



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΤΤΙΣΕΩΝ

Επιστημονική Υπεύθυνη: Ομότιμη Καθηγήτρια Ωρ. Σ. Τραυλού

Διπλωματική Εργασία

«ΠΑΡΑΤΑΣΗ ΧΡΟΝΟΥ ΜΕΡΙΚΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΛΑΣΤΙΝΗΣ:

ΜΕΛΕΤΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ»

ΟΝΟΜΑ : ΚΟΚΟΤΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ : ΓΙΑΛΕΡΑΚΗ ΑΡΓΥΡΗ

Ακαδημαϊκό Έτος : 2013-2014

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Την κα Ανθή Τραυλού, για την ευκαιρία

Την κα Ρένια Γιαλεράκη, για την καθοδήγηση

Την κα Ελισσάβετ Γρουζή, για την υποστήριξη

Την Αναστασία, για τη βοήθεια

Τον Ηλία, για την κατανόηση

Την κα Πηνελόπη Παρασκευοπούλου, διευθύντρια του αιματολογικού εργαστηρίου του Κωνσταντοπούλειου Γενικού Νοσοκομείου “Η Αγία Όλγα”, για την ηθική συμπαράσταση.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1) ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
2) ΑΡΤΤ.....	6
a) Μέθοδος προσδιορισμού.....	6
3) ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΑΡΤΤ.....	9
4) ΟΔΗΓΙΕΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	10
5) ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΟΝΤΟΤΗΤΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΠΑΡΑΤΑΣΗ ΑΡΤΤ.....	11
6) ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ.....	11
7) ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ.....	13
a) κλινικά κριτήρια.....	13
b) εργαστηριακά ευρήματα.....	14
c) ανίχνευση αντιπηκτικού του λύκου.....	14
8) ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ	
 ΛΑ.....	15
9) ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	16
a) Σύνθεση.....	16
b) Προφυλάξεις.....	16
c) Προετοιμασία για χρήση.....	16
d) Οδηγίες φύλαξης.....	16
e) Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων.....	16
f) Διαδικασίες εξέτασης.....	17
g) Αποτελέσματα.....	17
h) Μέθοδος ανάμιξης.....	19
i) Περιορισμοί της διαδικασίας.....	19
j) Αναμενόμενες τιμές.....	20

ΠΑΡΑΤΑΣΗ ΑΡΤΤ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ.....	20
10) ΚΛΑΣΙΚΗ ΜΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΗΠΑΡΙΝΗ.....	20
11) ΧΑΜΗΛΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΗΠΑΡΙΝΕΣ.....	22
a) Παρενέργειες ηπαρινών.....	23
12) ΝΕΟΤΕΡΑ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ.....	25
a) Dabigatran.....	26
b) Πεντοσακχαρίτης fondaparinux.....	27
c) Rivaroxaban.....	28
d) Apixaban.....	28
13) ΕΛΛΕΙΨΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΗΣ.....	29
14) ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ VON WILLEBRAND.....	31
15) ΝΟΣΟΣ VON WILLEBRAND.....	32
a) Κλινικά ευρήματα.....	32
b) Εργαστηριακά ευρήματα.....	33
16) ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΗΣ (ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ).....	35
17) ΣΗΨΗ.....	40
18) ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ.....	43
a) ΠΡΟΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ.....	45
b) ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ.....	46
i) Ακρίβεια.....	47
ii) Επαναληψιμότητα.....	48
iii) Ευχρηστότητα.....	51

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (PTT) ή ο ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) είναι μία εργαστηριακή δοκιμασία, η οποία ελέγχει τη διαδικασία πήξης του αίματος.

Εκτός από την ανίχνευση ανωμαλιών στην διαδικασία της πήξης, χρησιμοποιείται, επίσης, για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με αντιπηκτικά φάρμακα, όπως η ηπαρίνη.

Ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης αποτελεί δείκτη τόσο της ενδογενούς όσο και της κοινής οδού στον “καταρράκτη” της πήξης.

Η απροσδόκητη παράταση του APTT, σε έλεγχο ρουτίνας, αποτελεί εργαστηριακό εύρημα, που μπορεί να αντανakλά θρομβωτική ή αιμορραγική διαταραχή ή, ακόμα, να πρόκειται για τυχαίο εύρημα που δεν σχετίζεται με αιμορραγική ή θρομβωτική διάθεση.

Σε κάθε περίπτωση, απαιτείται εξειδικευμένος εργαστηριακός έλεγχος, με σκοπό τη διευκρίνιση των αποτελεσμάτων και την ένταξή τους σε συγκεκριμένες κλινικές οντότητες.

SUMMARY

An unexpectedly detected prolonged activated partial thromboplastin time (APTT) can be a harmless laboratory finding, but can also reflect a thrombotic tendency or a bleeding disorder.

The assistance of laboratory professionals in the interpretation of an unexpectedly detected prolonged APTT (uAPTT) is often required.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΑΡΤΤ

Ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (PTT) ή ο ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (ΑΡΤΤ) είναι μία ιατρική εξέταση, η οποία ελέγχει την ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης του αίματος.

Εκτός από την ανίχνευση ανωμαλιών στην διαδικασία της πήξης, χρησιμοποιείται, επίσης, για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με αντιπηκτικά φάρμακα, όπως η ηπαρίνη.^{2,3}

Ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης αποτελεί δείκτη τόσο της ενδογενούς όσο και της κοινής οδού στον “καταρράκτη” της πήξης.^{2,3,5}

Μέθοδος προσδιορισμού

Η δοκιμασία πραγματοποιείται σε εξειδικευμένα εργαστήρια, στους 37°C (εξομοίωση της φυσιολογικής θερμοκρασίας του ανθρώπινου σώματος). Η εξέταση χαρακτηρίζεται ως **μερική**, εξαιτίας της απουσίας του ιστικού παράγοντα από το μείγμα της αντίδρασης.^{1,5,6}

Το, προς εξέταση, αίμα, συλλέγεται σε σωληνάριο εξέτασης, που περιέχει οξαλικό ή κιτρικό νάτριο, τα μόρια των οποίων δρουν σαν αντιπηκτικό, δεσμεύοντας το Ca του δείγματος.

Στην συνέχεια, το δείγμα φυγοκεντρείται, ώστε να διαχωριστούν τα κύτταρα του αίματος από το πλάσμα. Ποσότητα πλάσματος μεταφέρεται σε σωλήνα μέτρησης, προστίθεται Ca και ένας ενεργοποιητής της ενδογενούς οδού.²

Η ανάλυση ενεργοποιείται με την προσθήκη διαλύματος κεφαλίνης ή διαλύματος κεφαλίνης με εναιώρημα καολίνης, μαζί με χλωριούχο ασβέστιο. Οι ουσίες αυτές, ενεργοποιούν τον παράγοντα XII και μέσω αυτού, ολόκληρο το σύστημα πήξης για να καταλήξουν στο σχηματισμό πηγματος ινικής, 35-52 δευτερόλεπτα αργότερα.

Η **ευαισθησία της μεθόδου** εξαρτάται από τον τύπο του ενεργοποιητή και του φωσφολιπιδίου που χρησιμοποιείται. Μετράται, οπτικά, ο χρόνος που απαιτείται για το σχηματισμό θρόμβου στο δείγμα.^{3,5}

Σήμερα, η μέτρηση του APTT γίνεται με αυτοματοποιημένες μεθόδους, με την χρήση μηχανημάτων, όπου ελέγχονται, χωρίς προβλήματα, ακόμα και ικτερικά ή λιπαιμικά δείγματα.

Οι **φυσιολογικές τιμές μέτρησης κυμαίνονται μεταξύ 30-50 sec** (εξαρτάται από το εργαστήριο).

Ελάττωση του χρόνου APTT κάτω του φυσιολογικού, φαίνεται να έχει μικρή κλινική σημασία, αν και μερικές μελέτες έχουν δείξει πως ίσως σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης.³

Ο φυσιολογικός χρόνος APTT απαιτεί την παρουσία των I,II,V,VIII,IX,X,XI και XII παραγόντων πήξης. Να σημειωθεί ότι η έλλειψη των παραγόντων VII και XIII δεν ανιχνεύεται με την εξέταση APTT.

Παράταση του χρόνου APTT, συνήθως, παρατηρείται:

- Σε χρήση ηπαρίνης
- Παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων
- Έλλειψη παραγόντων πήξης
- Σήψη
- Παρουσία αντισωμάτων έναντι των παραγόντων πήξης (αναστολείς παραγόντων).

Το APTT (Χρόνος Μερικής Θρομβοπλαστίνης) χρησιμοποιείται, επίσης, για την **παρακολούθηση της θεραπείας με ηπαρίνη**.

Η ηπαρίνη αδρανοποιεί την προθρομβίνη και εμποδίζει το σχηματισμό της θρομβοπλαστίνης. Έτσι, σε συνθήκες στις οποίες είναι απαραίτητη η πρόληψη σχηματισμού θρόμβου, χορηγείται ηπαρίνη, συνήθως, με τη μορφή της συνεχούς ενδοφλέβιας έγχυσης.¹⁰

Είναι σημαντικό, η απόκριση του ασθενούς, σε αυτή την αντιπηκτική θεραπεία, να είναι η κατάλληλη, δηλαδή αρκετή για την πρόληψη σχηματισμού θρόμβου, αλλά όχι τόσο μεγάλη που να προκαλεί αυτόματη αιμορραγία. Αυτή η λεπτή ισορροπία μπορεί να παρακολουθείται μέσω της χρήσης του ΑΡΤΤ.

Το ΑΡΤΤ είναι χρήσιμο, εκτός από την παρακολούθηση της θεραπείας με ηπαρίνη (μη κλασματοποιημένης), για τον έλεγχο έλλειψης των κυριότερων παραγόντων πήξης και για την ανίχνευση αναστολέων παραγόντων πήξεως, ειδικών και μη ειδικών.^{10,13}

Η μέτρηση του ενεργοποιημένου χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης, αντανακλά τη δραστηριότητα από τους περισσότερους παράγοντες πήξεως, συμπεριλαμβανόμενων, του παράγοντα XII και άλλων παραγόντων επαφής (προκαλκρεΐνης και υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο), καθώς, και των παραγόντων XI, IX και VIII της ενδογενούς, προπηκτικής οδού, όπως, επίσης, των παραγόντων πήξης της κοινής, προπηκτικής οδού, που περιλαμβάνει τους παράγοντες X, V, II και ινωδογόνου (παράγοντας I).^{10,13}

Το ΑΡΤΤ, επίσης, εξαρτάται από την παρουσία φωσφολιπιδίων και ασβεστίου, δρα σαν ενεργοποιητής των παραγόντων επαφής, αλλά δεν ελέγχει την εξωγενή προπηκτική οδό, που περιλαμβάνει τον παράγοντα VII και τον ιστικό παράγοντα, ούτε την δραστηριότητα του παράγοντα XIII (παράγων σταθεροποιητής του ινώδους).¹³

Το ΑΡΤΤ είναι, ποικιλοτρόπως, ευαίσθητο, στην παρουσία ειδικών και μη ειδικών αναστολέων της ενδογενούς και της κοινής οδού, συμπεριλαμβανομένου, των **αντιπηκτικών του λύκου και των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων**.

Τα αντιπηκτικά του λύκου, μπορεί να παρεμβαίνουν, *in vitro*, στις φωσφολιπιδιοεξαρτούμενες μεθόδους ελέγχου πήξης, όπως το ΑΡΤΤ, με παράταση του χρόνου σχηματισμού θρόμβου.

Τα αντιπηκτικά του λύκου είναι αντισώματα, τα οποία κατευθύνονται έναντι **νεοεπιτόπων** που εμφανίζονται σε συμπλέγματα πρωτεϊνών και φωσφολιπιδίων όπως η προθρομβίνη (παράγοντας II), η β2 γλυκοπρωτεΐνη I, αλλά, αυτά τα αντισώματα δεν αναστέλλουν, ειδικά, κάποιον παράγοντα πήξης.

Στην κλινική πράξη, τα αντισώματα του λύκου αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό **δείκτη προπηκτικής διάθεσης**. Αντίθετα, ασθενείς με ειδικούς αναστολείς παραγόντων πήξης, όπως ο αναστολέας του παράγοντα VIII, έχουν ένα σημαντικό κίνδυνο αιμορραγίας και συχνά απαιτούν ειδική θεραπεία. Και οι δύο παραπάνω διαταραχές, εκφράζουν παράταση του APTT.

Είναι σημαντικό για την εργαστηριακή μέθοδο, να καθοριστεί μια σχέση μεταξύ του APTT και της συγκέντρωσης της ηπαρίνης. **Το θεραπευτικό εύρος της τιμής του APTT, σε δευτερόλεπτα, θα πρέπει να ανταποκρίνεται σε συγκέντρωση ηπαρίνης από 0,3-0,7U/ml.**

Μείωση του χρόνου του APTT, συνήθως, αντανακλά **αύξηση της δραστηριότητας του παράγοντα VIII**, in vino, που συχνά συμβαίνει, σε συνδυασμό με οξεία ή χρόνια ασθένεια ή φλεγμονή ή σε δυσκολία της λήψης του δείγματος και σε κακή ποιότητα αυτού.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΟΥ ΧΡΟΝΟΥ APTT

Η αιμορραγική διάθεση είναι η κυριότερη κλινική έκφραση της παράτασης του χρόνου APTT.

Προϋπόθεση για τη διευκρίνιση και τη σωστή αντιμετώπισή της, αποτελεί η λήψη λεπτομερούς ιστορικού και η πραγματοποίηση καλής κλινικής εξέτασης.¹⁶

Ιστορικό

- Είδος αιμορραγίας
- Βαρύτητα και διάρκεια της αιμορραγίας
- Εντοπισμένη ή διάχυτη
- Προκλητή ή αυτόματη
- Λήψη φαρμάκων
- Ατομικό ιστορικό
- Οικογενειακό ιστορικό

Κλινική εξέταση

Αναζήτηση σημείων:

- Αιμορραγικής διάθεσης
- Ηπατοπάθειας
- Νεφρικής νόσου
- Αιματολογικής νόσου

Με κλινική εικόνα, ύποπτη για, περαιτέρω, διερεύνηση:

- Οιδήματα
- Ασκίτης
- Ηπατομεγαλία
- Σπληνομεγαλία
- Ωχρότητα
- Ίκτερος
- Γυναικομαστία
- Λεμφαδενοπάθεια

Η αιμορραγική διάθεση στο παρατεταμένο APTT παρουσιάζει διακυμάνσεις, από κανένα σημείο αιμορραγίας ως βαριά αιμορραγικά συμβάντα, που αντανακλούν σοβαρή διαταραχή στον μηχανισμό πήξης.¹⁶

	Πρωτοπαθής αιμόσταση	Πήξη
Εντόπιση αιμορραγίας	Δέρμα, Βλεννογόνοι (επιστάξεις, ΓΕΣ, μηνορραγίες)	Μύες, Αρθρώσεις, Οπισθοπεριτόναιο, Κεφαλαιμάτωμα
Πετέχειες	Ναι	Όχι
Εκχυμώσεις	Μικρές, επιφανειακές	Μεγάλες, βαθιές Αιματώματα
Αιμορραγία μετά από κοψίματα	Ναι	Όχι
Αιμορραγία μετά από επέμβαση ή τραύμα	Άμεσα	Καθυστερημένα μετά 1 - 2 ημέρες

ΟΔΗΓΙΕΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ¹³

- Αιμοληψία από περιφερική φλέβα, με σωληνάρια κενού αέρος
- Χρησιμοποιείται βελόνα διαμέτρου 19-22 gauge (μικρότερη ή μεγαλύτερη διάμετρος μπορεί να προκαλέσει αιμόλυση).
- Αν λαμβάνεται το δείγμα από κεντρικό φλεβικό καθετήρα, χορηγούμε πρώτα 5ml NS 0,9%, στη συνέχεια, απορρίπτουμε 5ml αίματος, και στην συνέχεια λαμβάνουμε το δείγμα.
- Σιγουρευόμαστε ότι το σωληνάριο του δείγματος έχει γεμίσει επαρκώς ώστε στο εσωτερικό του να υπάρχουν εννέα μέρη δείγματος και ένα μέρος αντιπηκτικού.
- Σωληνάρια γεμισμένα λιγότερο από το 90% δεν γίνονται δεκτά (παράταση των εξεταζόμενων χρόνων πήξης). **Ποτέ** δεν συνδυάζουμε δύο μισογεμισμένα σωληνάρια για να φτιάξουμε ένα γεμάτο.
- Για περισσότερη ασφάλεια, λαμβάνουμε 3ml αίματος σε σωληνάριο προς απόρριψη και στην συνέχεια λαμβάνουμε το αίμα στο ειδικό σωληνάριο συλλογής.
- Αποφεύγουμε να «ταλαιπωρήσουμε» την φλέβα από την οποία λαμβάνουμε το δείγμα (ενεργοποίηση παραγόντων πήξης).
- Αποφεύγεται η παρατεταμένη ανάδευση του δείγματος, η οποία, πρέπει να γίνεται ηπίως.
- Στα δείγματα τοποθετείται ετικέτα με τα στοιχεία του ασθενούς, παρουσία του.
- Τα δείγματα στέλνονται στο εργαστήριο σε θερμοκρασία δωματίου εντός **ΜΙΑΣ** ώρας από την αιμοληψία, **εκτός των δειγμάτων που περιέχουν ηπαρίνη, που πρέπει να στέλνονται αμέσως.**
- Δεν πρέπει να αποστέλλονται μέσω σωληνωτού ταχυδρομείου.
- Η αιμόλυση προκαλεί ψευδή ελάττωση του χρόνου πήξης

ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (ΑΦΑ), δηλαδή, τα **αντικαρδιολιπινικά αντισώματα, το αντιπηκτικό του λύκου και τα αντισώματα έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης (αντι-β2GPI)**, είναι αντισώματα κατά φωσφολιπιδίων ή πρωτεϊνών, οι οποίες, συνδέονται με αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια.¹¹

Τα ΑΦΑ στρέφονται, κυρίως, **έναντι της φωσφατιδυλοσερίνης**, η οποία, φυσιολογικά, εντοπίζεται στην εσωτερική πλευρά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και, για να δεσμευθούν με αυτήν, πρέπει να επισυμβεί διαταραχή στην κατανομή των λιπιδίων, όπως π.χ. κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

Τα ΑΦΑ στρέφονται, επίσης, **έναντι της καρδιολιπίνης**, που εντοπίζεται στις μεμβράνες των μιτοχονδρίων. Σήμερα, γνωρίζουμε, ότι τα ΑΦΑ έναντι της καρδιολιπίνης αναγνωρίζουν κυρίως το σύμπλεγμα της καρδιολιπίνης με μια πρωτεΐνη του ορού, την **β2-γλυκοπρωτεΐνη Ι (β2GPI)**.^{23,62}

Η β2GPI πρωτεΐνη παράγεται, κυρίως, στο ήπαρ και έχει αντιπηκτική δραστηριότητα, αναστέλλοντας την ενδογενή οδό πήξης, την εξαρτωμένη από το ADP συσσώρευση των αιμοπεταλίων και την παραγωγή ενεργοποιημένου παράγοντα Χ. Δεσμεύεται στα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια και, κυρίως, στην καρδιολιπίνη και αναγνωρίζεται από τα ΑΦΑ ως στόχος με την δημιουργία ενός νέου ή την αποκάλυψη ενός «κρυμμένου» επιτόπου στο μόριο της.

Τα ΑΦΑ που σχετίζονται με το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, είναι αντι β2GPI-εξαρτώμενα, ενώ τα ΑΦΑ που συνδέονται με καρδιολιπίνη ή άλλα φωσφολιπίδια, ανεξαρτήτως της παρουσίας β2GPI, σχετίζονται, κυρίως, με λοιμώξεις και άλλες, μη αυτοάνοσες, καταστάσεις.

Το αντιπηκτικό του λύκου (LA), αποτελεί παράγοντα του πλάσματος, ο οποίος, δρα ως επίκτητος ανασταλτής και εμποδίζει σε vitro δοκιμασίες πήξεως, οι οποίες εξαρτώνται από τα φωσφολιπίδια, την μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη, με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης, ενώ ο χρόνος προθρομβίνης παραμένει φυσιολογικός.^{11,21,23}

Το ΑΛ αποτελεί μια ετερογενή ομάδα αντισωμάτων, που, ενώ in vitro, παρουσιάζει αντιπηκτική δράση, in vivo σχετίζεται με/ή επάγει θρομβώσεις.

Αρκετές πρωτεΐνες έχουν αναγνωρισθεί ως αντιγονικοί στόχοι του ΑΛ, όπως η προθρομβίνη, η β2GPI, η αννεξίνη V (πλακουντιακή αντιπηκτική πρωτεΐνη Ι), κινινογόνα χαμηλού και υψηλού μοριακού βάρους καθώς, και οι πρωτεΐνες C και S.

Τα, ευρέως, εργαστηριακά προσδιοριζόμενα, αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα είναι:

1. Το αντιπηκτικό του λύκου (LA)
2. Τα αντικαρδιολιπικά αντισώματα aCL (IgG και IgM)
3. Τα αντισώματα αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνη Ι (IgG και IgM).

Τα καινούρια αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, τα οποία, θα προσδιορίζονται, στο άμεσο μέλλον, στα ανοσολογικά εργαστήρια είναι:³⁵

1. Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα IgA,
2. Αντισώματα αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνης I (IgA),
3. Αντισώματα έναντι προθρομβίνης,
4. Αντισώματα έναντι πρωτεΐνης C,
5. Αντισώματα έναντι φωσφατιδυλοσερίνης,
6. Αντισώματα του συμπλέγματος φωσφατιδυλοσερίνης-προθρομβίνης(aPS/PT)
7. Αντισώματα έναντι αννεξίνηςV,
8. Ένα μείγμα διαφορετικών φωσφολιπιδίων (AphLELISAkitt)

ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Ο όρος, **αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (ΑΦΣ)**, περιλαμβάνει όλο το φάσμα των κλινικών και εργαστηριακών εκδηλώσεων που απορρέουν από την παρουσία αντισωμάτων έναντι των φωσφολιπιδίων ή/και των συμπαράγοντων τους.^{60,61}

Χαρακτηρίζεται από **αρτηριακές και φλεβικές θρομβώσεις**, υποτροπιάζουσες αποβολές, θρομβοπενία, αιμολυτική αναιμία και νευρολογικές εκδηλώσεις, σε συνδυασμό με την παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων.

Το ΑΦΣ διακρίνεται σε **πρωτοπαθές**, όταν δεν συνυπάρχει με άλλη νόσο και **δευτεροπαθές**, όταν αναπτύσσεται σε άτομα με αυτοάνοσα ή άλλα νοσήματα (π.χ. ΣΕΛ, ρευματοειδής αρθρίτιδα, αγγειίτιδες, νόσος Crohn).

Ο όρος, ΑΦΣ, χρησιμοποιήθηκε, αρχικά, για να περιγράψει μια ομάδα κλινικών εκδηλώσεων που σχετίζονταν, αρχικά, με επανειλημμένως, θετικά αντικαρδιολιπινικά αντισώματα και αντιπηκτικό του λύκου.

