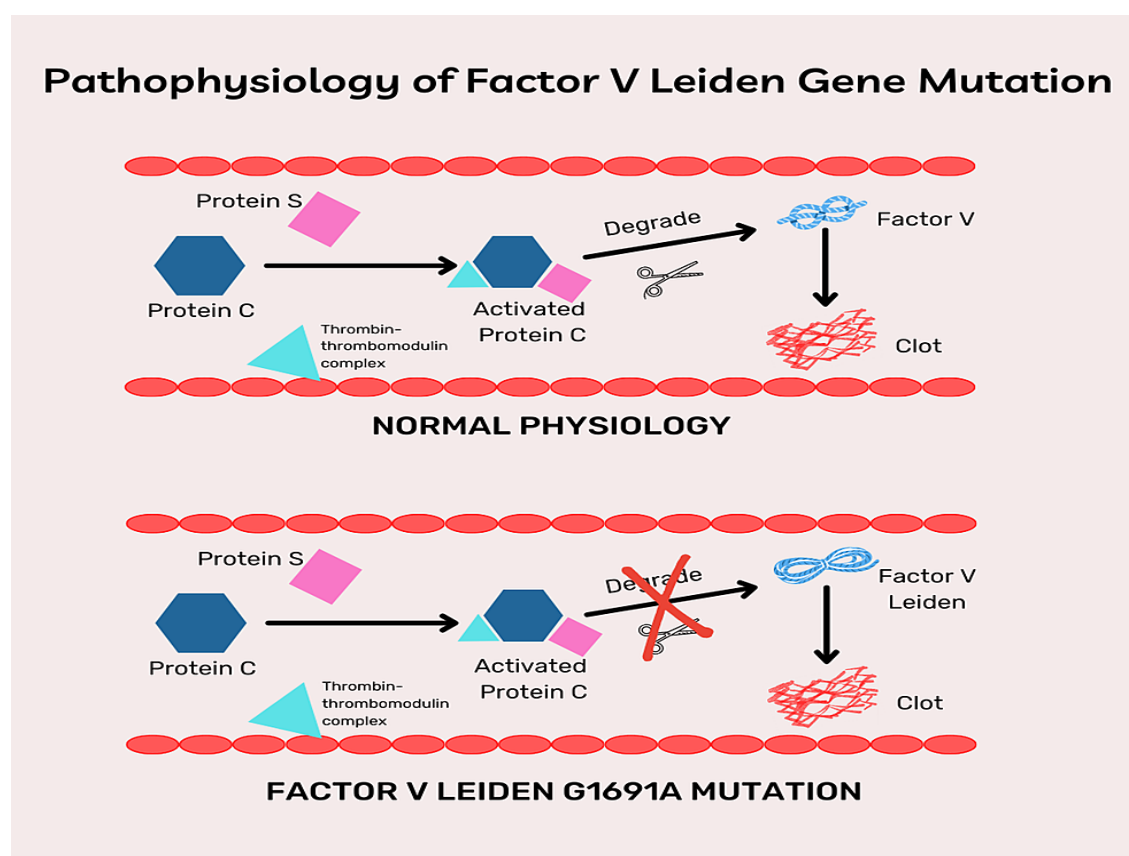
Τα επόμενα 30 χρόνια, έχουν προσδιοριστεί γενετικές μεταλλάξεις που προκαλούν ποσοτικές ή ποιοτικές ανεπάρκειες των ρυθμιστικών και ινωδολυτικών πρωτεϊνών της πήξης, αυξήσεις σε προπηκτικές πρωτεΐνες και ουσίες που μεσολαβούν στη βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Ο όρος θρομβοφιλία χρησιμοποιείται πλέον γενικά για να περιγράψει κληρονομικές και/ή επίκτητες καταστάσεις που σχετίζονται με αυξημένη προδιάθεση για θρομβώσεις. Η κληρονομική θρομβοφιλία αναφέρεται σε γενετικές διαταραχές συγκεκριμένων πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην αιμόσταση.²

Κεφάλαιο 2 Κληρονομική θρομβοφιλία

2.1 Μετάλλαξη του παράγοντα FV Leiden

Πρόκειται για σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο F5 του παράγοντα FV της πήξης (G1619A) στο χρωμόσωμα 1 (1q23), όπου η γλουταμίνη αντικαθιστά την αργινίνη (Bertina RM, 1994) με αποτέλεσμα η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (activated protein C, APC) να μην μπορεί να διασπάσει και αδρανοποιήσει το μόριο, καθιστώντας έτσι τον FV ανθεκτικό στην πρωτεολυτική δράση της (activated protein C resistance, APCR).⁵



Εικόνα 1. Παθοφυσιολογία της μετάλλαξης του παράγοντα V Leiden⁶

Η συχνότητα εμφάνισης της ετεροζυγωτίας FV Leiden στους Καυκάσιους φαίνεται να είναι από 1-8.5% ενώ ιδιαίτερα στην Ευρώπη κυμαίνεται στο 5-8% . Αντίθετα, τα

ποσοστά είναι σχεδόν μηδενικά στους Κινεζικής και Ιαπωνικής καταγωγής καθώς και στους μαύρους της Αφρικής.⁷⁻⁸

Η ετεροζυγωτία FV Leiden φαίνεται ότι αυξάνει κατά 3-8% τον θρομβωτικό κίνδυνο ενώ η ομοζυγωτία κατά 10-80%.⁹ (Πίνακας 1 και 2).

Πίνακας 1: Κίνδυνος θρομβωτικών επιπλοκών σε ετεροζυγωτία FV Leiden	
Θρομβωτικές επιπλοκές	Υπολογιζόμενος κίνδυνος (Odds Ratio) ^b
Πρώτο επεισόδιο ΕΒΦ	3-8
Θρόμβωση εγκεφαλικών φλεβών	3-5
Θρόμβωση άνω άκρου ^a	3-6
Θρόμβωση σχετιζόμενη με Κεντρικό Φλεβικό Καθετήρα	2-3
Θρόμβωση επιφανειακών φλεβών	6
ΕΒΦ σχετιζόμενη με κύηση	8-52
Υποτροπιάζουσα ΕΒΦ	1.4-1.6
Αυτόματη αποβολή	2-4
^a Μη σχετιζόμενη με κακοήθεια ή χρήση ΚΦΚ	
^b Σύγκριση με άτομα χωρίς FV Leiden	

Πίνακας 1: Κίνδυνος θρομβωτικών επιπλοκών σε ετεροζυγωτία FV Leiden⁹

Πίνακας 2: Κίνδυνος θρομβωτικών επιπλοκών σε ομοζυγωτία FV Leiden	
Θρομβωτικές επιπλοκές	Υπολογιζόμενος κίνδυνος (Odds Ratio) ^b
Πρώτο επεισόδιο ΕΒΦ	10-80
Θρόμβωση εγκεφαλικών φλεβών	20-40
Θρόμβωση σχετιζόμενη με από του στόματος αντισυλληπτικά φάρμακα	100
Υποτροπιάζουσα ΕΒΦ	2-3
Θρόμβωση σχετιζόμενη χειρουργική επέμβαση	20
Πρώιμη αυτόματη αποβολή	3
Απώτερη αυτόματη αποβολή ^a	11
^a Μετά τις 12 εβδομάδες κύησης	
^b Σύγκριση με άτομα χωρίς FV Leiden	

Πίνακας 2: Κίνδυνος θρομβωτικών επιπλοκών σε ομοζυγωτία FV Leiden⁹

Η κλινική έκφραση του παράγοντα FV Leiden επηρεάζεται ακόμη από άλλες συνυπάρχουσες προθρομβωτικές καταστάσεις και παροδικούς παράγοντες κινδύνου (Πίνακας 3)

Πίνακας 3: Κίνδυνος ΕΒΦ σε ετεροζυγωτία FV Leiden με συνυπάρχοντες παράγοντες κινδύνου	
Συνυπάρχοντες παράγοντες κινδύνου	Κίνδυνος ΕΒΦ (Odds Ratio) ^a
Μετάλλαξη προθρομβίνης (διπλή ετεροζυγωτία)	20 100(ΕΒΦ σχετιζόμενη με κύηση)
Υπερομοκυστεϊναμία	22
Παχυσαρκία	8
Από του στόματος αντισυλληπτικά	11-41 30 (θρόμβωση εγκεφαλικής φλέβας)
Από του στόματος αντισυλληπτικά 3 ^{ης} γενιάς ^b	20
Ορμονική θεραπεία αποκατάστασης	3
Αεροπορικό ταξίδι	11
Ήσσον τραύμα	50
Κακοήθεια	12 20 (θρόμβωση άνω άκρου)
^a Σύγκριση με άτομα χωρίς κανέναν παράγοντα κινδύνου ή μετάλλαξη	
^b Δισκία που περιέχουν 3 ^{ης} γενιάς προγεστερόνη, δεσογεστρέλη	

Πίνακας 3: Κίνδυνος εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης σε ετεροζυγωτία FV Leiden με συνυπάρχοντες παράγοντες κινδύνου⁹

Screening τεστ για ανίχνευση της μετάλλαξης FV Leiden γίνεται είτε με μοριακή μέθοδο βασισμένη σε DNA ή με μια λειτουργική μέθοδο που εκτιμά την αντίσταση στην APC. Η μέθοδος που εκτιμά την APCR είναι μη ειδική για την ανίχνευση της συγκεκριμένης μετάλλαξης και σε περίπτωση θετικότητας θα πρέπει να γίνει και η μοριακή μέθοδος για τη διευκρίνιση περί ύπαρξης ετεροζυγωτίας ή ομοζυγωτίας. Ωστόσο, είναι πιο φθηνή ως μέθοδος για screening. Δεν θα πρέπει, όμως, να χρησιμοποιείται σε περίπτωση ύπαρξης αντιπηκτικού του λύκου και σε χρήση ηπαρίνης ή των από του στόματος νεότερων αντιπηκτικών (direct oral anticoagulants, DOACS).¹⁰

2.2 Μετάλλαξη G20210A της προθρομβίνης

Η προθρομβίνη είναι γλυκοπρωτεΐνη με MW 72kDa και ενεργοποιείται από τον παράγοντα FXa οπότε και διασπάται σε 2 θέσεις, την Arg271-Thr272 και την Arg320-Phe321 και μετατρέπεται σε θρομβίνη. Για τη διάσπαση αυτή απαιτούνται ακόμη ο παράγων FVa, φωσφολιπίδια και Ca^{2+} . Οι ιδιότητες της θρομβίνης είναι τόσο αιμοστατικές καθώς προκαλεί ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, των παραγόντων FVIII, FV, FXIII και FXI και μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινική, όσο και αντιπηκτικές με ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C, αλλά και ινωδολυτικές ενεργοποιώντας τον ενεργοποιούμενο από τη θρομβίνη αναστολέα της ινωδόλυσης - TAFI.¹¹

Το 1996 περιγράφηκε από τους Rooff και συνεργάτες μια σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο της προθρομβίνης που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 11 (11p11-q12). Συγκεκριμένα, αλλαγή μιας γουανίνης σε αδενίνη στο νουκλεοτίδιο 20210 στην 3' αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου της προθρομβίνης με αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα προθρομβίνης κατά 30% περίπου. Η μετάλλαξη αυτή αυξάνει το θρομβωτικό κίνδυνο κατά 2.8 φορές. Ο κίνδυνος θρόμβωσης σε ομοζυγωτία είναι σαφώς υψηλότερος αλλά μη καλά προσδιορισμένος.¹²

Η μετάλλαξη κληρονομείται με αυτοσωματικό επικρατούντα χαρακτήρα.

Σε συγκριτική μελέτη με συμμετοχή 11 κέντρων από 9 χώρες ο συνολικός επιπολασμός της ετεροζυγωτίας υπολογίστηκε σε 2% (εύρος 0.7-4% μεταξύ των κέντρων). Στη νότια Ευρώπη ο επιπολασμός ήταν 3%(CI95 2.3-3.7), σχεδόν διπλάσιος από αυτόν στη βόρεια Ευρώπη 1.7% (CI95 1.3-2.2%). Το παθολογικό αλληλίο αντίθετα, ήταν εξαιρετικά σπάνιο σε άτομα με καταγωγή από Αφρική και Ασία.¹³

Η διάγνωση τίθεται με μοριακές μεθόδους που ανιχνεύουν σε ετεροζυγωτία ή ομοζυγωτία το παθολογικό αλληλίο 20210G>A. Τα επίπεδα της προθρομβίνης στο πλάσμα δεν είναι αξιόπιστα καθώς στους ετεροζυγώτες τα επίπεδα μπορεί να είναι εντός φυσιολογικών ορίων.¹⁴

2.3. Ανεπάρκεια αντιθρομβίνης III (AT III)

Η αντιθρομβίνη (AT), επίσης γνωστή ως συμπαράγοντας ηπαρίνης, είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 58200Da που συντίθεται στο ήπαρ και ανήκει στην υπεροικογένεια ανασταλτών πρωτεϊνών σερίνης (serine protease inhibitor superfamily- SERPIN) . Αποτελεί το μείζονα αναστολέα της θρομβίνης ενώ έχει ρόλο και στην αναστολή και άλλων πρωτεϊνών σερίνης, συμπεριλαμβανόμενων και των παραγόντων Xa, IXa, XIa και XIIa, της καλλικρεΐνης και της πλασμίνης

Η ανεπάρκεια της AT μπορεί να είναι κληρονομική ή επίκτητη. Στην κληρονομική παρατηρείται περίπου 50% μείωση είτε στη λειτουργία είτε στα επίπεδα της AT και η επίπτωσή της υπολογίζεται μεταξύ 1:200 και 1:5000 στο γενικό πληθυσμό.(Πίνακας 4)

Περιγράφονται 2 τύποι ανεπάρκειας:

Τύπος I: Χαμηλή λειτουργική και ανοσολογική AT(ποσοτική διαταραχή)

Τύπος II: Παρουσία μιας μεταλλαγμένης AT με φυσιολογική αντιγονικότητα αλλά χαμηλή λειτουργικότητα (ποιοτική διαταραχή) και ανάλογα με τη δράση που επηρεάζεται

RS: δράση στην αντιδραστική περιοχή

HBS: δράση στην περιοχή σύνδεσης της ηπαρίνης

PE: πλειοτροπική δράση

Οι υποκατηγορίες της ανεπάρκειας τύπου II έχουν πιθανόν και κλινική σημασία, καθώς άτομα με ετεροζυγωτία για τη μετάλλαξη τύπου HBS έχουν μικρότερο κίνδυνο θρομβοεμβολικής νόσου.

Η ομοζυγωτία δεν φαίνεται να είναι συμβατή με τη ζωή. Οι μόνες περιπτώσεις με ομοζυγωτία για ανεπάρκεια AT που έχουν περιγραφεί αφορούν σε μεταλλάξεις τύπου HBS.¹⁰

Το γονίδιο της AT, SERPIN1C, εδράζεται στο χρωμόσωμα 1 (1q23-25). Η ανεπάρκεια τύπου I προκύπτει είτε από μείζονες ελλείψεις γονιδίων ή από σημειακές μεταλλάξεις. Αντίθετα, αλλαγή σε μια μόνο βάση σε περιοχές κωδικοποίησης οδηγεί σε μεταλλαγμένη AT που παρατηρείται στον τύπο II.¹⁵

Πίνακας 4: Επιπολασμός ανεπάρκειας ΑΤΠΙ τύπου Ι και ΙΙ σε ασθενείς με ΕΒΦ και στο γενικό πληθυσμό				
Τύπος ανεπάρκειας ΑΤΠΙ	Αριθμός ατόμων (%)		Κίνδυνος (95% CI έναντι γενικού πληθυσμού)	p
	Ασθενείς με ΕΒΦ (n=108)	Γενικός πληθυσμός(n=4517)		
Τύπος Ι	6 (5.56%)	2 (0.04%)	132.8 (26.5-666.1)	<0.0001
Τύπος ΙΙ	0 (0.00%)	5 (0.11%)	3.8 (0.2-68.9)	0.73
Τύποι Ι+ΙΙ	6 (5.56%)	7 (0.15%)	37.9 (12.5-114.8)	<0.0001

Πίνακας 4: Επιπολασμός ανεπάρκειας ΑΤΠΙ τύπου Ι και ΙΙ σε ασθενείς με ΕΒΦ και στο γενικό πληθυσμό¹⁶

Περισσότερες από 250 μεταλλάξεις έχουν περιγραφεί, οπότε η εξέταση DNA με μοριακές μεθόδους δεν φαίνεται να είναι η καλύτερη στρατηγική στην καθημέρα κλινική πράξη. Η ανεπάρκεια της ΑΤ μπορεί αξιόπιστα να ανιχνευθεί με εξετάσεις λειτουργικότητας και αντιγονικότητας. Καθώς η ανοσολογική μέθοδος είναι σχεδιασμένη ώστε να μετρά την ποσότητα της πρωτεΐνης ανεξάρτητα από τη λειτουργικότητά της, η λειτουργική μέθοδος, φαίνεται να είναι η εξέταση εκλογής για το αρχικό screening. Αν το αποτέλεσμα δείξει μειωμένη λειτουργικότητα, τότε μπορεί ακολουθήσει η αντιγονική μέθοδος για διάκριση μεταξύ των δύο τύπων ανεπάρκειας.

Οι μέθοδοι που κυκλοφορούν εμπορικά για τη λειτουργικότητα, μετρούν την αναστολή του FIIa ή του FXa παρουσία ηπαρίνης με χρωματομετρικές μεθόδους. Οι αντιγονικές μέθοδοι είναι τύπου ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay, ανοσοενζυμική μέθοδος).¹⁷

Επανάληψη της εξέτασης σε δεύτερο χρόνο συνιστάται για επιβεβαίωση της ανεπάρκειας, καθώς σφάλματα μπορεί να προκύψουν από παράγοντες προ και κατά τη συλλογή του δείγματος προκαλώντας επίκτητη ανεπάρκεια.¹⁰ (Πίνακας 5)

Πίνακας 5: Παράγοντες που προκαλούν επίκτητη ανεπάρκεια των φυσικών ανασταλτών της πήξης		
Επίκτητη ανεπάρκεια AT	Επίκτητη ανεπάρκεια PC	Επίκτητη ανεπάρκεια PS
Μειωμένη ηπατική σύνθεση <ul style="list-style-type: none"> • Ηπατική νόσος • Υποσιτισμός • Νεογνική ηλικία 	Μειωμένη ηπατική σύνθεση <ul style="list-style-type: none"> • Ηπατική νόσος • Ανεπάρκεια βιταμίνης Κ • Υποσιτισμός • Νεογνική ηλικία 	Μειωμένη ηπατική σύνθεση <ul style="list-style-type: none"> • Ηπατική νόσος • Ανεπάρκεια βιταμίνης Κ • Υποσιτισμός • Νεογνική ηλικία
Αυξημένη ατακκριση <ul style="list-style-type: none"> • Νεφρικό σύνδρομο • Ευερέθιστο έντερο • Εντεροπάθεια με απώλεια πρωτεΐνης • Σακχ. διαβήτη 	Αυξημένη καταπόλιση <ul style="list-style-type: none"> • Οξεία ή χρόνια EBφ • Σήψη, SIRS • Επέμβαση • ΔΕΠ 	Αυξημένη καταπόλιση <ul style="list-style-type: none"> • Οξεία ή χρόνια EBφ • Σήψη, SIRS • ΔΕΠ • Κακοήθεια • Κύηση
Αυξημένη καταπόλιση <ul style="list-style-type: none"> • Οξεία ή χρόνια EBφ • Σήψη, SIRS • ΔΕΠ • Επέμβαση, τραύμα, έγκαυμα • Σοβαρή αιμορραγία • Προεκλαμψία • Κύηση, λοχεία • Αιμολυτικό-οροραμικό σύνδρομο 	Ελλειψη προκαλούμενη από φάρμακα <ul style="list-style-type: none"> • Ανταγωνιστές βιταμίνης Κ • Ασπαραγινάση 	Αυξημένη πρόσδεση σε C4B BP <ul style="list-style-type: none"> • Φλεγμονή, αντίδραση οξείας φάσης • Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου • ΣΕΛ
Ελλειψη προκαλούμενη από φάρμακα <ul style="list-style-type: none"> • Ηπαρίνη • Ασπαραγινάση • Από του στόματος αντισυλληπτικά • Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης 	Άλλα αιτία <ul style="list-style-type: none"> • HIV, λοιμώξεις • Επίκτητος ανασταλτής (αυτοαντισωμα) 	Ελλειψη προκαλούμενη από φάρμακα <ul style="list-style-type: none"> • Ανταγωνιστές βιταμίνης Κ • Από του στόματος αντισυλληπτικά • Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης • Ασπαραγινάση
Εξωσωματική κυκλοφορία <ul style="list-style-type: none"> • Πλάσμαφαίρεση • Αιμοκάθαρση • Καρδιοπνευμονικό by-pass • Εξωσωματική οξυγόνωση με μεμβράνη 		Άλλα αιτία <ul style="list-style-type: none"> • HIV • Νεφρικό σύνδρομο
Συντομογραφίες: SIRS, systemic inflammatory response syndrome; ΔΕΠ, Διάχυτη Ενδογενής Πήξη; C4B BP, C4B-binding protein; HIV, Human Immunodeficiency Virus		

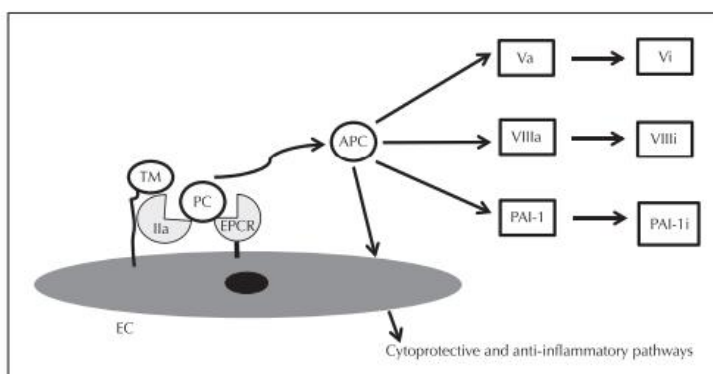
Πίνακας 5: Παράγοντες που προκαλούν επίκτητη ανεπάρκεια των πρωτεϊνών C και S και της AT¹⁰

2.4. Ανεπάρκεια πρωτεΐνης C

Η πρωτεΐνη C (PC) είναι γλυκοπρωτεΐνη με MB περίπου 62 kDa που συντίθεται στο ήπαρ. Αποτελεί ένα φυσικό αντιπηκτικό που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη συνδεδεμένη με τη θρομβομοντουλίνη, και τον ενδοθηλιακό υποδοχέα της PC (endothelial protein C receptor-EPCR) παρουσία της πρωτεΐνης S, ιόντων ασβεστίου

και φωσφολιπιδίων και ως ενεργοποιημένη πλέον μορφή (APC) αδρανοποιεί τους παράγοντες FVa και FVIIIa.(Εικόνα 2).¹⁸

Figure 1. Biologic roles of protein C (PC). Protein C is activated to activated PC (APC), which inactivates factors Va and VIIIa and plasminogen-activator inhibitor-1 (PAI-1). Activated PC also activates anti-inflammatory pathways inside of the endothelial cells (ECs). Abbreviations: EPCR, endothelial protein C receptor; TM, thrombomodulin.