Από το 1998, τέθηκαν ενιαία διαγνωστικά κριτήρια για το σύνδρομο (Σαπόρο Ιαπωνίας), βασισμένο σε κλινικές και εργαστηριακές έρευνες. **Η διάγνωση θεωρείται βέβαια, όταν είναι παρόντα, τουλάχιστον, ένα από τα κλινικά και ένα από τα εργαστηριακά κριτήρια.**^{61,62}

Κλινικά κριτήρια

1. Αγγειακές θρομβώσεις : ένα ή περισσότερα επεισόδια αρτηριακής, φλεβικής ή μικροαγγειακής θρόμβωσης, σε οποιονδήποτε ιστό ή όργανο
2. Νοσηρότητα κύησης

α. Ένας ή περισσότεροι ανεξήγητοι θάνατοι, μορφολογικώς, φυσιολογικού εμβρύου, κατά ή μετά την 10^η εβδομάδα της κύησης

β. Ένας ή περισσότεροι πρόωροι τοκετοί, μορφολογικώς, φυσιολογικού νεογνού κατά ή πριν την 34^η εβδομάδα της κύησης λόγω σοβαρής προεκλαμψίας ή εκλαμψίας ή σοβαρήςπλακουντιακής ανεπάρκειαςή

γ. Τρεις ή περισσότερες, ανεξήγητες, διαδοχικές, αυτόματες αποβολές πριν από την 10^η εβδομάδα της κύησης, αφού έχουν αποκλειστεί ανατομικές ή ορμονικές ανωμαλίες μητέρας, καθώς και χρωμοσωμικές ανωμαλίες πατέρα ή μητέρας.¹⁰

Εργαστηριακά ευρήματα

1. Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα, τύπου IgG ή/και IgM, σε μέτριους ή υψηλούς τίτλους, με μέθοδο ELIZA, σε 2 ή περισσότερες μετρήσεις, με μεσοδιάστημα τουλάχιστον έξι εβδομάδων
2. Αντιπηκτικό τύπου λύκου στο πλάσμα σε δύο ή περισσότερους ελέγχους, με μεσοδιάστημα τουλάχιστον έξι εβδομάδων.
Η ανίχνευσή τους πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες της διεθνούς εταιρείας Θρόμβωσης και Αιμόστασης ως ακολούθως:
Α. Παράταση εξαρτωμένης από φωσφολιπίδια δοκιμασίας διαλογής (π.χ. APTT, χρόνος καολίνης)
Β. Αδυναμία διόρθωσης της παράτασης αυτής με ανάμιξης με φυσιολογικό πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια
Γ. Βράχυνση ή διόρθωση της παράτασης της δοκιμασίας διαλογής με προσθήκη περίσσειας φωσφολιπιδίων
Δ. Αποκλεισμός άλλων αιτίων διαταραχής πηκτικότητας (π.χ. λήψη ασπιρίνης ,ανασταλτής του FVIII).

Ανίχνευση αντιπηκτικού του λύκου

Παραδοσιακά, η ανίχνευση των αντιπηκτικών λύκου (LA) γινόταν με χρήση εξετάσεων πήξης, αντιδραστικών σε φωσφολιπίδια,όπως ο χρόνος

ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT), ο χρόνος πήξης καολίνης (KCT) και DRVV (Dilute Russell's Viper Venom), τα οποία έχουν αντιπηκτική επίδραση.^{23,59}

Ο χρόνος DRVV έγινε για πρώτη φορά δημοφιλής, μετά την δημοσίευση από τους Thiagarajan και συν., το 1986.

Στην συνέχεια, η μέθοδος απλοποιήθηκε και τυποποιήθηκε.

Σύμφωνα με τους Petri και συν., η θρόμβωση, σε ασθενείς με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (SLE), συνδέεται πιο στενά με LA που ανιχνεύονται από την DRVVT, παρά με αντισώματα αντικαρδιολιπίνης που ανιχνεύονται με ενζυμικούς ανοσοπροσροφητικούς προσδιορισμούς.⁵⁹

Αυτή η παρατήρηση επεκτάθηκε, περαιτέρω, πρόσφατα, από τους Galli και Bevers, οι οποίοι έδειξαν, ότι ο υποτύπος LA με την μεγαλύτερη επίδραση σε εξετάσεις DRVVT είναι εξαρτώμενος από τη β2-γλυκοπρωτεΐνη 1 και διαφορετικός από τον υποτύπο LA που απαιτεί προθρομβίνη και που έχει πιο παρατεταμένη επίδραση σε εξετάσεις KCT.

ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ^{60,61}

1. Το δηλητήριο έχιδνας του Russell που υπάρχει στο αντιδραστήριο ανίχνευσης LA1 πυροδοτεί την πήξη του πλάσματος μέσω άμεσης ενεργοποίησης του παράγοντα X. Αντισώματα LA παρατείνουν το χρόνο πήξης του αντιδραστήριου ανίχνευσης.

2. Το αντιδραστήριο επιβεβαίωσης LA2 είναι παρόμοιο με το αντιδραστήριο ανίχνευσης LA1 αλλά περιέχει υψηλή συγκέντρωση φωσφολιπιδίων. Τα, επιπλέον, φωσφολιπίδια, εξουδετερώνουν τα αντισώματα LA και διορθώνουν, κατά πολύ, το χρόνο πήξης.

3. Η εξέταση DRVV «παρακάμπτει» τον παράγοντα VII της εξωγενούς οδού, τους παράγοντες επαφής και αντιαιμοφιλικούς παράγοντες της ενδογενούς οδού. Συνεπώς, το αντιδραστήριο ανίχνευσης LA1 είναι, περισσότερο, ειδικό για τους LA, απ'ότι το APTT, καθώς δεν επηρεάζονται από ανωμαλίες του παράγοντα επαφής ή ανεπάρκειες ή αντισώματα του παράγοντα VIII.

Έχουν αναπτυχθεί διάφορες δοκιμασίες που βασίζονται στη φωσφολιπιδική διόρθωση, ωστόσο, καμία δεν είναι τόσο εύχρηστη όσο το αντιδραστήριο επιβεβαίωσης LA2 σε συνέχεια του αντιδραστήριου ανίχνευσης LA1.

4. Οι εξετάσεις ανάμιξης μπορεί να είναι χρήσιμες για την εξαίρεση ανεπαρκειών παραγόντων II, V και X, που μπορεί να παρατείνουν τα αποτελέσματα του αντιδραστήριου ανίχνευσης LA1 και του αντιδραστήριου επιβεβαίωσης LA2.

Η ανάμιξη φυσιολογικού πλάσματος με εξεταζόμενο πλάσμα αναπληρώνει οποιουσδήποτε ελλειπείς παράγοντες στο εξεταζόμενο πλάσμα. Εάν η εξέταση ανάμιξης εξακολουθεί να είναι παρατεταμένη, αυτό υποδηλώνει την παρουσία ενός αναστολέα, (όπως LA,) στο εξεταζόμενο πλάσμα. Ένας κυκλοφορών αναστολέας, συνήθως, υποδηλώνεται από το αποτέλεσμα παρατεταμένου χρόνου πήξης, το οποίο, δεν διορθώνεται με την ανάμιξη πλάσματος ασθενούς με φυσιολογικό πλάσμα.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ

Σύνθεση

Το αντιδραστήριο ανίχνευσης LA1 και το αντιδραστήριο επιβεβαίωσης LA2 περιέχουν δηλητήριο έχιδνας του Russell, φωσφολιπίδια, αντιπηκτικούς παράγοντες, ασβέστιο, ρυθμιστικά διαλύματα, σταθεροποιητικούς παράγοντες, αζίδιο του νατρίου και χρωστικές.

Προφυλάξεις

Μόνο για διαγνωστική χρήση invitro

Κατά την απόρριψη αζιδίου, εκπνέουμε, πάντα, με άφθονο νερό, προς αποφυγήν της πιθανότητας σχηματισμού εκρηκτικού ιζήματος στις μεταλλικές σωληνώσεις.

Προετοιμασία για χρήση

Ανασύσταση με τον όγκο απιονισμένου ύδατος που αναγράφεται στο φιαλίδιο. Καλή ανάμιξη, αναστρέφοντας, για να διασφαλιστεί η πλήρης επανεναιώρηση του λυοφιλοποιημένου υλικού.

Οδηγίες φύλαξης

Τα λυοφιλοποιημένα αντιδραστήρια παραμένουν σταθερά, τουλάχιστον, έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2 έως 8°C. Μετά την ανασύσταση, τα αντιδραστήρια μπορούν να φυλάσσονται για 8 ώρες στους 37°C, 24 ώρες στους 20 έως 25°C, 48 ώρες στους 2 έως 8°C και έναν μήνα στους -20°C.

Συλλογή και προετοιμασία των δειγμάτων

Συλλογή και επεξεργασία του αίματος σύμφωνα με το πρότυπο H21-A3 της NCCLS:

Συλλογή, μεταφορά και επεξεργασία δειγμάτων αίματος για εξετάσεις πήξης και τη γενική απόδοση προσδιορισμών πήξης, εγκεκριμένη κατευθυντήρια οδηγία: - 3^η έκδοση (1998).

Το διαχωρισμένο πλάσμα πρέπει να φυλάσσεται στους 2 έως 8° και να εξετάζεται εντός 4 ωρών από τη συλλογή . Εάν τα δείγματα πρόκειται να καταψυχθούν πριν από την εξέταση, το πλάσμα πρέπει να υποβληθεί σε διπλή φυγοκέντρηση για την αφαίρεση αιμοπεταλίων, (κάτω από τα 10X 10/L), πριν την κατάψυξη, καθώς τα αιμοπετάλια μπορεί να μειώσουν το χρόνο πήξης του αντιδραστηρίου ανίχνευσης LA1.

Διαδικασία της εξέτασης

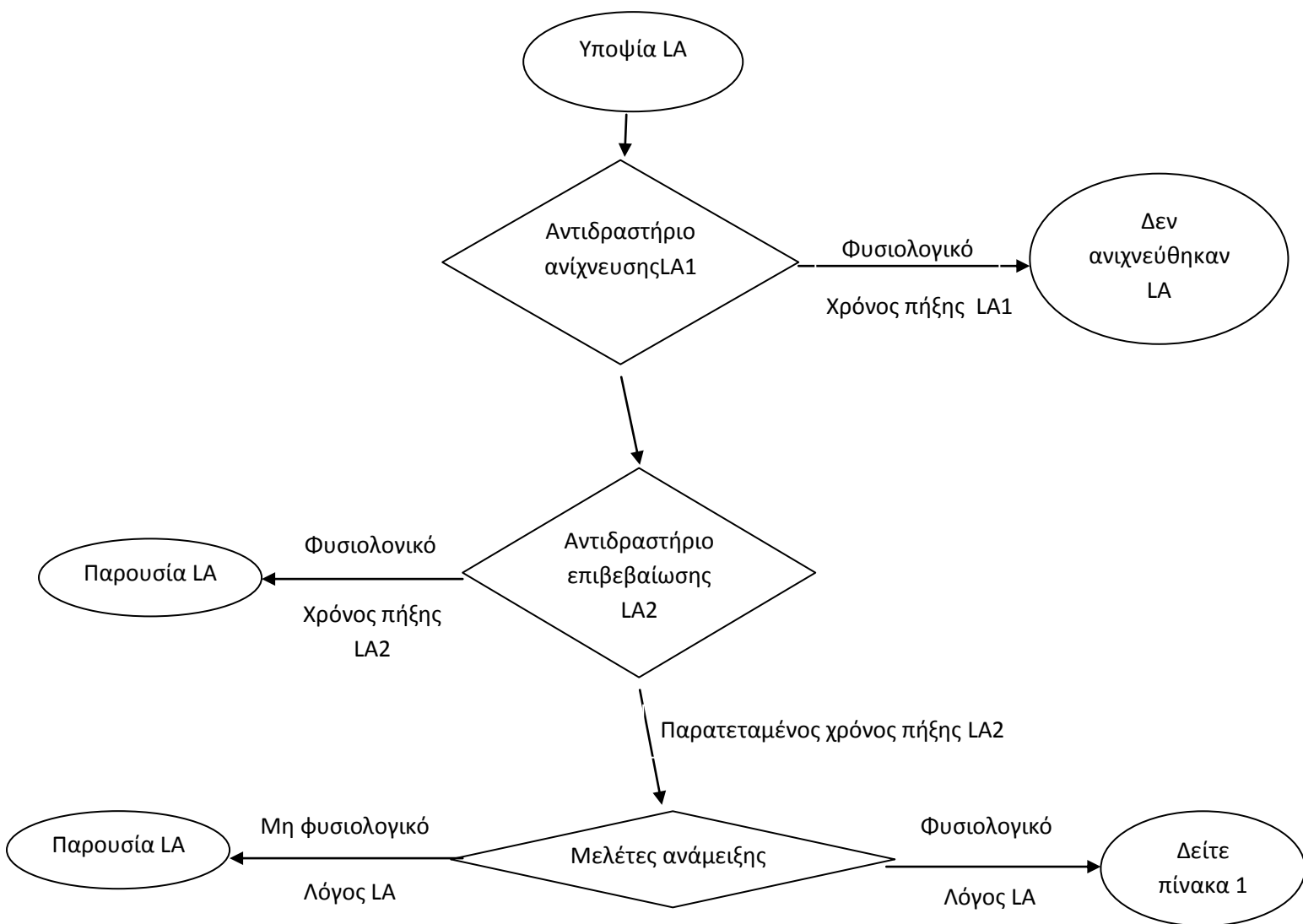
1. Προθερμαίνουμε 250μL αντιδραστηρίου ανίχνευσης LA1 ή αντιδραστηρίου επιβεβαίωσης LA2 ανά δείγμα, στους 37°C, σε δεξαμενή αντιδραστηρίων, λαμβάνοντας υπόψη ότι χρειάζονται 200μL ανά εξέταση.
2. Διανέμουμε 200μL εξεταζόμενου πλάσματος σε ένα γυάλινο δοκιμαστικό σωληνάριο και θερμαίνουμε για 1 λεπτό στους 37°C.
3. Προσθέτουμε 200μL προθερμασμένου αντιδραστηρίου στο πλάσμα και χρονομετρούμε από τη στιγμή της προσθήκης του αντιδραστηρίου μέχρι το τελικό σημείο πήξης.
4. Επαναλαμβάνουμε για διπλές τιμές εξέτασης και αναφέρουμε το μέσο όρο των τιμών αυτών, ως τελικό αποτέλεσμα.

Αποτέλεσμα

Εάν ο χρόνος πήξης του αντιδραστηρίου ανίχνευσης LA1 είναι εντός του εύρους φυσιολογικών τιμών, μπορεί να μην απαιτείται περαιτέρω εξέταση για LA.

Εάν το αποτέλεσμα του χρόνου πήξης του αντιδραστηρίου ανίχνευσης LA1 είναι μεγαλύτερο από το μέσο όρο του φυσιολογικού πλάσματος, (ιδανικά $n > 20$), το αποτέλεσμα πρέπει να θεωρηθεί μη φυσιολογικό και να ερευνηθεί περαιτέρω.

Το τελικό αποτέλεσμα εκφράζεται, καλύτερα, ως λόγος του χρόνου πήξης του αντιδραστηρίου ανίχνευσης LA1, δια του χρόνου πήξης του αντιδραστηρίου επιβεβαίωσης LA2.



Εξετάσεις ανάμιξης^{8,22}

Εάν τα αποτελέσματα είναι οριακά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μελέτες ανάμιξης για τη διόρθωση των κρυφών ελλειμμάτων στο δείγμα και τη διασάφηση της παρουσίας LA.

Αυτές οι εξετάσεις πρέπει να εκτελούνται με μείγμα 50:50 εξεταζόμενου πλάσματος και φυσιολογικού πλάσματος, χρησιμοποιώντας την τυπική διαδικασία εξέτασης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Συνδυασμός εξετάσεων ανάμιξης και επιβεβαίωσης

LA 1		LA 2		Διάγνωση
Πλάσμα ασθενούς	Μείγμα ασθενούς + Φυσιολογικ	Πλάσμα ασθενούς	Μείγμα – ασθενούς + Φυσιολογικ	
N	N	N	N	Δεν ανιχνεύθηκαν LA
ABN	ABN	N	N	Παρουσία LA
ABN	N	ABN	N	Ελλιπές σε παράγοντα/OAT
ABN	ABN	ABN	N	LA + ελλιπές σε παράγοντα
ABN	ABN	ABN	ABN	Άλλος αναστολέας

Περιορισμοί της διαδικασίας

Δείγματα που περιέχουν πήγματα και δείγματα με μη φυσιολογικό αιματοκρίτη, πρέπει να απορρίπτονται.

Ικτερικά, λιπαιμικά και αιμολυθέντα δείγματα πρέπει να εξετάζονται με μη αυτόματες τεχνικές, καθώς, μερικά φωτο-ηλεκτρικά όργανα δίνουν ψευδή αποτελέσματα.

Φυσιολογικά πλάσματα ποιοτικού ελέγχου, που διατίθενται στο εμπόριο, με ακαθόριστα επίπεδα κιτρικών και αιμοπεταλίων, δεν συνιστώνται για χρήση σε μελέτες ανάμιξης. Για συγκριτικές μελέτες, οι εξετάσεις αντιδραστηρίου ανίχνευσης LA1 και αντιδραστηρίου επιβεβαίωσης LA2 πρέπει να διεξάγονται ταυτόχρονα.

Πρέπει να εκτελούνται, τουλάχιστον, 2 εξετάσεις ανίχνευσης, βάσει διαφορετικών αρχών προσδιορισμού. Επιπλέον, πρέπει να διεξάγεται μία μελέτη ανάμιξης για την

επιβεβαίωση της παρουσίας ενός αναστολέα πήξης και μια εξέταση επιβεβαίωσης για την τεκμηρίωση της εξάρτησης από φωσφολιπίδια.

Επίπεδα ηπαρίνης έως 1 U/ml, δεν επιδρούν, λόγω της παρουσίας παράγοντα εξουδετέρωσης, τόσο στο αντιδραστήριο ανίχνευσης LA1 όσο και στο αντιδραστήριο επιβεβαίωσης LA2.

Τα αποτελέσματα αυτής της εξέτασης θα πρέπει πάντα να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με το ιατρικό ιστορικό του ασθενούς, την κλινική εμφάνιση και άλλα ευρήματα.

Α ν α μ ε ν ό μ ε ν ε ς τ ι μ έ ς

Πεδία φυσιολογικών τιμών, για το αντιδραστήριο ανίχνευσης LA1 της τάξης των 31-44 δευτερολέπτων και για το αντιδραστήριο επιβεβαίωσης LA2 της τάξης των 30-38 δευτερολέπτων, ελήφθησαν με χρήση μιας, μη αυτοματοποιημένης μεθόδου (στο χέρι), με δείγματα που συλλέχθηκαν από 26 υγιή άτομα ηλικίας 18 έως 55 ετών. Ο λόγος LA1/LA2 ήταν εντός του εύρους 0,8-1,2. Αυτά τα αποτελέσματα πρέπει να χρησιμοποιηθούν μόνον ως οδηγός.

- Εάν ο λόγος LA1/LA2 είναι μεγαλύτερος από 2,0, υπάρχει έντονη παρουσία LA.
- Εάν ο λόγος LA1/LA2 είναι μεταξύ 1,5 και 2,0, υπάρχει μέτρια παρουσία LA.
- Εάν ο λόγος LA1/LA2 είναι μεταξύ 1,2 και 1,5, υπάρχει ασθενής παρουσία LA.

ΠΑΡΑΤΑΣΗ ΑΡΤΤ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΜΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΗΠΑΡΙΝΗ⁴⁵

Η UFH ανακαλύφθηκε το 1916 από τον McLean. Εισήχθη στην κλινική πράξη το 1937. Είναι μια όξινη γλυκοζαμινογλυκάνη, με μοριακό βάρος 15000 Daltons, (εύρος 3000-30000), που εξάγεται, κυρίως, από τον εντερικό βλεννογόνο του χοίρου.

Είναι διαθέσιμη σαν άλας του νατρίου ή του ασβεστίου.

Η αντιπηκτική δράση της UFH οφείλεται στην σύνδεση της με την αντιθρομβίνη (AT) και εξασκείται από την ειδική πεντασακχαριδική αλληλουχία της ηπαρίνης, η οποία δεσμευόμενη με την AT επιταχύνει την αναστολή του ενεργοποιημένου παράγοντα X (FXa) και της θρομβίνης κατά 1000 φορές.

Κάθε πεντασακχαρίτης των αλυσίδων της ηπαρίνης αναστέλλει τη δράση του FXa απλά δεσμευόμενος με την AT. Αντίθετα στην αδρανοποίηση της θρομβίνης, η ηπαρίνη πρέπει να συνδεθεί με την θρομβίνη και την AT σε τριμερές σύμπλεγμα. Αυτό μπορεί να γίνει μόνο από τις αλυσίδες που περιέχουν, μεν, τον πεντασακχαρίτη, αλλά έχουν μήκος μεγαλύτερο από 18 σακχαριδικές ομάδες.

Οι περισσότερες αλυσίδες της UFH έχουν αυτό το μήκος, σε αντίθεση με το μισό των LMWHs. Έτσι εξηγείται η ισοδύναμη δραστηριότητα της UFH έναντι του FXa και της θρομβίνης, και η μεγαλύτερη δραστηριότητα των LMWHs έναντι του FXa.

Το σύμπλεγμα UFH/AT/θρομβίνης, αδρανοποιεί και άλλους παράγοντες της πήξης, εκτός από την θρομβίνη και τον FXa, αλλά σε μικρότερο βαθμό, όπως οι FXIIa, FXIa, FIXa και, εμμέσως, δια της αναστολής της θρομβίνης, οι FVa και FVIIIa.

Η αντιθρομβωτική δράση της ηπαρίνης εξασκείται, μόνο, από το ένα τρίτο του μορίου της, που δεσμεύεται με την AT επειδή περιέχει τον πεντασακχαρίτη. Τα υπόλοιπα δύο τρίτα έχουν, ήσσονος σημασίας, αντιθρομβωτική δράση, σε θεραπευτικές δόσεις. Αντίθετα σε δόσεις μεγαλύτερες από τις συνήθεις, η αντιθρομβωτική της δράση εξασκείται μέσω μιας άλλης πρωτεΐνης του πλάσματος, του συμπαραγόντα II της ηπαρίνης.

Επιπλέον, επάγει την έκκριση του ανασταλτή της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ο οποίος μειώνει την δραστηριότητα του συμπλέγματος του ιστικού παράγοντα με τον ενεργοποιημένο παράγοντα VII (TF/VIIa).

Άλλες δράσεις της UFH, είναι η σύνδεσή της με τον παράγοντα vonWillebrand (FvW) και τα αιμοπετάλια, μέσω πολύπλοκου μηχανισμού, με αποτέλεσμα αναστολή της λειτουργικότητάς τους.

Επιπρόσθετα, συνδέεται με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα, αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα, αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών των αγγείων και αναστέλλει την ανάπτυξη των οστεοβλαστών, ενώ, επάγει την ανάπτυξη οστεοκλαστών, δράσεις στις οποίες οφείλονται οι ανεπιθύμητες ενέργειες της UFH που είναι η θρομβοπενία, η αιμορραγία, και η οστεοπενία.

Προτιμώμενοι τρόποι χορήγησης της UFH, είναι η συνεχής ενδοφλέβια έγχυση (IV) ή η υποδόρια (SC).

Στην κυκλοφορία, συνδέεται με διάφορες πρωτεΐνες του πλάσματος [όπως γλυκοπρωτεΐνη πλούσια σε ιστιδίνη, βιτρονεκτίνη, φμπρονεκτίνη, παράγων-4 των αιμοπεταλίων(PF4), πολυμερή μεγάλου μοριακού βάρους του FvW], με αποτέλεσμα, διαφορετική αντιθρομβωτική απάντηση μεταξύ των ασθενών και διαφοροποίηση ως προς την εμφάνιση αντίστασης στην ηπαρίνη.