Εικόνα 2. Οι βιολογικοί ρόλοι της πρωτεΐνης C¹⁸

Η ανεπάρκεια της PC μπορεί να είναι επίκτητη (Πίνακας 5) ή κληρονομική. Έχουν περιγραφεί πάνω από 190 μεταλλάξεις στο γονίδιο PROC της πρωτεΐνης C που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 2 (2q13-14).

Όπως και στην ανεπάρκεια της AT, έτσι κι εδώ έχουμε 2 τύπους ανεπάρκειας:

Ο τύπος I, που είναι και ο συχνότερος, χαρακτηρίζεται από μειωμένη αντιγονικότητα και δραστηριότητα της PC (ποσοτική). Σε ετεροζυγωτία η αντιγονικότητα και δραστηριότητα της PC μειώνεται κατά 50% ενώ σε ομοζυγωτία αυτά δεν ξεπερνούν το 25%. Στον τύπο II οι μεταλλάξεις οδηγούν σε μη καλά λειτουργική PC, με μειωμένη άρα δραστηριότητα (ποιοτική).¹¹

Μια πιθανή σοβαρή επιπλοκή της ανεπάρκειας PC είναι η επαγόμενη από τη βαρφαρίνη νέκρωση δέρματος που μπορεί να παρατηρηθεί σε κάποιους ενήλικες. Αυτό συνήθως συμβαίνει την τρίτη ή τέταρτη μέρα από την έναρξη της βαρφαρίνης και τα συμπτώματα περιλαμβάνουν αρχικά πόνο, εκχυμώσεις και ερυθρότητα στην προσβεβλημένη περιοχή. Η βλάβη αυτή μπορεί να εξελιχθεί σε μια καλά περιγεγραμμένη και φλεγμαίνουσα περιοχή και τελικά σε δερματική νέκρωση.¹⁹

Άλλη σοβαρή κατάσταση που εμφανίζεται σε νεογνά με ομόζυγη ανεπάρκεια PC είναι η κεραυνοβόλος πορφύρα (purpura fulminans). Πρόκειται για οξεία θρομβωτική κατάσταση που εκδηλώνεται με πετέχειες και εκχυμώσεις με συνοδό φλεγμονή σε περιοχές που δέχονται πίεση όπως π.χ. οι γλουτοί.²⁰ Η ομόζυγη ανεπάρκεια PC μπορεί

να είναι θανατηφόρος αν δεν δοθεί θεραπεία. Άλλες σοβαρές εκδηλώσεις σε νεογνά όπως θρόμβωση νεφρικής φλέβας, θρόμβωση φλέβας υαλώδους σώματος που οδηγεί σε τύφλωση και υδροκεφαλία έχουν περιγραφεί.²¹

Υπάρχουν δύο κύριες εργαστηριακές μέθοδοι για την ανεπάρκεια PC: δοκιμασίες μέτρησης αντιγόνου και δραστηριότητας (πηξιολογικές και χρωματομετρικές). Και οι δύο πραγματοποιούνται σε δείγματα πλάσματος με κιτρικό νάτριο. Γενικά, οι τιμές αναφοράς κυμαίνονται μεταξύ 70-140% για τους ενήλικες.

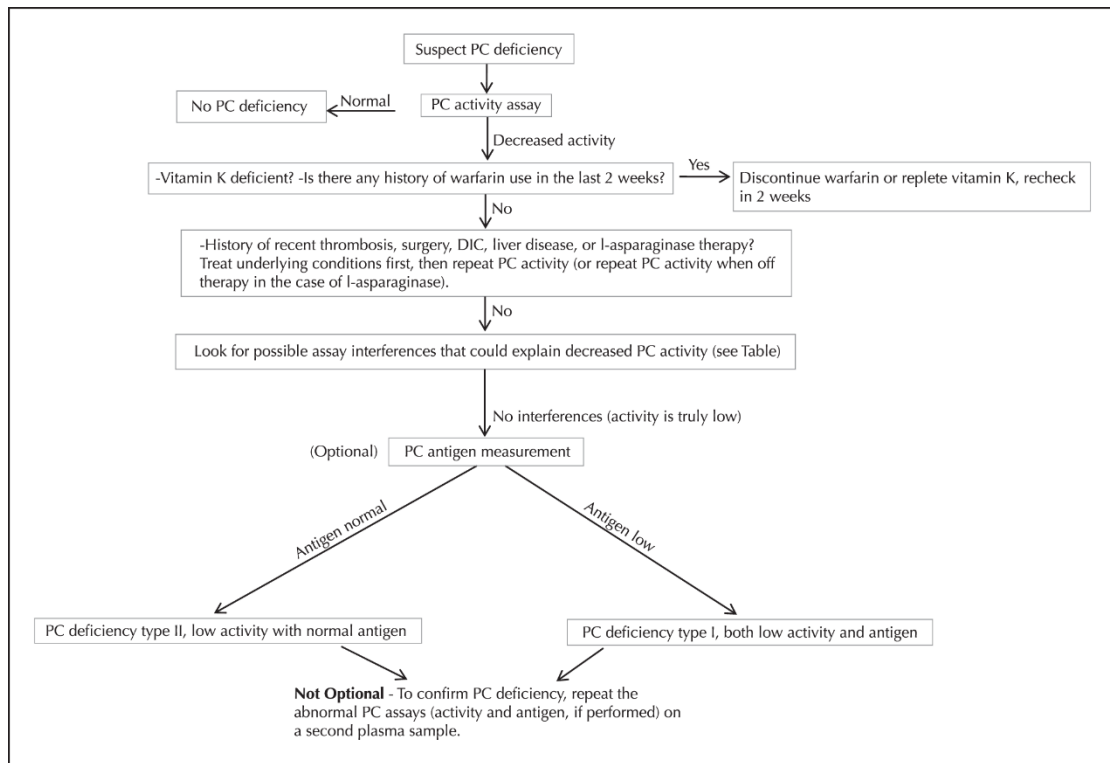
Η προτιμώμενη μέθοδος screening είναι η μέτρηση της δραστηριότητας της PC. Οι νέες, δεύτερης γενιάς, πηξιολογικές μέθοδοι χρησιμοποιούν αντιδραστήριο από δηλητήριο φιδιού ως ενεργοποιητή της PC in vitro για το πρώτο στάδιο. Η APC στο δεύτερο στάδιο αδρανοποιεί τους παράγοντες Va και VIIIa, γεγονός που οδηγεί σε παράταση των χρόνων πήξης (χρόνος προθρομβίνης, χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης, χρόνος δηλητηρίου οχιάς Russell). Η προαναφερθείσα μέθοδος απαιτεί αραίωση του πλάσματος του ασθενή με πλάσμα ελλίπες σε PC έτσι ώστε να εξουδετερωθεί πιθανή επίδραση από συνυπάρχουσες καταστάσεις όπως πχ. η έλλειψη της πρωτεΐνης S (PS).²²

Στις χρωματομετρικές μεθόδους, εκτιμάται η ικανότητα της APC να σχάσει ένα συνθετικό υπόστρωμα και να ελευθερώσει ένα χρωμογόνο. Τα συγκεκριμένα υποστρώματα αντιδρούν μόνο με το δραστικό μέρος της APC οπότε μπορούν να αναδείξουν βλάβες μόνο σε αυτή την περιοχή. Η αλλαγή στην οπτική πυκνότητα μετράται και υπολογίζεται με κλασική καμπύλη.²³

Οι δοκιμασίες PC αντιγόνου μετρούν μόνο την ποσότητα και όχι τη λειτουργικότητα οπότε δεν μπορούν να ανιχνεύσουν ανεπάρκειες τύπου II.

Ένας αλγόριθμος για τον έλεγχο για πιθανή ανεπάρκεια PC φαίνεται στην εικόνα 3 ενώ πιθανές παρεμβολές στις μετρήσεις ανάλογα με τη μέθοδο περιγράφονται στον πίνακα 6.

Υπάρχουν συστάσεις για διακοπή της βαρφαρίνης για τουλάχιστον 2 εβδομάδες και των νεότερων από του στόματος αντιπηκτικών για τουλάχιστον 2 ημέρες προ της διενέργειας εξέτασης για PC ανεπάρκεια.²⁴



Εικόνα 3: Αλγόριθμος για εργαστηριακή διερεύνηση ανεπάρκειας PC με χρήση κλινικών πληροφοριών¹⁸

Συντ. DIC disseminated intravascular coagulation

Πίνακας 6: Πιθανές παρεμβολές σε μεθόδους μέτρησης της PC			
Ουσία/Κατάσταση που παρεμβάλλεται	Αντιγόνο PC	Δραστηκότητα PC (πηξιολογική)	Δραστηκότητα PC (χρωματομετρική)
Μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη	-	Ψευδής αύξηση	-
Μικρού Μοριακού βάρους ηπαρίνη	-	-	-
Βαρφαρίνη ή ανεπάρκεια Βιt.Κ	- ή ψευδής μείωση	Ψευδής μείωση	Ψευδής μείωση
Άμεσοι αναστολείς θρομβίνης	-	Ψευδής αύξηση	-
Άμεσοι αναστολείς Χα	-	Ψευδής αύξηση	-
Αυξημένη δραστηκότητα FVIII	-	Ψευδής μείωση (με μέθοδο βασισόμενη σε APTT)	-
Αντιπηκτικό λύκου FV Leiden	-	Ψευδής αύξηση	-
		Ψευδής μείωση(πιο έντονη με μέθοδο βασισόμενη σε APTT)	-

Πίνακας 6:Πιθανές παρεμβολές σε μεθόδους μέτρησης της PC¹⁸

2.5.Ανεπάρκεια πρωτεΐνης S

Πρόκειται για μια γλυκοπρωτεΐνη με MB 75kDa που απαντάται σε δύο μορφές στην κυκλοφορία: την ελεύθερη (free PS) που αποτελεί το 40% της ολικής και το υπόλοιπο

60% αυτής που είναι συνδεδεμένο με τη C4b-δεσμευτική πρωτεΐνη (C4b-binding protein-C4b BP).¹¹ Η πρωτεΐνη S (PS) δεν είναι πρωτεάση σερίνης αλλά λειτουργεί ως συμπαράγοντας στο ρυθμιστικό σύστημα της APC. Κωδικοποιείται από το γονίδιο PROS1 στο χρωμόσωμα 3 και συντίθεται κυρίως στο ήπαρ και τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενώ αποθηκεύεται τόσο στα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και στα α κοκκία των αιμοπεταλίων.²⁵

Ο μηχανισμός δράσης της PS ως αντιθρομβωτικός παράγοντας διακρίνεται για διδακτικούς λόγους σε:

- Μηχανισμό σχετιζόμενο με την APC, όπου η ελεύθερη PS δρα ως συμπαράγοντας που προάγει τη σύνδεση της APC με επιφάνεια φωσφολιπιδίων, επιταχύνοντας την αδρανοποίηση των παραγόντων Va και VIIIa. Λιγότερο κατανοητός είναι ο ρόλος της PS στην προαγωγή της ινωδόλυσης μέσω αναστολής του αναστολέα ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (plasminogen activator inhibitor – PAI).²⁶
- Μηχανισμό ανεξάρτητο από την APC όπου η PS αναστέλλει απευθείας την ενεργοποίηση του παράγοντα X και της προθρομβίνης, λειτουργεί ως συμπαράγοντας στον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (Tissue Factor Pathway Inhibitor – TFPI) και προάγει την ινωδόλυση μειώνοντας τον ενεργοποιήσιμο από την θρομβίνη αναστολέα της ινωδόλυσης (Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor – TAFI)²⁶⁻²⁷
- Μη αιμοστατικό μηχανισμό καθώς η PS έχει υψηλή συγγένεια στη σύνδεση με τα φωσφολιπίδια κι έτσι η συνδεδεμένη με τη C4b BP PS μπορεί να παίζει ρόλο στη ρύθμιση του συμπληρώματος.²⁷⁻²⁸

Σε αναδρομική μελέτη των Lijgering και συν. όπου μελετήθηκαν 2479 άτομα που είχαν συγγενή με γνωστή θρομβοφιλία, η πιθανότητα εμφάνισης πρώτου επεισοδίου ΕΦΘ ετησίως σε άτομα με ανεπάρκεια PS ήταν 1.52 (95%CI 1.06-2.11) Στην ίδια μελέτη η αθροιστική πιθανότητα επανεμφάνισης ΕΦΘ στα 10 έτη έφτανε το 55% (προσαρμοσμένος σχετικός κίνδυνος 30.6 (95%CI 26.9-55.3)).²⁹

Στη μελέτη MEGA βρέθηκε ότι μόνο πολύ χαμηλά επίπεδα ελεύθερης PS (<0,1 εκατοστιαία θέση ή <33U/dL) αυξάνουν τον κίνδυνο θρόμβωσης (OR 5.44;95%CI,0.61-48.78). Αντίθετα, άτομα με εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα ολικής PS δεν φαίνεται να έχουν αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης.³⁰ Σε μετα-ανάλυση μελετών

παρατήρησης από τους Di Minno και συν. σε ασθενείς με ένα επεισόδιο ΕΦΘ και ανεπάρκεια PS ο ολικός κίνδυνος ΕΦΘ ήταν OR: 5.37 (95%CI:2.70-10.67; P < 0.00001)³¹

Η ανεπάρκεια PS δεν είναι συχνή. Σε μελέτη 3788 υγιών εθελοντών η επίπτωση της οικογενούς ανεπάρκειας PS ήταν 0.03-0.13%.³² Τα ποσοστά αυτά αυξάνονται όταν μελετηθούν ασθενείς με τουλάχιστον ένα επεισόδιο ΕΦΘ, οπότε φτάνουν το 2% (95% CI 0.5-6.1).³³ (Πίνακας 7).

Πίνακας 2. Επίπτωση και κλινική σημασία της κληρονομικής θρομβοφιλίας.

	% στον Γενικό Πληθυσμό (Βιβλιογραφία)	% σε Ασθενείς με VTE (Βιβλιογραφία)	Υπολογιζόμενος θρομβωτικός κίνδυνος
Ανεπάρκεια AT, PC, PS συνολικά	≤1 (21, 22, 23)	7-13 (21, 24, 29)	
Ανεπάρκεια AT	0,02-0.2 (20, 23, 34)	1-3	10-20X
Ανεπάρκεια PC	0,2-0,4 (20)	3-5	10X
Ανεπάρκεια PS	0,3-0,13 (41)	1-5	10X
Παράγοντας V Leiden	Καυκάσιοι: 4-7 (25, 26) Μη-Καυκάσιοι: 0-1	10-50 (27, 28)	5X
Μετάλλαξη προθρομβίνης G20210A	Καυκάσιοι: 2-3 (29, 30) Μη-Καυκάσιοι: 0-1	6-18 (31, 32)	3X
Αυξημένα επίπεδα FVIII	11 (14)	25 (14)	5X
Ήπια υπερομοκυστεϊναιμία	5 (33)	10 (33)	3X
Δυσινωδογοναιμία	<1 (20)	<1	

Πίνακας 7: Επίπτωση και κλινική σημασία της κληρονομικής θρομβοφιλίας¹¹

Υπάρχουν 3 διαφορετικοί τύποι ανεπάρκειας PS όπως απεικονίζονται στην εικόνα 4, μαζί με ένα αλγόριθμο για την εργαστηριακή διερεύνηση αυτής.

Η διάγνωση της ανεπάρκειας PS είναι διαβόητα δύσκολη και πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τις μετρήσεις (Πίνακας 5)

- Στον τύπο I (ποσοτική διαταραχή) είναι χαμηλή τόσο η ελεύθερη και η συνδεδεμένη PS όσο και η δραστηριότητα αυτής.
- Στον τύπο II παρατηρείται μόνο μείωση της δραστηριότητας χωρίς τα επίπεδα της PS να είναι χαμηλά ενώ
- Στον τύπο III παρατηρούμε χαμηλή δραστηριότητα, χαμηλή ελεύθερη και φυσιολογική ολική PS.

Plasma Phenotype	PS Antigen		PS Activity
	Total	Free	APC cofactor
Type I	↓	↓	↓
Type II	N	N	↓
Type III	N	↓	↓

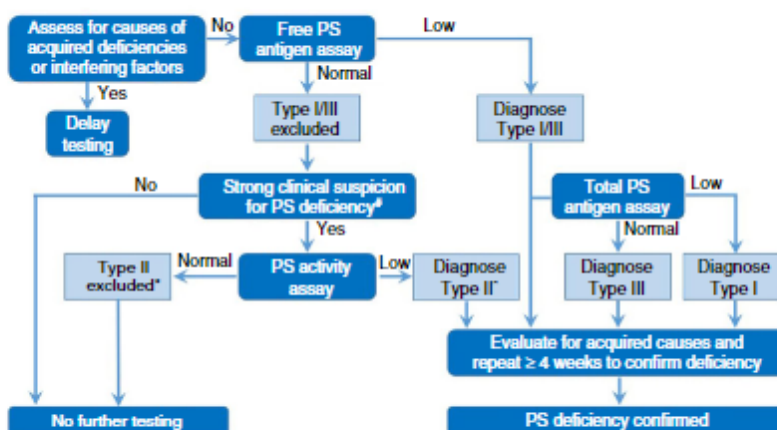


FIGURE 1 Classification and clinical testing algorithms for protein S deficiencies. A, Current classifications of protein S deficiencies. N, normal; N/A, not applicable. +According to R. Bertina, ISTH-SSC meeting, 1991. B, Current clinical testing algorithm for protein S deficiencies. PS, protein S. *Given the low prevalence in most populations, this should be reserved for patients with a strong family history and/or specific populations with high prevalence for type II mutations. *Interfering factors that may cause false elevations should be excluded. *If low PS activity, but normal FPS antigen is encountered, check for interfering factors that might cause false reductions.

Εικόνα 4: Κατηγορίες ανεπάρκειας και κλινικοί αλγόριθμοι για εργαστηριακή διερεύνηση της ανεπάρκειας PS³⁴

Μέτρηση του αντιγόνου της ελεύθερης PS (FPS):

Υπό φυσιολογικές συνθήκες η μέτρηση αυτή μπορεί να υποκαταστήσει τη δραστηριότητα της PS και μπορεί να γίνει με ανοσολογικές μεθόδους. Χρησιμοποιούν είτε 2 μονοκλωνικά αντισώματα ειδικά για τη FPS είτε σωματίδια latex καλυμμένα με C4bBP για να δεσμεύσουν την FPS κι έπειτα σωματίδια καλυμμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα τα οποία σχηματίζουν συσσωρεύσεις παρουσία της δεσμευμένης FPS.

Μέτρηση της ολικής PS:

Πρόκειται για ανοσολογική μέθοδο τύπου ELISA αλλά σε κάποιες από τις κυκλοφορούντες μεθόδους απαιτείται πρώτα η αποδέσμευση της PS από τη

C4bBP. Λόγω της δυσκολίας, του κόστους αλλά και της μειωμένης τελικά κλινικής χρησιμότητας μπορεί να έχει περιορισμένο ρόλο στο διαγνωστικό αλγόριθμο.

Μέτρηση της δραστηριότητας της PS:

Αυτές οι μέθοδοι εκτιμούν την ικανότητα της PS να αδρανοποιεί τον παράγοντα FVIIIa ή/και τον FVa παρουσία APC με τη χρήση των χρόνων PT, APTT ή χρόνων πήξης που βασίζονται σε δηλητήριο φιδιού (RVV-based). Αυτού του τύπου οι μέθοδοι δεν συστήνονται για έλεγχο ρουτίνας αλλά μπορούν να δώσουν χρήσιμες πληροφορίες για ανεπάρκεια τύπου II. Ωστόσο, πρόσφατα μια μετάλλαξη τύπου II, η PS Tokushima αναφέρθηκε ότι δεν ανιχνεύεται με αυτή τη μέθοδο, περιορίζοντας και άλλο την κλινική χρησιμότητά της.³⁵

2.6 Αυξημένα επίπεδα παράγοντα VIII της πήξης (FVIII)

Το 1995 σε μελέτη των Koster και συν., 301 ασθενείς κάτω των 70 ετών με ένα επιβεβαιωμένο επεισόδιο ΕΦΘ, απουσία κακοήθειας συγκρίθηκαν με 301 υγιείς εθελοντές. Στην μονοπαραγοντική ανάλυση, τα αυξημένα επίπεδα FVIII και von Willebrand (vWF) καθώς και η ομάδα αίματος διαφορετική από Ο βρέθηκαν να φέρουν αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση που ακολούθησε, μόνο ο παράγον FVIII παρέμεινε ως προδιαθεσικός παράγοντας και φάνηκε ότι η επίδραση μεταξύ των επιπέδων του και του κινδύνου θρόμβωσης ήταν δοσοεξαρτώμενη. Όσοι είχαν επίπεδα πάνω από 1500IU/L εμφάνιζαν σχετικό κίνδυνο 4.8 (95% CI 2.3-10). Στους ασθενείς η εμφάνιση τέτοιων επιπέδων FVIII παρατηρήθηκε σε ποσοστό 25% ενώ υψηλή ήταν και η συχνότητα σε υγιείς εθελοντές όπου έφτανε το 11%.³⁶⁻³⁷

Σε άλλη μελέτη, όταν εξετάστηκαν ασθενείς με υποτροπιάζουσες ΕΦΘ, κάθε 10 IU/dL αύξηση των επιπέδων FVIII, αύξανε τον κίνδυνο για ένα ή υποτροπιάζον επεισόδιο ΕΦΘ κατά 10% (95% CI: 0.9-21%) και 24% (95% CI:11-38%) αντίστοιχα.³⁸

Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι τα επίπεδα του FVIII και του vWF αυξάνονται σημαντικά σε οξεία φάση. Επομένως, δεν μπορεί να διευκρινιστεί αν η αύξηση των επιπέδων FVIII είναι μια συγγενής ή επίκτητη κατάσταση. Άγνωστος ακόμη είναι και ο μηχανισμός με τον οποίο ασκεί τη θρομβογόνο δράση. Σε άτομα αφρικανο-

αμερικανικής καταγωγής, τα υψηλά επίπεδα του FVIII φαίνονται να αποτελούν ισχυρότερο παράγοντα θρόμβωσης.

Τα αυξημένα επίπεδα του παράγοντα FVIII θα μπορούσαν να μετρούνται στην κλινική πράξη όταν θα εξετάζεται ο ασθενής για θρομβοφιλία αλλά λόγω των ελλειπών δεδομένων δεν υπάρχει σύσταση για μέτρηση στις περισσότερες κατευθυντήριες οδηγίες. Σε κάθε περίπτωση, όταν αποφασίζεται η μέτρηση, αυτή καλό είναι να γίνεται τουλάχιστον 3-6 μήνες μετά το επεισόδιο ΕΦΘ και ιδανικά μετά την ολοκλήρωση της αντιπηκτικής θεραπείας.

Όσον αφορά στην καλύτερη μέθοδο, υπάρχουν 3 για τη μέτρηση των επιπέδων: μια λειτουργική πηξιολογική (FVIII:C), μια χρωματομετρική (FVIII:Ch) και μια κλασική ανοσοολογική τύπου ELISA (FVIII:Ag). Οι περισσότερες μελέτες ως σήμερα χρησιμοποίησαν τη μέθοδο FVIII:C οπότε αυτή θα ήταν μια καλή επιλογή.³⁹

2.7. Ομοκυστεϊναιμία και μετάλλαξη σε γονίδιο της 5,10-μεθυλενοτετραϋδροφυλλικής ρεδοκτάσης (MTHFR)

Τη δεκαετία του 1990 η μελέτη για νέους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου επικεντρώθηκε στην ομοκυστεϊνη. Ήταν ήδη γνωστό ότι τα παιδιά που γεννήθηκαν με την κληρονομική μεταβολική διαταραχή ομοκυστινουρία, διαταραχή που οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο της βήτα- συνθετάσης της κυσταθειονίνης (cystathionine beta synthetase) και αυξάνει σημαντικά τα επίπεδα ομοκυστεϊνης, έπασχαν από σοβαρή και πρόωμη αγγειακή νόσο και είχαν αυξημένο κίνδυνο ΕΦΘ.⁴⁰

Στην διερεύνηση αυτή προστέθηκε η μελέτη για μεταλλάξεις στο ένζυμο MTHFR το οποίο συμμετέχει στην μετατροπή του 5,10-μεθυλτετραϋδροφολικού σε 5-μεθυλτετραϋδροφολικό που είναι η κύρια μορφή φυλλικού στο περιφερικό αίμα. Το 5-μεθυλτετραϋδροφολικό βοηθά στην επαναμεθυλίωση της ομοκυστεϊνης σε μεθειονίνη και τη μετέπειτα μετατροπή της σε S- αδενοσινομεθειονίνη. Η τελευταία συμμετέχει ως δωρητής μεθυλικής ομάδας σε διάφορες αντιδράσεις.⁴¹

Δύο είναι οι σημαντικότεροι πολυμορφισμοί, ο 677C>T και ο 1298A>C. Στο γενικό πληθυσμό περίπου 60-70% θα έχουν τουλάχιστον έναν από τους δύο πολυμορφισμούς

και 2.25% θα είναι διπλοί ετεροζυγώτες. Συνολικά, 10% του πληθυσμού θα είναι ομοζυγώτες ή διπλά ετεροζυγώτες . Και οι δύο πολυμορφισμοί προκαλούν ήπια αύξηση των επιπέδων ομοκυστεΐνης στον ορό.⁴⁰

Επίκτητη αύξηση της ομοκυστεΐνης παρατηρείται σε έλλειψη φυλλικού οξέος, Βιταμίνης B12 και πυριδοξίνης, σε νεφρική ανεπάρκεια και σε λήψη φαρμάκων όπως L-dopa και μεθοτρεξάτη και αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν όταν κανείς προχωρήσει σε μέτρησή της.⁴²

Η ομοκυστεΐναιμία έχει ενοχοποιηθεί για αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης.⁴³⁻⁴⁵ Ωστόσο, υπάρχουν άλλες μελέτες που δεν συσχετίζουν τον πολυμορφισμό 677C>T με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακού κινδύνου και ΕΦΘ.⁴⁶⁻⁴⁷ Στις κατευθυντήριες οδηγίες της Βρετανικής Αιματολογικής Εταιρείας αλλά και σε αυτές του Αμερικανικού Κολλεγίου Ιατρικής Γενετικής και της Επιτροπής του Αμερικανικού Κολλεγίου Μαιευτήρων και Γυναικολόγων, δεν συνιστάται έλεγχος μεταλλάξεων MTHFR σε έλεγχο για θρομβοφιλία.^{2,41,48}

2.8 Πολυμορφισμοί του ανασταλτή ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1).

Ο PAI-1 ανήκει στην οικογένεια των πρωτεασών σερίνης με κύριο ρόλο την αναστολή του ιστικού ενεργοποιητή πλασμινογόνου (tPA) και και τον ενεργοποιητή ουροκινάσης του πλασμινογόνου (uPA), καταστέλλοντας έτσι την παραγωγή ενεργής πλασμίνης και της έναρξης της ινωδόλυσης.⁴⁹ Η υπερέκφραση, επομένως, του PAI-1 προκαλεί αναστολή της ινωδόλυσης και μπορεί να προάγει την ΕΦΘ.

Στο γονίδιο του PAI-1 έχουν περιγραφεί πολυμορφισμοί , με συχνότερη την 4G/5G όπου υπάρχει μια εισαγωγή ή έλλειψη μιας γουανοσίνης. Το αλληλίο 4G είναι ελαφρά πιο ενεργό από το 5G με αποτέλεσμα άτομα με 4G/4G να έχουν υψηλότερα επίπεδα PAI-1 σε σχέση με αυτά με 4G/5G και 5G/5G οπότε θεωρητικά είναι και πιο επιρρεπή σε ΕΦΘ.⁵⁰⁻⁵¹

Σε μετα-ανάλυση των Wang και συν το 2014 φάνηκε μια συσχέτιση του πολυμορφισμού 4G/5G με αυξημένο κίνδυνο ΕΦΘ κυρίως σε άτομα με συνυπάρχοντα γενετικά θρομβοφιλικά αίτια και όχι σε άτομα με επίκτητα αίτια.⁵² Αυξημένο κίνδυνο

για θρόμβωση παρουσία του αλληλίου 4G έδειξε και δεύτερη μελέτη πάλι σε άτομα με συνυπάρχοντες γενετικούς παράγοντες κινδύνου.⁵³

Έτερη μετα-ανάλυση των Zhang και συν έδειξε συσχέτιση του πολυμορφισμού 4G/5G και 4G/4G με αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης σε σχέση με 5G/5G αλλά σε άτομα Ασιατικής καταγωγής και όχι σε Καυκάσιους.⁵⁴

Λόγω έλλειψης στιβαρών στοιχείων, επί του παρόντος δεν συστήνεται η ανίχνευση μεταλλάξεων για τον PAI-1 όταν οι ασθενείς ελέγχονται για θρομβοφιλία.

Κεφάλαιο 3 Επίκτητη θρομβοφιλία

Στην επίκτητη θρομβοφιλία περιλαμβάνονται καταστάσεις όπως η κύηση και η λοχεία, οι χειρουργικές επεμβάσεις, τα αιματολογικά νοσήματα και ο καρκίνος εν γένει, η παχυσαρκία, το κάπνισμα, φάρμακα και ιδιαίτερα το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.

3.1 Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (Antiphospholipid syndrome – APS)

Πρόκειται για την πιο σημαντική επίκτητη αιτία θρομβοφιλίας που χαρακτηρίζεται από καθ'έξιν αποβολές και θρομβώσεις τόσο αρτηριακές όσο και φλεβικές.

Ιστορικά, η Βασίλισσα Άννα Στιούαρτ, Βασίλισσα της Αγγλίας κατά το 18^ο αιώνα, είχε 17 καταγεγραμμένες εγκυμοσύνες χωρίς, ωστόσο, να καταφέρει τελικά να αφήσει διάδοχο στο θρόνο ενώ ταυτόχρονα έπασχε από την ηλικία των 30 από πολυαρθρίτιδα και εξάνθημα στο πρόσωπο, στοιχεία που βάζουν την πιθανότητα να έπασχε από συστηματικό ερυθματώδη λύκο (ΣΕΛ) με συνοδό αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.⁵⁵

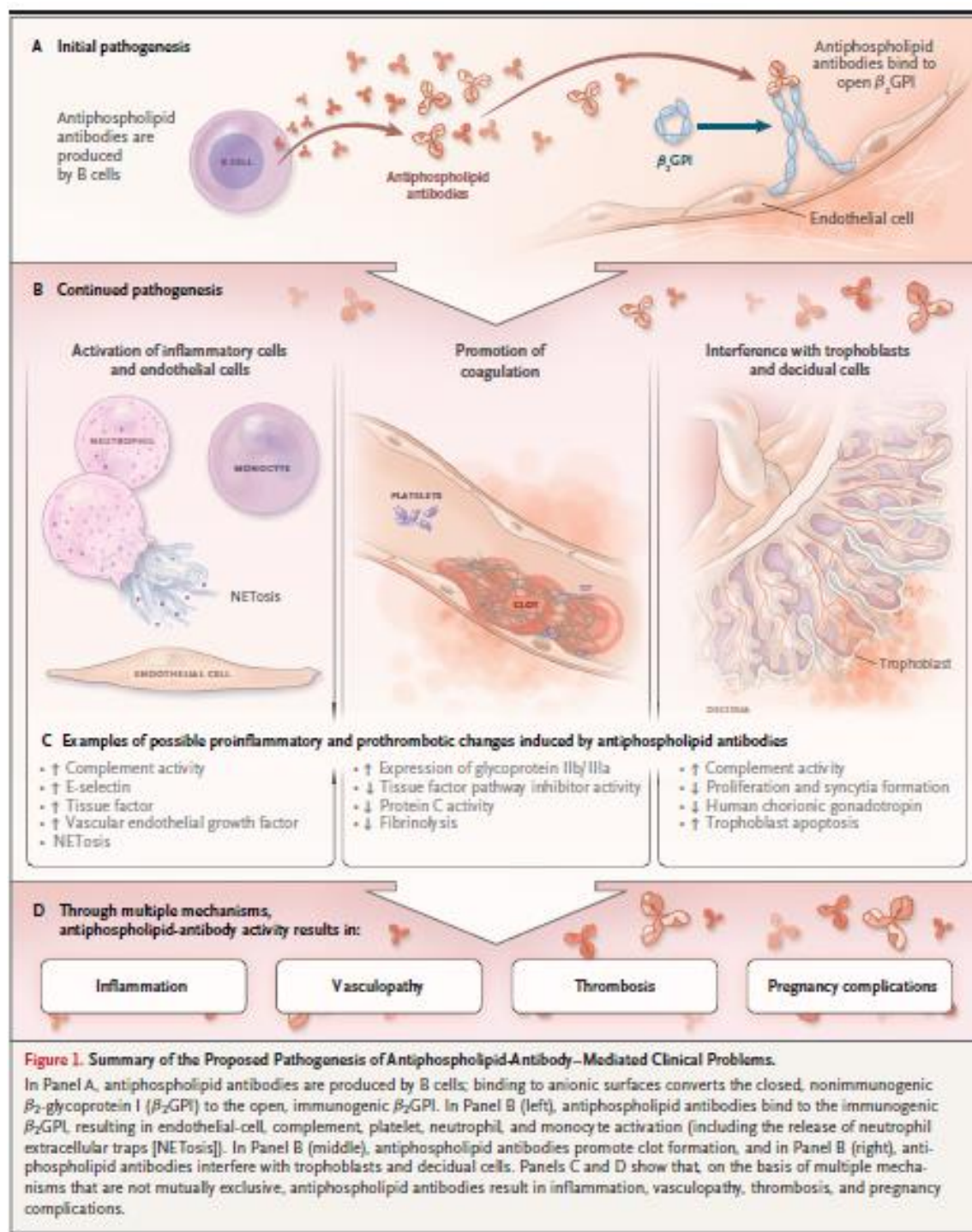
Αναγνώριση των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL) έγινε από τις αρχές ήδη του 20^{ου} αιώνα με την εισαγωγή της ορολογικής εξέτασης για τη διάγνωση της σύφιλης. Παρατηρήθηκε έκτοτε ότι η εξέταση ήταν ενίοτε ψευδώς θετική σε ασθενείς με ΣΕΛ. Αργότερα, διάφορες μέθοδοι εφαρμόστηκαν για την ανίχνευση του αντιπηκτικού του λύκου (lupus anticoagulant – LA) και έπειτα ανοσολογικές μέθοδοι για αντικαρδιολιπινικά και αντισώματα έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης-I.⁵⁶

Το 1999 δημοσιεύθηκαν τα κριτήρια Sapporo για τη διάγνωση του APS τα οποία και αναθεωρήθηκαν το 2006 όπως απεικονίζονται στον Πίνακα 8.⁵⁷