Η δράση της, μετά από IV χορήγηση, είναι άμεση, ενώ σε SC χορήγηση, η μέγιστη διάρκεια δράσης συμβαίνει 3 ώρες μετά και διαρκεί 12 ώρες ή και περισσότερες. Ο χρόνος ημίσειας ζωής είναι δοσοεξαρτώμενος και κυμαίνεται από 30 min μετά από IVbolus έγχυση 25IU/Kg, έως και 150 min μετά από IVbolus 400 IU/Kg.

Η επίτευξη θεραπευτικών επιπέδων είναι μειωμένη σε SC χορήγηση χαμηλών (5000IU/12h) ή μεσαίων δόσεων (12500-15000 IU/12h), ενώ σε θεραπευτικές δόσεις είναι πλήρης (35000 IU/24h).

Η, συνεχής, IV χορήγηση, εμφανίζει καλύτερη βιοδιαθεσιμότητα σε σχέση με την SC, όπως έχει αποδειχθεί με την επίτευξη θεραπευτικών επιπέδων του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) σε ασθενείς με εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση.

Επειδή η αντιθρομβωτική απάντηση διαφέρει μεταξύ των ασθενών, είναι απαραίτητος ο έλεγχος της δράσης της. Η πλέον ευρέως χρησιμοποιημένη μέθοδος είναι η μέτρηση του APTT.

Σε ασθενείς με ΕΒΦΘ, ο κίνδυνος υποτροπής είναι μικρός, εάν ο APTT είναι μεγαλύτερος από 1,5-2,5 φορές από τις φυσιολογικές τιμές του μάρτυρα.

Εναλλακτική μέθοδος παρακολούθησης, είναι ο υπολογισμός των επιπέδων ηπαρίνης με τιτλοποίηση θειικής πρωταμίνης (αποδεκτά επίπεδα 0,2-0,4IU/ml). Τελευταία, η μέτρηση της anti-Χαδραστικότητας (0,35-0,7 IU/ml) τείνει να αντικαταστήσει τον APTT, δεν έχει όμως αποδειχθεί η σχέση κόστους αποτελεσματικότητας, ώστε να χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος ρουτίνας.

ΧΑΜΗΛΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΗΠΑΡΙΝΕΣ^{48,49}

Οι LMWHs παρασκευάζονται από την UFH με ενζυμικό ή χημικό αποπολυμερισμό. Έχουν MB 4500-5700 Daltons (1000-10000 D). Συνδέονται, λιγότερο, με τις πρωτεΐνες του πλάσματος και το αγγειακό ενδοθήλιο, με αποτέλεσμα, καλύτερη βιοδιαθεσιμότητα σε SC χορήγηση, πιο προβλέψιμη απάντηση και μακρύτερο χρόνο ημίσειας ζωής.

Απενεργοποιούν, κυρίως, τον FXa και λιγότερο την θρομβίνη, έτσι ώστε η σχέση αντι-Χα/αντι-IIa δραστηριότητας να είναι μεταξύ 2:1 έως 4:1, σε σχέση με την κλασσική ηπαρίνη, στην οποία, είναι 1:1.

Η αδρανοποίηση του FXa γίνεται, μέσω των αλυσίδων που περιέχουν την πεντασακχαριδική αλληλουχία, αλλά αποτελούνται από λιγότερες των 18 σακχαριδικών ομάδων και, επομένως, εμφανίζουν μειωμένη δραστηριότητα έναντι της θρομβίνης.

Η, μικρότερου βαθμού, σύνδεση των LMWHs σε σχέση με την UFH, με τις πρωτεΐνες του πλάσματος, τα μικροφάγα, τα αιμοπετάλια και τους οστεοβλάστες έχει ως συνέπεια:

α) περισσότερη προβλέψιμη απάντηση, ώστε να μην απαιτείται εργαστηριακή ρύθμιση της αντιπηκτικής τους δράσης,

β) κάθαρση, δια μέσου της νεφρικής οδού, με αποτέλεσμα, μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής που επιτρέπει την, εφ'άπαξ, SC χορήγηση,

γ) μειωμένη ενεργοποίηση των οστεοβλαστών με αποτέλεσμα χαμηλότερη συχνότητα οστεοπενίας και

δ) χαμηλότερη συχνότητα ανάπτυξης αντιπηκτικών αντισωμάτων με αποτέλεσμα χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης θρομβοπενίας εξ'ηπαρίνης τύπου II(HIT-II), (η οποία, όμως, δεν είναι τόσο χαμηλή, όπως, αρχικά, ε πιστευέτο).

Τα πλεονεκτήματα αυτά, σε συνδυασμό με την μικρότερη παραμονή του ασθενούς στο νοσοκομείο, εξισορροπούν το μεγαλύτερο κόστος που έχουν, σε σχέση με την UFH, και τις καθιστούν, ελκυστική, εναλλακτική αγωγή στις περισσότερες περιπτώσεις κατά τις ποίες ενδείκνυται η ηπαρινοθεραπεία.

Ειδικότερα, σε ότι αφορά την αρχική φάση της θεραπείας της ΦΘΝ, πολλές μελέτες έχουν δείξει, ότι οι LMWHs είναι εξ' ίσου αποτελεσματικές και ασφαλείς με την UFH.^{49,50,51}

Μερικές από τις διαθέσιμες LMWHs είναι η δαλτεπαρίνη, η ενοξοπαρίνη, η ναδροπαρίνη και η τινζαπαρίνη .

Επειδή, όμως, διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον τρόπο παρασκευής τους, το MB και η σχέση αντι-Χα/αντι-IIa δραστηριότητα, παρουσιάζουν διαφορετική φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική. Έτσι πρέπει να θεωρούνται διαφορετικές φαρμακευτικές ουσίες και τα κλινικά αποτελέσματα των μελετών που αφορούν την μία, να μην επεκτείνονται και στις άλλες.

Παρενέργειες των ηπαρινών⁵²

Η πιο συχνή επιπλοκή της ηπαρινοθεραπείας, είναι η αιμορραγία, η οποία, εξαρτάται από την δόση, την οδό χορήγησης, την ηλικία και τις άλλες συμπαρομαρτούσες καταστάσεις.

Αναστροφή της δράσης της UFH, γίνεται με τη χορήγηση ***θειϊκής πρωταμίνης***, σε δόση 1 mg/100 IU ηπαρίνης, που χορηγείται αργά IV σε χρόνο περίπου 10 min, ώστε να αποφευχθεί η πιθανή υπόταση. Η πρωταμίνη εξουδετερώνει μερικώς την

δράση των LMWHs, επειδή δεν συνδέεται πλήρως με το μόριο τους, γεγονός που δεν έχει σαφή κλινική σημασία.

Η θεραπεία της δοσολογίας των LMWHs δίνεται από την κάθε μία ξεχωριστά, δεν έχει όμως δοκιμαστεί στην κλινική πράξη.

Για να εξουδετερωθεί η δράση της ενοξαπαρίνης, π.χ., εντός 8 ωρών από την χορήγηση, απαιτούνται 1 mg πρωταμίνης / 100 αντι-ΧαU. Εάν η αιμορραγία συνεχίζεται χορηγείται επιπρόσθετη δόση 0,5 mg/100αντι-ΧαU.

Τέλος, μικρότερες δόσεις απαιτούνται για την αντιμετώπιση αιμορραγικών επιπλοκών που προκύπτουν μετά 8 ώρες από την χορήγηση.

Η **πτώση του αριθμού των αιμοπεταλίων** που παρατηρείται κατά την χορήγηση της ηπαρίνης χαρακτηρίζεται ως **θρομβοπενία τύπου Ι ή πρώιμη (HIT-I) και τύπου-II ή ανοσολογική (HIT-II)**.

Η HIT-I αποτελεί αθώο φαινόμενο, που εμφανίζεται στο 5-30% των ασθενών την 1^η έως 4^η μέρα της ηπαρινοθεραπείας, ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι συνήθως πάνω από 100.000/κχ και ανατάσσεται χωρίς να απαιτηθεί διακοπή της ηπαρίνης. Αντίθετα, η HIT-II αποτελεί την σοβαρότερη παρενέργεια της ηπαρινοθεραπείας, με ποσοστό θνητότητας, που υπολογίζεται στο 20-30%.

Είναι, **ανοσολογικής αιτιολογίας**, και οφείλεται στην ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι του συμπλέγματος ηπαρίνης/PF4, που προκαλούν ενεργοποίηση και καταστροφή των αιμοπεταλίων.

Παρατηρείται στο 3-5% των ασθενών που λαμβάνουν UFH και στο 1-2% αυτών, με LMWHs. Εμφανίζεται την 4^η έως 14^η ημέρα της θεραπείας, ενώ σε ασθενείς που έλαβαν τους προηγούμενους 3 μήνες ηπαρίνη, μπορεί να εμφανιστεί, ακόμα, και το 1^ο 24ωρο της επαναχορήγησης.

Χαρακτηρίζεται από ελάττωση των αιμοπεταλίων >50% της αρχικής τιμής, που στο 10-15% των ασθενών φθάνει <30.000/κχ.

Προκαλεί, συχνότερα, φλεβικές, αλλά και αρτηριακές θρομβώσεις, ως αποτέλεσμα της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων.

Συχνότερη φλεβική θρόμβωση είναι η ΕΒΦΘ και ακολουθεί η ΠΕ.

Ιδιαίτερη οντότητα, αποτελεί η **ισχαιμική νέκρωση σκέλους από ΦΘ**, που συμβαίνει κατά την λήψη κουμαρινικών και φαίνεται να οφείλεται στην επίκτητη έκπτωση της πρωτεΐνης C (PC). Με την αναγνώριση του συνδρόμου, απαιτείται άμεση διακοπή της ηπαρίνης και χορήγηση εναλλακτικής αντιπηκτικής αγωγής με Ιρουδίνη, Danaparoid ή Argatroban. Δεν χορηγούνται LMWHs, επειδή, επίσης, μπορεί να προκαλέσουν το σύνδρομο.

Άλλη παρενέργεια σε μακροχρόνια χορήγηση είναι η **οστεοπόρωση**.

Τέλος, σε ορισμένους ασθενείς, μπορεί να προκληθεί, μεταξύ 5^{ης} και 10^{ης} μέρας χορήγησης, **μέτρια αύξηση ηπατικών ενζύμων**, με μηχανισμό που δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος.

ΝΕΟΤΕΡΑ, ΑΠΟ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΤΟΣ, ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ (NOACS)^{30,31,32}

Για την αντιμετώπιση της ΦΘΝ, καταβάλλονται συστηματικές προσπάθειες ανάπτυξης νέων αντιπηκτικών φαρμάκων, για περισσότερο από πενήντα χρόνια.

Οι προσπάθειες αυτές, όμως, έχουν ενταθεί κυρίως κατά την τελευταία δεκαετία, αφ' ενός, μεν, διότι αποκτήθηκαν καινούργιες γνώσεις για τον μηχανισμό της αιμόστασης και αφ' ετέρου, λόγω των κλινικών αναγκών που προκύπτουν από τους περιορισμούς και τις ανεπιθύμητες ενέργειες που εμφανίζουν τόσο οι ηπαρίνες όσο και οι αντιβιταμίνες-Κ.

Συγκεκριμένα, οι κυριότεροι περιορισμοί των αντιβιταμινών-Κ συνοψίζονται:

- στην επιβραδυνόμενη έναρξη του αντιπηκτικού τους αποτελέσματος,
- στην πρώιμη ελάττωση της PC, με αποτέλεσμα δημιουργία προσωρινής προθρομβωτικής κατάστασης,
- στην ανάγκη συχνής εργαστηριακής παρακολούθησης, καθώς και
- στην αλληλεπίδραση με τροφές και φάρμακα.

Σε ότι αφορά τις ηπαρίνες, η σύνδεση τους με διάφορες πρωτεΐνες του πλάσματος, έχει ως επακόλουθο, την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών σοβαρότερη των οποίων είναι η HIT-II.

Οι δύο, μεγάλες, κατηγορίες των νεότερων αντιπηκτικών φαρμάκων είναι:

- οι ανασταλτές του FXa και
- οι άμεσοι ανασταλτές της θρομβίνης.

Στην πρώτη κατηγορία ανήκει το dabigatran και πεντασακχαρίτης Fondaparinux και στην δεύτερη το rivaroxaban και το apixaban.

Τα νεώτερα αντιπηκτικά έχουν **σημαντικά πλεονεκτήματα** σε σχέση με τους ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ, όπως:

- ταχεία έναρξη δράσης,
- δεν επηρεάζεται η δράση τους από τις τροφές,
- εμφανίζουν ελάχιστες αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα,
- προβλέψιμο αντιπηκτικό αποτέλεσμα, με συνέπεια να μην χρειάζεται εργαστηριακή παρακολούθηση .

Τα νέα αντιπηκτικά εμφανίζουν όμως και **μειονεκτήματα** όπως:

- Το dabigatran και το arixaban χορηγούνται δύο φορές ημερησίως,
- αν έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι ρουτίνας για την εργαστηριακή παρακολούθηση της αντιπηκτικής δράσης, σε περίπτωση που αυτή χρειαστεί, δεν είναι ευρέως διαθέσιμες και προτυποποιημένες,
- θα πρέπει να παρακολουθείται η νεφρική λειτουργία, ιδιαίτερα στους ασθενείς που λαμβάνουν dabigatran,
- τα, προς το παρόν, διαθέσιμα αντίδοτα δεν έχουν, ακόμα, έγκριση για χρήση.

DABIGATRAN³⁷

Η νταμπιγκατράνη, είναι ένας άμεσος εκλεκτικός αναστολέας της θρομβίνης. Αναστέλλει, τόσο την ελεύθερη θρομβίνη, όσο και την δεσμευμένη στο ινώδες.

Η νταμπιγκατράνη είναι δυσαπορρόφητη στο στομάχι και, για αυτό, χορηγείται με τη μορφή ετεξελικής νταμπιγκατράνης (dabigatranetexilate), η οποία εμφανίζει καλύτερη απορροφησιμότητα.

Η απορρόφηση της ετεξελικής νταμπιγκατράνης απαιτεί όξινο περιβάλλον, το οποίο επιτυγχάνεται με την προσθήκη τρυγικού οξέος στην φαρμακοτεχνική μορφή. Με αυτές τις συνθήκες η βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου είναι 6,5%.

Μετά την απορρόφησή της, η ετεξελική νταμπιγκατράνη υδρολύεται ταχέως από εστεράσες του ήπατος και πλάσματος, απελευθερώνοντας την δραστική νταμπιγκατράνη, της οποίας η μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα επιτυγχάνεται εντός 1-2 h.

Η νταμπιγκατράνη απεκκρίνεται, κυρίως, (80%), από τους νεφρούς.

Ο χρόνος ημίσειας ζωής του φαρμάκου σε άτομα με φυσιολογική νεφρική λειτουργία είναι 12-18 h, για αυτό πρέπει να χορηγείται 2 φορές ημερησίως.

ΠΕΝΤΑΣΑΚΧΑΡΙΤΗΣ FONDAPARINUX³⁸

Ο συνθετικός πεντασακχαρίτης fondaparinux είναι διαθέσιμος, με την επωνυμία Arixtra.

Ο πεντασακχαρίτης αυτός, δρα εκλεκτικά στον FXa δια μέσου της AT, επιταχύνοντας την δράση της 300 φορές. Η δομή του βασίζεται στην ελάχιστη σακχαριδική αλληλουχία της ηπαρίνης, που συνδέεται με την AT.

Κάθε μόριο του πεντασακχαρίτη αποδεσμεύεται από την AT, όταν αυτή συνδεθεί με τον FXa και στην συνέχεια επαναχρησιμοποιείται συνδεόμενος με άλλα μόρια AT. Η αναστολή ενός μορίου FXa αναστέλλει 50 μόρια θρομβίνης, με αποτέλεσμα, γρήγορη και αποτελεσματική δράση.

Προς το παρόν, έχει επίσημη ένδειξη την θρομβοπροφύλαξη μετά ορθοπεδικές επεμβάσεις (ολική αρθροπλαστική ισχίου, ολική αρθροπλαστική γόνατος και κατάγματα ισχίου).

Απορροφάται μετά SC χορήγηση, φθάνει στη μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα σε 2 έως 3 ώρες και έχει χρόνο ημίσειας ζωής 17 έως 21 ώρες, γεγονός που καθιστά δυνατή την χορήγησή του σε μία ημερήσια δόση.

Αποβάλλεται από τους νεφρούς, γι' αυτό και απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή σε ασθενείς με ελαττωμένη νεφρική λειτουργία, διότι μπορεί να αυξήσει τις αιμορραγικές επιπλοκές, δεδομένου ότι δεν υπάρχει αντίδοτο που να εξουδετερώνει την δράση του.

Δεν συνδέεται με τα αιμοπετάλια και τις πρωτεΐνες του πλάσματος, γι' αυτό, ενδέχεται να αποτελέσει εναλλακτική αντιπηκτική αγωγή σε ασθενείς με HIT-II, παρότι δεν υπάρχουν ακόμη μελέτες.

Η παρακολούθηση της δράσης του, μπορεί να γίνει με την μέτρηση της αντι-Χa δραστηριότητας, επειδή δεν επηρεάζει σημαντικά τον PT και aPTT. Ιδιαίτερη προσοχή (παρακολούθηση της δράσης του και προσαρμογή της δόσης), ίσως, απαιτείται:

- σε ηλικιωμένους ασθενείς χωρίς εμφανή νεφρική ανεπάρκεια,
- σε ασθενείς με χαμηλό σωματικό βάρος ή
- σε ασθενείς που θα υποβληθούν σε επισκληρίδιο αναισθησία, κατάσταση για την οποία, δεν υπάρχουν, ακόμη, συγκεκριμένες, κατευθυντήριες οδηγίες.

Το fondaparinux έχει μελετηθεί σε μελέτες φάσης II και III, ως αρχική θεραπεία στην ΦΘΝ και αποδείχθηκε αποτελεσματικό και ασφαλές όσο η UFH και οι LMWHs.

Χορηγείται σε δόση 7,5mg, για ασθενείς από 70 έως 100 Kg, δηλαδή τριπλάσια από αυτή που χορηγείται ως θρομβοπροφύλαξη σε ορθοπεδικές επεμβάσεις.

Συγκεκριμένα, στην διπλή, τυχαιοποιημένη μελέτη Matisse-ΕΒΦΘ, συγκρίθηκε το fondaparinux με την ενοξαπαρίνη (σε 1098 και 1107 ασθενείς αντίστοιχα) και βρέθηκε εξ ίσου αποτελεσματικό ως προς τις υποτροπές της ΦΘΝ, με τις ίδιες αιμορραγικές επιπλοκές και στα δύο σκέλη της μελέτης.

Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξε και η μελέτη Matisse-ΠΕ στην οποία συγκρίθηκε το fondaparinux με την UFH σε σύνολο 1103 και 1110 ασθενών αντίστοιχα.

RIVAROXABAN⁴⁶

Η ριβαροξαμπάνη, είναι ένας, άμεσος, εκλεκτικός αναστολέας του παράγοντα πήξης Χα.

Αναστέλλει τον ελεύθερο Χα καθώς και τον Χα στο σύμπλεγμα της προθρομβινάσης, καθώς και τον Χα δεσμευμένο στο ινώδες.

Η βιοδιαθεσιμότητα, σε νηστεία, της ριβαροξαμπάνης, στη δόση των 20 mg, είναι 66%, ενώ στη δόση των 10 mg, είναι 80 – 100 %.

Ο χρόνος ημίσειας ζωής του φαρμάκου είναι 7-11 ώρες. Παρόλα αυτά, η αναστολή του παράγοντα Χα διαρκεί 24h για αυτό μπορεί να χορηγείται σε μια ημερήσια δόση.

Το φάρμακο αποβάλλεται κατά το ένα τρίτο, πριν μεταβολιστεί από τους νεφρούς, ενώ το υπόλοιπο, αποικοδομείται στο ήπαρ, μέσω μεταβολικών μονοπατιών, εξαρτωμένων και ανεξάρτητων από το CYP3A4. Οι ανενεργοί μεταβολίτες του, αποβάλλονται, κυρίως, από τους νεφρούς και, δευτερευόντως (28%), στα κόπρανα.

Η ριβαροξαμπάνη, δεν πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο τελικού σταδίου (κάθαρση κρεατινίνης <15ml/min), ενώ θα πρέπει να χορηγείται προσεχτικά σε ασθενείς με σοβαρού βαθμού χρόνια νεφρική νόσο (κάθαρση κρεατινίνης 15-29ml/min).

Τέλος θα πρέπει να χορηγείται με προσοχή σε ασθενείς με κίρρωση του ήπατος και μέτρια ηπατική ανεπάρκεια.

APIXABAN⁴⁷

Η απιξαμπάνη, είναι ένας άμεσος εκλεκτικός αναστολέας του παράγοντα πήξης Χα.

Η βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου είναι 50%. Η μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα επιτυγχάνεται 3-4 ώρες μετά τη χορήγηση, ενώ ο χρόνος ημίσειας ζωής είναι 12 h, γεγονός που επιβάλλει τη χορήγησή του 2 φορές ημερησίως.

Αποικοδομείται στο ήπαρ, κυρίως, μέσω μεταβολικών μονοπατιών, εξαρτώμενων από το CYP3A4.

Αποβάλλεται, κατά 25%, στα ούρα και, κατά 25%, στα κόπρανα, ενώ το υπόλοιπο, αποβάλλεται διαμέσου της χολής και του εντέρου.

Δεν πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο τελικού σταδίου (κάθαρση κρεατινίνης <15ml/min), ενώ θα πρέπει να χορηγείται προσεκτικά σε ασθενείς με σοβαρού βαθμού χρόνια νεφρική νόσο (κάθαρση κρεατινίνης 15-29 ml/min).

ΕΛΛΕΙΨΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΗΣ⁷

Η μέτρηση του ενεργοποιημένου χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης αντανακλά την δραστηριότητα από τους περισσότερους παράγοντες πήξης:

- του παράγοντα XII,
- των άλλων παραγόντων επαφής (προκαλικρεΐνης και, υψηλού μοριακού βάρους, κινινογόνο),
- των παραγόντων XI, IX και VIII της ενδογενούς προπηκτικού οδού, όπως επίσης,
- των παραγόντων πήξης της κοινής προπηκτικής οδού, που περιλαμβάνει τους παράγοντες X,V,II, και ινωδογόνου (παράγοντα I).

Η έλλειψη των παραγόντων πήξης διακρίνεται σε κληρονομική και επίκτητη.

Τα πιο **συχνά αίτια συγγενούς αιμορραγικής διάθεσης**, είναι:

- η ανεπάρκεια του παράγοντα VIII (αιμορροφιλία Α),
- η ανεπάρκεια του παράγοντα IX (αιμορροφιλία Β) και
- η νόσος VonWillebrand που αφορά ποσοτική ή ποιοτική ανεπάρκεια του παράγοντα VonWillebrand.

Οι τρεις, αυτές, κληρονομικές αιμορραγικές διαταραχές, αντιπροσωπεύουν το 95-97% του συνόλου των συγγενών διαταραχών της αιμόστασης.

Οι διαταραχές άλλων παραγόντων της πήξης, είναι σπάνιες, και, κατά κανόνα, μεταβιβάζονται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα.

Αιμορραγική διάθεση μπορεί, επίσης, να εμφανιστεί ως συνέπεια διαταραχών της ινωδόλυσης (υπερπλασμιναιμία). Ωστόσο, οι διαταραχές αυτές είναι εξαιρετικά σπάνιες.

Μεταξύ αυτών, συχνότερες είναι η ανεπάρκεια του παράγοντα XII, η οποία είναι ασυμπτωματική, και η ανεπάρκεια του παράγοντα XI, που είναι ιδιαίτερα συχνή στους Εβραίους Ashkenazi.

Οι ομοζυγώτες ή διπλοί ετεροζυγώτες, μπορεί να έχουν, από βαριά έως ήπια νόσο, τύπου αιμορροφιλίας, ανάλογα με τον παράγοντα που λείπει, το είδος της υποκείμενης μετάλλαξης ή ακόμα και την ύπαρξη σοβαρής ανεπάρκειας του παράγοντα τόσο στο πλάσμα όσο και στα αιμοπετάλια (παράγοντες XI και V).

Η κλινική τους εικόνα παρουσιάζει σημαντική ετερογένεια.

Οι ετεροζυγώτες, συνήθως, είναι ασυμπτωματικοί ή έχουν ήπια νόσο τύπου αιμορροφιλίας, ενώ εμφανίζουν ηπιότερες εργαστηριακές διαταραχές σε σχέση με τους ομοζυγώτες.

Ενδιαφέρον είναι, επίσης, ότι οι ανεπάρκειες του παράγοντα XII, της προκαλλικρεΐνης (PK) ή του κινινογόνου υψηλού μοριακού βάρους (HMWK), παρά το γεγονός ότι συνοδεύονται από σημαντική παράταση του APTT, δεν εκδηλώνονται με αιμορραγική διάθεση, ανεξαρτήτως εάν οι ασθενείς είναι ομοζυγώτες ή ετεροζυγώτες.

Οι **κληρονομικές διαταραχές του ινωδογόνου**, διακρίνονται σε:

- ποσοτικές (ανινωδογοναιμία, υποϊνωδογοναιμία),
- ποιοτικές (δυσινωδογοναιμία) ή
- συνδυασμός τους (υποδυσινωδογοναιμία).

Η δυσινωδογοναιμία είναι η συχνότερη από αυτές τις διαταραχές και έχει περιγραφεί σε 300 περίπου οικογένειες.

Από τις **επίκτητες διαταραχές των παραγόντων πήξης**, οι συχνότερες είναι:

- η επίκτητη νόσος VonWillebrand,
- η ελάττωση των παραγόντων πήξης των εξαρτωμένων από την βιταμίνη Κ,
- η αυξημένη κατανάλωση παραγόντων πήξης,
- οι επίκτητες διαταραχές του ινωδογόνου,
- οι επίκτητοι αναστολείς παραγόντων πήξεως και
- οι δυσπρωτεΐναιμίες.

Οι συχνότερες, επίκτητες διαταραχές των παραγόντων της πήξης, είναι αυτές, που οφείλονται σε υπερκατανάλωσή τους (π.χ. ΔΕΠ), σε μειωμένη σύνθεσή τους λόγω ηπατοπάθειας και σε ανάπτυξη αναστολέων έναντι των παραγόντων της πήξης.

Οι **κλινικές εκδηλώσεις και τα εργαστηριακά ευρήματα** ποικίλλουν και εξαρτώνται από το είδος και το βαθμό ανεπάρκειας του εκάστοτε παράγοντα πήξης.

Οι **επίκτητες διαταραχές πολλαπλών παραγόντων της πήξης**, συνήθως, εκδηλώνονται με παράταση του PT και του APTT και οφείλονται, συνηθέστερα, σε:

- ανεπάρκεια της βιταμίνης K,
- ηπατοπάθειες,
- ΔΕΠ, και
- ινωδόλυση.

Τα **κουμαρινικά αντιπηκτικά** αναστέλλουν την σύνθεση των παραγόντων της πήξης, των εξαρτώμενων από την βιταμίνη K, και σε θεραπευτικές δόσεις προκαλούν παράταση του PT, ενώ, σε υψηλότερες δόσεις, παρατείνουν, επίσης, και το APTT και μπορεί να συνοδεύονται από σημαντικές, αιμορραγικές εκδηλώσεις.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ VON WILLEBRAND^{4,5}

Ο παράγοντας Von Willebrand (vWF) είναι μία **προσκολλητική γλυκοπρωτεΐνη** μεγάλου μοριακού βάρους, που συντίθεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα μεγακαρυοκύτταρα, αποθηκεύεται στα σωμάτια Weibel-Palade των ενδοθηλιακών κυττάρων και στα α-σωμάτια των αιμοπεταλίων, απελευθερώνεται με ρυθμιζόμενο τρόπο από αυτά και κυκλοφορεί στο πλάσμα με τη μορφή μεγάλων πολυμερών.

Ο παράγοντας αυτός παίζει αποφασιστικό ρόλο στην αρχική αιμόσταση και μεσολαβεί στις αντιδράσεις των αιμοπεταλίων, ενώνοντάς τα ως γέφυρα με την υπενδοθηλιακή στιβάδα του τραυματισμένου αγγείου (**προσκόλληση**), καθώς και στις αντιδράσεις μεταξύ των αιμοπεταλίων (**συσώρευση**).

Ο παράγοντας vWF παίζει σημαντικό ρόλο και στην πήξη του αίματος, αφού συνδέεται με τον παράγοντα VIII, στο σχηματισμό του συμπλέγματος FVIII/v WF.

Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται η σταθερότητα του παράγοντα VIII, που προστατεύεται από τον άκαιρο καταβολισμό του, ενώ οι μεταβολές στα επίπεδα του vWF εκφράζονται, ταυτόχρονα, και στη δραστικότητα του πηκτικού παράγοντα VIII.

ΝΟΣΟΣ VON WILLEBRAND

Η νόσος Von Willebrand αποτελεί ετερογενή ομάδα διαταραχών, οι οποίες οφείλονται σε **ποσοτική ή λειτουργική ανεπάρκεια** του παράγοντα Von Willebrand. Στην πιο συνήθη μορφή (τύπος 1), η νόσος χαρακτηρίζεται κλινικά από ήπιες αιμορραγικές εκδηλώσεις, που αφορούν το δέρμα και τους βλεννογόνους και εργαστηριακά από αύξηση του χρόνου ροής, ελάττωση του παράγοντα vWF και ανάλογη μείωση της δραστηριότητας του παράγοντα VIII (VIII:C).

Οι τύποι της νόσου είναι:

ΤΥΠΟΣ 1: Ο συχνότερος τύπος (75% των περιπτώσεων). Μερική ποσοτική ανεπάρκεια του vWF.

ΤΥΠΟΣ 2: (5-30 % των περιπτώσεων)

Ποιοτικές διαταραχές του v WF

2A : vWF με απώλεια των πολυμερών υψηλού μοριακού βάρους και διαταραχή της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων.

2B: vWF με απώλεια των πολυμερών υψηλού μοριακού βάρους και αυξημένη συγγένεια σύνδεσης του vwf με την GPIb γλυκοπρωτεΐνη των αιμοπεταλίων.

2M: vWF με παρουσία των πολυμερών ενδιαμέσου MB και ελαττωμένη συγγένεια σύνδεσης του v WF με την GPIb γλυκοπρωτεΐνη των αιμοπεταλίων.

2N: Ελαττωμένη συγγένεια σύνδεσης του vWF με τον παράγοντα VIII.

ΤΥΠΟΣ 3 : Ο σπανιότερος τύπος. Σχεδόν πλήρης ανεπάρκεια του Vwf.

ΚΛΙΝΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Η κλινική εικόνα ποικίλει από τύπο σε τύπο, από ασθενή σε ασθενή, ακόμα και όταν οι ασθενείς ανήκουν στην ίδια οικογένεια, καθώς και στον ίδιο τον ασθενή με την πάροδο του χρόνου.

Οι ασθενείς με vWF τύπου 1, είτε είναι ασυμπτωματικοί είτε έχουν ήπιες αιμορραγικές εκδηλώσεις.

Συνήθως, υπάρχει πορφύρα (πετέχειες και εκχυμώσεις), αιμορραγία από τους βλεννογόνους (ρινορραγία, μηνορραγία, ουλορραγία, αιμορραγία πεπτικού), καθώς και παρατεταμένη αιμορραγία μετά από τραυματισμό.

Οι τύποι 2Α και 2Β είναι κλινικά ήπιοι. Ο τύπος 2Ν παρουσιάζει κλινικές εκδηλώσεις ανάλογες με αυτές της αιμορροφιλίας Α, αν και οι περισσότερες μεταλλάξεις δεν προκαλούν σημαντική μείωση των επιπέδων του παράγοντα VIII.

Στον τύπο 3 παρατηρούνται σοβαρές αιμορραγικές εκδηλώσεις, ενίοτε αυτόματες, που συχνά αφορούν και τους εν βάθει ιστούς ή τις αρθρώσεις, ως επί αιμορροφιλίας.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Ο βασικός εργαστηριακός έλεγχος (δοκιμασίες διαλογής) σε ασθενή με ιστορικό συμβατό με νόσο von Willebrand περιλαμβάνει:

α . Μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων.

β . Προσδιορισμό PT και APTT.

γ . Μέτρηση επιπέδων του παράγοντα VIII.

δ . Η ριστοσετίνη βοηθά στην in vitro προσομοίωση της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων με τον ενδοθηλιακό vWF. Η δοκιμασία συνίσταται στη μέτρηση των επιπέδων του αντιγόνου του vWF (v WF:Ag) με ELIZA .

ε . Μελέτη της δραστηριότητας του v WF, όσον αφορά την σύνδεση με τα αιμοπετάλια (vWF:RCo) και το κολλαγόνο (vWF:CB), που πραγματοποιείται με τις παρακάτω δοκιμασίες:

- ***VWF:RCo Ristocetin cofactor activity :***

Μέτρηση της ικανότητας του πλάσματος του ασθενούς να συγκολλά διάλυμα αιμοπεταλίων παρουσία συγκεκριμένης συγκέντρωσης ριστοσετίνης. Στην δοκιμασία αυτή η συσσώρευση των αιμοπεταλίων είναι ανάλογη της συγκέντρωσης (δραστηριότητας) του vWF.

- ***VWF:CB Collagen binding activity :***

Μέτρηση της ικανότητας του πλάσματος του ασθενούς να συνδέεται με το κολλαγόνο. Δεδομένου ότι η σύνδεση με το κολλαγόνο εξαρτάται από το μέγεθος των πολυμερών του v WF και την ακεραιότητα της αντίστοιχης θέσης A1 στο μόριο του.

Ελαττωμένη σύνδεση με το κολλαγόνο σημαίνει,είτε ποσοτική ανεπάρκεια του vWF, είτε ελάττωση των υψηλού μοριακού βάρους πολυμερών ή και λειτουργική βλάβη στην θέση A1.

Με βάση τις, παραπάνω, δοκιμασίες διαλογής μπορεί να διαχωριστούν οι περιπτώσεις v WF τύπου (1), (3) και (2N). Η περαιτέρω διάκριση των περιπτώσεων v WF (2) (A, B, ή M) απαιτεί πιο εξειδικευμένες εξετάσεις, που περιλαμβάνουν:

- ***RIPA: Ristocetin – induced Platelet Aggregation :***

Κατά την δοκιμασία αυτή προστίθενται προοδευτικά αυξανόμενες δόσεις ριστοσετίνης , σε πλάσμα ασθενούς πλούσιο σε αιμοπετάλια (platelet-rich plasma) και μετράται η ταχύτητα και ο βαθμός συσώρευσης των αιμοπεταλίων σε ειδική συσκευή (aggregometry). Σε αντίθεση με την δοκιμασία vWF:RCo, στην RIPA χρησιμοποιούνται αιμοπετάλια του ασθενούς και, επομένως, το αποτέλεσμα επηρεάζεται από τον αριθμό των αιμοπεταλίων και της διαταραχής της GPIb.

Η κύρια διαγνωστική αξία της RIPA έγκειται στην διάκριση μεταξύ των τύπων 2A και 2B της vWF. Στον τύπο 2 A η σύνδεση του v WF με την GPIb είναι ελαττωμένη, ενώ στον τύπο 2B, λόγω της αυξημένης συγγένειας του vWF με την GPIb, η RIPA είναι θετική ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις ριστοσετίνης που φυσιολογικά δεν προκαλούν συσώρευση(LD-RIPA).

- ***Ηλεκτροφόρηση των πολυμερών του v WF σε γέλη αγαρόζης.***
- ***Δοκιμασία δέσμευσης του παράγοντα VIII από τον VWF(vWF:FVIIIb),*** η οποία χρησιμεύει στην διάγνωση του τύπου 2N της vWF και την διαφορική της διάγνωση από ήπια αιμορροφιλία A.
- ***Ο χρόνος ροής και η μελέτη συγκολλητικότητας με PFA*** (Platelet Function Analyzer), χρησιμοποιούνται συχνά ως δοκιμασίες διαλογής, αλλά εμφανίζουν περιορισμένη ειδικότητα και ευαισθησία.

Οι διαταραχές του παράγοντα vWF επηρεάζουν την τιμή του APTT, άλλοτε ναι και άλλοτε όχι.

ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΗΣ (ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ)⁷

Οι **επίκτητοι αναστολείς της πήξης**, είναι αντισώματα που εξουδετερώνουν, μερικώς ή ολικώς, την ενεργοποίηση ή τη λειτουργία, είτε, ενός, μόνο, συγκεκριμένου παράγοντα της πήξης, είτε παρεμβαίνουν με διάφορες αλληλεπιδράσεις, μεταξύ περισσότερων πρωτεϊνών της πήξης.

Εξαιρετικώς σπάνια αναστολή της πήξης, προκαλείται μέσω, μη ανοσολογικού μηχανισμού, από κυκλοφορούσες ουσίες (πρωτεογλυκάνες, γλυκοζαμινογλυκάνες), οι οποίες μιμούνται τη δράση της ηπαρίνης.

Περιπτώσεις επίκτητων αναστολέων της πήξης, περιγράφηκαν, αρχικώς, σε ασθενείς με αιμορροφιλία, μετά από θεραπεία υποκατάστασης (αλλοαντισώματα) και, αργότερα, με επαρκή μηχανισμό (αυτοαντισώματα).

Η **αιμορροφιλία**, είναι κληρονομική διαταραχή της αιμόστασης, η οποία μεταφέρεται με φυλοσύνδετο χρωμόσωμα και οφείλεται σε ανεπάρκεια του FVIII ή FIX (αιμορροφιλία A ή B, αντίστοιχα). Η αναφερόμενη επίπτωση στο γενικό πληθυσμό είναι 1-2 νέες περιπτώσεις /10000 γεννήσεις αρρένων /έτος.

Αναλόγως των επιπέδων του παράγοντα που ανεπαρκεί, η αιμορροφιλία διακρίνεται σε βαριά, μέσης βαρύτητας και ήπια (επίπεδα FVIII/IX: <1u/dl, 2-5 u/dl και >5 u/dl, αντίστοιχα).

Οι ασθενείς με τη βαριά μορφή της νόσου διαγιγνώσκονται συνήθως προς το τέλος του πρώτου χρόνου ζωής. **Αίμαρθρα και αιματώματα** αποτελούν τις κύριες, κλινικές εκδηλώσεις.

Επαναλαμβανόμενα αίμαρθρα, ιδίως στην ίδια άρθρωση (άρθρωση στόχος), οδηγούν στην χρόνια αιμορροφιλική αρθροπάθεια και σε αναπηρία, ενώ μεγάλες αιμορραγίες σε μυς ενδέχεται να προκαλέσουν συμπίεσεις αγγείων και νεύρων, καθώς και ψευδοόγκους και να οδηγήσουν σε ακρωτηριασμούς.

Η **θεραπευτική αντιμετώπιση της αιμορροφιλίας**, συνίσταται, είτε σε **θεραπεία επί ανάγκης (on demand)**, οπότε επιτυγχάνεται έγκαιρη επίσχεση της αιμορραγίας και κατ' επέκταση περιορισμός της αρθροπάθειας, είτε σε **προφυλακτική θεραπεία**, ώστε να αποφευχθεί κάθε αιμορραγία σε αρθρώσεις και συνεπώς η εμφάνιση αρθροπάθειας.

Η προφυλακτική θεραπεία συνίσταται, πλέον, ως θεραπεία εκλογής για τα παιδιά με βαριά αιμορροφιλία (μετατροπή δηλαδή της βαριάς ανεπάρκειας σε ήπια).

Ανεξαρτήτως του τρόπου θεραπείας, η αντιμετώπιση από το τέλος της δεκαετίας του '70 και μετά, γίνεται με ενδοφλέβια χορήγηση του ανεπαρκούς παράγοντα. Τα προϊόντα αρχικώς προέρχονταν από πλάσμα. Ο κίνδυνος όμως, μετάδοσης ιογενών νοσημάτων (ηπατίτιδες, AIDS), έστρεψε, νωρίς, την έρευνα, στη δημιουργία ασφαλέστερων και, συνεπώς, αποτελεσματικότερων προϊόντων (μονοκλωνικός παράγοντας VIII/IX – mVIII/IX, ανασυνδυασμένος παράγοντας VIII/IX- rVIII /IX).

Η **συχνότητα εμφάνισης αναστολέων** σε αιμορροφιλικούς ασθενείς ποικίλει, αναλόγως του αριθμού των ατόμων που συμπεριλαμβάνονται στις μελέτες της παρακολούθησης ή όχι, και των ήπιων περιπτώσεων, των προϊόντων που έχουν χρησιμοποιηθεί διαχρονικά κ.ά.

Ο επιπολασμός, σε, μη επιλεγμένο πληθυσμό αιμορροφιλικών, αναφέρεται 5-7%. Η αθροιστική επίπτωση σε ασθενείς που θεραπεύονται με πλασματικούς παράγοντες, κυμαινόταν, κατά το παρελθόν, από 2,5 έως και 17,9 %.

Με τη χρησιμοποίηση, όμως, των βιοτεχνολογικά παραγόμενων παραγόντων, ανεδείχθη εντονότερο το πρόβλημα της εμφάνισης αναστολέων, έναντι των εγχεομένων παραγόντων. Ο αθροιστικός κίνδυνος (cumulative risk) σε ασθενείς με βαριά αιμορροφιλία υπό rFVIII (ανασυνδυασμένος FVIII), υπολογίζεται σε 37,5%, εκ των οποίων, οι μισές περιπτώσεις (15,1%) έχουν υψηλή αντισωματική απάντηση (highresponders) και επομένως αποτελούν σοβαρό θεραπευτικό πρόβλημα.

Από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη αναστολέων επί αιμορροφιλικών ασθενών, άλλοι σχετίζονται με τον ασθενή ή την θεραπεία και άλλοι είναι ίσως «πλασματικοί», σχετιζόμενοι με τον εργαστηριακό έλεγχο.

Φαίνεται, ότι η πιθανότητα να εμφανιστεί αναστολέας, είναι αντιστρόφως ανάλογη της βαρύτητας της αιμορροφιλίας, της ηλικίας κατά τη διάγνωση και συνεπώς της ηλικίας κατά την πρώτη θεραπεία. Εξαρτάται, επίσης, από τον τύπο της γονιδιακής βλάβης (μεγάλα ελλείμματα, μεταλλάξεις τερματισμού, αναστροφές κ.α.), το γονότυπο HLA και το οικογενειακό ιστορικό ανάπτυξης αναστολέων, ενώ, ενδέχεται να ευθύνεται και η φυλή /εθνότητα (συχνότερη στους Αφροαμερικανούς).

Επιβαρυντικοί παράγοντες για την ανάπτυξη αντισωμάτων, θεωρούνται, η προηγηθείσα μετάγγιση, εμβολιασμοί, συγχορήγηση άλλων φαρμάκων (π.χ. ιντερφερόνη), αλλά, κυρίως, ο τύπος του εγχεομένου παράγοντα (ανασυνδυασμένος) και η εναλλαγή πολλών διαφορετικών παραγόντων.

Η **επιλογή μεθόδου** (Oxford,Bethesda,Nijmegen), με την οποία θα διερευνηθούν οι αναστολές, η ευαισθησία και η ειδικότητα της τεχνικής, η συχνότητα του εργαστηριακού ελέγχου, συμβάλλουν στην ανίχνευση ολοένα και περισσότερων περιπτώσεων.

Ο **προσδιορισμός του ορίου** (cut-off), άνω του οποίου θεωρείται θετική η δοκιμασία, συνεχώς μειώνεται ,ενώ για την αξιολόγηση θα πρέπει κανείς να συνυπολογίζει και να ερμηνεύσει και άλλα ευρήματα (π.χ. APA, ANA).

Γενικώς , η εμφάνιση αναστολών σε αιμορροφιλικό ασθενή, επιβαρύνει την κλινική εικόνα της νόσου (όχι τόσο τη συχνότητα εκδήλωσης αιμορραγιών, όσο το γεγονός ότι αυτές γίνονται δυσεπίσχετες), επιταχύνει τις επιπλοκές (αρθροπάθεια/ αναπηρία) και κατ'επέκταση, αυξάνει τη θνητότητα.

Αντίθετα προς τους ασθενείς με αιμορροφιλία, που αναπτύσσουν ανασταλτές (αλλοαντισώματα) έναντι του εγγεόμενου παράγοντα σε ποικίλη, αλλά, πάντως, μεγάλη συχνότητα, αυτοαντισώματα αναπτύσσονται με μικρότερη συχνότητα, σε άτομα συνήθως υγιή, με προηγουμένως επαρκή αιμοστατικό μηχανισμό(συχνότητα αντι- FVIII:0,2-1/10 πληθυσμού).

Καταστάσεις που σχετίζονται με ανάπτυξη αυτοαντισωμάτων:

- αυτοάνοσα νοσήματα (ΣΕΛ, ρευματοειδής αρθρίτιδα κ.α.),
- δερματοπάθειες (ψωρίαση, πέμφιγα κ.λ.π.) ,
- λήψη φαρμάκων (π.χ. πενικιλίνη),
- ιογενείς λοιμώξεις ,
- ενδεχομένως εμβολιασμοί (έχει ενοχοποιηθεί το BCG),
- η κύηση/λοχεία, καθώς και
- νεοπλάσματα (συμπαγείς όγκοι).

Όμως, σε άνω του 50% των περιπτώσεων, ουδέν υποκείμενο νόσημα ανευρίσκεται.

Οι αναστολές διαχωρίζονται, βάσει του τρόπου δράσης, σε αντισώματα που στρέφονται ειδικώς έναντι ενός παράγοντα και εξουδετερώνουν τη δραστηριότητα του και σε αντισώματα που αδρανοποιούν γενικώς πρωτεΐνες της πήξης ή αναχαιτίζουν τις αντιδράσεις τους (π.χ. μέσω φωσφολιπιδίων).

Στην πρώτη περίπτωση, η εξουδετέρωση του παράγοντα γίνεται σταδιακά, κατά γραμμικό αλλά, μη αντιστρεπτό τρόπο σε σχέση με το χρόνο (IgG4, κ άλυσος),οπότε παραμένει υπολειπόμενη ποσότητα του παράγοντα.

Στη δεύτερη περίπτωση, τα αντισώματα δρουν ανεξαρτήτως του χρόνου και, πάντως, κατ' αντιστρεπτό τρόπο (σχηματισμός συμπλεγμάτων πρωτεϊνών/αντισωμάτων), οπότε επιτυγχάνεται ταχεία εξουδετέρωση.

Πλείστοι, όσοι, παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί εμπλέκονται στην ανάπτυξη αναστολέων της πήξης:

- αναστολή της λειτουργίας των πρωτεϊνών της πήξης, λόγω απευθείας πρόσδεσης του αντισώματος,
- ταχεία κάθαρση των συμπλεγμάτων πρωτεϊνών/αντισωμάτων,
- δέσμευση και απομάκρυνση των παραγόντων, από μονοκλωνικά αντισώματα,
- απελευθέρωση, από τον εξωκυττάριο χώρο, παθολογικών πρωτεϊνών που προσδένονται στα φυσιολογικά στοιχεία της πήξης, αλλά περιγράφεται και
- εκλεκτική αναστολή τμημάτων των μορίων που στερούνται πηξιογόνου δραστηριότητας.