Πίνακας 8: Αναθεωρημένα κριτήρια για τη διάγνωση του APS	
Το ΑΦΞ αναγνωρίζεται όταν συνυπάρχει τουλάχιστον ένα κλινικό κριτήριο και ένα από τα εργαστηριακά κριτήρια που ακολουθούν*.	
Κλινικά κριτήρια	
1)	<p>Αγγειακή θρόμβωση[†] Ένα ή περισσότερα επεισόδια[‡] αρτηριακής, φλεβικής ή μικροαγγειακής θρόμβωσης[‡], σε οποιονδήποτε ιστό ή όργανο. Η θρόμβωση θα πρέπει να επιβεβαιώνεται με αντικειμενικά ευρήματα (π.χ. εμπειριστατωμένα ευρήματα με τη χρήση απεικονιστικών μεθόδων ή παθολογοανατομίας). Για την παθολογοανατομική επιβεβαίωση η θρόμβωση δεν θα πρέπει να συνοδεύεται από σημαντική φλεγμονή του τοιχώματος των αγγείων.</p>
2)	<p>Επιπλοκές κύησης</p> <p>a) Μία ή περισσότερες αυτόματες αποβολές ενός μορφολογικά φυσιολογικού εμβρύου στην ή μετά τη 10^η εβδομάδα κύησης. Η φυσιολογική μορφολογία να επιβεβαιώνεται ε πέρηγχο ή ατελειείας εξέταση του εμβρύου ή</p> <p>b) Ένας ή περισσότεροι πρόωποι τοκετοί ενός φυσιολογικού μορφολογικά εμβρύου πριν από την 34^η εβδομάδα κύησης εξαιτίας:</p> <p>i) ελάσμητίας ή σοβαρής προεκλαμψίας όπως ορίζονται με τους στήθεις ορισμούς ή</p> <p>ii) σημείων ανεπάρκειας του πλακούντα[§] ή</p> <p>c) Τουλάχιστον 3 συνεχόμενες αυτόματες αποβολές πριν από τη 10^η εβδομάδα κύησης αφού αποκλεισθούν ανατομικές και ορμονικές ανωμαλίες της μητέρας και χρωμοσωμικές ανωμαλίες του πατέρα και της μητέρας.</p> <p>Σε μελέτες ασθενών που έχουν περισσότερους από έναν τύπο επιπλοκών κύησης, οι ερευνητές συνιστάται να κατηγοριοποιούν τους ασθενείς ανάλογα με έναν από τους 3 τύπους που περιγράφηκαν παραπάνω.</p>
Εργαστηριακά κριτήρια**	
1)	Αντιπηκτικό του λύκου (LA) να ανιχνεύεται στο πλάσμα, σε 2 ή περισσότερα στιγμιότυπα που απέχουν τουλάχιστον 12 εβδομάδες. Η ανίχνευση να γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες της Διεθνούς Επιτροπής για την Θρόμβωση και την Αιμόσταση (Επιστημονική Υποεπιτροπή για LA/αποσιώματα που εξαρτώνται από φωσφολιπίδια)
2)	Αντικαρδιολιπινικά (aCL) αντισώματα, ισότυπου IgG και/ή IgM στον ορό ή το πλάσμα, σε τίτλο μέτρια προς υψηλό (>40GPL ή MPL, ή >99 ^η εκατοστιαία θέση), σε 2 τουλάχιστον στιγμιότυπα, με μεσοδιάστημα 12 εβδομάδων, μετρούμενα με μέθοδο ELISA.
3)	Αντισώματα έναντι β2-γλυκοπρωτεΐνης-1, ισότυπου IgG και/ή IgM στον ορό ή το πλάσμα (σε τίτλο >99 ^η εκατοστιαία θέση), σε 2 τουλάχιστον στιγμιότυπα, με μεσοδιάστημα 12 εβδομάδων, μετρούμενα με μέθοδο ELISA.
<p>*Η διάγνωση του ΑΦΞ πρέπει να απαιτείται αν η θετικότητα των αντιπροθρομβολινικών αντισωμάτων και το κλινικό κριτήριο απέχουν μεταξύ τους λιγότερο από 12 εβδομάδες ή περισσότερο από 5 έτη</p> <p>[†] Συνυπάρχοντας κληρονομικοί ή επίκτητοι παράγοντες για θρόμβωση δεν πρέπει να αποκλείουν ασθενείς από μελέτες για ΑΦΞ. Ωστόσο, πρέπει να αναγνωρίζονται δύο υποκατηγορίες ασθενών με ΑΦΞ ανάλογα με: a) την παρουσία και b) την απουσία καταρροϊκών παραγόντων κινδύνου για θρόμβωση.</p> <p>[‡] Ένα θρομβωτικό επεισόδιο στο παρελθόν μπορεί να θεωρηθεί κλινικό κριτήριο με την προϋπόθεση ότι η θρόμβωση είναι επιβεβαιωμένη με τα κατάλληλα διαγνωστικά μέσα ενώ θα πρέπει να αποκλείονται άλλες πιθανές διεργασίες ή αιτίες θρόμβωσης</p> <p>[§] Η επίκληση φλεβική θρόμβωση δεν αποτελεί κλινικό κριτήριο</p> <p>[¶] Τυπικές αποδεκτά σημεία ανεπάρκειας πλακούντα είναι: α) ανώμαλη δοκιμασία παρακολούθησης του εμβρύου π.χ. μη αντίδραση σε ποια stress test που μπορεί να υποδεικνύει εμβρυϊκή υποξαιμία, β) ανώμαλη ανάλυση της κομπομορφής Doppler που μπορεί να υποδεικνύει εμβρυϊκή υποξαιμία π.χ. απουσία τελοδιαστολικής ροής στην ομφάλια αρτηρία, γ) κύμα γίνια, δηλαδή δείκτης αμνιακού υγρού ≤ 5 εκ. ή δ) βίρος γέννησης < από τη 10^η εκατοστιαία θέση για την ηλικία κύησης</p> <p>** Οι ερευνητές ενθαρρύνονται να κατηγοριοποιούν τους ασθενείς σε μελέτες σύμφωνα με τις κάτωθι κατηγορίες: I, περισσότερα από 1 εργαστηριακά κριτήρια; IIa, μόνο LA, IIb, aCL, μόνο; IIc, μόνο αντίσωμα anti-β2GPI</p>	

Πίνακας 8:Αναθεωρημένα κριτήρια για τη διάγνωση του APS⁵⁷

Η παθοφυσιολογία του συνδρόμου δεν είναι επαρκώς διευκρινισμένη, ωστόσο υπάρχουν προτεινόμενα μονοπάτια για τις κλινικές εκδηλώσεις του συνδρόμου (Εικόνα 5)⁵⁸



Εικόνα 5:Περιληπτική απεικόνιση της προτεινόμενης παθογένεσης της κλινικής έκφρασης του APS μέσω των αντιφωσfolιπιδικών αντισωμάτων⁵⁸

Στο APS φαίνεται ότι ο κύριος στόχος των aPL είναι η β2-γλυκοπρωτεΐνη I (β2GPI), μια πρωτεΐνη του πλάσματος που προσκολλάται σε επιφάνειες φωσφολιπιδίων, ιδιαίτερα όταν διμερίζεται μετά από σύνδεση με ένα αντι- β2GPI αντίσωμα. Η σύνδεση αυτή φαίνεται ότι ευνοεί την έκφραση προθρομβωτικών μορίων για την κυτταρική προσκόλληση όπως είναι η ε-σελεκτίνη και ο ιστικός παράγοντας ενώ καταστέλλει την δραστηριότητα του αναστολέα του μονοπατιού του ιστικού παράγοντα.

Εκτός από τα κριτήρια και τα κλινικά συμβάματα που περιγράφονται στον πίνακα 8, υπάρχει και μια πληθώρα άλλων κλινικών εκδηλώσεων και εργαστηριακών ευρημάτων που παρατηρούνται συχνά στο ΑΦΣ αλλά δεν έχουν ενσωματωθεί στα κριτήρια για τη διάγνωση του συνδρόμου. Σε αυτά περιλαμβάνονται η θρομβοπενία (Πίνακας 9) , η δικτυωτή πελίδνωση (Πίνακας 10), η βαλβιδοπάθεια (Πίνακας 11), νεφροπάθεια (Πίνακας 12), νευρολογικές εκδηλώσεις, τα IgA aCL, τα IgA anti-β2-GPI, τα αντισώματα έναντι φωσφατιδυλοσερίνης (aPS), τα αντισώματα έναντι φωσφατιδυλοαιθανολαμίνης (aPE), έναντι προθρομβίνης μόνο (aPT-A) και τα αντισώματα έναντι του συμπλέγματος φωσφατιδυλοσερίνης-προθρομβίνης (aPS-PT).⁵⁷

Πίνακας 9: Ορισμός της θρομβοπενίας που σχετίζεται με τα ΑΦΑ (αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα)
Ως θρομβοπενία που σχετίζεται με τα ΑΦΑ ορίζεται η συνύπαρξη ΑΦΑ (εργαστηριακά κριτήρια ΑΦΣ) μαζί με τα παρακάτω:
<ul style="list-style-type: none">• Θρομβοπενία (<100 x10⁹/L), επιβεβαιωμένη μετά από τουλάχιστον 12 εβδομάδες• Αποκλεισμός ασθενών με θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα, ΔΕΠ, ψευδο-θρομβοπενία και θρομβοπενία προκαλούμενη από ηπαρίνη• Η θρομβοπενία να χαρακτηρίζεται επιπρόσθετα ως μέτρια (<50 x10⁹/L) ή σοβαρή (<25 x10⁹/L)• Περαιτέρω ταξινόμηση των ασθενών ανάλογα με την παρουσία ή μη ΣΕΛ είναι επιθυμητή• Ασθενείς που πληρούν τα κλινικά κριτήρια για ΑΦΣ εξαιρούνται

Πίνακας 9: Ορισμός της θρομβοπενίας σχετιζόμενης με aPL⁵⁷

Πίνακας 10: Ορισμός της δικτυωτής πελίδνωσης που σχετίζεται με τα ΑΦΑ (αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα)

Ως δικτυωτή πελίδνωση που σχετίζεται με τα ΑΦΑ ορίζεται η συνύπαρξη ΑΦΑ (εργαστηριακά κριτήρια ΑΦΣ) και δικτυωτής πελίδνωσης:

- Δικτυωτή πελίδνωση (LR) είναι το εμμέμον, μη αντιστρέψιμο με θέρμανση, μπλε ή κόκκινο, δικτυωτό ή διάστικτο μοτίβο στο δέρμα, κυρίως σε κορμό και άκρα. Μπορεί να έχει τακτικούς ολόκληρους (regular LR) ή ακανόνιστους διεσπασμένους κύκλους (livedo racemosa). Το εύρος των διακλαδώσεων του μοτίβου μπορεί να είναι μεγάλο $\geq 10\text{mm}$ (large LR) ή μικρό $< 10\text{mm}$ (fine LR). Αναγνωρίζονται έτσι 4 μοτίβα: fine livedo racemosa, large livedo racemosa, fine regular LR και large regular LR.
- Παθολογοανατομικά ευρήματα είναι επιβεβαιωτικά αλλά όχι απαραίτητα για τη διάγνωση και κατηγοριοποίηση του LR και περιλαμβάνουν μερική ή ολική απόφραξη του αυλού μικρών και μεσαίου μεγέθους αρτηριών ή/και αρτηριολίων στα όρια δέρματος και υποδορίου, χωρίς φλεγμονώδεις διηθήσεις περιαγγειακά και με αρνητική εξέταση άμεσου ανοσοφθορισμού.
- Ασθενείς που πληρούν τα κλινικά κριτήρια για ΑΦΣ αποκλείονται

Πίνακας 10: Ορισμός της δικτυωτής πελίδνωσης⁵⁷

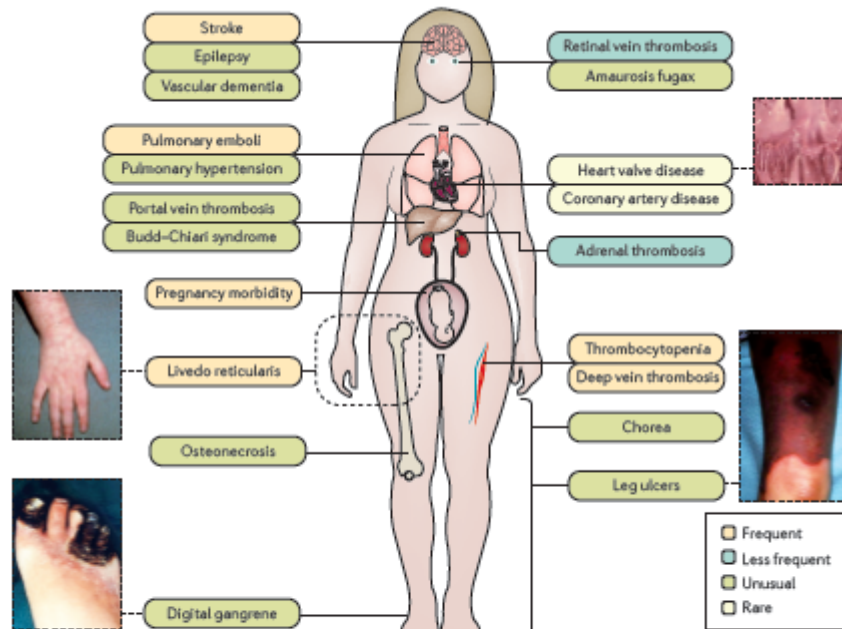


Figure 3 | Clinical manifestation of antiphospholipid syndrome. Antiphospholipid antibodies are associated with a variety of symptoms; in particular, deep vein thrombosis, pregnancy morbidity and stroke are frequent (occurring $>20\%$ of individuals with antiphospholipid antibodies). Other manifestations vary in frequency, ranging from less frequent (10–20% of individuals with antiphospholipid antibodies), unusual ($<10\%$) and rare ($<1\%$). For example, an unusual manifestation is thrombotic microangiopathy (not shown), which manifests in the skin, kidneys and/or heart. Livedo reticularis most commonly occurs on the upper arms and thighs. Images courtesy of Y. Shoenfeld.

Εικόνα 6: Κλινικές εκδηλώσεις του ΑΦΣ⁵⁹

Πίνακας 11: Ορισμός της βαλβιδοπάθειας που σχετίζεται με τα ΑΦΑ (αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα)

Η βαλβιδοπάθεια που σχετίζεται με τα ΑΦΑ περιλαμβάνει:

- Συνύπαρξη ΑΦΑ (Εργαστηριακά κριτήρια για ΑΦΣ) μαζί με υπερηχοκαρδιογραφικά ευρήματα αλλοιώσεων και/ή ανεπάρκεια* και/ή στένωση της μιτροειδούς και/ή της αορτικής βαλβίδας ή οποιοσδήποτε συνδυασμός των παραπάνω.
- Η εξέταση των βαλβίδων μπορεί να γίνει είτε με διαθωρακικό είτε με διοισοφάγειο υπέρηχο καρδιάς
- Διαγνωστικές αλλοιώσεις αποτελούν:
 - ο Πάχος βαλβίδας >3mm
 - ο Εντοπισμένη πάχυνση που αφορά το εγγύς ή μέσο τμήμα της γλωχίνας
 - ο Όζοι ακανόνιστοι στο κολπικό μέρος της μιτροειδούς βαλβίδας και/ή στο αγγειακό τμήμα της αορτικής
- Η παρουσία και η βαρύτητα της ανεπάρκειας και/ή της στένωσης πρέπει να καταγραφούν με υπερηχοκαρδιογραφία Doppler
- Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων να γίνεται από 2 έμπειρους υπερηχοκαρδιογραφιστές
- Τόσο η λειτουργικότητα όσο και η αντικειμενική εκτίμηση της κατάστασης της καρδιάς να καταγράφεται σύμφωνα με τα αναθεωρημένα NYHA κριτήρια για τη διάγνωση της Καρδιακής Νόσου
- Επιβεβαίωση της βαλβιδοπάθειας μπορεί να δοθεί με ιστοπαθολογικά ευρήματα ενδοκαρδίτιδας Libman-Sacks σε ασθενείς με συνοδό ΣΕΛ.
- Σε όλες τις περιπτώσεις, η παρουσία ή ατομικό αναμνηστικό ρευματικού πυρετού και λοιμώδους ενδοκαρδίτιδας θα πρέπει να αποκλείεται.
- Ασθενείς που πληρούν τα κλινικά κριτήρια για ΑΦΣ αποκλείονται
- Οι ερευνητές καλό είναι να αναφέρουν και αν ο ασθενής πληροί τα αναθεωρημένα Κριτήρια του Αμερικανικού Κολλεγίου Ρευματολογίας για ΣΕΛ

*Συστήνεται να θεωρείται η μέτρια - σοβαρή ανεπάρκεια μιτροειδούς ως κριτήριο για βαλβιδοπάθεια σχετιζόμενη με ΑΦΑ, καθώς η ήπια ανεπάρκεια απαντάται πολύ συχνά στο γενικό πληθυσμό.

Πίνακας 11 :Ορισμός βαλβιδοπάθειας σχετιζόμενης με aPL.⁵⁷

Πίνακας 12: Ορισμός της νεφροπάθειας που σχετίζεται με τα ΑΦΑ (αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα)

Η νεφροπάθεια που σχετίζεται με τα ΑΦΑ ορίζεται ως η συνύπαρξη ΑΦΑ (εργαστηριακά κριτήρια του ΑΦΣ) μαζί με ιστοπαθολογική επιβεβαίωση:

- Θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας που αφορά τόσο στα αρτηριόλια όσο και στα τριχοειδή του νεφρικού σωματίου και/ή τουλάχιστον 1 από τα παρακάτω:
 - Ινώδης έσω υπερπλασία που αφορά σε οργανομένους θρόμβους με ή χωρίς επανασηραγοποίηση
 - Ινώδεις ή ινωδοκυτταρικές αποφράξεις αρτηριών και αρτηριολίων
 - Εστιακή ατροφία φλοιού
 - Σωληναριακή θυρεοειδοποίηση (μεγάλες περιοχές από ατροφικά σωληνάρια που περιέχουν ηωσινοφιλικές συσσωρεύσεις)
- Αγγειίτιδα, θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα, αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο, κακοήθης υπέρταση και άλλες αιτίες για χρόνια νεφρική ισχαιμία πρέπει να αποκλείονται
- Ασθενείς που πληρούν τα κλινικά κριτήρια για ΑΦΣ αποκλείονται
- Σε περίπτωση συνύπαρξης ΣΕΛ, οι παραπάνω βλάβες θα πρέπει να διαφοροδιαγνώσκονται από εκείνες που παρατηρούνται σε νεφροπάθεια του λύκου

Πίνακας 12: Ορισμός της νεφροπάθειας της σχετιζόμενης με τα aPL⁵⁷

Επιλογή ασθενών για πιθανό ΑΦΣ

Σύμφωνα με τη Διεθνή Εταιρεία για την Θρόμβωση και την Αιμόσταση (ISTH) θα πρέπει να ελέγχονται για πιθανό ΑΦΣ οι ασθενείς που ανήκουν σε μια από τις κατηγορίες που απεικονίζονται στον Πίνακα 13.⁶⁰

Πίνακας 13: Επιλογή ασθενών για διερεύνηση για Αντιπηκτικό Λόκου

1. Έλεγχος για LA θα πρέπει να γίνεται, μαζί με αντικαρδιολιπινικά και anti-b2GPI, ώστε να εκτιμηθεί το προφίλ κινδύνου, σε ασθενείς που πιθανόν να έχουν ΑΦΣ:
 - a. Νεότεροι ασθενείς (<50 ετών) με μη προκλητή ΕΒΦ
 - b. ΕΒΦ με ασυνήθιστη εντόπιση
 - c. Νεότεροι ασθενείς (<50 ετών) με ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ), παροδικό ΑΕΕ ή άλλα ευρήματα εγκεφαλικής ισχαιμίας
 - d. Αρτηριακή θρόμβωση σε άλλη εντόπιση σε νεότερους ασθενείς (<50 ετών)
 - e. Μικροαγγειακή θρόμβωση
 - f. Υποτροπιάζουσα ΕΒΦ που δεν εξηγείται από υποθεραπευτικές δόσεις αντιπηκτικών, κακοήθεια ή συνέπεια στη λήψη αγωγής
 - g. Επιπλοκές κύηση: αποβολή μετά από τη 10^η εβδομάδα, υποτροπιάζουσες αποβολές (1^ο τριμήνου), προωρότητα (<34 εβδομάδες κύησης) που σχετίζεται με σοβαρή (προ)εκλαμψία, σύνδρομο HELLP, ανεπάρκεια πλακούντα (καθυστέρηση στο σωματικό βάρος εμβρύου), γέννηση νεκρού εμβρύου
 - h. ΣΕΛ: ο έλεγχος για LA είναι ένα από τα διαγνωστικά κριτήρια και συμβάλλει στη διαστρωμάτωση κινδύνου
2. Έλεγχος για LA μπορεί να προταθεί στις ακόλουθες περιπτώσεις:
 - a. Άνοση θρομβοπενία, ιδιαίτερα όταν συνυπάρχουν αρθραλγίες, αρθρίτιδα, τριχόπτωση, φωτοευαισθησία, στοματικά έλκη, εξάνθημα, θρομβοεμβολή
 - b. Δικτυωτή πελιδνωση, ιδιαίτερα παρουσία συμπτωμάτων άλλων αυτοάνοσων νόσων ή ήπια θρομβοπενία
 - c. Νεότεροι ασθενείς (<50ετών) μετά από προκλητή VTE όταν το αίτιο είναι ασυνήθιστα ήπια
 - d. Νεότεροι ασθενείς (<50ετών) με κλινικές εκδηλώσεις που δεν ανήκουν στα κλινικά κριτήρια διάγνωσης, δηλαδή αυτά που δεν ανήκουν στα κριτήρια του Sydney
 - e. Σε αδικαιολόγητη παράταση του APTT ως τυχαίο εύρημα

Πίνακας 13: Επιλογή ασθενών για έλεγχο για ΑΦΣ⁶⁰

Εργαστηριακή διερεύνηση του ΑΦΣ

Για τη διάγνωση του συνδρόμου απαραίτητη είναι η ανίχνευση είτε αντιπηκτικού του λύκου είτε αντισωμάτων αντικαρδιολιπινικών ή αντι-β2-GPI.

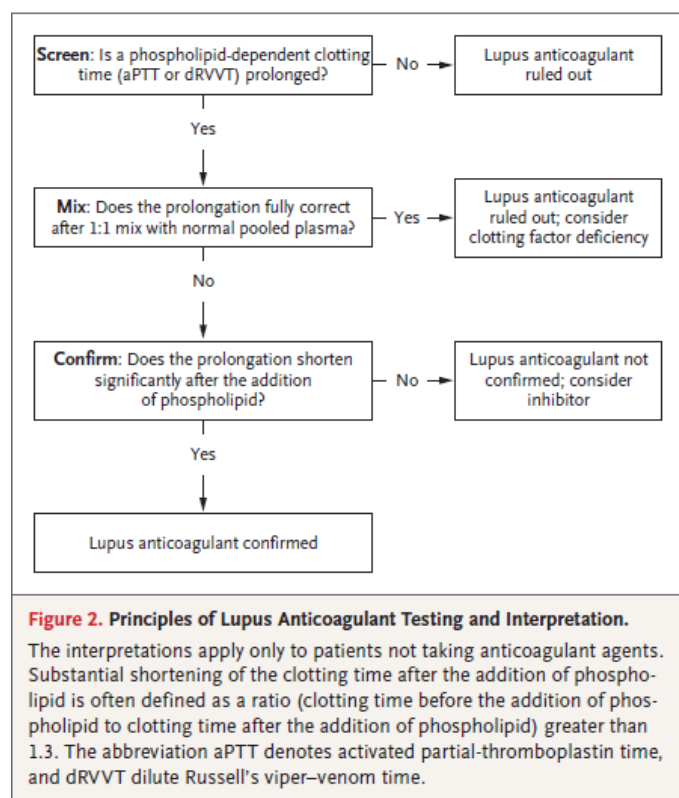
Αντιπηκτικό λύκου:

Περιλαμβάνει κατά προτίμηση 2 τεστ πηξιολογικά (το ένα βασισμένο σε dRVVT και το άλλο σε aPTT) και αφορά σε 3 στάδια- ανίχνευση, ανάμιξη και επιβεβαίωση.