Η κλινική εικόνα ποικίλλει.

Ενδέχεται να απουσιάζει, οποιαδήποτε αιμορραγική εκδήλωση ή να υπάρχουν ήπιες αιμορραγικές εκδηλώσεις, έως βαρύτατες αιμορραγίες και θάνατος (10 -22 % των περιπτώσεων).

Η κλινική διάγνωση είναι δύσκολη, λόγω του μεγάλου εύρους της μη ειδικής συμπτωματολογίας. Καθίσταται πιθανή, εάν υπάρχει έντονη συμπτωματολογία, ενώ είναι ελεύθερο το ατομικό αναμνηστικό.

Η επιβεβαίωση εξαρτάται από τους παράγοντες ή τις αντιδράσεις πήξεως, έναντι των οποίων στρέφονται τα αντισώματα. Επίσης, η συμπεριφορά των αντισωμάτων εξαρτάται από τον χρόνο και τη θερμοκρασία *vitro*.

Πρέπει κανείς να γνωρίζει, ότι ο σχεδιασμός των ειδικών δοκιμασιών ανίχνευσης αναστολέων, έχει γίνει για να προσδιορίζονται τα αλλοαντισώματα επί αιμορροφιλικών ασθενών.

Ο εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει:

- το βασικό έλεγχο της αιμόστασης,
- μέτρηση επιπέδων παραγόντων,
- ανάμιξη με φυσιολογικό πλάσμα,
- αναζήτηση αντιπηκτικών του λύκου,
- μέτρηση ειδικών αναστολέων.

Από το βασικό έλεγχο της αιμόστασης, η παράταση αρχικώς του APTT ή σπανιότερα η παράταση του APTT, PT (χρόνος προθρομβίνης) και TT (χρόνος θρομβίνης), αποτελεί το σημείο εκκίνησης της διερεύνησης.

Συνοδός θρομβοπενία, παρατηρείται, ενίοτε.

Κατά τη μέτρηση επιπέδων των παραγόντων, ενδέχεται να μετρηθούν φυσιολογικά επίπεδα, όμως κατά κανόνα ανευρίσκεται ανεπάρκεια ενός ή περισσοτέρων παραγόντων του ενδογενούς συστήματος της πήξης (VIII,IX,XI,XII). Σπανίως, συνυπάρχει ανεπάρκεια, επιπλέον, παραγόντων (I,II).

Μετά από ανάμιξη με φυσιολογικό πλάσμα, είναι δυνατό να μην παρατηρηθεί μεταβολή ή να διαπιστωθεί μικρή διόρθωση της παράτασης APTT σε 1 ή 2 ώρες, οπότε και τεκμηριώνεται, απολύτως, η ύπαρξη αναστολέα.

Παρά τη διαπίστωση, όμως, επίκτητων αναστολέων, απαιτείται η αναζήτηση αντιπηκτικών λύκου (L.A.), εφόσον υπάρχει παράταση στο APTT, οπότε ανίχνευση θετικών L.A., με οποιαδήποτε μέθοδο ελέγχου, δεν αποκλείεται.

Η μέτρηση ειδικών αναστολέων (έναντι των ανεπαρκών παραγόντων) δεν αποδίδει πάντοτε. Μόνον, αν υπάρχει μεγάλη έκπτωση των επιπέδων, καθίσταται μετρήσιμοι.^{12,19}

Μέθοδος ελέγχου, αποτελεί η **δοκιμασία Bethesda**.^{25,26}

Ως **1 BU (Bethesda Unit)**, ορίζεται η ποσότητα του αντισώματος στο πλάσμα του ασθενούς που ανιχνεύει το 50% της δραστηριότητας του εναπομείναντος παράγοντα, μετά από ανάμειξη με φυσιολογικό πλάσμα.

Συχνότερη, αλλά και σοβαρότερη διαταραχή, αποτελεί η **επίκτητη αιμορροφιλία** (αντισώματα έναντι του παράγοντα VIII, κυρίως), η οποία συμβαίνει ιδίως σε ενήλικες και σπανιότερα στα παιδιά.

Η απουσία υποκείμενου νοσήματος είναι χαρακτηριστική στην πλειονότητα των περιπτώσεων. Ο τρόπος δράσης των αντισωμάτων είναι περίπλοκος.

Η κλινική εικόνα είναι πιο θορυβώδης, από αυτήν των ασθενών με κληρονομούμενη αιμορροφιλία της ίδιας βαρύτητας, ενδεχομένως γιατί οι τελευταίοι έχουν μάθει να συμβιώνουν με τη νόσο και να προσαρμόζονται. Η θνητότητα αναφέρεται μεγάλη (12 – 40 % των περιπτώσεων). Η φυσική πορεία είναι ποικίλη, αν και στα παιδιά είναι, συνήθως, αυτοϊώμενα.

Η θεραπευτική αντιμετώπιση ατόμων με επίκτητους αναστολείς, αποσκοπεί στην αποτροπή της αιμορραγίας ή την αντιμετώπισή της αν συμβεί, και στην εκρίζωση των αναστολέων.

Ο περιορισμός χειρισμών –δραστηριοτήτων, που εκθέτουν σε κίνδυνο κακώσεων, η αναβολή προγραμματισμένων χειρουργικών επεμβάσεων, η απομάκρυνση από περιβάλλον ιώσεων και η αποφυγή λήψεως φαρμάκων, ασκόπως, είναι μερικά συντηρητικά μέτρα, που στόχο έχουν την πίστωση χρόνου, έως ότου το αντίσωμα υποχωρήσει.

Η αντιμετώπιση της αιμορραγίας, αποσκοπεί στο σχηματισμό θρόμβου, είτε με υπερδοσολογία του «ελλείποντος» παράγοντα, αν ο ανασταλτής είναι ήπιος (<5 BU ελλοχεύει, όμως, ο κίνδυνος ανάπτυξης ισοαντισωμάτων), είτε με αντικατάσταση ανθρώπινου παράγοντα, έναντι του οποίου, έχουν αναπτυχθεί τα αντισώματα, με χοίρειο (αλλεργικές αντιδράσεις, αντισώματα) ή DDAVP(δεσμοπρεσσίνη - συνθετικό παράγωγο αντιδιουρητικής ορμόνης).

Η παράκαμψη της «πάσχουσας» οδού, με προϊόντα που περιέχουν προθρομβινικό σύμπλεγμα (PCC, aPCC) ή ανασυνδυασμένο ενεργοποιημένο παράγοντα VII (rFVIIa – Novoseven), αποτελεί το πρώτο βήμα στην κλινική πράξη.

Ανοσοτροποποιητική παρέμβαση (IV, IgG, κορτιζόνη, κυτταροτοξικά /ανοσοκατασταλτικά) έχει δοκιμασθεί, με, άλλοτε άλλα, αποτελέσματα.

Πρόσφατα, η χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος αντι-CD20 (Rituximab), το οποίο θεωρείται ότι προκαλεί μείωση της παραγωγής αντισωμάτων μέσω β – κυττάρων, φαίνεται ελπιδοφόρα.

ΣΗΨΗ

Όλοι οι σπηπτικοί ασθενείς παρουσιάζουν διαταραχές αιμόστασης, το εύρος των οποίων, κυμαίνεται από ήπιες, με ανεπαίσθητη ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης, που προσδιορίζεται μόνο με ειδικές ευαίσθητες εργαστηριακές δοκιμασίες, έως σοβαρού βαθμού, με χαμηλά αιμοπετάλια και παράταση PT και APTT και κατάληξη σε Διάχυτη Ενδαγγειακή Πήξη (Δ.Ε.Π.).

Στη σήψη και στη ΔΕΠ, προκαλείται **γενικευμένη φλεγμονώδης αντίδραση**, με αύξηση κυτοκινών που παράγονται από τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Η σήψη, προάγει, κυρίως, τη θρόμβωση, αλλά, μπορεί να υπάρχει αιμορραγία λόγω υπερκατανάλωσης παραγόντων πήξης και αιμοπεταλίων, ή ακόμη να συνυπάρχουν αιμορραγία και θρόμβωση. Η βαρύτητα των διαταραχών της πήξης, αποτελεί ένα

σημαντικό και ανεξάρτητο δείκτη της κλινικής έκβασης των ασθενών με σοβαρή σήψη.

Η απελευθέρωση στη συστηματική κυκλοφορία των προφλεγμονωδών κυτοκινών, προκαλεί την ενεργοποίηση της πήξης. Οι παράγοντες φλεγμονής, TNF- α , IL-1, IL-6, και IL-8, προάγουν την έκφραση του ιστικού παράγοντα.

Η ενεργοποίηση της πήξης στη φλεγμονή, μπορεί να αποδειχθεί από τα υψηλά επίπεδα TF και τα χαμηλά επίπεδα FVII, δείχνοντας έτσι την κατανάλωση του παράγοντα αυτού. Επιπλέον, ο μεσολαβητής της φλεγμονής TNF- α ενεργοποιεί τη σύνθεση του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1), που είναι ένας ιδιαίτερα αποτελεσματικός ανασταλτικός παράγοντας της ινωδολύσης.

Η έκφραση του αναστολέα του ιστικού παράγοντα (TFPI), παρουσιάζει, μόνο, μια μικρή αύξηση από την επίδραση της ενδοτοξίνης στη σήψη, και, συνεπώς, η αυξημένη παραγωγή του ιστικού παράγοντα (TF) είναι σε θέση να προκαλέσει την ενεργοποίηση της πήξης.

Η ενεργοποίηση της πηκτικού μηχανισμού σε ασθενείς με SIRS και σήψη, διαπιστώνεται από τα υψηλά επίπεδα των προθρομβινικών θραυσμάτων 1 και 2 (F1+2), των D – διμερών και του συμπλέγματος θρομβίνης – αντιθρομβίνης (TAT).

Η υπερπαραγωγή της θρομβίνης είναι ιδιαίτερα επιβλαβής και προκαλεί:

- τη διέγερση των προφλεγμονωδών διαδικασιών,
- την εναπόθεση του ινώδους στην μικροκυκλοφορία και
- την ανάπτυξη του συνδρόμου ανεπάρκειας ή δυσλειτουργίας οργάνων.

Η υπέρμετρη ενεργοποίηση της πήξης στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς με SIRS και σήψη, συνδυάζεται, συχνά, με τη σχετική ανεπάρκεια του ινωδολυτικού συστήματος και, έτσι, δημιουργείται μία κατάσταση υπερπηκτικότητας η οποία οδηγεί στο σχηματισμό των μικροθρόμβων στο αγγειακό δίκτυο.

Η βακτηριαιμία και η ενδοτοξιναιμία οδηγούν στην αύξηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας λόγω της απελευθέρωσης των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου από τα κύτταρα του ενδοθηλίου. Η αντίδραση αυτή όμως, ακολουθείται, σχεδόν, αμέσως, από την καταστολή του ινωδολυτικού συστήματος από τα αυξημένα επίπεδα του αναστολέα ενεργοποιητή πλασμινογόνου (PAI-1).

Φαίνεται, ότι η ινωδολύση σε καταστάσεις σήψης, αν και είναι ενεργοποιημένη, δεν επαρκεί για να αντισταθμίσει το σχηματισμό του ινώδους. Η αυξημένη παραγωγή του ινώδους, η οποία σχετίζεται με την εξασθενημένη ινωδολύση, μπορεί να οδηγήσει σε δυσλειτουργία οργάνων και σε θάνατο σε ασθενή με σήψη.

Η ενδαγγειακή έκφραση του TF στην επιφάνεια των μονοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων, προκαλεί ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης.

Ο TF σχηματίζει σύμπλεγμα με το ενεργοποιημένο FVII και ενεργοποιεί άμεσα το FX σε FXa. Αυτό το αρχικό βήμα είναι μικρής διάρκειας, γιατί προκαλείται αναστολή του συμπλέγματος από το TFPI(TissueFactorPathwayInhibitor).

Το σύμπλεγμα TF/FVIIa ενεργοποιεί το FIX σε FIXa, με μια μη αναστελλόμενη διαδικασία από το TFPI. Ο FIXa μαζί με τον FVIIIa ενεργοποιεί το FX σε FXa, ο οποίος μαζί με φωσφολιπίδια και το Ca^{++} , μετατρέπει την προθρομβίνη σε θρομβίνη αποσπώντας τα προθρομβινικά κλάσματα 1+2.

Η θρομβίνη διασπά το ινωδογόνο σε ινώδες, αποσπώντας τα ινωδογονοπεπτίδια A και B (FPA,FPB).

Η ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης, συνοδεύεται από ενεργοποίηση της ινωδόλυσης, σε μια προσπάθεια του οργανισμού να περιορίσει το σχηματιζόμενο θρόμβο. Στο σημείο που υπάρχει εναπόθεση ινικής απελευθερώνεται από το αγγειακό ενδοθήλιο t-PA (tissue-PlasminogenActivator), που μετατρέπει το ενσωματωμένο, μέσα στο θρόμβο, πλασμινογόνο, σε πλασμίνη.

Εφόσον, συνεχίζεται ανεξέλεγκτα να παράγεται t-PA, ο σχηματισμός πλασμίνης δεν μπορεί να εξουδετερωθεί από την κυκλοφορούσα α2-αντιπλασμίνη.

Έτσι, η πλασμίνη διασπά όχι μόνο την ινική αλλά και το ινωδογόνο, δίνοντας γένεση στα προϊόντα διάσπασης ινωδογόνου/ινώδους, τα FDPs.

Τα FDPs αναστέλλουν τη δράση της θρομβίνης και βλάπτουν τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων, επηρεάζουν την αιμόσταση, συμβάλλοντας στην επίταση της αιμορραγίας.

Στους σηπτικούς ασθενείς, παρατηρείται ανεπαρκής δραστηριότητα των φυσικών αναστολέων πήξης, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η παραγωγή της θρομβίνης και η εναπόθεση του ινώδους.

Τα επίπεδα των αναστολέων της πήξης, αντιθρομβίνης και πρωτεΐνης C (AT, PrC) είναι συνήθως χαμηλά, σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς.

Η μείωση των αναστολέων της πήξης οφείλεται:

- α) σε υπερκατανάλωση λόγω αυξημένης παραγωγής θρομβίνης,
- β) σε αποδόμηση από τις ελαστάσες του πλάσματος, οι οποίες απελευθερώνονται από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και
- γ) σε ανεπαρκή σύνθεσή τους.

Η θρομβίνη που παράγεται, ανταγωνίζεται την αντιθρομβίνη, με αποτέλεσμα τα χαμηλά επίπεδα της AT στο αίμα των περισσότερων ασθενών με βαριά φλεγμονή.

Μαζί με την υπερκατανάλωση, παρατηρείται καταστροφή της AT από τις πρωτεάσες των λευκοκυττάρων.

Στους ασθενείς με σήψη, παρατηρείται, επίσης, σημαντική μείωση των επιπέδων της πρωτεΐνης C, που οφείλονται σε υπερκατανάλωση, καθώς και σε μειωμένη ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C λόγω χαμηλών επιπέδων θρομβομοδουλίνης(TM), στην επιφάνεια των κυττάρων του ενδοθηλίου, από την επίδραση των προφλεγμονωδών κυτοκινών, όπως ο TNF-α και η IL-1.

Περιγράφεται αύξηση των επιπέδων του πλάσματος της διαλυτής TM, στους ασθενείς με σήψη, που, όμως, δεν είναι σε θέση να ενεργοποιήσει την πρωτεΐνη C με αποτελεσματικό τρόπο.

Η, μη φυσιολογική, λειτουργία του ήπατος των ασθενών με φλεγμονή, μπορεί, επίσης, να επηρεάσει τον πήκτικό μηχανισμό, με τη μείωση της σύνθεσης των πρωτεϊνών πήξης και των αναστολέων πήξης και τη μειωμένη κάθαρση των ενεργοποιημένων παραγόντων και συμπλεγμάτων ενζύμων-αναστολέων.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΑΡΑΤΑΣΗΣ ΑΡΤΤ^{1,2,3,4,5}

Διερεύνηση προς την κατεύθυνση διαταραχών (ανεπαρκειών) της πήξης και αιμόστασης, επιβάλλεται σε ασθενείς ή άτομα που εμφανίζουν:

- Αιμορραγική διάθεση,
- οικογενειακό ιστορικό αιμορραγικής διάθεσης,
- παθολογικούς παρατεταμένους χρόνους πήξης προεγχειρητικώς,
- μετεγχειρητική ή μετατραυματική εμφάνιση ανεξήγητης αιμορραγικής διάθεσης.

Η ακριβής λήψη του ιστορικού του ασθενούς, αποτελεί βασικό στοιχείο στη διάγνωση μιας αιμορραγικής διάθεσης και βοηθά στον καθορισμό των απαιτούμενων διαγνωστικών εξετάσεων.

Για τη μέγιστη αξιοποίηση και αξιολόγηση των πληροφοριών του ιστορικού, θα πρέπει ο γιατρός να μην παρασύρεται από την υποκειμενική περιγραφή του ασθενή, αλλά με εύστοχες ερωτήσεις να αντλήσει τις σωστές πληροφορίες ως προς τη φύση, τη συχνότητα και τη βαρύτητα των αναφερόμενων αιμορραγικών επεισοδίων.

Θα πρέπει να καταγραφούν πιθανή νοσηλεία σε νοσοκομείο ή επίσκεψη σε γιατρό για αιμορραγικά συμπτώματα, σε συνδυασμό με αποτελέσματα προηγούμενων εργαστηριακών εξετάσεων, το ιστορικό μεταγγίσεων αίματος ή παραγώγων και το ιστορικό αναιμίας ή προηγούμενης θεραπείας με σίδηρο.

Η λήψη φαρμάκων αποτελεί σημαντική πληροφορία για την αξιολόγηση του ιστορικού του ασθενούς με διαταραχές της αιμόστασης. Ανάλογα με τη φάση της αιμόστασης η οποία επηρεάζεται, διακρίνουμε τρεις κατηγορίες φαρμάκων για την εμφάνιση επίκτητης αιμορραγικής διάθεσης:

- φάρμακα που επιδρούν στην πρωτογενή αιμόσταση και προκαλούν θρομβοπενία ή θρομβασθένεια
- φάρμακα που δρουν στον καταρράκτη της πήξης και
- φάρμακα που επιδρούν στο μηχανισμό της ινωδόλυσης.

Τέλος, από το **ατομικό αναμνηστικό**, αναζητούνται πληροφορίες για νοσήματα που επηρεάζουν την αιμόσταση (κίρρωση του ήπατος, νεφρική ανεπάρκεια, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, λεμφώματα, λευχαιμίες κ.λ.π.), ενώ, από το **οικογενειακό ιστορικό**, είναι ιδιαίτερα σημαντική η ανάδειξη κληρονομικών διαταραχών της πήξης και της αιμόστασης, πολλές εκ των οποίων, είναι φυλοσύνδετες.

Για κάθε δείγμα αίματος το οποίο λαμβάνεται για διαγνωστικούς σκοπούς, πρέπει να ακολουθούνται όσο το δυνατόν καλύτερα οι οδηγίες σωστής λήψης, χειρισμού, επεξεργασίας και αξιολόγησης του, αφού από την διαδικασία αυτή εξαρτάται το τελικό αποτέλεσμα.

Διακρίνουμε τρεις φάσεις κατά την μέτρηση μιας εξέτασης στο εργαστήριο:

- την προ-αναλυτική φάση μέτρησης,
- την αναλυτική φάση μέτρησης και
- την μετά-αναλυτική φάση μέτρησης.

Στην πρώτη φάση μέτρησης, περιλαμβάνονται:

- οι συνθήκες λήψης του δείγματος,
- η προσαρμογή αναλογίας αιματοκρίτη/αντιπηκτικού,
- η επεξεργασία του δείγματος προς ανάλυση,
- η τήρηση των χρόνων διατήρησης του δείγματος και τέλος
- η τήρηση των συνθηκών συντήρησής του.

Στη δεύτερη φάση μέτρησης, περιλαμβάνονται:

- η ακρίβεια,
- η ορθότητα και
- η επαναληψιμότητα της μεθόδου μέτρησης.

Στην τρίτη φάση, έχουμε:

- την καταγραφή-καταχώρηση των αποτελεσμάτων,
- την αντιστοίχιση με προηγούμενα αποτελέσματα,
- την αρχειοθέτησή τους και, τέλος,
- την ερμηνεία αυτών.

ΠΡΟ-ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ⁶⁷

Η προσέγγιση του ασθενούς για φλεβοκέντηση, πρέπει να περιλαμβάνει, αρχικά, την τοποθέτησή του στη σωστή θέση (ημικατακεκλιμένου σε ειδική πολυθρόνα ή στη νοσηλευτική κλίνη), την εφαρμογή περίδεσης με ειδικό ιμάντα και την υπομονετική αναζήτηση της, πλέον, εμφανούς και κατάλληλης φλέβας για φλεβοκέντηση.

Αυτό γίνεται, τόσο οπτικά, όσο και ψηλαφητικά, αφού μπορούμε να ψηλαφήσουμε την διογκωμένη, μετά την περίδεση, φλέβα κάτω από τα δάκτυλά μας. Προσοχή χρειάζεται κατά την λήψη αίματος από άτομα υπερήλικα, στα οποία, το τοίχωμα της φλέβας μπορεί να είναι σκληρό λόγω αθηρωμάτωσης και ασβέστωσης, οπότε η φλεβοκέντηση καθίσταται εξαιρετικά δύσκολη, ιδιαίτερα αν η φλέβα είναι κινητή.

Επίσης, σε μερικούς ασθενείς, κατά τη φλεβοκέντηση, τα τοιχώματα της φλέβας συμπιέτουν αντανάκλαστικά, οπότε προσωρινή απελευθέρωση της περιχειρίδος διευκολύνει την αιμοληψία.

Επίσης, κατά την λήψη αίματος, μπορεί ο ασθενής να μην έχει εμφανές επιπολής, φλεβικό δίκτυο, συνήθως λόγω παχυσαρκίας ή λόγω προηγθεισών θεραπειών με κυτταροστατικά φάρμακα, οπότε η επιλογή της προς παρακέντησης φλέβας, πρέπει να επιτελείται με τη μέγιστη δυνατή προσοχή.

Πρέπει να αποφεύγεται η **ενεργοποίηση του ενδοθηλίου** που προκαλείται από παρατεταμένη περιίδεση και εργώδη αιμοληψία.

Για τη λήψη αίματος, χρησιμοποιούμε βελόνα διαμέτρου 19-22 gauge.

Από το αίμα που λαμβάνουμε, και από το άκρο της βελόνας, απορρίπτεται η πρώτη σταγόνα (μπορεί να περιέχει οινόπνευμα ή δερματικά κύτταρα) και τοποθετούμε το αίμα σε ειδικό φιαλίδιο, σε ποσότητα ανάλογη με την ένδειξη που ήδη προϋπάρχει στο φιαλίδιο.

Δείγματα με μικρότερο όγκο από τον προκαθορισμένο (<80-90% του όγκου στόχου) μπορεί να εμφανίσουν παράταση του χρόνου ανίχνευσης.

Μετά την τοποθέτηση του αίματος εντός του φιαλιδίου, πρέπει να αναδευτεί, με ήπιες κινήσεις, ώστε το υπάρχον αντιπηκτικό να αναμιχθεί ομοιόμορφα με το δείγμα.

Είναι προτιμότερο η αιμοληψία να γίνεται το πρωί, με τον ασθενή νηστικό. Δείγματα με εκσεσημασμένη αιμόλυση ή με ύπαρξη εμφανούς πήγματος, πρέπει να απορρίπτονται.

Για την μέτρηση του APTT, τα φιαλίδια περιέχουν ως αντιπηκτικό, κιτρικό νάτριο 0,105-0,109 mol/L. Το κιτρικό νάτριο που περιέχουν τα σωληνάρια, δεσμεύει το ασβέστιο και εμποδίζει την πήξη του αίματος μέσα στο σωληνάριο. Επομένως, όλες οι πρωτεΐνες (παράγοντες, αναστολείς) που συμμετέχουν στο μηχανισμό της πήξης, παραμένουν ανέπαφες στο υπερκείμενο της φυγοκέντρησης (πλάσμα).

Τα δείγματα για τις δοκιμασίες που εκτελούνται από πλάσμα, φυγοκεντρούνται σε 2000 g για, τουλάχιστον, 10 min σε θερμοκρασία δωματίου.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ⁶⁷

Στην αναλυτική φάση, περιλαμβάνονται οι διαδικασίες, που θα διασφαλίσουν, το κοντινότερο, στην πραγματικότητα, αποτέλεσμα της εξέτασης, μειώνοντας την πιθανότητα λάθους κατά την διενέργεια αυτής.

Τα λάθη πρέπει να εντοπίζονται έγκαιρα και να εξουδετερώνονται.

Διακρίνονται στα:

- **τυχαία λάθη**, που οφείλονται στον **ανθρώπινο παράγοντα** (λάθη γραφειοκρατίας, δειγματοληψίας, χειρισμών και συντήρησης δείγματος) και σε **τεχνικούς, απροσδόκητους, παράγοντες** (πτώση τάσης, διακοπή ηλεκτρικού ρεύματος, μεταβολές θερμοκρασίας, φυσαλίδες αέρα σε δείγμα ή αντιδραστήριο) και σε

- **συστηματικά λάθη:** χαλασμένα μηχανήματα, ελαττωματικά όργανα, ακατάλληλα αντιδραστήρια, έλλειψη τεχνικών ελέγχου.

Πρωταρχική σημασία για την ιατρική, έχει η αξιοπιστία του εργαστηριακού αποτελέσματος.

Για να είναι ένα αποτέλεσμα αξιόπιστο, θα πρέπει να ελέγχονται κάποιες παράμετροι αξιοπιστίας, πέρα από την, όσο το δυνατόν, εκμηδένιση της πιθανότητας τυχαίων λαθών.

Οι παράμετροι αξιοπιστίας διακρίνονται σε αναλυτικές και σε διαγνωστικές.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ:

- Ακρίβεια(accuracy)
- Επαναληψιμότητα (precision) ή Αναπαραγωγιμότητα (reproducibility)
- Ευχρηστότητα ή Πρακτικότητα (practicability)

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ:

- Ευαισθησία (sensitivity)
- Ειδικότητα (specificity)
- προγνωστική και διαγνωστική αξία.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Με τον όρο, **ακρίβεια**, εννοούμε, το πόσο ακριβής είναι μια τιμή μέτρησης σε σχέση με την πραγματική.

Εκατοστιαίο ποσοστό ακρίβειας, ονομάζεται ο λόγος της διαφοράς (d) μεταξύ της πραγματικής (μ) και της προσδιοριζόμενης(x), ($d=\mu-x$), προς την πραγματική, επί εκατό.

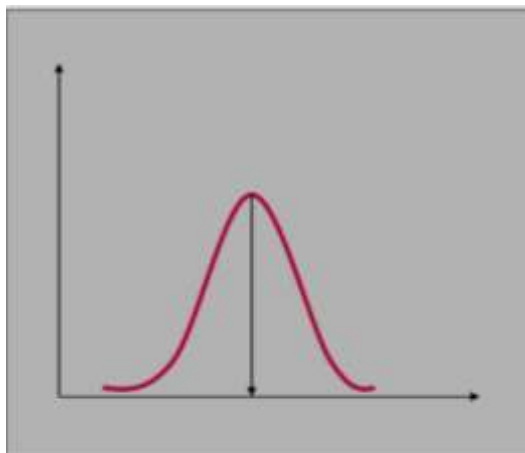
Επί τοις εκατό απόκλιση $R=(d/\mu)\times 100$.

Στην πράξη, χρησιμοποιούμε Standard Solution για να υπολογίσουμε την ακρίβεια της μεθόδου, από το, κατά πόσο η τιμή μέτρησης αποκλίνει από την <πραγματική>.

Όσο τείνει προς το μηδέν, δηλαδή,όσο πιο μικρή είναι η ποσοστιαία διαφορά από την πραγματική τιμή, τόσο πιο ακριβής είναι η μέθοδος μας.

Νεώτεροι συγγραφείς αποδίδουν τον όρο ως, **ορθότητα μετρήσεων**.

Η ακρίβεια σχετίζεται με τα συστηματικά σφάλματα του οργάνου ή της μεθόδου.

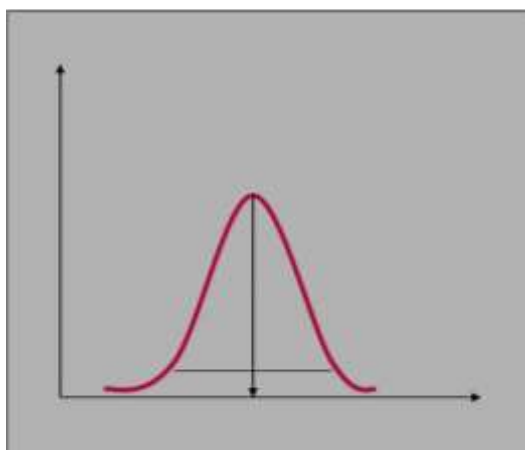


ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Επαναληψιμότητα, ορίζεται η δυνατότητα της μεθόδου, να δίνει το ίδιο αποτέλεσμα σε επαναλαμβανόμενες μετρήσεις του ίδιου δείγματος.

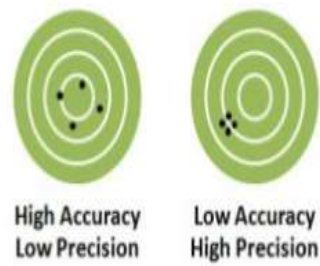
Η επαναληψιμότητα μας δείχνει το μέγεθος των τυχαίων λαθών, που μπορεί να οφείλονται σε ποικίλους παράγοντες, όπως διαφορετικά όργανα μέτρησης, αντιδραστήρια διαφορετικής προέλευσης, αλλαγή προσωπικού στην εργαστηριακή ανάλυση.

Η καλή επαναληψιμότητα δεν σημαίνει, πάντα, εξασφαλισμένη ακρίβεια (ορθότητα). Ένα λάθος στην παρασκευή αντιδραστηρίου μπορεί να δίνει επαναλήψιμα αλλά μη ακριβή αποτελέσματα.



Υψηλή ακρίβεια - χαμηλή επαναληψιμότητα (αριστερά).

Χαμηλή ακρίβεια - υψηλή επαναληψιμότητα (δεξιά).



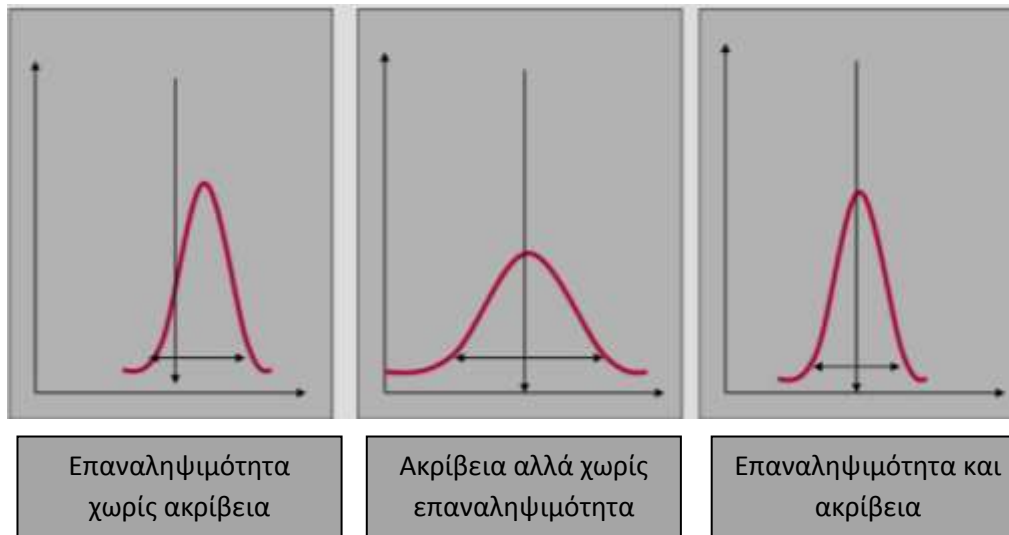
Για να βρούμε την τιμή της επαναληψιμότητας, βρίσκουμε τη μέση τιμή των μετρήσεών μας (δηλ. τον μέσο όρο).

Βρίσκουμε τη σταθερή απόκλιση, **Standard deviation**, που είναι η διακύμανση των επί μέρους τιμών, γύρω από τη μέση τιμή (Τυπική απόκλιση).

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Τέλος, βρίσκουμε τον **συντελεστή μεταβλητότητας CV (Coefficient of Variation)**.

$$CV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100$$



ΕΥΧΡΗΣΤΟΤΗΤΑ Ή ΠΡΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑ (*practicability*)

Προσδιορίζεται από το κόστος της μεθόδου, τον χρόνο που απαιτείται για να ολοκληρωθεί, τον βαθμό δυσκολίας χειρισμών και τον βαθμό επικινδυνότητας.

ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ (*sensitivity*)

Ευαισθησία (*sensitivity*) μιας δοκιμασίας, λέγεται η ικανότητά της να δίνει θετικό αποτέλεσμα στον μεγαλύτερο δυνατόν αριθμό ατόμων, που πάσχουν από την πιθανολογούμενη νόσο.

Εκφράζεται ως, εκατοστιαίο ποσοστό των αληθώς θετικών (ΑΘ) αποτελεσμάτων προς το σύνολο των ασθενών που έδωσαν αληθώς θετικό ή ψευδώς αρνητικό (ΨΑ) αποτέλεσμα.

$$\text{Ευαισθησία \%} = \frac{\text{ΑΘ}}{\text{ΑΘ} + \text{ΨΑ}} \times 100.$$

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ (specificity)

Ειδικότητα, είναι η ικανότητα της μεθόδου να μετρά μόνο την ουσία – στόχο χωρίς την παρεμβολή άλλων ουσιών του δείγματος ή των αντιδραστηρίων.

Εκφράζεται ως, το επί της % των αληθώς αρνητικών (ΑΑ) αποτελεσμάτων, προς το σύνολο των αληθώς αρνητικών (ΑΑ) και ψευδώς θετικών (ΨΘ) αποτελεσμάτων.

$$\text{Ειδικότητα \%} = \frac{AA}{(AA + \Psi\Theta)} \times 100.$$

Η ιδανική εξέταση θα πρέπει να έχει 100% ειδικότητα και 100% ευαισθησία.

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ (predictive value) θετικού αποτελέσματος: εκφράζει το εκατοστιαίο ποσοστό των αληθώς αποτελεσμάτων προς το σύνολο των αληθώς και ψευδώς αποτελεσμάτων.

$$PV (+) = \frac{A\Theta}{(A\Theta + \Psi\Theta)} \times 100.$$

Όσο το ποσοστό, αυτό, πλησιάζει το 100, τόσο είναι μεγαλύτερη η προγνωστική αξία της μεθόδου.

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ (predictive value) αρνητικού αποτελέσματος: εκφράζει το εκατοστιαίο ποσοστό των, αληθώς, αρνητικών, προς το σύνολο των αληθώς και ψευδώς, αρνητικών αποτελεσμάτων.

$$PV (-) = \frac{AA}{(AA + \Psi A)} \times 100.$$

Όσο μικρότερος είναι ο παρανομαστής, τόσο πλησιέστερα στο 100 θα βρίσκεται αυτή η τιμή, δηλαδή τόσο μεγαλύτερη η προγνωστική αξία του αρνητικού αποτελέσματος.

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ (DIAGNOSTIC VALUE)

Εξαρτάται από:

- την συχνότητα (επιπολασμό) της νόσου σε ένα πληθυσμό, σε δεδομένο τόπο και χρόνο,
- την κλινική συσχέτιση της εξέτασης (π.χ. η παθολογική τιμή να αντιστοιχεί σε παθολογική κατάσταση και να μη συναντιέται-παρά σπάνια-σε άλλες άσχετες καταστάσεις) και
- την επιλογή ομάδων εξετάσεων, καθιερωμένων για τη διάγνωση, συγκεκριμένων νόσων.

Στόχος: η εγκυρότητα της διάγνωσης, η αποτελεσματικότητα της θεραπείας και η μείωση του κόστους.

Η διασφάλιση της ακρίβειας και της επαναληψιμότητας, και, γενικά, η ορθή εργαστηριακή πρακτική γίνεται με τον εσωτερικό **ΚΑΙ** εξωτερικό έλεγχο ποιότητας.

Ο **εσωτερικός ποιοτικός έλεγχος** γίνεται από όλο το προσωπικό του εργαστηρίου, καθημερινά, με σκοπό τη μελέτη εκείνων των σφαλμάτων, για τα οποία είναι υπεύθυνο το εργαστήριο, ώστε να τα αναγνωρίσει και να τα ελαχιστοποιήσει.

Στην καθημερινή πράξη του εργαστηρίου, πρέπει σε κάθε καινούρια παρτίδα αντιδραστηρίου να κατασκευάζουμε την καμπύλη αναφοράς ή βαθμονόμησης (calibration curve).

Καμπύλη αναφοράς ή βαθμονόμησης, ονομάζεται η καμπύλη που προκύπτει από τη γραφική παράσταση των αριθμητικών τιμών μιας φυσικοχημικής ιδιότητας του δείγματος (Α ή Τ%, ύψος ή εμβαδόν κορυφής φάσματος ή χρωματογράφηματος), σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση της ουσίας σε πρότυπα διαλύματα.

Ο έλεγχος της καμπύλης αναφοράς γίνεται με τα **quality controls**.

Οι συσκευασίες του quality control περιέχουν δείγματα γνωστής συγκέντρωσης της εξέτασης και τα δείγματα αυτά χρησιμοποιούνται σε καθημερινή βάση, στην αρχή της εργασίας, πριν την ανάλυση των εξετάσεων των ασθενών.

Τα επίπεδα τιμών των controls είναι δύο, φυσιολογικές και παθολογικές σε χωριστά φιαλίδια. Με τον έλεγχο αυτό, επιβεβαιώνεται η ακρίβεια των μετρήσεων του αναλυτή.

Όταν το αποτέλεσμα είναι εντός των ορίων, συνεχίζουμε την ανάλυση των εξετάσεων των ασθενών, ενώ όταν είναι εκτός, προχωράμε σε έλεγχο αναλυτή, αντιδραστηρίων και κατασκευή καινούριας καμπύλης βαθμονόμησης.

Στο εργαστήριο μας χρησιμοποιούμε τα controls που προμηθεύει η συμβασιούχα, για τα αντιδραστήρια του αναλυτή, εταιρία.

CONTROL PLASMA (N) και (P):⁶⁷

Τα controls λαμβάνονται από μείγμα πλάσματος που συλλέγεται από επιλεγμένους υγιείς αιμοδότες. Το πλάσμα για το control P, ρυθμίζεται σε καθορισμένες συγκεντρώσεις παραγόντων.

Και τα δύο controls σταθεροποιούνται με ρυθμιστικό διάλυμα HEPES (12 gr/L) και λυοφιλοποιούνται.

Για να αποφευχθεί η ενεργοποίηση του συστήματος πήξης με την επαφή στο τοίχωμα του φιαλιδίου, το παρασκεύασμα παρέχεται σε σιλικοναρισμένα φιαλίδια.

Παρασκευή πλάσματος:

- Ανασύσταση των controls, προσθέτοντας 1,0 ml απεσταγμένου ή απιονισμένου νερού.
- Ανακίνηση αυτών, προσεχτικά, για να διαλυθούν (χωρίς τον σχηματισμό αφρού).
- Αναμονή για 15, τουλάχιστον, λεπτά στους 15 έως 25°C.
- Ανακίνηση, πάλι, προσεχτικά, πριν τη χρήση.

Φύλαξη και σταθερότητα:

Τα controls φυλάσσονται κλειστά, στους 2 έως 8°C και χρησιμοποιούνται έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

Μετά την ανασύσταση η σταθερότητα :

- 4 ώρες στους 15 έως 25°C
- 4 εβδομάδες στους -20°C.

Τα ανασυσταμένα controls μπορούν να καταψυχθούν και να αποψυχθούν μία μόνο φορά.

Τα ανασυσταμένα πλάσματα ελέγχου πρέπει να καταψύχεται το ταχύτερο δυνατό, σε καλά κλεισμένα δοχεία. Η απόψυξη πρέπει να έχει ολοκληρωθεί στους 37°C εντός 10 λεπτών. Τα ανασυσταμένα πλάσματα ελέγχου δεν πρέπει να εκτίθεται στους 15 έως 25°C, για περισσότερες από 2 ώρες, μετά την απόψυξη.

Αναμενόμενες τιμές:

Οι αναμενόμενες τιμές, παρέχονται στον ειδικό πίνακα αποδιδόμενων τιμών για την παρτίδα και τη μέθοδο που εσωκλείεται. Οι παραπάνω τιμές παρέχονται, μόνο, ως κατευθυντήρια γραμμή.

Συνίσταται κάθε εργαστήριο να καθιερώνει το δικό του επιδιωκόμενο εύρος τιμών.

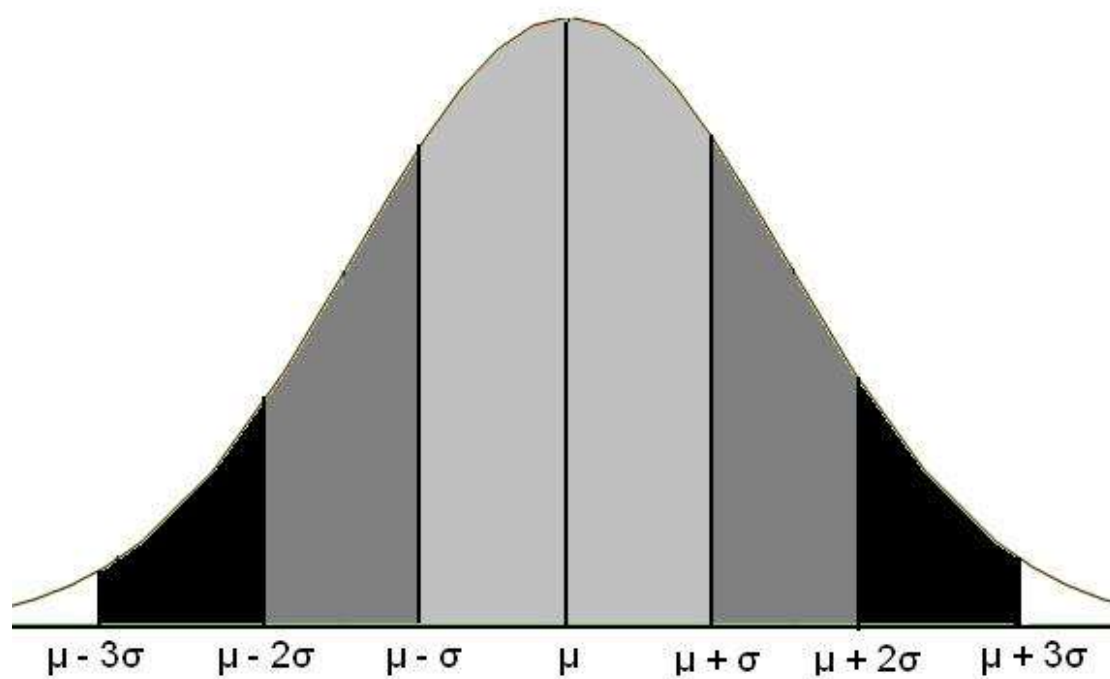
Οι τιμές των δειγμάτων ελέγχου – γνωστής συγκέντρωσης (controls), καταγράφονται καθημερινά και ελέγχεται η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων με την χρήση ενός **διαγράμματος ελέγχου Levey-Jennings**.

Στο διάγραμμα αυτό, αναπαριστώνται οι παρατηρούμενες τιμές ενός υλικού ελέγχου με την πάροδο του χρόνου, και την χρήση ανώτατων και κατώτερων ορίων ελέγχου.

Όσο η παρατηρούμενη τιμή, από τη μέτρηση του υλικού ελέγχου βρίσκεται μεταξύ των ορίων αυτών στο διάγραμμα Levey-Jennings, μπορεί να ειπωθεί με ασφάλεια ότι η μέθοδος εφαρμόζεται επαρκώς.

Όταν οι παρατηρούμενες τιμές βρεθούν εκτός των ορίων αυτών, σημαίνει ότι ένα πρόβλημα έχει πιθανώς ξεκινήσει να εμφανίζεται.

Το διάγραμμα Levey-Jennings, βασίζεται στην ιδιότητα της κανονικής κατανομής να έχει όλες τις τιμές της (X_i) σε, γεωμετρικά, ίση απόσταση γύρω από τη μέση τιμή της (μ).



Η κανονική κατανομή μπορεί να περιγραφεί επαρκώς από δύο μεγέθη:

- την μέση τιμή μ και
- την απόκλιση σ .

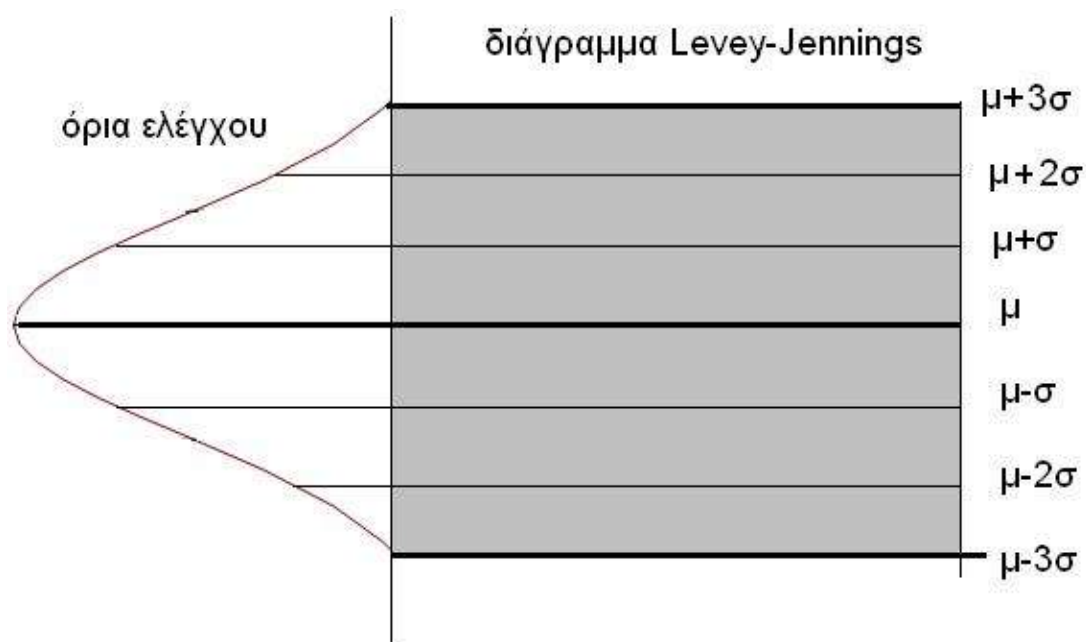
Η μέση τιμή μ και η απόκλιση σ μπορούν να προσδιοριστούν εύκολα από 20-30 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, με την προϋπόθεση ο αναλυτής να βρίσκεται σε

καλή λειτουργία, τα αντιδραστήρια να έχουν πρόσφατα ανασυσταθεί και οι εξετάσεις να έχουν πρόσφατα βαθμονομηθεί.