Στο στάδιο της ανίχνευσης πιθανολογείται η ύπαρξη LA όταν ο χρόνος πήξης που βασίζεται σε φωσφολιπίδια βρίσκεται παρατεταμένος.

Στο στάδιο της ανάμιξης, γίνεται ανάμιξη ίσων όγκων πλάσματος του ασθενούς και φυσιολογικού πλάσματος. Αν το πλάσμα που προκύπτει διορθώνει την παράταση του χρόνου πήξης τότε μάλλον πρόκειται για έλλειψη παράγοντα πήξης και όχι ύπαρξη LA.

Στο τελευταίο στάδιο, αν η προσθήκη φωσφολιπιδίων μειώνει την παράταση του χρόνου πήξης, τότε επιβεβαιώνεται η ύπαρξη LA. (Εικόνα 7)⁵⁷⁻⁵⁸



Εικόνα 7: Αρχές για την ανίχνευση LA και ερμηνεία των αποτελεσμάτων⁵⁸

Ιδιαίτερη μνεία γίνεται για τη χρονική στιγμή που θα γίνει η ανίχνευση πιθανού LA ως προς το θρομβωτικό επεισόδιο ή την κύηση με επιπλοκές. Ενδεικτικά, τα αυξημένα επίπεδα του παράγοντα FVIII ή η αυξημένη CRP μπορεί να υποεκτιμήσουν ή να υπερεκτιμήσουν αντίστοιχα την ύπαρξη LA.

Ιδανικά, επίσης, θα πρέπει η εξέταση να γίνεται όταν ο ασθενής δεν λαμβάνει πλέον αντιπηκτικά.

- Σε ασθενείς υπό κουμαρινικά η ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι δύσκολη. Συστήνεται η διενέργεια της εξέτασης μία ή 2 εβδομάδες μετά τη διακοπή των κουμαρινικών με ή χωρίς γεφύρωση με HMMB. Σε κάθε περίπτωση αν το INR είναι μεγαλύτερο από 3, συστήνεται να μην γίνεται η εξέταση.
- Στους ασθενείς υπό HMMB το δείγμα για εξέταση συστήνεται να λαμβάνεται τουλάχιστον 12 ώρες μετά την τελευταία δόση HMMB και όσο πιο κοντά γίνεται στην επόμενη δόση, ενώ καλό είναι να υπολογίζεται και η αντι-Χα δραστηριότητα
- Για ασθενείς υπό DOACs, ιδανικά θα πρέπει να διακόπτεται η αγωγή, εμπειρικά για 48 ώρες περίπου, ενώ καλό θα είναι ταυτόχρονα να μετριοούνται και τα επίπεδα του φαρμάκου
- Σε περίπτωση κύησης, συστήνεται η εξέταση να γίνεται τουλάχιστον 6 εβδομάδες μετά το πέρας αυτής και ιδανικά μετά από 3 μήνες.⁶⁰

Αντικαρδιολιπινικά (aCL) και αντισώματα έναντι β2-γλυκοπρωτεΐνης I (β2GPI):

Η ανίχνευσή τους γίνεται με χρήση ανοσολογικών μεθόδων στερεάς φάσης (ELISA) και αφορά τόσο στα IgG όσο και στα IgM.

Η εξέταση μπορεί να επηρεαστεί από την ύπαρξη ρευματοειδή παράγοντα (RF), από παράγοντες που σχετίζονται με το δείγμα (π.χ. ικτερικό, αιμολυμένο ή λιπαιμικό δείγμα) και παρουσία άλλων αντισωμάτων όπως π.χ. μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης.⁵⁹

Η ύπαρξη LA συσχετίζεται θετικά με θρόμβωση, επιπλοκές της κύησης και θρόμβωση σε ασθενείς με ΣΕΛ σε σύγκριση με τα aCL. Τα anti-β2GPI αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για θρόμβωση και επιπλοκές στην κύηση όπως π.χ. προεκλαμψία ή/και εκλαμψία.⁵⁷

Καταστροφικό ΑΦΣ

Ορισμός: Μια ταχέως εξελισσόμενη μορφή του ΑΦΣ που οδηγεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια. Οι ασθενείς φέρουν:

1. Κλινικά σημεία πολυοργανικής συμμετοχής σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα
2. Ιστοπαθολογικά στοιχεία μικροαγγειοπάθειας και σπανιότερα και θρομβώσεις μεγάλων αγγείων
3. Εργαστηριακή επιβεβαίωση παρουσίας αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων, συνήθως σε υψηλό τίτλο.

Εκλυτικά αίτια του συνδρόμου μπορεί να είναι λοιμώξεις, τραύμα, επεμβάσεις, κύηση, φάρμακα κά.

Αποτελεί λιγότερο από 1% των ασθενών με ΑΦΣ αλλά πρόκειται για πιθανά θανατηφόρα κατάσταση που απαιτεί υψηλή κλινική υποψία. Τα ποσοστά θνητότητας αγγίζουν το 50% παρά τη θεραπεία. (Εικόνα 8)⁶¹

Εικόνα 8: Προκαταρκτικά κριτήρια για την ταξινόμηση του καταστροφικού ΑΦΣ
<ol style="list-style-type: none">1) Στοιχεία συμμετοχής τουλάχιστον τριών οργάνων, συστημάτων και/ή ιστών^a2) Εμφάνιση των εκδηλώσεων είτε ταυτόχρονα είτε σε λιγότερο από μια βδομάδα3) Παθολογοανατομική επιβεβαίωση με απόφραξη μικρών αγγείων σε τουλάχιστον ένα όργανο ή ιστό^b4) Εργαστηριακή επιβεβαίωση παρουσίας αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων^c
Επιβεβαιωμένο καταστροφικό ΑΦΣ <ul style="list-style-type: none">• Παρουσία και των 4 κριτηρίων
Πιθανό καταστροφικό ΑΦΣ <ul style="list-style-type: none">• Και τα 4 κριτήρια, αλλά σε μόνο 2 όργανα, συστήματα και/ή ιστούς• Και τα 4 κριτήρια, αλλά απουσία εργαστηριακής επιβεβαίωσης μετά από 6 εβδομάδες λόγω πρόωρου θανάτου του ασθενούς που δεν είχε ελεγχθεί για ΑΦΑ πριν το καταστροφικό ΑΦΣ• 1,2 και 4• 1,3 και 4 και εμφάνιση τρίτου επεισοδίου σε περισσότερο από μια βδομάδα αλλά λιγότερο από μήνα, παρά τη λήψη αντιπηκτικών
^a Συνήθως, κλινικά σημεία απόφραξης αγγείων, επιβεβαιωμένα με απεικονιστικές εξετάσεις όταν χρειάζεται. Η νεφρική συμμετοχή ορίζεται ως 50% αύξηση της κρεατινίνης, σοβαρή υπέρταση (>180/100mm Hg) και/ή πρωτεϊνουρία (>500MG/24H)
^b Σημαντικά στοιχεία θρόμβωσης να είναι παρόντα αν και μπορεί να συνυπάρχει αγγειίτιδα
^c Αν ο ασθενής δεν έχει προηγουμένως διαγνωσθεί με ΑΦΣ, η εργαστηριακή επανεξέταση πρέπει να γίνει σε μεσοδιάστημα τουλάχιστον 6 εβδομάδων

Εικόνα 8: Κριτήρια για την ταξινόμηση του καταστροφικού ΑΦΣ⁶¹

Ο επιπολασμός της θετικότητας των aPL στο γενικό πληθυσμό δεν είναι γνωστός. Αναφέρεται ότι 10% υγιών εθελοντών αιμοδοτών είναι θετικοί για αντικαρδιολιπινικά αντισώματα και 1% για LA. Ωστόσο, μετά από ένα έτος μόνο 1% παραμένουν θετικοί σε αυτές τις εξετάσεις.

Σε ασθενείς με ΣΕΛ περίπου 20-30% θα έχουν σταθερά ανιχνευόμενα μετρίου ως υψηλού κινδύνου επίπεδα aPL. Σε ασθενείς χωρίς αυτοάνοσο νόσημα, αντισώματα ανευρίσκονται σε ποσοστό 6% σε γυναίκες με επιπλοκές στην κύηση, 10% σε ΕΒΦ, 11% σε ΟΕΜ και 17% σε ασθενείς με ΑΕΕ σε ηλικία μικρότερη των 50 ετών.⁵⁸

3.2.Καρκίνος

Υπολογίζεται ότι η ετήσια επίπτωση ΕΒΦ σε ασθενείς με καρκίνο φτάνει το 0.5% σε αντίθεση με 0.1% στο γενικό πληθυσμό.⁶²

Στη σχετιζόμενη με τον καρκίνο θρόμβωση (cancer-associated thrombosis) (CAT) φαίνεται ότι κυρίαρχο ρόλο έχει ο ιστικός παράγοντας (TF) που παράγεται από τα καρκινικά κύτταρα και ενεργοποιεί το εξωγενές σύστημα της πήξης. Επίσης, τα καρκινικά κύτταρα παράγουν και άλλα προθρομβωτικά μόρια που απευθείας ενεργοποιούν τον παράγοντα X, αλλά και φλεγμονώδεις κυτταροκίνες που οδηγούν σε ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Από την άλλη το ινωδολυτικό σύστημα μπορεί να αναστέλλεται μέσω παραγωγής PAI-1 από τον όγκο.⁶³⁻⁶⁴

Παράγοντες κινδύνου για CAT:

- Ο τύπος της κακοήθειας παίζει ρόλο με υψηλότερα ποσοστά ΕΒΦ να παρατηρούνται σε αιματολογικές κακοήθειες, καρκίνο πνεύμονα, παγκρέατος, στομάχου, εντέρου και εγκεφάλου και χαμηλότερα σε καρκίνο προστάτη και μαστού.
- Η μεταστατική νόσος, η χρήση παραγόντων που επάγουν την αιμοποίηση όπως η ερυθροποιητίνη και το είδος του χημειοθεραπευτικού φαρμάκου με κύρια την πλατίνα και τα παράγωγά της, παράγοντες που βασίζονται σε ταξάνες,

αναστολείς τυροσινικής κινάσης και τα ανοσοτροποποιητικά φάρμακα όπως π.χ. η θαλιδομίδη

- Η τοποθέτηση ενδαγγειακών καθετήρων για μακροχρόνια χρήση, η τοπική πίεση αγγείων από ευμεγέθεις όγκους και η ακινησία λόγω άλγους ή αδυναμίας των ασθενών με κακοήθεια.
- Τέλος, υπάρχουν και γενετικά χαρακτηριστικά σε όγκους που αυξάνουν τον κίνδυνο όπως π.χ. οι μεταλλάξεις στο K-ras σε καρκίνο πνεύμονα και παχέος εντέρου και η μετάλλαξη JAK2V617F που παρατηρείται σε μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα.⁶⁵

3.3 Μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα (MYN)

Τα μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα (MPNs) που είναι αρνητικά για το χρωμόσωμα Φιλαδέλφεια, είναι κλωνικές διαταραχές που προκαλούνται από σωματικές μεταλλάξεις στο JAK2 (V617F και εξώνιο 12), στο CALR και στο MPL ενώ περίπου 10% των ασθενών δεν εμφανίζει καμία από τις ανωτέρω μεταλλάξεις και αναφέρονται ως «τριπλά αρνητικά» MPN.

Στην ιδιοπαθή μυελοϊνώση οι θρομβωτικές επιπλοκές είναι τόσο συχνές όσο και στην ιδιοπαθή θρομβοκυττάρωση αλλά λιγότερο συχνές από την αληθή πολυκυτταραιμία.⁶⁶ Μελέτη βασισμένη στο Σουηδικό Registry για τον καρκίνο βρήκε σχεδόν 10 φορές αύξηση σε φλεβική θρόμβωση και 3 φορές αύξηση σε αρτηριακές θρομβώσεις σε ασθενείς με MYN στους πρώτους 3 μήνες από τη διάγνωση.⁶⁷

Θρομβωτικά επεισόδια είναι παρόντα στο 20% έως 50% των ασθενών με αληθή πολυκυτταραιμία (PV) και ιδιοπαθή θρομβοκυττάρωση (ET) κατά τη διάγνωση και αφορούν μείζονα αγγεία και τη μικροκυκλοφορία. Ο ακριβής προσδιορισμός του κινδύνου θρόμβωσης σε ET και PV είναι δύσκολος. Πιθανολογούνται παράγοντες κινδύνου όπως η αύξηση της ηλικίας, η προηγούμενη θρόμβωση, η λευκοκυττάρωση, η παρουσία των κυρίων μεταλλάξεων. Το επίπεδο του αριθμού των αιμοπεταλίων και του αιματοκρίτη από μόνο του δεν συσχετίζεται θετικά με κίνδυνο θρόμβωσης.⁶⁶

Η παρουσία της μετάλλαξης JAK2V617F στην ιδιοπαθή θρομβοκυττάρωση σχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο θρόμβωσης. Γενικά στα MYN, η μετάλλαξη JAK2V617F απαντάται συχνότερα σε μεγαλύτερες ηλικίες, υψηλότερα επίπεδα αιμοσφαιρίνης, λευκοκυττάρωση και χαμηλότερο αριθμό αιμοπεταλίων.⁶⁸

Τα δεδομένα για τη συσχέτιση της μετάλλαξης JAK2V617F απουσία MYN, με αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης είναι αντικρουόμενα. Ωστόσο, με πειραματικά μοντέλα έχει αποδειχθεί επανειλημμένα ότι η παρουσία της μετάλλαξης προάγει τη μεγακαρυοποίηση, την υπερευαισθησία στην θρομβοποιητίνη, την αυξημένη κινητικότητα των μεγακαρυοκυττάρων, την απελευθέρωση προ-αιμοπεταλίων και αυξημένο σχηματισμό θρόμβου εξαιτίας αυξημένης συσσώρευσης αιμοπεταλίων.⁶⁹ Σε μεγάλη μελέτη υγιών εθελοντών, αυτοί με τη μετάλλαξη είχαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά θρόμβωσης.⁷⁰

3.4 Σήψη και φλεγμονή

Η σήψη είναι μια επικίνδυνη για τη ζωή δυσλειτουργία των οργάνων του σώματος που προκαλείται από μια δυσανάλογη και άναρχη απόκριση στη λοίμωξη. Κατά την έναρξη της σήψης πολλαπλές παθοφυσιολογικές διεργασίες εξελίσσονται ταυτόχρονα όπως η φλεγμονή και η ενεργοποίηση της πήξης. Ο ξενιστής ενεργοποιεί την πήξη για να προστατευθεί έναντι των λοιμωδών παθογόνων. Η υπερβολική ενεργοποίηση μαζί με την βλάβη του ενδοθηλίου οδηγεί τελικά σε μικροαγγειακούς θρόμβους και σε πολυοργανική ανεπάρκεια. Ένα υπερλειτουργικό και δυσλειτουργικό σύστημα πήξης εκδηλώνεται ακόμη με κατανάλωση των παραγόντων πήξης, αναστολή της ινωδόλυσης, βράχυνση του χρόνου δημιουργίας θρόμβου και αύξηση της σταθερότητας του θρόμβου.⁷¹

Το 2013 οι Engelmann και οι συν, εισήγαγαν τον όρο ανοσοθρόμβωση για να περιγράψουν την εγγενή ανοσιακή απάντηση που οδηγεί σε δημιουργία θρόμβων στα μικρά αγγεία και ενισχύεται από ειδικά, σχετιζόμενα με τη θρόμβωση μόρια.⁷² Τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα, μαζί με τα αιμοπετάλια, έχουν αναγνωρισθεί από νωρίς ως σημαντικά κύτταρα για την ενεργοποίηση της πήξης. Ωστόσο, η ενεργός συμμετοχή των ουδετεροφίλων μόλις πρόσφατα έχει επισημανθεί. Σημαντική ήταν η ανακάλυψη των εξωκυτταρικών παγίδων των ουδετεροφίλων (Neutrophil extracellular Traps-NETs) που φαίνεται να αποτελούνται από DNA, ιστόνες και στοιχεία κοκκίων και έχουν προθρομβωτικές ιδιότητες. (Εικόνα 9)⁷³

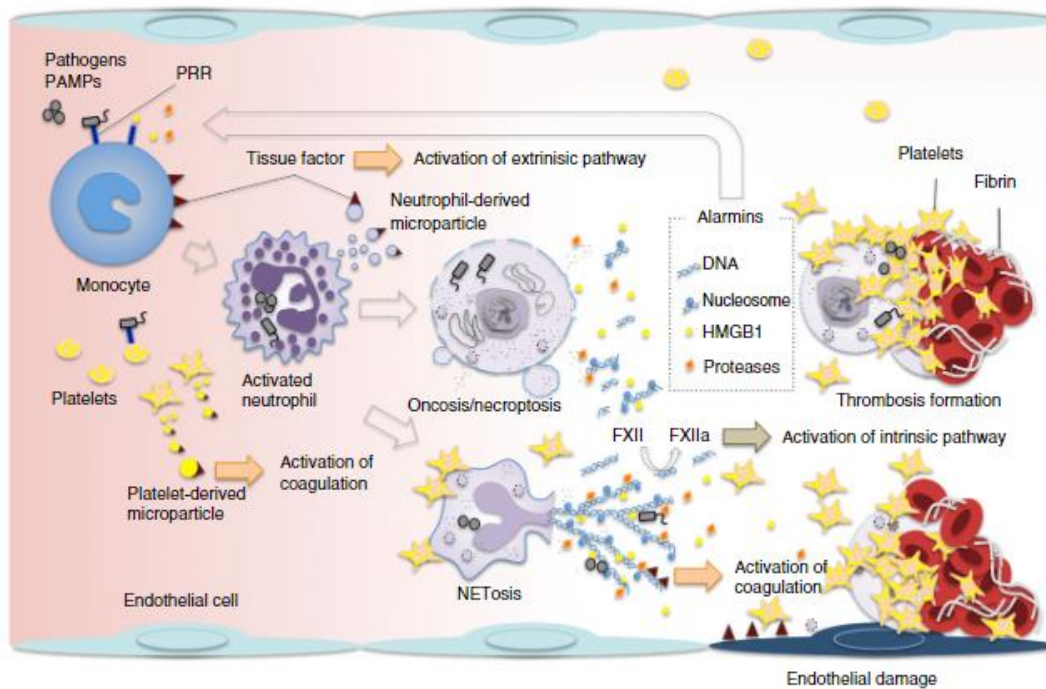


Fig. 1. Intravascular thrombus formation in sepsis. Monocytes and neutrophils play important roles in thrombus formation during sepsis. They express tissue factor (triangle) on the cells as well as on the microparticles. Necrotic neutrophils release procoagulant alarmins, such as DNA and high mobility group box 1 (HMGB1). FXIIa, activated factor XII; PAMP, pathogen-associated molecular pattern; PRR, pattern recognition receptor. [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

Εικόνα 9: Δημιουργία θρόμβου στη σήψη⁷³

Η επίπτωση της ΕΒΦ σε ασθενείς σε ΜΕΘ φτάνει το 10% ενώ η πνευμονική εμβολή το 2-4%. Γι' αυτό το λόγο το 2021 οι Ευρωπαϊκές οδηγίες για την αντιμετώπιση της σήψης και της σηπτικής καταπληξίας, συνιστούν τη χορήγηση θρομβοπροφύλαξης σε αυτούς τους ασθενείς αν δεν υπάρχει αντένδειξη.⁷⁴

3.5. Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ)

Η ΔΕΠ είναι ένα επίκτητο σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από από ενδαγγειακή ενεργοποίηση της πήξης, με απώλεια ωστόσο του τοπικού χαρακτήρα και το οποίο έχει διάφορα αίτια. Στα αίτια, πιο συχνές είναι οι λοιμώξεις και ακολουθούν οι κακοήθειες, επιπλοκές μαιευτικές και το τραύμα, ιδιαίτερα της κεφαλής. ΔΕΠ παρατηρείται και σε αγγειακές παθήσεις όπως π.χ το σύνδρομο Kasabach-Merritt και τα αορτικά ανευρύσματα.