Η κατασκευή του διαγράμματος γίνεται, αντιστρέφοντας την κανονική κατανομή κατά 90 μοίρες και χαράσσοντας επτά παράλληλες γραμμές στα σημεία μ , $\mu+1\sigma$, $\mu+2\sigma$, $\mu+3\sigma$, $\mu-1\sigma$, $\mu-2\sigma$, $\mu-3\sigma$.

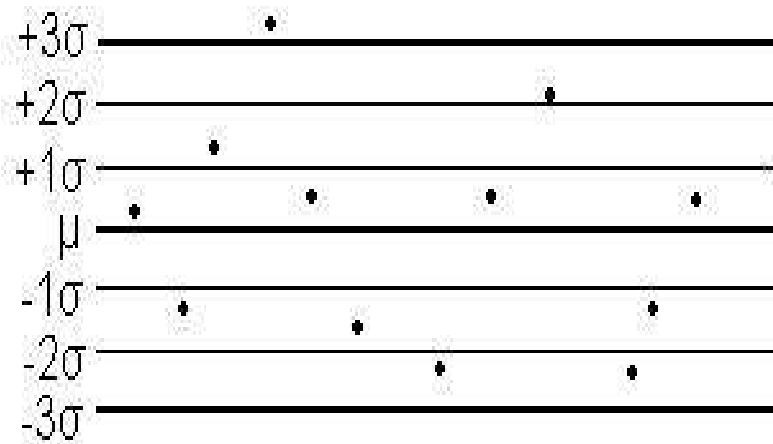
Κατόπιν, κατασκευάζεται ένα διάγραμμα, όπου στον άξονα των $x\chi'$ βρίσκονται οι ημερομηνίες εκτέλεσης της εξέτασης, ενώ στον άξονα $\psi\psi'$ βρίσκονται οι τιμές των ορών ελέγχου. Πάνω στο διάγραμμα έχουν σχεδιαστεί επτά οριζόντιες γραμμές που αντιστοιχούν στις τιμές μ , $\mu+1\sigma$, $\mu+2\sigma$, $\mu+3\sigma$, $\mu-1\sigma$, $\mu-2\sigma$, $\mu-3\sigma$.

Στην εικόνα που ακολουθεί παριστάνεται η δημιουργία του διαγράμματος από μία κανονική κατανομή:

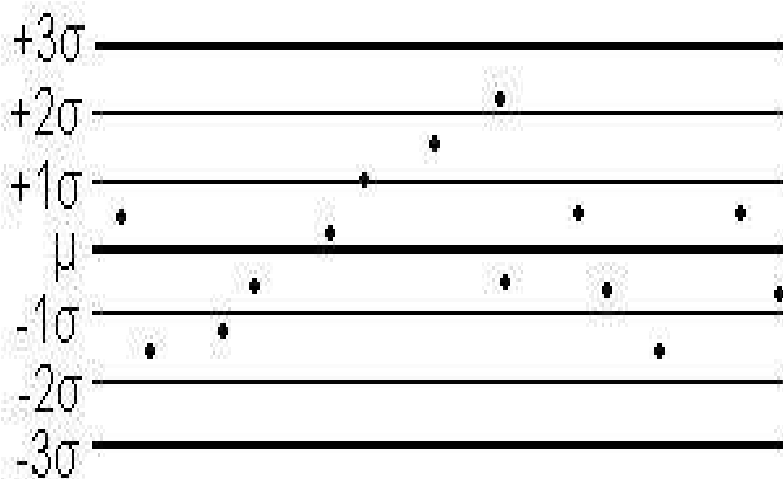


Στην καθημερινή εφαρμογή, τοποθετείται πάνω στο διάγραμμα Levey-Jennings ένα σημείο που αντιστοιχεί στην συγκέντρωση του ορού ελέγχου.

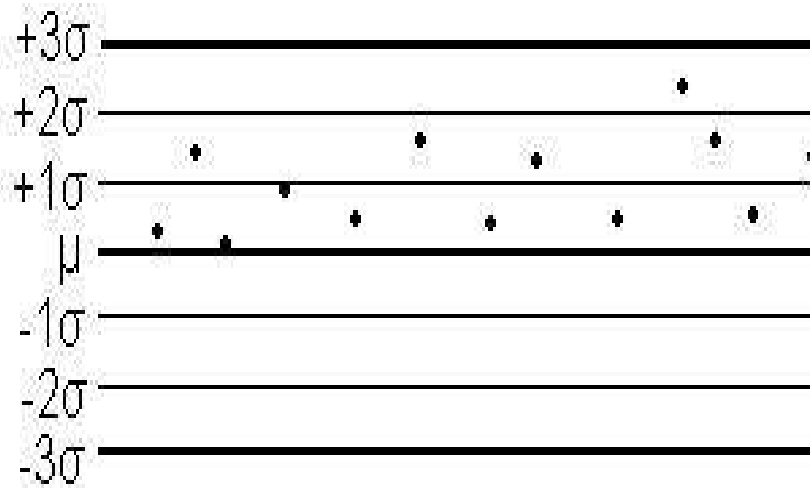
Παρατηρούμε, στην συνέχεια, αν αυτό το σημείο βρίσκεται εντός ή εκτός των ορίων $\mu+3\sigma$ και $\mu-3\sigma$.



Εκτός της θέσης των σημείων, παρατηρούμε αν αυτά εμφανίζουν κάποια συστηματική τάση (π.χ. συνεχόμενη αύξηση ή μείωση), όπως το σχήμα.



Τέλος, παρατηρούμε σε ποια θέση βρίσκονται τα σημεία, σε σχέση με την μέση τιμή, δηλ., να μην βρίσκονται από την μία πλευρά αυτής, όπως στο σχήμα.



Ο εξωτερικός ποιοτικός έλεγχος, συμπληρώνει τον εσωτερικό ποιοτικό έλεγχο και αποτελεί σημαντικό και αναπόσπαστο μέρος της αξιοπιστίας ενός εργαστηρίου.

Σύμφωνα με τις οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, διενεργείται από διαπιστευμένο ανεξάρτητο φορέα (ISO/IEC 1704) με την αποστολή του ίδιου δείγματος σε όλους όσους συμμετέχουν.

Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων, είναι απαραίτητο να προσδιοριστεί η **τιμή στόχος**, μία αληθής τιμή που προσδιορίζεται από ένα ή περισσότερα κέντρα αναφοράς ή η **συμφωνημένη τιμή (consensus value)**, που προέρχεται από τα αποτελέσματα των συμμετεχόντων.

Για να συμμετάσχει ένα εργαστήριο σε ένα τέτοιο πρόγραμμα, πρέπει να δηλώσει τις εξετάσεις που προσδιορίζει, τις μεθόδους, τα όργανα και το είδος των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιεί.

Τα απεσταλμένα δείγματα, αναλύονται σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα, από το ίδιο προσωπικό και με τον ίδιο τρόπο που εξετάζονται τα δείγματα των ασθενών. Το εργαστήριο δεν πρέπει να επικοινωνεί με άλλα εργαστήρια που συμμετέχουν

στο πρόγραμμα, για τα δεδομένα του, υπό εξέταση δείγματος, ούτε να παραπέμπει το δείγμα αυτό για επιβεβαιωτικές εξετάσεις.

Τα αποτελέσματα επιστρέφονται στον φορέα.

Μετά την ανάλυσή τους, οι οργανωτές ενημερώνουν το εργαστήριο, μέσω αναφοράς, για την επίδοσή τους σε σχέση με τους υπόλοιπους συμμετέχοντες.

Στο τέλος της περιόδου γίνεται αξιολόγηση και βαθμολόγηση του εργαστηρίου (για κάθε παράμετρο και συνολικά).

Τα αποτελέσματα του εξωτερικού ελέγχου πρέπει να παρακολουθούνται και, όταν τα προκαθορισμένα κριτήρια επίδοσης δεν ικανοποιούνται, πρέπει να εφαρμόζονται διορθωτικές ενέργειες.

Όταν η συμμετοχή σε ένα πρόγραμμα διεργαστηριακής σύγκρισης δεν είναι εφικτή, τότε πρέπει να αναπτύσσονται άλλες διαδικασίες, που να παρέχουν αντικειμενική μαρτυρία, για την επίδοση του εργαστηρίου. Σε αυτές συμπεριλαμβάνονται η ανάλυση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς, δείγματα που έχουν εξεταστεί παλαιότερα, ανταλλαγή δειγμάτων με άλλα εργαστήρια.

ΜΕΤΑ – ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΦΑΣΗ⁶⁷

Η μετά-αναλυτική φάση μέτρησης, περιλαμβάνει:

- την καταγραφή των αποτελεσμάτων,
- την σωστή αντιστοίχισή τους, προς τα εξεταζόμενα δείγματα,
- την καταχώρηση των αποτελεσμάτων και την αρχειοθέτησή τους,
- την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και την συσχέτιση τους με το κλινικό και εργαστηριακό profile των ασθενών.

Ακολουθεί η κοινοποίηση των αποτελεσμάτων και η ενημέρωση των ενδιαφερόμενων (κλινικών – ασθενών συγγενών).

Το εργαστήριο διασφαλίζει ότι εξουσιοδοτημένο προσωπικό ανασκοπεί τα αποτελέσματα των εξετάσεων πριν την αποδέσμευσή τους. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, γίνεται πάντα σε σύγκριση με προηγούμενα αποτελέσματα, όπου αυτά είναι διαθέσιμα, την διαθέσιμη κλινική πληροφορία καθώς και πληροφορίες που αφορούν την καταλληλότητα του δείγματος.

Όταν τα αποτελέσματα των εξετάσεων εμπίπτουν εντός των καθιερωμένων «κρίσιμων τιμών» ή τιμών πανικού τότε πρέπει να γίνεται:

- Μακροσκοπικός έλεγχος δείγματος για παρουσία πήγματος, αιμόλυσης, θολερότητας.
- Έλεγχος των αποτελεσμάτων των ορών ελέγχου και των αποτελεσμάτων των δειγμάτων της ίδιας σειράς.
- Έλεγχος των προηγούμενων αποτελεσμάτων του ασθενούς.
- Επανάληψη των προσδιορισμών στα δείγματα με κρίσιμες τιμές.
- Ζήτηση, επιπλέον, πληροφοριών για την κλινική κατάσταση του ασθενούς.
- Επανάληψη της αιμοληψίας και της εξέτασης του νέου δείγματος.
- Κοινοποίηση του αποτελέσματος στον κλινικό ιατρό. Σημειώνεται ο χρόνος, το όνομα του ιατρού που απαντά, ο τρόπος επικοινωνίας.

ΕΚΔΟΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οι απαντήσεις των αποτελεσμάτων πρέπει να εκδίδονται με ακρίβεια, σαφήνεια, να είναι κατανοητές και κλινικά αξιοποιήσιμες.

Η έκθεση των αποτελεσμάτων πρέπει να περιέχει:

- Την ταυτότητα του εργαστηρίου.
- Την ταυτότητα του ασθενούς (ονοματεπώνυμο – διεύθυνση, σε κάθε σελίδα της έκθεσης).
- Το είδος του βιολογικού υλικού.
- Την ημερομηνία και την ώρα εκτύπωσης των αποτελεσμάτων, καθώς και τον αριθμό σελίδας από τον συνολικό αριθμό σελίδων.
- Μονάδες μέτρησης, τιμές αναφοράς.
- Διαγράμματα – νεφελογράμματα, όπου είναι εφαρμόσιμο.
- Την μεθοδολογία των αναλύσεων.
- Δυνατότητα σχολίων (που αφορούν την καταλληλότητα του δείγματος σε σχέση με το αποτέλεσμα).
- Την υπογραφή του υπεύθυνου για την έγκριση – αποδέσμευση του αποτελέσματος.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ^{2,3}

Η χορήγηση αντιπηκτικών φαρμάκων, σε πληθώρα παθολογικών καταστάσεων, καθιστά απαραίτητο τον εργαστηριακό έλεγχο της δραστηρότητας τους και, άρα, του θεραπευτικού τους αποτελέσματος.

Οι τεχνικές προσδιορισμού της δραστηρότητάς τους εξελίσσονται συνεχώς, εφ' όσον, κάθε κατηγορία αντιπηκτικού διαφέρει, ως προς:

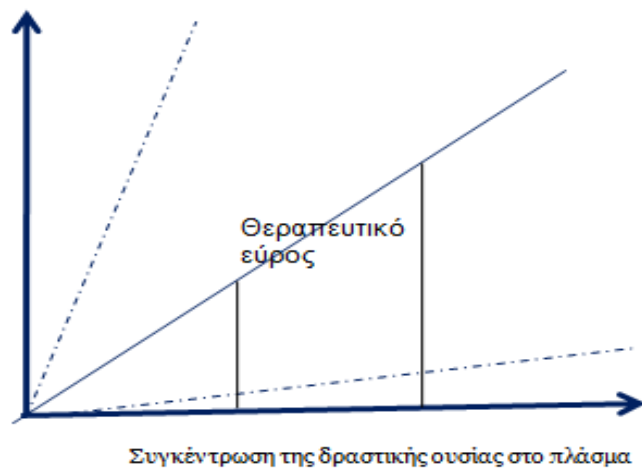
- Τον τρόπο δράσης
- Την κάθαρση
- Τον χρόνο ημίσειας ζωής
- Την αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες και
- Τις τεχνικές ανίχνευσης, είτε του αντιπηκτικού αποτελέσματός του, είτε της παρουσίας ή της απουσίας του στον οργανισμό

Ιδανικός χρόνος πραγματοποίησης εργαστηριακού ελέγχου

- **Baseline:** αποκλεισμός υποκείμενης αιμορραγικής διάθεσης, αποκλεισμός νεφρικής ή ηπατικής ανεπάρκειας
- **Follow up:** έλεγχος ρουτίνας αντιπηκτικού αποτελέσματος μετά την έναρξη θεραπείας, έλεγχος αλληλεπιδράσεων με συγχωρηγούμενη φαρμακευτική αγωγή.
- **Προεγχειρητικά:** έλεγχος αναστροφής της δράσης, μετά τη διακοπή του φαρμάκου σε περίπτωση προγραμματισμένου χειρουργείου, επίγοντα χειρουργεία, τροποποίηση της αντιπηκτικής αγωγής.
- **Μετεγχειρητικά:** επαναφορά στην προηγούμενη αγωγή.
- **Ανεπιθύμητες αντιδράσεις:** θρόμβωση, αιμορραγία, ανάγκη άμεσης και αποτελεσματικής αναστροφής της δράσης του αντιπηκτικού.
- **Αλλαγή στη συγχωρηγούμενη αγωγή.**
- **Επιβάρυνση ηπατικής ή νεφρικής λειτουργίας.**
- **Αδυναμία συμμόρφωσης των ασθενών στις οδηγίες.**
- **Διαταραχές σωματικού βάρους:** παχύσαρκοι ή λιποβαρείς ασθενείς, απότομη μεταβολή βάρους.

Τα χαρακτηριστικά μιας ιδανικής δοκιμασίας, αφορούν σε:

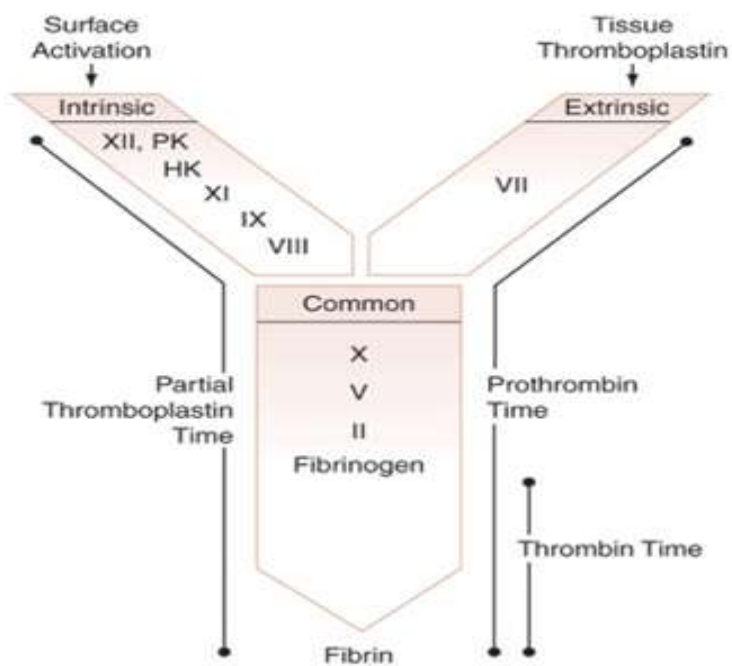
- **Γραμμικότητα,** για όλες τις χορηγούμενες δοσολογίες (θεραπευτική, υπο/υπερδοσολογία).
- **Ευαισθησία,** με κλίση στις 45° .
- **Βαθμονομητές.**
- **Διαθεσιμότητα,** σε πολλά εργαστήρια, όλες τις ώρες.



Ο εργαστηριακός έλεγχος αφορά στον προσδιορισμό:

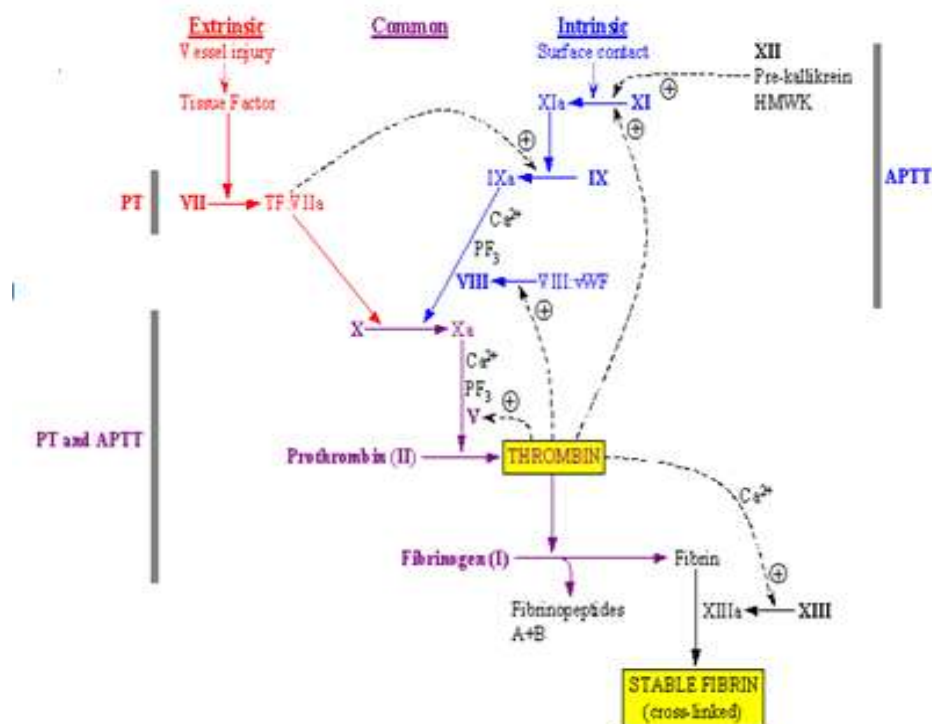
- PT/INR
- APTT
- Ινωδογόνο
- Θρομβίνη
- Χρόνος ρεπτιλάσης

πάντα, με βάση, τον γνωστό “καταρράκτη” της πήξης.



Παράταση του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης παρατηρείται σε:

- Χορήγηση ηπαρίνης
- Νόσο vWillenbrand
- Ανεπάρκεια FVIII, FIX, FXI, FXII, προκαλλικρείνης, υψηλού μοριακού βάρους, κινινογόνου
- Ανασταλτές έναντι FVIII, FIX, FXI, FXII
- Αντιπηκτικό του λύκου
- Συγχορήγηση άλλων φαρμάκων, ΔΕΠ

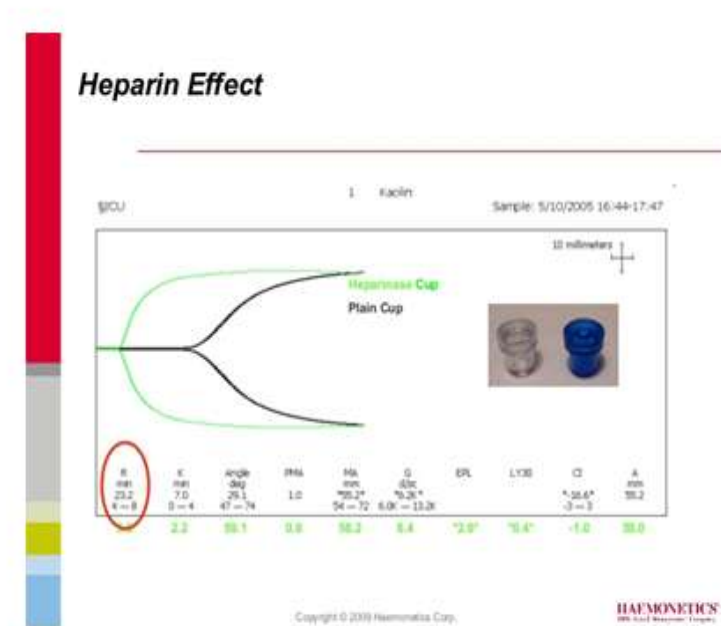


Για τον έλεγχο της δραστηριότητας της ηπαρίνης, ο προσδιορισμός του APTT, είναι η εξέταση εκλογής.

- Τα δείγματα πλήρους αίματος ασθενών που λαμβάνουν κλασική ηπαρίνη είναι ασταθή, λόγω παρουσίας PF4 και απαιτούν άμεση φυγοκέντρηση (εντός 2 ωρών παρατηρείται αδρανοποίηση της ηπαρίνης κατά 50% και, άρα, ψευδής ελάττωση της τιμής του APTT).
- Αντίθετα, τα δείγματα ασθενών που λαμβάνουν LMWH ή fondaparinux είναι σταθερά για 24 ώρες.
- Ασθενείς με υψηλά επίπεδα FVIII, Fib (οξεία φάση), μπορεί να δώσουν πλασματική αντίσταση στην κλασική ηπαρίνη.
- Γυναίκες στο β' και στο γ' τρίμηνο της κύησης με θεραπευτικά επίπεδα ηπαρίνης με antiXa, παρουσιάζουν υποθεραπευτικά επίπεδα στον έλεγχο με APTT, σε ποσοστό 75%.
- Δεν απαιτείται συστηματικός έλεγχος στη λήψη LMWH ή fondaparinux, εκτός αν χορηγείται σε υπέρβαρα άτομα, σε κύηση, σε νεφρική δυσλειτουργία, σε κακοήθειες.

- Τα επίπεδα ΑΤ επηρεάζουν το αποτέλεσμα.

Τα επίπεδα ΑΤ επηρεάζουν το αποτέλεσμα
 LMWH: 4h μετά την υποδόρια έγχυση (θεραπευτικό εύρος 1.0-2.0 U/μL, 0.5-1.0 U/μL)
Fondaparinux: 3h μετά χορήγηση (1.20-1.26mg/L)



Η δραστηριότητα των αντιβιταμινών K, δεν ελέγχεται με τη μέτρηση του ΑΡΤΤ.