Οι κλινικές εκδηλώσεις είναι ποικίλλες κι εξαρτώνται από τη δυναμική ισορροπία μεταξύ της θρομβογένεσης στα μικρά αγγεία και το βαθμό κατανάλωσης των παραγόντων της πήξης, αναστολέων και αιμοπεταλίων. Σε γενικές γραμμές, οι ασθενείς με ΔΕΠ μπορεί να εμφανίζουν τόσο θρόμβωση όσο και αιμορραγία αν και

Table II. (Continued)

Scoring system	Parameters	Overt DIC diagnosis
Chinese Society of Thrombosis and Hemostasis scoring system for DIC (CDSS) ¹³⁴	<ul style="list-style-type: none"> • Clinical presentation (abnormal bleeding, unexplained organ failure, shock, independent of original disease) • PT and aPTT • Fibrin D-dimer • Fibrinogen • Platelet count 	<p>≥7</p> <p>Some modifications of the score in haematologic malignancies</p>
Japanese Association for Acute Medicine (JAAM) score	<p>Basic¹³⁵</p> <ul style="list-style-type: none"> • Platelet count level or change • Prothrombin time • Fibrin-related markers • Systemic inflammatory response syndrome criteria <p>Revised-JAAM (R-JAAM)¹³²</p> <ul style="list-style-type: none"> • Platelet count level or change • PT • Fibrin-related markers • Antithrombin <p>Unified criteria based on JAAM criteria¹³⁶</p> <ul style="list-style-type: none"> • Platelet count level • Prothrombin time • Fibrin-related markers • Systemic inflammatory response syndrome criteria • Protein C activity • Plasminogen activator inhibitor 1 	<p>≥6</p> <p>≥4</p> <p>≥9</p>
Korean Society on Thrombosis and Hemostasis (KSTH) score ¹³⁷	<ul style="list-style-type: none"> • Platelet count • PT or aPTT • Fibrin D-dimer • Fibrinogen 	≥3

aPTT, activated partial thromboplastin time; PT, prothrombin time.

Πίνακας 14: Επισκόπηση των συχνότερα χρησιμοποιούμενων διαγνωστικών συστημάτων για τη ΔΕΠ και τη σχετιζόμενη με τη σήψη διαταραχή της αιμόστασης.⁷⁵

Διαφορική διάγνωση θα πρέπει να γίνει με άλλες καταστάσεις που μοιάζουν με ΔΕΠ όπως η κίρρωση ήπατος, το ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο και η θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα, η θρομβοπενία σχετιζόμενη με την κύηση, η αιμορροφιλία και η καταστολή του μυελού των οστών. (Πίνακας 15)

Table III. Differential diagnostic considerations in patients with thrombocytopenia or affected global coagulation parameters.

	Platelet count	Global coagulation tests (PT, aPTT)	Other findings
Hepatic cirrhosis	Stable or only mild decrease	↑	Global decrease of coagulation factors (except FXIII) ↑ ALAT, ALP
Thrombotic microangiopathies (HUS, TTP)	↓↓	Normal or only slightly prolonged	Schistocytes Haemolysis TTP: ↓↓ ADAMTS13
Heparin-induced thrombocytopenia	↓	Normal or only slightly prolonged	Heparin exposure Large-vessel thrombosis Antiheparin-PF4-antibodies
Pregnancy-related thrombocytopenia			
Benign	↓	Normal	
HELLP	↓↓	May be prolonged in case of liver failure	Haemolysis, ↑ ALAT
Bone marrow suppression	↓↓	Normal	↓RBC and WBC counts
Inherited or acquired haemophilia	Normal	↑ aPTT, normal PT	Isolated FVIII or FIX deficiency; FVIII or FIX antibodies

ADAMTS13, a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13; ALAT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; aPTT, activated partial thromboplastin time; F, coagulation factor; HELLP, haemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count; HUS, haemolytic uraemic syndrome; PF, platelet factor; PT, prothrombin time; RBC, red blood cell; TTP, thrombotic thrombocytopenic purpura; WBC, white blood cell.

Πίνακας 15: Διαφορική διάγνωση σε ασθενείς με θρομβοπενία και διαταραγμένη αιμόσταση⁷⁵

3.6 COVID-19

Η λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV-2 που εμφανίσθηκε για πρώτη φορά το 2019 στη Wuhan της Κίνας και προκαλεί τη νόσο COVID-19, έχει συσχετισθεί με θρομβοπενία αλλά και εμφάνιση θρομβοεμβολικών επεισοδίων. Φαίνεται μάλιστα ότι η επίπτωση θρομβωτικών επεισοδίων σε σοβαρά πάσχοντες είναι υψηλότερη σε σχέση με τους ήπια πάσχοντες παρά την χορήγηση θρομβοπροφύλαξης. Νεκροτομές ανέδειξαν ότι οι αποβιώσαντες από τη νόσο είχαν πληθώρα θρόμβων σε πολλαπλά όργανα. Ιδιαίτερα εμφανείς ήταν οι θρόμβοι στους πνεύμονες, όπου κοκκινωπής χροιάς θρόμβοι σχημάτιζαν ένα δίκτυο από ινική και ερυθρά αιμοσφαίρια. Εκτός από τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου που παρατηρούνται σε βαρέως πάσχοντες από οποιαδήποτε λοίμωξη, φαίνεται ότι στην COVID-19 τα αιμοπετάλια έχουν επιτελικό ρόλο. Συσχετίστηκε λοιπόν η θρόμβωση στην COVID-19 με αυξημένη ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων και έκκριση α και πυκνών κοκκίων. Επιπρόσθετα, φαίνεται ότι ο SARS-CoV-2 και η πρωτεϊνική ακίδα του ενεργοποιεί απευθείας τα αιμοπετάλια, οδηγώντας σε έκκριση παραγόντων πήξης και φλεγμονωδών κυτταροκινών καθώς και σε συσσωρεύσεις αιμοπεταλίων – λευκών αιμοσφαιρίων.⁷⁶ Μελέτες έδειξαν υψηλά ποσοστά θρόμβωσης σε ασθενείς με COVID-19 με την υψηλότερη συχνότητα σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς σε ΜΕΘ όπου φτάνουν και το 47% σε σχέση με νοσηλεύομενους σε άλλες κλινικές όπου τα ποσοστά ξεκινούν από το 3-4%.⁷⁷

3.7 Θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα (TTP)

Η TTP είναι μια απειλητική για τη ζωή θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια που χαρακτηρίζεται από αιμολυτική ανααιμία, σοβαρή θρομβοπενία και οργανική ισχαιμία οφειλόμενη σε μικροαγγειακούς θρόμβους, πλούσιους σε αιμοπετάλια. Προκαλείται από σοβαρή ανεπάρκεια της πρωτεΐνης ADAMTS13 που διασπά τον παράγοντα von Willebrand. Συχνότερα είναι επίκτητη λόγω αυτοαντισωμάτων αλλά μπορεί να είναι κληρονομική λόγω μετάλλαξης στο γονίδιο που κωδικοποιεί την ADAMTS13. Η σοβαρή έλλειψη της ADAMTS13 έχει ως συνέπεια την συσσώρευση μεγάλων μορίων von Willebrand με αυξημένη προσκόλληση προς τα αιμοπετάλια, γεγονός που προάγει τη δημιουργία θρόμβων πλούσιων σε αιμοπετάλια.

Χαρακτηρίζεται από μικροαγγειοπαθητική αιμόλυση και θρομβοπενία και σε εργαστηριακό έλεγχο βρίσκουμε αυξημένα δικτυοερυθροκύτταρα, ελαττωμένη απτοσφαιρίνη, αυξημένη LDH και παρουσία σχιστοκυττάρων στο περιφερικό αίμα. Ακόμη, μπορεί να διαπιστωθεί πρωτεϊνουρία και αιματοουρία, αυξημένη τροπονίνη και αλλοιώσεις επαναπόλωσης στο ΗΚΓ.

Για να τεθεί όμως η διάγνωση είναι απαραίτητη η μέτρηση της ADAMTS13 αρχικά με μέτρηση της δραστηριότητάς της κι έπειτα με ανοσολογικές ή και γονιδιακές μεθόδους για προσδιορισμό της αιτίας (Εικόνα 10).⁷⁸

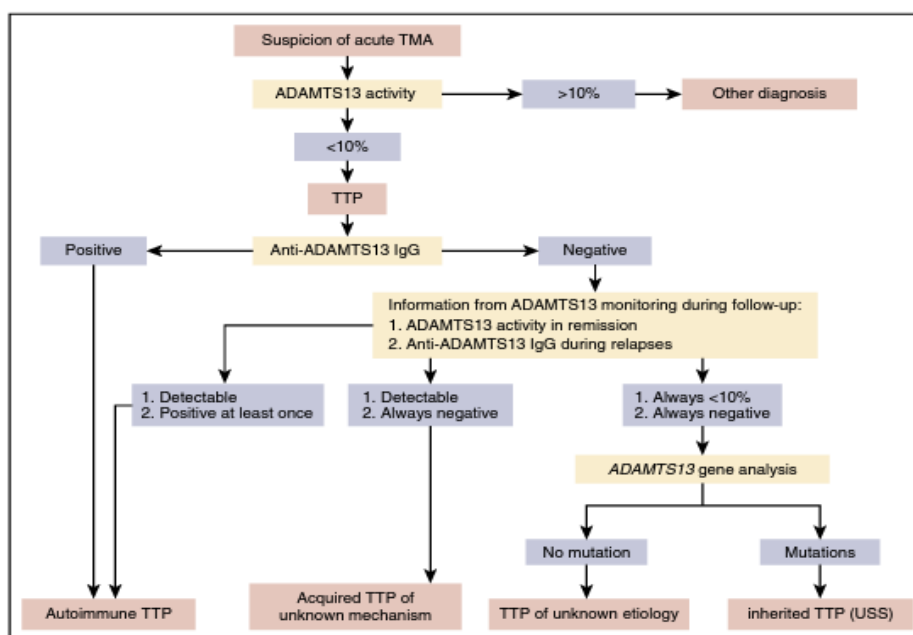


Figure 4. Flowchart for ADAMTS13 investigation in TTP. ADAMTS13 investigation is mandatory in the management of TMA because it is the unique marker able to definitely establish the diagnosis of TTP. ADAMTS13 activity is always the screening assay to perform. If ADAMTS13 activity is less than 10%, the clinical suspicion of TTP is confirmed. Thus, to document the mechanism for ADAMTS13 severe deficiency, detection of anti-ADAMTS13 IgG is the second-rank assay, whereas ADAMTS13 gene sequencing is a third-rank assay limited to selected indications. Data provided by ADAMTS13 monitoring during follow-up are also important to elucidate the mechanism for ADAMTS13 severe deficiency. In almost all cases, this panel of assays performed during both TTP inaugural episode and follow-up allows us to identify the 3 forms of TTP: acquired autoimmune TTP, acquired TTP of unknown mechanism (apparently not linked to ADAMTS13 autoantibodies), and inherited TTP (USS). In some exceptional cases, however, TTP remains with an unknown etiology.

Εικόνα 10: Αλγόριθμος για διερεύνηση ADAMTS13 στην TTP.⁷⁸

3.8 Παροξυσμική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία (PNH)

Πρόκειται για μια σπάνια πάθηση με εκτιμώμενο επιπολασμό 16/1 000 000. Η πάθηση προκύπτει από επίκτητη μετάλλαξη στο γονίδιο PIGA που κωδικοποιεί την PIGA πρωτεΐνη, υπεύθυνη για τη σύνθεση μια άγκυρας γλυκοσυλφωσφατιδυλινοσιτόλης που συνδέει διάφορες επιφανειακές πρωτεΐνες στην κυτταρική μεμβράνη των αιμοποιητικών κυττάρων. Αυτό οδηγεί στην έλλειψη των πρωτεϊνών CD55 και CD59, πρωτεϊνών υπεύθυνων για τη ρύθμιση του συμπληρώματος. Η έλλειψή τους στα ερυθρά αιμοσφαίρια οδηγεί σε ενδαγγειακή αιμόλυση και θρόμβωση.

Η θρόμβωση αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου στην PNH και συμβαίνει σε περίπου 40% των ασθενών.

Η παθοφυσιολογία της θρόμβωσης δεν είναι διευκρινισμένη. Η ενδαγγειακή αιμόλυση και η ενεργοποίηση των PNH αιμοπεταλίων έχουν προταθεί ως πιθανά αίτια. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος ενοχοποιείται επίσης.⁷⁹

Η διάγνωση γίνεται με κυτταρομετρία ροής. Οι σύγχρονες κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν τη μέτρηση τουλάχιστον 2 GPI-δεσμευμένων αντιγόνων (CD55,CD59) σε τουλάχιστον 2 διαφορετικές κυτταρικές σειρές όπως τα κοκκιοκύτταρα, τα μονοπύρηνια και τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Η ανάλυση στα ερυθρά μπορεί να παραληφθεί αν δεν ανιχνευθεί κλώνος PNH στα λευκά.⁷⁹

3.9 Κύηση και θρόμβωση

Στην κύηση και τη λοχεία η επίπτωση της ΕΒΘ είναι 1 στις 1000, περίπου 4-5 φορές υψηλότερη από αυτή σε μη έγκυες γυναίκες της ίδιας ηλικίας. Ο κίνδυνος εμφανίζεται από το πρώτο τρίμηνο και αυξάνεται περαιτέρω κατά τις πρώτες 6 εβδομάδες από τον τοκετό κατά 20-80 φορές. Περίπου 75% των περιπτώσεων αφορούν σε εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, ενώ το υπόλοιπο 20-25% πρόκειται για πνευμονική εμβολή.⁸⁰ Η αρτηριακή θρόμβωση είναι σπανιότερη, περίπου 1 στις 4000 κυήσεις αλλά παραμένει αυξημένη σε σχέση με τις μη έγκυες γυναίκες.²

Κατά τη διάρκεια της κύησης και της λοχείας η κλασική τριάδα του Virchow για τη φλεβική θρόμβωση, δηλαδή η υπερπηκτικότητα, η φλεβική στάση και η βλάβη του ενδοθηλίου είναι υπαρκτή.

Σε μια προετοιμασία του σώματος να αντιδράσει στον αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας κατά τον τοκετό, τα επίπεδα στο πλάσμα προθρομβωτικών παραγόντων όπως ο παράγων VII, VIII, X, von Willebrand και το ινωδογόνο, είναι αυξημένα. Από την άλλη, τα επίπεδα φυσικών αντιπηκτικών μειώνονται όπως π.χ. τα επίπεδα της πρωτεΐνης S. Παρομοίως, μειώνεται και η δραστηριότητα του ινωδολυτικού συστήματος. Επιπρόσθετα, αιμοδυναμικές αλλαγές όπως η αγγειοδιαστολή που προκαλείται από την προγεστερόνη, η μηχανική συμπίεση της κάτω κοίλης και των λαγονίων φλεβών, η αγγειακή βλάβη κατά το τοκετό ή από την αυξημένη φλεβική πίεση, συμβάλλουν στον αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης.⁸⁰

Περαιτέρω αυξάνεται ο κίνδυνος όταν έχει προηγηθεί άλλη θρόμβωση, σε αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο αλλά και σε άλλες θρομβοφιλίες, σε μείζον τραύμα ή επέμβαση κ.α.⁸⁰

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΩΝ

4.1 Άτομα στα οποία πρέπει να γίνεται ο έλεγχος για θρομβοφιλία

Όλες οι μεγάλες επιστημονικές εταιρείες αιμόστασης συμφωνούν ότι δεν συνιστούν εξέταση για θρομβοφιλία προληπτικά ή μετά από ένα προκλητό επεισόδιο ΕΒΘ αλλά μόνο σε περίπτωση που η εξέταση θα έχει αντίκτυπο και στη θεραπεία.²

Έχουν αναγνωρισθεί κάποια χαρακτηριστικά που μπορεί να υποδηλώνουν παρουσία κληρονομικής θρομβοφιλίας σε ασθενείς με ΕΒΘ:

- Θρόμβωση σε νεαρή ηλικία (<50 ετών), ιδιαίτερα όταν υπάρχουν μη ισχυροί προδιαθεσικοί παράγοντες όπως π.χ. ελάσσονα επέμβαση, αντισυλληπτικά δισκία, ακινησία ή σε μη προκλητή ΕΒΘ
- Ισχυρό οικογενειακό ιστορικό, δηλαδή σε πρώτου βαθμού συγγενείς με επεισόδιο σε νεαρή ηλικία
- Υποτροπιάζοντα επεισόδια, ιδιαίτερα σε νεαρή ηλικία
- ΕΒΘ σε ασυνήθιστες θέσεις όπως σε σπλαχνικές ή εγκεφαλικές φλέβες (σε αυτή την περίπτωση συνιστάται έλεγχος για PNH και MYN)

Αν και δεν ανήκει στις κληρονομικές θρομβοφιλίες, στις παραπάνω κατηγορίες ασθενών θα πρέπει να γίνεται και έλεγχος για αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.²⁴

- Σε νεογνά και παιδιά με κεραυνοβόλο πορφύρα συστήνεται ο άμεσος έλεγχος για ανεπάρκεια των πρωτεϊνών C και S.²

Ιδιαίτερη σημασία θα πρέπει να δίνεται και στη χρονική στιγμή που θα γίνει ο εργαστηριακός έλεγχος.

- Ο έλεγχος με μοριακές τεχνικές μπορεί να πραγματοποιηθεί οποιαδήποτε στιγμή. Για τις υπόλοιπες εξετάσεις συστήνεται ο έλεγχος να πραγματοποιείται μετά το πέρας της αντιπηκτικής αγωγής και μακριά από τη στιγμή του θρομβωτικού επεισοδίου λόγω της αυξημένης κατανάλωσης των πρωτεϊνών της πήξης και της δημιουργίας του θρόμβου.
- Σε άτομα που λαμβάνουν ανταγωνιστές της βιταμίνης K (VKA) συστήνεται η διακοπή τους για τουλάχιστον 2 εβδομάδες ενώ τα DOACs καλό είναι να διακοπούν για τουλάχιστον 2 ημέρες. Η UFH και η XMBH θα πρέπει να διακοπούν για 24 ώρες για τη μέτρηση αντιθρομβίνης.²⁴

- Στην οξεία φάση μπορεί να απαιτηθεί επανάληψη των εξετάσεων για επιβεβαίωση της διάγνωσης. Η καλύτερη χρονική στιγμή για εξέταση είναι αρκετές εβδομάδες μετά τη θρόμβωση και τουλάχιστον 72 ώρες μετά τη διακοπή των DOACs ή τουλάχιστον 4-6 εβδομάδες μετά τη διακοπή VKA.¹⁰
- Ιδιαίτερα η εξέταση για το αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο μπορεί να γίνει και κατά την οξεία φάση της ΕΒΘ κατά τη διάρκεια της αντιπηκτικής αγωγής με κλασική ηπαρίνη, ηπαρίνη μικρού μοριακού βάρους ή fondaparinux, εφόσον έχει επιλεγθεί η κατάλληλη μέθοδος για τον έλεγχο του αντιπηκτικού του λύκου και έχει σταθμιστεί ως προς την ελάχιστη συγκέντρωση ηπαρίνης, που δεν την επηρεάζει.

Τεστ με χρήση πρωτεϊνικών εκχυλισμάτων από δηλητήριο φιδιού Tairan ή Ecarin (TVT/ECT) για το αντιπηκτικό του λύκου μπορεί να είναι χρήσιμο σε ασθενείς υπό VKA και rivaroxaban. Συνεπώς, τουλάχιστον σε ασθενείς που λαμβάνουν ανταγωνιστές της βιταμίνης K (VKAs), ο έλεγχος για το αντιπηκτικό του λύκου πρέπει να γίνεται σε εξειδικευμένο εργαστήριο.⁸¹

4.2 Ιδιαίτερες προφυλάξεις κατά τη διενέργεια των εργαστηριακών εξετάσεων για θρομβοφιλία

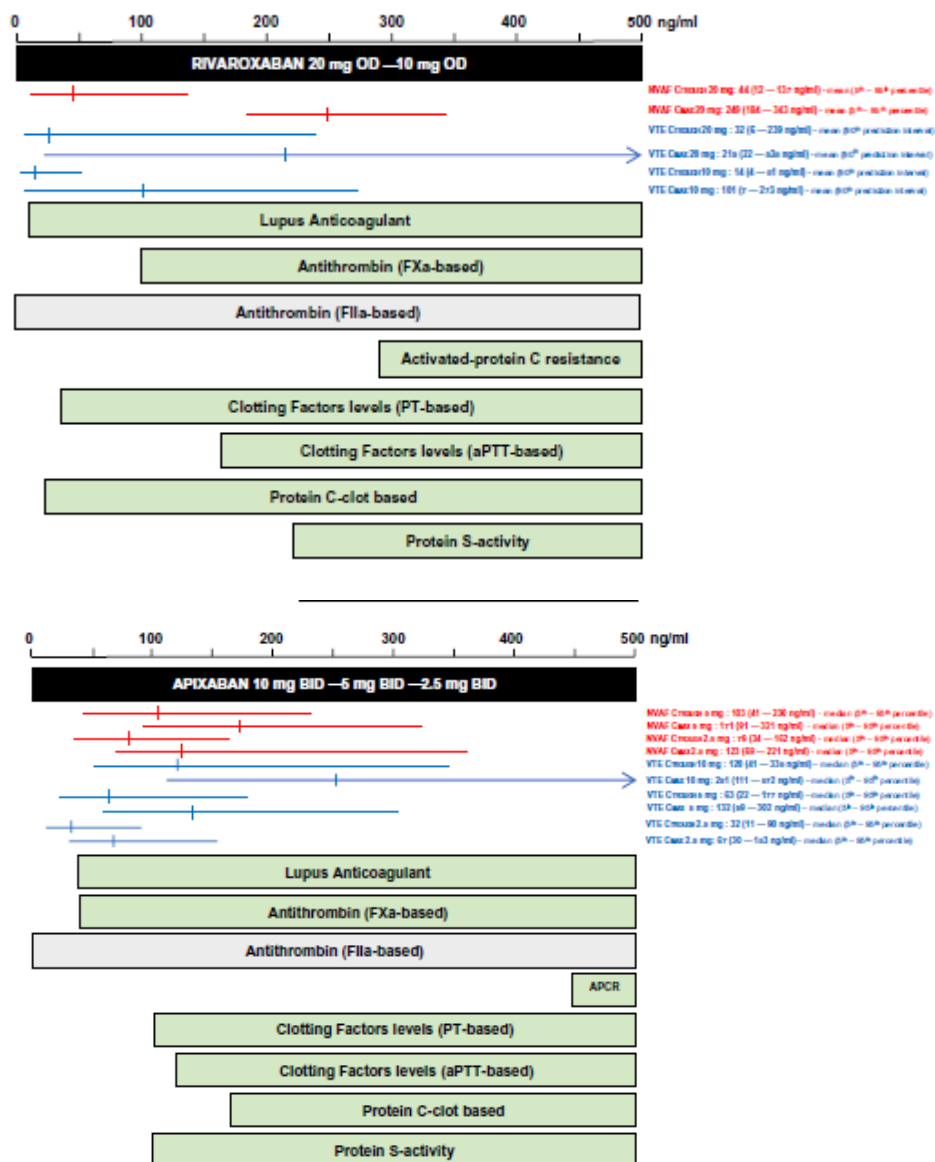
Προτείνεται να προηγείται οποιασδήποτε εξέτασης για την αιμόσταση, ένα πηκτικό screen που θα περιλαμβάνει το χρόνο προθρομβίνης (PT) και το χρόνο μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) σε όλα τα δείγματα. Το screen αυτό δίνει μια συνολική εικόνα της αιμόστασης αλλά μπορεί και να ανιχνεύσει την ύπαρξη αντιπηκτικών αν αυτό δεν αναφέρεται στις κλινικές πληροφορίες που συνοδεύουν το δείγμα. Η ευαισθησία, ωστόσο, των δύο αυτών εξετάσεων ποικίλλει ενώ μπορεί να μην ανιχνεύσουν μικρότερες συγκεντρώσεις αντιπηκτικών, οι οποίες και πάλι μπορεί να επηρεάσουν άλλες μεθόδους. Ένας φυσιολογικός χρόνος θρομβίνης (TT) αποκλείει την ύπαρξη αναστολέα της θρομβίνης ή σημαντικής ποσότητας UFH ή XMBH. Έτσι, η παρουσία dabigatran, αναστολέα του FIIa, παρατείνει το TT ενώ οι άμεσοι αναστολείς του FXa δεν τον επηρεάζουν.⁸² Κυκλοφορούν, βέβαια, στην αγορά και εμπορικά προϊόντα όπως το DOAC-Stop, DOAC-Remove, ενεργός άνθρακας ή Adexanet alfa που μπορούν να απομακρύνουν τα DOACs. Και πάλι συνιστάται προσοχή ως προς την ποσότητα του αντιπηκτικού που μπορούν να απομακρύνουν.³⁵

Εξέταση για PC και PS δεν συνιστάται σε ασθενείς που λαμβάνουν VKA.

Μείωση σε αντιθρομβίνη, PC και PS θα πρέπει να επιβεβαιωθεί σε 2 τουλάχιστον ξεχωριστά δείγματα.³⁵

4.3 Παρεμβολές των νεότερων αντιπηκτικών στις εργαστηριακές εξετάσεις για τη διάγνωση θρομβοφιλίας

Είναι γνωστό ότι τα DOACs παρεμβάλλονται στα διαγνωστικά τεστ θρομβοφιλίας (Πίνακες 16 και 17)⁸²



Πίνακας 16: Επίδραση των αναστολέων FXa στα διαγνωστικά τεστ αιμόστασης⁸²

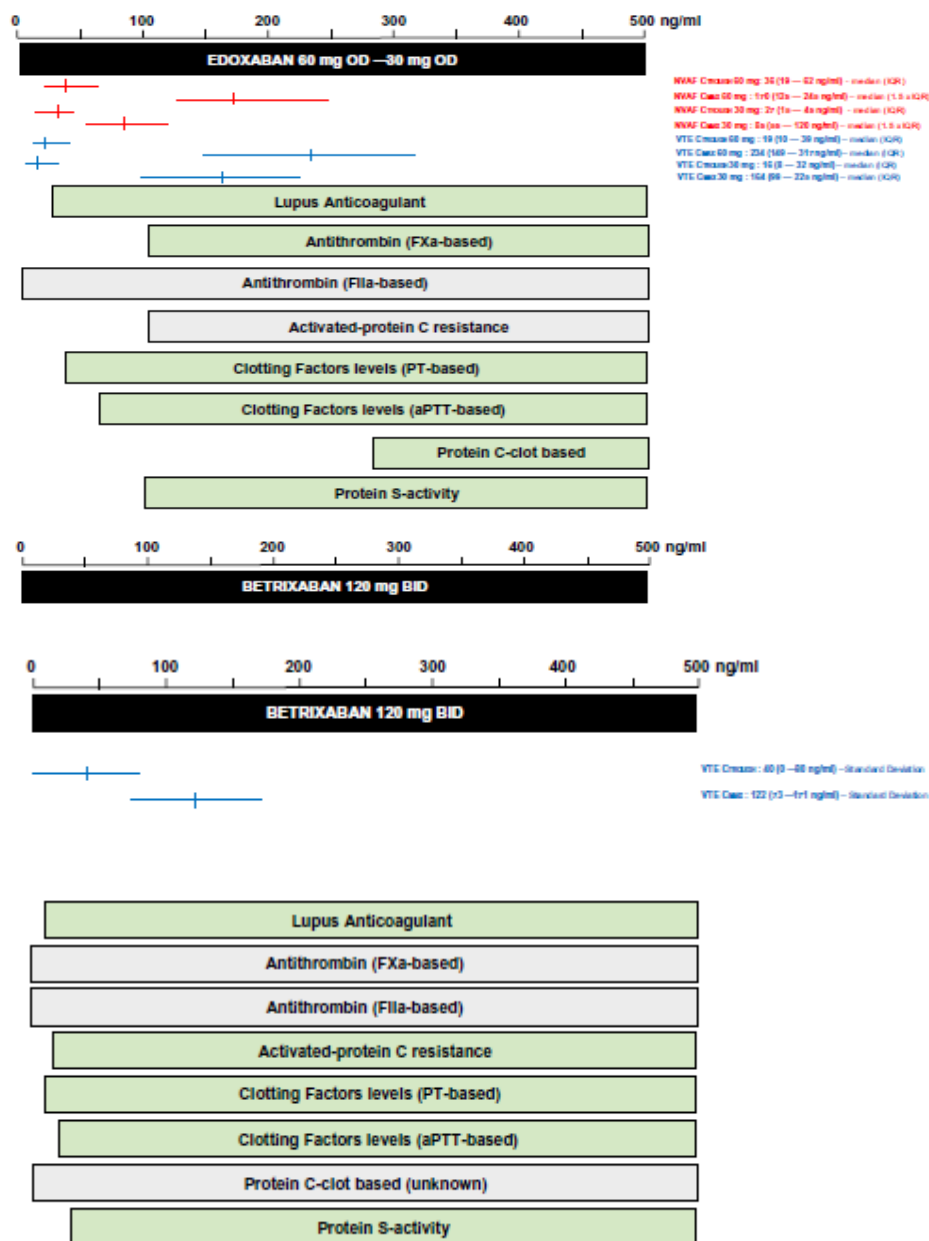


FIGURE 3 Impact of factor Xa inhibitors related to indications on diagnostic assays. Laboratory testing of factor Xa inhibitors and their impacts on diagnostic assays. Red and blue lines represent plasma concentrations at peak and trough in NVAF and VTE, respectively. Green boxes represent ranges of concentrations that can impact diagnostic assays and lead to misdiagnosis while grey boxes represent unaffected assays (see original article for reagents used). For clotting factors measurement, boxes represent the dynamic range of quantitation (the dynamic range of quantitation is defined as range covering from the lowest observed limit of quantification to the maximal concentration tested or supposed) of PT and aPTT for sensitive reagents. C_{through} , minimum plasma concentration during the dosing interval; C_{max} , maximum plasma concentration during the dosing interval; VTE, venous thromboembolism; NVAF, non-valvular atrial fibrillation; OD, once daily; bid, twice daily; APC-R, activated protein C resistance. Notes: Data on plasma concentrations were extracted from Douxfils et al and Gosselin et al^{2,4,7,9,10} for apixaban, edoxaban, rivaroxaban and from Siriez et al⁸ for betrixaban

Πίνακας 16 (συνέχεια): Επίδραση των αναστολέων FXa στα διαγνωστικά τεστ αιμόστασης⁸²

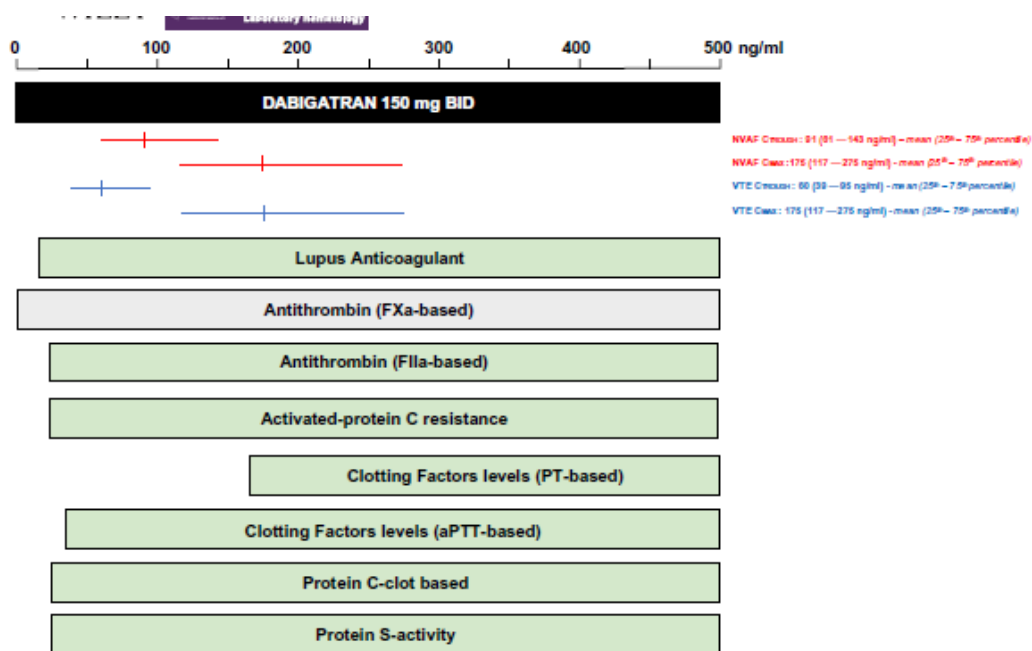


FIGURE 4 Impact of factor IIa inhibitors related to indications on diagnostic assays. Laboratory testing of factor IIa inhibitors and its impacts on diagnostic assays. Red and blue lines represent plasma concentrations at peak and trough in NVAF and VTE, respectively. Green boxes represent ranges of concentrations that can impact diagnostic assays and lead to misdiagnosis while grey boxes represent unaffected assays (see original articles for reagents used). For clotting factors measurement, boxes represent the dynamic range of quantitation (the dynamic range of quantitation is defined as range covering from the lowest observed limit of quantification to the maximal concentration tested or supposed) of PT and aPTT for sensitive reagents. C_{through}, minimum plasma concentration during the dosing interval; C_{max}, maximum plasma concentration during the dosing interval; NVAF, non-valvular atrial fibrillation; OD, once daily; bid, twice daily. These DOAC concentrations may not be reflective of all reagents or methods. Notes: Data on plasma concentrations were extracted from Douxfils et al,¹¹ Falavero et al,¹ Gessoni et al,²⁵ Bonar et al¹² and Gosselin et al²

Πίνακας 17: Επίδραση των αναστολέων FIIa στα διαγνωστικά τεστ αιμόστασης⁸²

- Επίδραση των DOACs στη μέτρηση της λειτουργικής αντιθρομβίνης III: Μετρήσεις με χρωμογονικές μεθόδους βασισμένες στη θρομβίνη δεν επηρεάζονται από τους αναστολείς FXa και αντίστροφα μέθοδοι με χρήση FXa δεν επηρεάζονται από το dabigatran.
- Επίδραση των DOACs στη μέτρηση της λειτουργικής PS: Όλοι οι DOACs δίνουν ψευδώς αυξημένη δραστηριότητα της PS παρατείνοντας το χρόνο πήξης που βασίζεται σε PT, APTT ή dRVVT ενώ δεν επηρεάζει τις αντιγονικές μεθόδους.
- Επίδραση των DOACs στη μέτρηση της λειτουργικής PC: Η μέτρηση του αντιγόνου της PC με ανοσολογικές μεθόδους (ELISA) δεν επηρεάζεται. Όσον αφορά στη λειτουργικότητα, οι μέθοδοι που βασίζονται στην πήξη (PT, APTT) σαφώς δίνουν αυξημένη λειτουργία με την παρουσία DOACs ενώ αυτό δεν συμβαίνει με τις χρωμογονικές μεθόδους που θα πρέπει να προτιμώνται σε αυτή την περίπτωση.

- Επίδραση των DOACs στη μέτρηση της αντίστασης στην APC: Όταν η μέθοδος βασίζεται σε aPTT ή dRVVT τότε επηρεάζεται, εκτός ίσως από το arixaban και το rivaroxaban που δεν επηρεάζουν τη μέθοδο τη βασιζόμενη σε aPTT. Αντίθετα, σε μεθόδους βασιζόμενες στη προθρομβινάση τα δεδομένα είναι αντικρουόμενα με άλλους ερευνητές να υποστηρίζουν ότι επηρεάζονται και άλλους να μην βρίσκουν επίδραση.
- Επίδραση των DOACs στη μέτρηση του αντιπηκτικού του λύκου: Τα dabigatran, edoxaban και rivaroxaban μπορεί να αλλοιώσουν το αποτέλεσμα κυρίως του screening με dRVVT αλλά και λιγότερο του επιβεβαιωτικού τεστ που οδηγεί σε ψευδώς θετικό αποτέλεσμα. Το arixaban από την άλλη φαίνεται να επηρεάζει περισσότερο το επιβεβαιωτικό και σε μικρότερο βαθμό το dRVVT screen οπότε δίνει ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Έχουν κυκλοφορήσει μέθοδοι με αντιδραστήρια που επηρεάζονται εξίσου από τα DOACs οπότε δεν αλλάζει ο λόγος και άρα η ερμηνεία, ωστόσο αυτά μένει να αποδειχθούν με περαιτέρω μελέτες πριν ενσωματωθούν στην καθ' ημέρα πράξη.⁸²

Δύο λύσεις έχουν προταθεί για την άρση της δράσης των DOACs σε περίπτωση που δεν μπορεί ο κλινικός να περιμένει την ολοκλήρωση της θεραπείας ή αντενδείκνυται η διακοπή τους έστω και για μικρό χρονικό διάστημα.

Η πρώτη είναι η αναστροφή της δράσης τους με παράγοντες όπως το idarucizumab, andexanet alfa και το ciraparantag. Το idarucizumab φαίνεται ότι επιτυχώς αναστρέφει τη δράση του dabigatran ενώ δεν επηρεάζει τις εξετάσεις πήξης. Αντίθετα, το andexanet alfa δίνει ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα για το LA και περισσότερα ψευδώς θετικά για μέτρηση FVIII, FXI και APC-R. Τέλος, το ciraparantag που εμφανίζεται ως καθολικός αναστολέας όλων των αντιπηκτικών, επηρεάζει τις πηξιολογικές μεθόδους καθώς δεσμεύει χηλικούς παράγοντες του ασβεστίου όπως το κιτρικό νάτριο. Επιπρόσθετα, πρόκειται για μη ευρέως κυκλοφορούντα σε όλες τις χώρες και ιδιαίτερα ακριβά μόρια που περιορίζουν περαιτέρω τη χρήση τους στα εργαστήρια.

Η άλλη λύση είναι η χρήση προσροφητικών παραγόντων για την απομάκρυνση του φαρμάκου από το δείγμα, όπως π.χ ο ενεργός άνθρακας. Αν και μένει να μελετηθούν περισσότερο, αυτή η λύση φαίνεται ελπιδοφόρα, εύκολα προσβάσιμη και φθηνή.⁸¹⁻⁸²

Κεφάλαιο 4 Συμπεράσματα

Η θρομβοεμβολική νόσος που περιλαμβάνει την εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση αλλά και την πνευμονική εμβολή, αποτελεί μια από τις 5 κορυφαίες αγγειακές παθήσεις στις περισσότερες χώρες. Ο κίνδυνος για ΕΒΦ στη ζωή τους, υπολογίζεται σε 8% για τους ενήλικες που ζουν στις ΗΠΑ. Περίπου 20% των ατόμων με ΕΒΦ πεθαίνουν εντός 1 έτους από τη διάγνωση, άλλες φορές από ΕΒΘ και άλλες φορές από καταστάσεις που προκάλεσαν τη θρόμβωση.⁸³ (Lutsey PL, 2023)

Τα τελευταία 60 χρόνια οι γνώσεις μας για τις θρομβοφιλίες έχουν αλλάξει κατά πολύ. Γνωρίζουμε ότι υπάρχουν κληρονομούμενες καταστάσεις που μπορούν να διαγνωστούν εύκολα αλλά και επίκτητα αίτια που σχετίζονται με χαρακτηριστικά του ίδιου του ατόμου, του τρόπου ζωής του, της φαρμακευτικής αγωγής που λαμβάνει και συμπαρομαρτούντων νοσημάτων.

Από την πλευρά του κλινικού ιατρού, όσον αφορά στις κληρονομικές θρομβοφιλίες είναι απαραίτητη η διάγνωση του ατόμου που έπαθε τη θρόμβωση ώστε να δοθούν οι κατάλληλες οδηγίες και να γίνει έλεγχος και στους συγγενείς πρώτου βαθμού που μπορεί να φέρουν τη ίδια μετάλλαξη και άρα να κινδυνεύουν με θρόμβωση. Η γνώση αυτή μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη εμφάνισης ΕΒΦ ιδιαίτερα σε καταστάσεις που αυξάνουν τον κίνδυνο όπως π.χ. ορθοπαιδικές επεμβάσεις αλλά και στη δευτερογενή πρόληψη καθώς κάποια άτομα πρέπει να λάβουν εφ'όρου ζωής αντιπηκτική αγωγή.

Για τις επίκτητες θρομβοφιλίες, ίσως τη μεγαλύτερη σημασία έχει η διάγνωση του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου καθώς πρόκειται για κατάσταση που η έγκαιρη διάγνωσή της και θεραπεία μπορεί να είναι σωτήρια για τον ασθενή.

Τέλος, για τον κλινικό ιατρό η παρούσα εργασία μπορεί να είναι χρήσιμη στην επιλογή των ασθενών που πραγματικά χρειάζονται να υποβληθούν σε έλεγχο για θρομβοφιλία αλλά και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων των εξετάσεων που ζητούνται. Επιπρόσθετα, η χρήση των αντιπηκτικών σε ασθενείς με ΕΒΦ μπορεί να παρέμβει στη διάγνωση της θρομβοφιλίας οπότε η σωστή επικοινωνία μεταξύ του κλινικού και εργαστηριακού ιατρού είναι απαραίτητη για την επιλογή της κατάλληλης χρονικής στιγμής για τον έλεγχο και τη διακοπή ή μη φαρμάκων που μπορεί να επηρεάσουν το αποτέλεσμα.

Σε κάθε περίπτωση ο κάθε ασθενής θα πρέπει να εκτιμάται ξεχωριστά και εξατομικευμένα να αποφασίζεται αν θα υποβληθεί σε έλεγχο για θρομβοφιλία ιδιαίτερα αν ο έλεγχος αυτός θα καθορίσει το είδος και τη διάρκεια της θεραπείας και αν είναι καθοριστικός για τη διάγνωση συγγενικών προσώπων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, Chandy M, Dahlback B, Ginter EK, Miletich JP, Rosendaal FR, Seligsohn U.** "Inherited Thrombophilia: Part I". *Thromb Haemostat* 1996; 76(05):651-662
2. **Arachchillage DJ, Mackillop L, Chandratheva A, Motawani J, MacCallum P, Laffan M.** "Thrombophilia testing: A British Society for Haematology guideline". *Br J Haematol.* 2022 Aug;198(3):443-458
3. **Manco-Johnson MJ.** "Pediatric thrombophilia and thrombosis: an historical perspective". *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008:227
4. **Brotman DJ, Deitcher SR, Lip GY, Matzdorff AC.** "Virchow's triad revisited". *South Med J.* 2004 Feb;97(2):213-214
5. **Dahlbäck B, Hildebrand B.** "Inherited resistance to activated protein C is corrected by anticoagulant cofactor activity found to be a property of factor V." *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994 Feb 15;91(4):1396-1400
6. **Padda J, Khalid K, Mohan A, Pokriyal S, Batra N, Hitawala G, Cooper AC, Jean-Charles G.** "Factor V Leiden G1691A and Prothrombin Gene G20210A Mutations on Pregnancy Outcome". *Cureus.* 2021 Aug 15;13(8):e17185
7. **Rees DC, Cox M, Clegg JB.** "World distribution of factor V Leiden". *Lancet,* 1996 Oct 28;346(8983):1133-4
8. **Lee DH, Henderson PA, Blajchman MA.** "Prevalence of factor V Leiden in a Canadian blood donor population". *CMAJ.* 1996 Aug 1;155(3):285-289
9. **Kujovich JL.** "Factor V Leiden thrombophilia". *Genet Med* 2011 Jan;13(1):1-16
10. **Linnemann B, Hart C.** "Laboratory Diagnostics in Thrombophilia". *Hamostaseologie.* 2019 Feb;39(1):49-61
11. **Γαρυπίδου Β, Βακαλοπούλου Σ.** "Κληρονομική θρομβοφιλία: Παράγοντες-Επιδημιολογία-Παθοφυσιολογία". *Haema* 2014;5(1):1-13
12. **Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM.** "A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis". *Blood* 1996 Nov 15;88(10):3698-703
13. **Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, Arruda VR, Aiach M, Siscovick DS, Hillarp A, Watzke HH, Bernardi F, Cumming AM, Preston FE, Reitsma PH.**

- "Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant". *Thromb Haemost.* 1998 Apr 79(4):706-8
14. **Kujovich JL.** "Prothrombin Thrombophilia". 2006 Jul 25 [updated 2021 Feb 4]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2023
 15. **Lane DA, Kunz G, Olds RJ, Thein SL.** "Molecular genetics of antithrombin deficiency". *Blood Rev.* 1996 Jun;10(2):59-74
 16. **Mitsugyro M, Sakata T, Okamoto A, Kamera S, Kokubo Y, Tsutsumi Y, Sano M, Miyata T.** "Usefulness of antithrombin deficiency phenotypes for risk assessment of venous thromboembolism: type I deficiency as a strong risk factor for venous thromboembolism." *Int J Hematol.* 2010 Oct;92(3):468-73.
 17. **Montagnana M, Lippi G, Danese E.** "An Overview of Thrombophilia and Associated Laboratory Testing". *Methods Mol Biol.* 2017;1646:113-135.
 18. **Dinarvand P, Moser KA.** "Protein C Deficiency". *Arch Pathol Lab Med.* 2019 Oct;143(10):1281-1285
 19. **McGehee WG, Klotz TA, Epstein DJ, Rapaport SI.** "Coumarin necrosis associated with hereditary protein C deficiency". *Ann Intern Med.* 1984 Jul;101(1):59-60.
 20. **Branson HE, Katz J, Marble R, Griffin JH.** "Inherited protein C deficiency and coumarin-responsive chronic relapsing purpura fulminans in a newborn infant". *Lancet.* 1983 Nov 19;2(8360):1165-8.
 21. **Ichiyama M, Ohga S, Ochiai M, Fukushima K, Ishimura M, Torio M, Urata M, Hotta T, Kang D, Hara T.** "Fetal hydrocephalus and neonatal stroke as the first presentation of protein C deficiency". *Brain Dev.* 2016 Feb;38(2):253-6
 22. **Francis RB Jr.** "A simplified PTT-based protein C activity assay using the thrombin-thrombomodulin complex". *Thromb Res.* 1986 Feb 1;41(3):337-44.
 23. **Kottke-Marchant K, Comp P.** "Laboratory issues in diagnosing abnormalities of protein C, thrombomodulin, and endothelial cell protein C receptor". *Arch Pathol Lab Med.* 2002 Nov;126(11):1337-48.
 24. **Connors JM.** "Thrombophilia Testing and Venous Thrombosis". *N Engl J Med.* 2017 Sep 21;377(12):1177-1187.
 25. **García de Frutos P, Fuentes-Prior P, Hurtado B, Sala N.** "Molecular basis of protein S deficiency". *Thromb Haemost.* 2007 Sep;98(3):543-56

26. **Castoldi E, Hackeng TM.** "Regulation of coagulation by protein S". *Curr Opin Hematol.* 2008 Sep;15(5):529-36.
27. **Marlar RA, Gausman JN.** "Protein S abnormalities: a diagnostic nightmare." *Am J Hematol.* 2011 May;86(5):418-21.
28. **Dahlbäck B.** "The tale of protein S and C4b-binding protein, a story of affection". *Thromb Haemost.* 2007 Jul;98(1):90-6
29. **Lijfering WM, Brouwer JL, Veeger NJ, Bank I, Coppens M, Middeldorp S, Hamulyák K, Prins MH, Büller HR, van der Meer J.** "Selective testing for thrombophilia in patients with first venous thrombosis: results from a retrospective family cohort study on absolute thrombotic risk for currently known thrombophilic defects in 2479 relatives". *Blood.* 2009 May 21;113(21):5314-22
30. **Pintao MC, Ribeiro DD, Bezemer ID, Garcia AA, de Visser MC, Doggen CJ, Lijfering WM, Reitsma PH, Rosendaal FR.** "Protein S levels and the risk of venous thrombosis: results from the MEGA case-control study". *Blood.* 2013 Oct 31;122(18):3210-9
31. **Di Mine MN, Ambrosino P, Ageno W, Rosendaal F, Di Minno G, Dentali F.** "Natural anticoagulants deficiency and the risk of venous thromboembolism: a meta-analysis of observational studies". *Thromb Res.* 2015 May;135(5):923-32
32. **Dykes AC, Walker ID, McMahon AD, Islam SI, Tait RC.** "A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state". *Br J Haematol.* 2001 Jun;113(3):636-41
33. **Heijboer H, Brandjes DP, Büller HR, Sturk A, ten Cate JW.** "Deficiencies of coagulation-inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep-vein thrombosis". *N Engl J Med.* 1990 Nov 29;323(22):1512-6
34. **Marlar RA, Gausman JN, Tsuda H, Rollins-Raval MA, Brinkman HJM.** "Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH". *J Thromb Haemost.* 2021 Jan;19(1):68-74
35. **Baker P, Platton S, Gibson C, Gray E, Jennings I, Murphy P, Laffan M.** "British Society for Haematology, Haemostasis and Thrombosis Task Force. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis". *Br J Haematol.* 2020 Nov;191(3):347-362

36. **Koster T, Blann AD, Briët E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR.** "Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis". *Lancet*. 1995 Jan 21;345(8943):152-5.
37. **Van der Meer FJ, Koster T, Vandenbroucke JP, Briët E, Rosendaal FR.** "The Leiden Thrombophilia Study (LETS)". *Thromb Haemost*. 1997 Jul;78(1):631-5.
38. **Kraaijenhagen RA, in't Anker PS, Koopman MM, Reitsma PH, Prins MH, van den Ende A, Büller HR.** "High plasma concentration of factor VIIIc is a major risk factor for venous thromboembolism". *Thromb Haemost*. 2000 Jan;83(1):5-9
39. **Jenkins PV, Rawley O, Smith OP, O'Donnell JS.** "Elevated factor VIII levels and risk of venous thrombosis". *Br J Haematol*. 2012 Jun;157(6):653-63
40. **Long S, Goldblatt J.** "MTHFR genetic testing: Controversy and clinical implications". *Aust Fam Physician*. 2016 Apr;45(4):237-40
41. **Hickey SE, Curry CJ, Toriello HV.** "ACMG Practice Guideline: lack of evidence for MTHFR polymorphism testing". *Genet Med*. 2013 Feb;15(2):153-6
42. **Wilcken DE, Dudman NP.** "Mechanisms of thrombogenesis and accelerated atherogenesis in homocysteinaemia." *Haemostasis*. 1989;19 Suppl 1:14-23
43. **Den Heiner M, Koster T, Blom HJ, Bos GM, Briët E, Reitsma PH, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR.** "Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis". *N Engl J Med*. 1996 Mar 21;334(12):759-62
44. **Park WC, Chang JH.** "Clinical Implications of Methylenetetrahydrofolate Reductase Mutations and Plasma Homocysteine Levels in Patients with Thromboembolic Occlusion". *Vasc Specialist Int*. 2014 Dec;30(4):113-9
45. **Den Heiner M, Lewington S, Clarke R.** "Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies". *J Thromb Haemost*. 2005 Feb;3(2):292-9
46. **Clarke R, Bennett DA, Parish S, Verhoef P, Dötsch-Klerk M, Lathrop M, Xu P, Nordestgaard BG, Holm H, Hopewell JC, Saleheen D, Tanaka T, Anand SS, Chambers JC, Kleber ME, Ouwehand WH, Yamada Y, Elbers C, Peters B, Stewart AF, Reilly MM, Thorand B, Yusuf S, Engert JC, Assimes TL, Kooner J, Danesh J, Watkins H, Samani NJ, Collins R, Peto R; MTHFR Studies Collaborative Group.** "Homocysteine and coronary heart disease: meta-analysis of MTHFR case-control studies, avoiding publication bias". *PLoS Med*. 2012 Feb;9(2):e1001177

47. **Bezemer ID, Doggen CJ, Vos HL, Rosendaal FR.** "No association between the common MTHFR 677C->T polymorphism and venous thrombosis: results from the MEGA study". *Arch Intern Med.* 2007 Mar 12;167(5):497-501
48. **American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins–Obstetrics.** "ACOG Practice Bulletin No. 197: Inherited Thrombophilias in Pregnancy". *Obstet Gynecol.* 2018 Jul;132(1):e18-e34
49. **Sprengers ED, Kluft C.** "Plasminogen activator inhibitors". *Blood.* 1987 Feb;69(2):381-7
50. **Burzotta F, Di Castelnuovo A, Amore C, D'Orazio A, Di Bitondo R, Donati MB, Iacoviello L.** "4G/5G promoter PAI-1 gene polymorphism is associated with plasmatic PAI-1 activity in Italians: a model of gene-environment interaction". *Thromb Haemost.* 1998 Feb;79(2):354-8
51. **Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Båvenholm P, Hamsten A.** "Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction". *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Mar 14;92(6):1851-5
52. **Wang J, Wang C, Chen N, Shu C, Guo X, He Y, Zhou Y.** "Association between the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and risk of venous thromboembolism: a meta-analysis". *Thromb Res.* 2014 Dec;134(6):1241-8
53. **Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Rapti E, Mantzios G, Kapsimali V, Travlou A.** "Association between the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and venous thrombosis. A meta-analysis". *Thromb Haemost.* 2007 Jun;97(6):907-13
54. **Zhang Q, Jin Y, Li X, Peng X, Peng N, Song J, Xu M.** "Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphisms and risk of venous thromboembolism - a meta-analysis and systematic review". *Vasa.* 2020 Mar;49(2):141-146
55. **Emson HE.** "For the want of an heir: the obstetrical history of Queen Anne". *BMJ.* 1992 May 23;304(6838):1365-6
56. **Tincani A, Fontana G, Mackworth-Young C.** "The history of antiphospholipid syndrome". *Reumatismo.* 2023 Mar 21;74(4)
57. **Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA.** "International consensus

- statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS)". *J Thromb Haemost.* 2006 Feb;4(2):295-306
58. **Garcia D, Erkan D.** "Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome". *N Engl J Med.* 2018 May 24;378(21):2010-2021
 59. **Schreiber K, Sciascia S, de Groot PG, Devreese K, Jacobsen S, Ruiz-Irastorza G, Salmon JE, Shoenfeld Y, Shovman O, Hunt BJ.** "Antiphospholipid syndrome". *Nat Rev Dis Primers.* 2018 Jan 11;4:17103
 60. **Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, Martinuzzo M, Ortel TL, Pengo V, Rand JH, Tripodi A, Wahl D, Cohen H.** "Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation". *J Thromb Haemost.* 2020 Nov;18(11):2828-2839
 61. **Asherson RA, Cervera R, de Groot PG, Erkan D, Boffa MC, Piette JC, Khamashta MA, Shoenfeld Y; Catastrophic Antiphospholipid Syndrome Registry Project Group.** "Catastrophic antiphospholipid syndrome: international consensus statement on classification criteria and treatment guidelines". *Lupus.* 2003;12(7):530-4
 62. **Elyanamy G, Alzahrani AM, Bukhary E.** "Cancer-associated thrombosis: an overview". *Clin Med Insights Oncol.* 2014 Dec 4;8:129-37
 63. **Mukai M, Oka T.** "Mechanism and management of cancer-associated thrombosis". *J Cardiol.* 2018 Aug;72(2):89-93.
 64. **Kim AS, Khorana AA, McCrae KR.** "Mechanisms and biomarkers of cancer-associated thrombosis". *Transl Res.* 2020 Nov;225:33-53
 65. **Fernandes CJ, Morinaga LTK, Alves JL Jr, Castro MA, Calderaro D, Jardim CVP, Souza R.** "Cancer-associated thrombosis: the when, how and why". *Eur Respir Rev.* 2019 Mar 27;28(151):180119
 66. **Hasselbach HC, Elvers M, Schafer AI.** "The pathobiology of thrombosis, microvascular disease, and hemorrhage in the myeloproliferative neoplasms". *Blood.* 2021 Apr 22;137(16):2152-2160
 67. **Hultcrantz M, Björkholm M, Dickman PW, Landgren O, Derolf ÅR, Kristinsson SY, Andersson TML.** "Risk for Arterial and Venous Thrombosis in Patients With Myeloproliferative Neoplasms: A Population-Based Cohort Study". *Ann Intern Med.* 2018 Mar 6;168(5):317-325

68. **Tefferi A, Barbui T.** "Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management". *Am J Hematol.* 2020 Dec;95(12):1599-1613
69. **Papageorgiou L, Elalamy I, Vandreden P, Gerotziafas GT.** "Thrombotic and Hemorrhagic Issues Associated with Myeloproliferative Neoplasms". *Clin Appl Thromb Hemost.* 2022 Jan-Dec;28:10760296221097969
70. **Park SJ, Bejar R.** "Clonal Hematopoiesis in Aging". *Curr Stem Cell Rep.* 2018 Sep;4(3):209-219
71. **Chen Z, Zhang H, Qu M, Nan K, Cao H, Cata JP, Chen W, Miao C.** "Review: The Emerging Role of Neutrophil Extracellular Traps in Sepsis and Sepsis-Associated Thrombosis". *Front Cell Infect Microbiol.* 2021 Mar 17;11:653228
72. **Engelmann B, Massberg S.** "Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity". *Nat Rev Immunol.* 2013 Jan;13(1):34-45
73. **Iba T, Levy JH.** "Inflammation and thrombosis: roles of neutrophils, platelets and endothelial cells and their interactions in thrombus formation during sepsis". *J Thromb Haemost.* 2018 Feb;16(2):231-241
74. **Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, Machado FR, Mcintyre L, Ostermann M, Prescott HC, Schorr C, Simpson S, Wiersinga WJ, Alshamsi F, Angus DC, Arabi Y, Azevedo L, Beale R, Beilman G, Belley-Cote E, Burry L, Cecconi M, Centofanti J, Coz Yataco A, De Waele J, Dellinger RP, Doi K, Du B, Estenssoro E, Ferrer R, Gomersall C, Hodgson C, Møller MH, Iwashyna T, Jacob S, Kleinpell R, Klompas M, Koh Y, Kumar A, Kwizera A, Lobo S, Masur H, McGloughlin S, Mehta S, Mehta Y, Mer M, Nunnally M, Oczkowski S, Osborn T, Papanthanasoglou E, Perner A, Puskarich M, Roberts J, Schweickert W, Seckel M, Sevransky J, Sprung CL, Welte T, Zimmerman J, Levy M.** "Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021". *Intensive Care Med.* 2021 Nov;47(11):1181-1247
75. **Adelborg K, Larsen JB, Hvas AM.** "Disseminated intravascular coagulation: epidemiology, biomarkers, and management". *Br J Haematol.* 2021 Mar;192(5):803-818
76. **Mei H, Luo L, Hu Y.** "Thrombocytopenia and thrombosis in hospitalized patients with COVID-19". *J Hematol Oncol.* 2020 Dec 1;13(1):161

77. **Gómez-Mesa JE, Galindo-Coral S, Montes MC, Muñoz Martín AJ.** "Thrombosis and Coagulopathy in COVID-19". *Curr Probl Cardiol.* 2021 Mar;46(3):100742
78. **Joly BS, Coppo P, Veyradier A.** "Thrombotic thrombocytopenic purpura". *Blood.* 2017 May 25;129(21):2836-2846
79. **Devos T, Meers S, Boeckx N, Gothot A, Deeren D, Chatelain B, Chatelain C, Devalet B.** "Diagnosis and management of PNH: Review and recommendations from a Belgian expert panel". *Eur J Haematol.* 2018 Dec;101(6):737-749
80. **Middeldorp S, Naue C, Köhler C.** "Thrombophilia, Thrombosis and Thromboprophylaxis in Pregnancy: For What and in Whom?" *Hamostaseologie.* 2022 Feb;42(1):54-64
81. **Cohen H, Mackie IJ, Devreese KMJ; International Society for Thrombosis and Haemostasis Scientific and Standardization Committee for Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibodies.** "Clinical and laboratory practice for lupus anticoagulant testing: An International Society of Thrombosis and Haemostasis Scientific and Standardization Committee survey". *J Thromb Haemost.* 2019 Oct;17(10):1715-1732
82. **Siriez R, Dogné JM, Gosselin R, Laloy J, Mullier F, Douxfils J.** "Comprehensive review of the impact of direct oral anticoagulants on thrombophilia diagnostic tests: Practical recommendations for the laboratory". *Int J Lab Hematol.* 2021 Feb;43(1):7-20
83. **Lutsey PL, Zakai NA.** "Epidemiology and prevention of venous thromboembolism". *Nat Rev Cardiol.* 2023 Apr;20(4):248-262