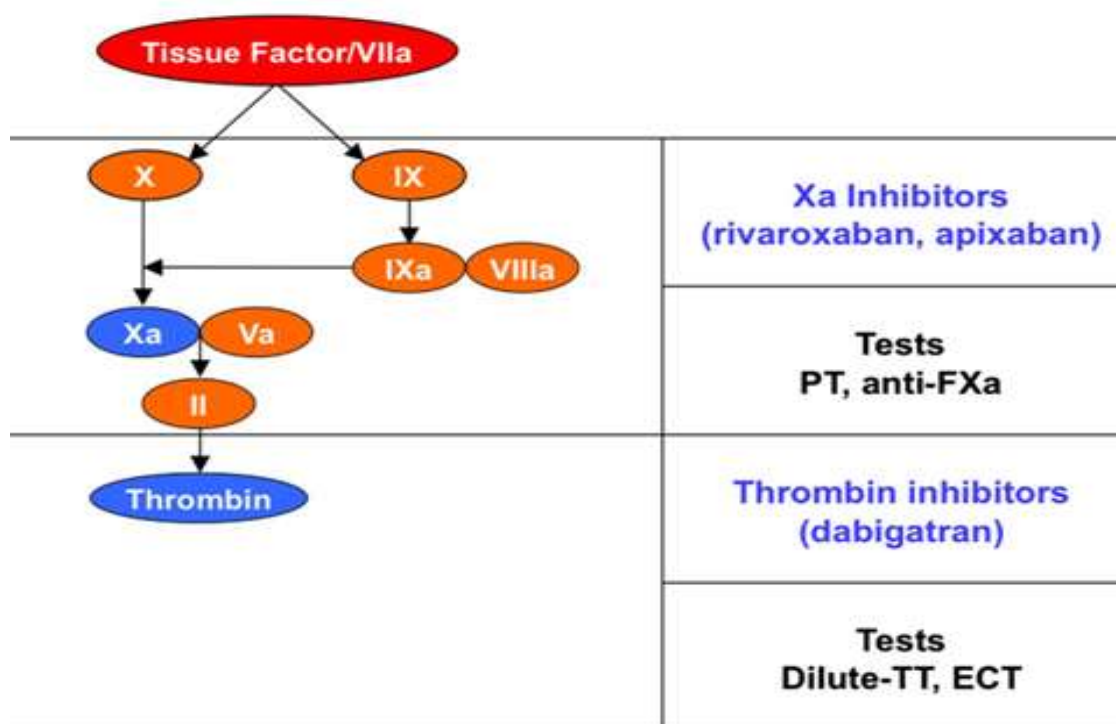
Η δραστηριότητα των, από του στόματος, νεότερων αντιπηκτικών, δεν ελέγχεται, συνήθως, με τη μέτρηση του ΑΡΤΤ.

Έχουν προβλέψιμη φαρμακοκινητική, με αποτέλεσμα, να μην απαιτείται εργαστηριακός έλεγχος ρουτίνας.

Εξαιρούνται οι περιπτώσεις:

- Σοβαρής αιμορραγίας
- Ηλικίας >75 ετών
- Συγχορηγούμενων φαρμάκων
- Ακραίο σωματικό βάρος (< 50 kg ή >120 kg)
- Υπέρβαση δοσολογίας ή μη συμμόρφωσης

- Επείγοντος χειρουργείου, θρομβόλυσης
- Νεφρικής δυσλειτουργίας



Το APTT, ως τεχνική προσδιορισμού των επιπέδων NOACS, παρουσιάζει:

- Χαμηλή ευαισθησία σε υπερδοσολογία
- Μεγάλη διακύμανση μεταξύ διαφορετικών αντιδραστηρίων
- Αλληλεπίδραση με λήψη αντιβιοτικών
- Ημιοσοτική εκτίμηση, σε περίπτωση που δεν υπάρχει άλλη μέθοδος διαθέσιμη.

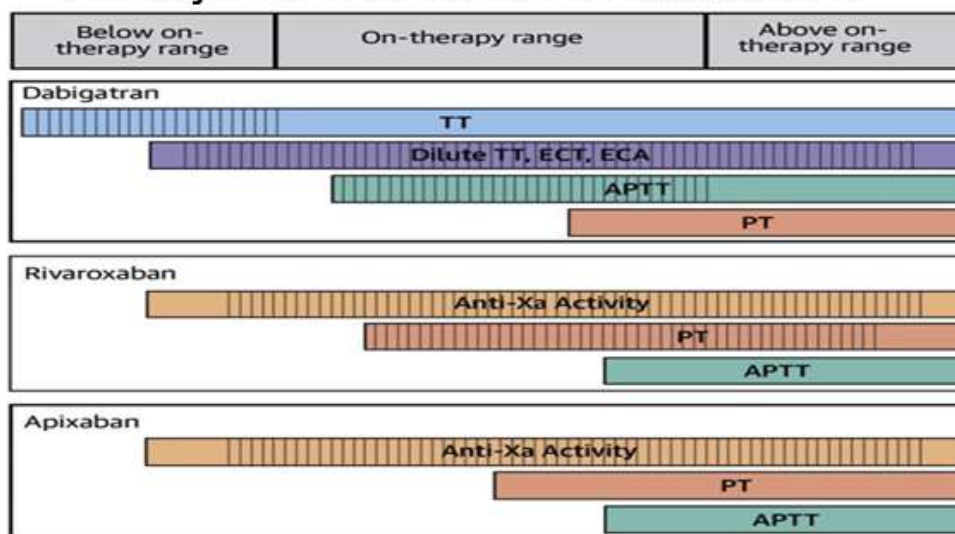
Dabigatran

Χαρακτηριστικά	Δοκιμασίες			
	APTT	PT	ECT	TT
Διαθεσιμότητα στα εργαστήρια	++	++	+	++
Γραμμικότητα	-	+	+	+
Βαθμονόμηση	-	-	+	-
Ευαισθησία	+	-	++	++++

Rivaroxaban

Χαρακτηριστικά	Δοκιμασίες		
	AntiXa	PT	APTT
Διαθεσιμότητα στα εργαστήρια	- +	++	++
Γραμμικότητα	+	+	+
Βαθμονόμηση	Ειδική		-
Ευαισθησία	++	+	+

Sensitivity and Linearity of Coagulation Assays to the Oral Xa Inhibitors -



Ανιχνευσιμότητα/γραμμικότητα

APTT = activated partial thromboplastin time;
 ECA = ecarin chromogenic assay; ECT = ecarin clotting time;
 PT = prothrombin time;
 TT = thrombin time.

J Am Coll Cardiol 2014;64:1128-39.

Στις περισσότερες μετρήσεις, που αφορούν στον έλεγχο της δραστηριότητας και, ως εκ τούτου, της αποτελεσματικότητας των NOACS, οι τιμές του προσδιοριζόμενου APTT φαίνεται να είναι σχεδόν, πάνω από τα θεραπευτικά όρια, όσον αφορά το Rivaroxaban και το Apixaban, ενώ για το Dabigatran βρίσκονται και εντός θεραπευτικών ορίων.

Ο ιδανικός χρόνος ελέγχου της δραστηριότητας των, από του στόματος, αντιπηκτικών είναι 2 ώρες από τη λήψη τους.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ^{1,2,3,4,5}

ΠΑΡΑΤΑΣΗ ΧΡΟΝΟΥ ΜΕΡΙΚΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΛΑΣΤΙΝΗΣ (ΑΡΤΤ), ΜΕΛΕΤΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η μελέτη αφορά σε ασθενείς που εισήχθησαν σε γενικό νοσοκομείο, ανεξαρτήτου κλινικής, σε διάστημα τριών μηνών (φεβρουάριος, Μάρτιος, Απρίλιος), με διαπιστωμένη παράταση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης (ΑΡΤΤ).

Η μέτρηση των αποτελεσμάτων έγιναν στο αιματολογικό εργαστήριο του «Κωνσταντοπούλειου» γενικού νοσοκομείου, στον αυτόματο αναλυτή πήξης BCSXP.

Η συλλογή, μεταφορά και επεξεργασία των δειγμάτων έγιναν με βάση τις προδιαγραφές που αναφέρθηκαν στην προαναλυτική φάση εξέτασης του ΑΡΤΤ.

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

- Αντιδραστήρια για τον προσδιορισμό του χρόνου μερικής ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης (ΑΡΤΤ): PathromtinSL και ActinFSL.
- Διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου (CaCl₂) 0,025 mmole/L.
- Πρότυπο πλάσμα ελέγχου N, ή επιπέδου 1 ως πρότυπο ελέγχου για το πεδίο φυσιολογικών τιμών.
- Πρότυπο πλάσμα ελέγχου P, επιπέδου 2 ή επιπέδου 3 ως πρότυπο ελέγχου για το πεδίο παθολογικών/θεραπευτικών τιμών.
- Απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό χωρίς συντηρητικά.
- Πλαστικά σωληνάρια εξέτασης.
- Πιπέτες για ακριβή μέτρηση 0,1 ml.

Βασική αρχή της μεθόδου:

Η επώαση πλάσματος με τη βέλτιστη ποσότητα φωσφολιπιδίων και έναν επιφανειακό ενεργοποιητή, οδηγεί στην ενεργοποίηση παραγόντων του ενδογενούς

συστήματος πήξης. Η προσθήκη ιόντων ασβεστίων πυροδοτεί τη διαδικασία πήξης. Στη συνέχεια μετράται ο χρόνος μέχρι το σχηματισμό θρόμβου ινώδους.

Αναμενόμενες τιμές

Το πεδίο τιμών αναφοράς ποικίλουν από εργαστήριο σε εργαστήριο, ανάλογα με τον πληθυσμό που εξυπηρετείται και την τεχνική, τη μέθοδο, τον εξοπλισμό και την παρτίδα αντιδραστηρίου που χρησιμοποιείται.

Συνεπώς, κάθε εργαστήριο πρέπει να καθιερώσει τα δικά του πεδία τιμών αναφοράς ή να τα επαληθεύει κάθε φορά που μία ή περισσότερες από τις προαναφερθείσες μεταβλητές αλλάζουν.

Στο εργαστήριο μας και στην συγκεκριμένη μελέτη:

Σύστημα BCS APTT :25,9 sec -36,6 sec . Διάμεσος: 30,2sec.

APTT (actin FSL): 25,3 sec – 33,8 sec . Διάμεσος : 28,6 sec.

Όπου υπήρξε μια ανεξήγητη παράταση μιας εξέτασης διαλογής (π.χ. του APTT ή του PT), χρησιμοποιήθηκε μια, σχετικά, απλή διαδικασία, ως έρευνα πρώτης γραμμής, η **δοκιμασία ανάμιξης (mixing test)**.^{8,22}

Η δοκιμασία ανάμιξης περιλαμβάνει την ανάμιξη του ελεγχόμενου πλάσματος με φυσιολογικό πλάσμα (pool με $n > 20$, όχι από ασθενείς με φυσιολογικό PT ή APTT), σε αναλογία 1:1, την επανάληψη της εξέτασης διαλογής επί του μίγματος και την εκτίμηση, εάν ο χρόνος εξέτασης παράμενε παρατεταμένος ή διορθώθηκε.

Εάν ο χρόνος εξέτασης δεν διορθώσει στο φυσιολογικό, το μίγμα, στη συνέχεια επωάζεται για μία έως δύο ώρες στους 37°C και εκτελείται πάλι η εξέταση.

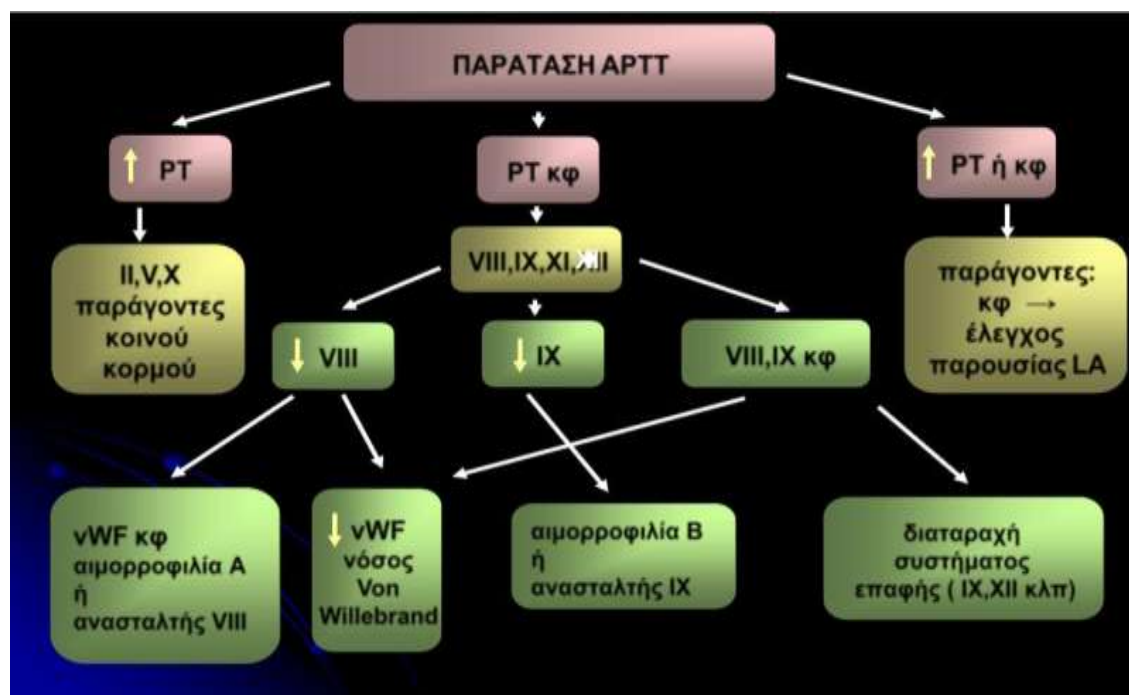
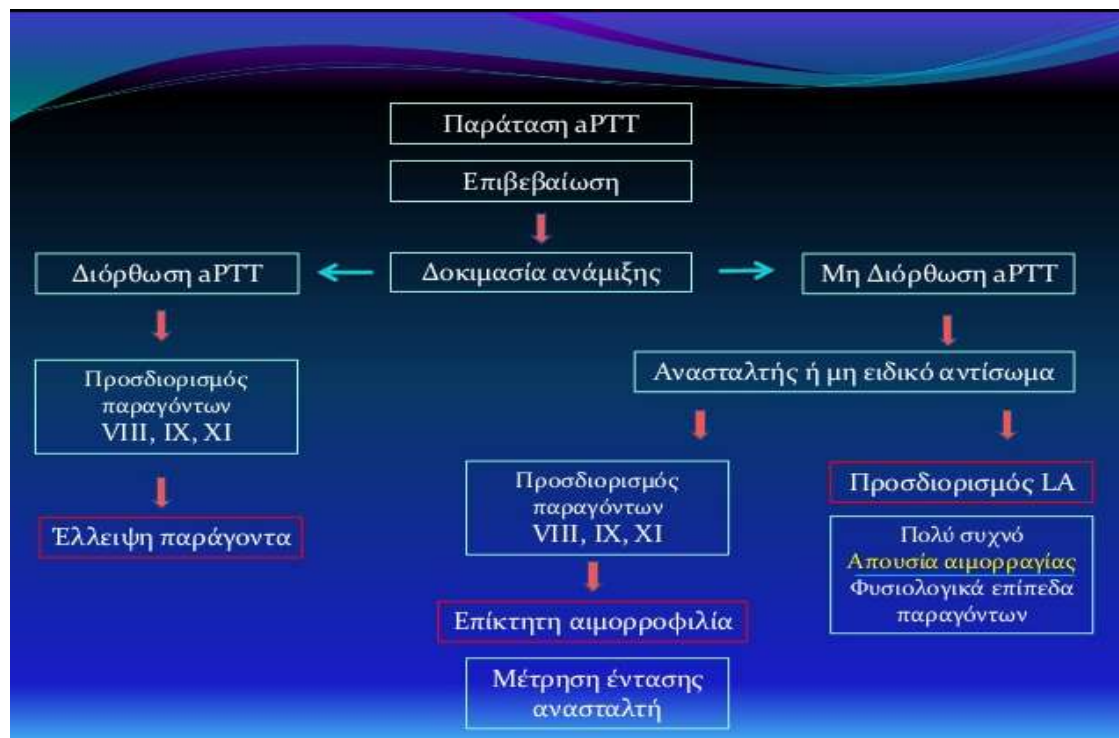
Η βασική αρχή είναι ότι το φυσιολογικό πλάσμα, συνεισφέρει μία επαρκή ποσότητα παραγόντων πήξης ώστε να καλύψει τον ανεπαρκή παράγοντα και να γίνει η διόρθωση του χρόνου εξέτασης.

Ο πρωταρχικός σκοπός μιας δοκιμασίας ανάμιξης είναι να καθοδηγήσει σε περαιτέρω έρευνες.

Αν, κατά την δοκιμασία ανάμιξης, **έχουμε «διόρθωση» του χρόνου εξέτασης**, το εξεταζόμενο πλάσμα είναι ελλειμματικό σε έναν ή περισσότερους παράγοντες πήξης, και πρέπει να γίνουν συγκεκριμένες δοκιμασίες καθορισμού του υπολειπόμενου παράγοντα.

Όταν δεν έχουμε «διόρθωση» του χρόνου εξέτασης, τότε, έχουμε την παρουσία ενός αναστολέα παράγοντα πήξης, την ύπαρξη αντιπηκτικού παράγοντα (π.χ.

ηπαρινοειδή υψηλής δόσης) ή την ύπαρξη αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (π.χ. αντιπηκτικό του λύκου), και το εργαστήριο πρέπει να καθορίσει αν έχουμε έναν ειδικό αναστολέα παράγοντα πήξης ή ένα άλλου τύπου αναστολέα.



Πρέπει να σημειώσουμε, πως δείγματα με αναστολείς, με αργή αντίδραση ή εξαρτώμενους από τον χρόνο, μπορεί να διορθώσουν τον χρόνο δοκιμασίας στην μέτρηση μετά την ανάμιξη, δίνοντας την ψευδή εντύπωση της έλλειψης παράγοντα. Η πλειοψηφία των αναστολέων του παράγοντα VIII και 8% των αντιπηκτικών του λύκου είναι χρονοεξαρτώμενοι και διορθώνουν την άμεση μίξη.

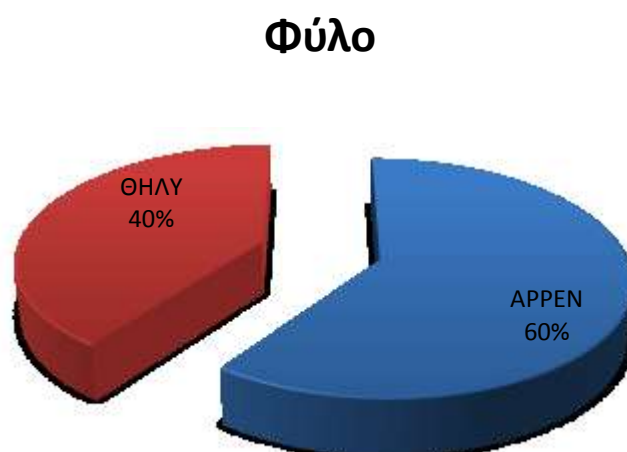
Η εξέταση πρέπει να επαναληφθεί μετά από μία ως δύο ώρες επώαση στους 37°C. Στην περίπτωση αυτή, ο χρόνος εξέτασης δεν διορθώνεται.

Το, προς εξέταση δείγμα, αποτελείται από 80 ασθενείς.

Ακολουθεί στατιστική ανάλυση του δείγματος

Δημογραφικά Χαρακτηριστικά

Στην έρευνα συμμετείχαν 80 ασθενείς, εκ των οποίων, η πλειοψηφία είναι άρρενες σε ποσοστό 60% (n=48 άτομα) ενώ, οι γυναίκες συμμετέχουν σε ποσοστό 40% (n=32 άτομα).



Εικόνα 1: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με το φύλο

Όσον αφορά στην ηλικία, στο δείγμα συμπεριλαμβάνονται ασθενείς από 16-97 ετών και η μέση ηλικία των συμμετεχόντων είναι 74,25 έτη (Τ.Α.=13,94 έτη).

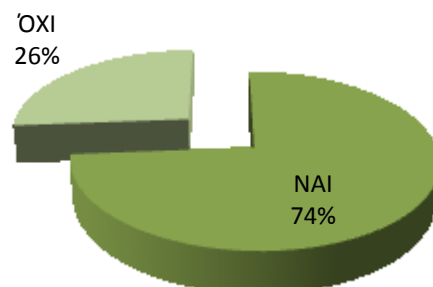
Περιγραφικό Μέτρο	
Ελάχιστη Τιμή	16
Μέγιστη Τιμή	97
Μέση Τιμή	74,25
Τυπική Απόκλιση	13,94

Κλινική και εργαστηριακή εικόνα Ασθενών

Γενική εξέταση αίματος

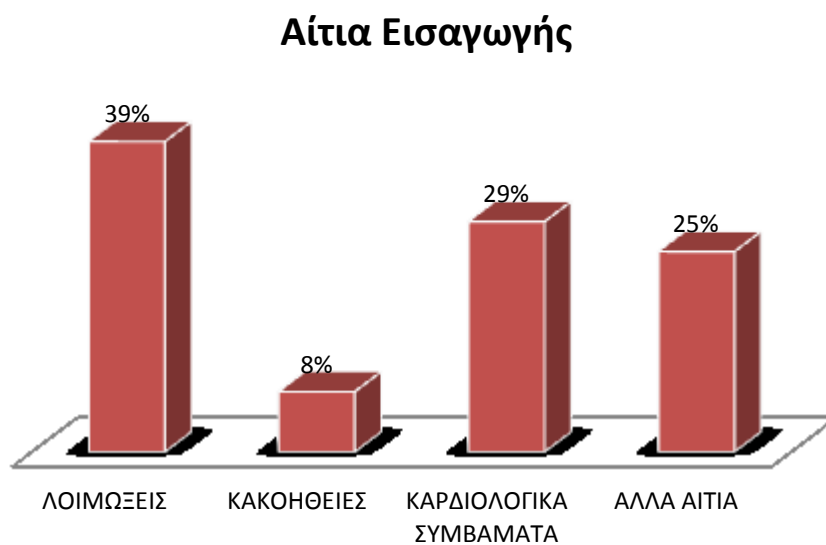
Το μεγαλύτερο μέρος των συμμετεχόντων έχει εμφανίσει θρόμβωση και είναι υπό αντιπηκτική αγωγή στο παρελθόν σε ποσοστό 74% (n=59 άτομα) και, μόλις, το 26% (n=21 άτομα) του δείγματος δεν έχει εμφανίσει αντίστοιχο ιστορικό.

Ιστορικό θρομβώσεων και λήψης αντιπηκτικής αγωγής



Εικόνα 2: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με το ιστορικό

Η πλειοψηφία του δείγματος έχει εισαχθεί σε νοσοκομείο λόγω λοιμώξεων σε ποσοστό 39% (n=31 άτομα). Ακολουθούν, όσοι έχουν ως αίτια εισαγωγής τα καρδιολογικά συμβάματα και διάφορα αίτια σε ποσοστά 29% (n=23 άτομα) και 25% (n=20 άτομα) αντίστοιχα. Μόλις το 8% (n=6 άτομα) εισήχθη στο νοσοκομείο λόγω κάποιας κακοήθειας.



Εικόνα 3: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με τα αίτια εισαγωγής

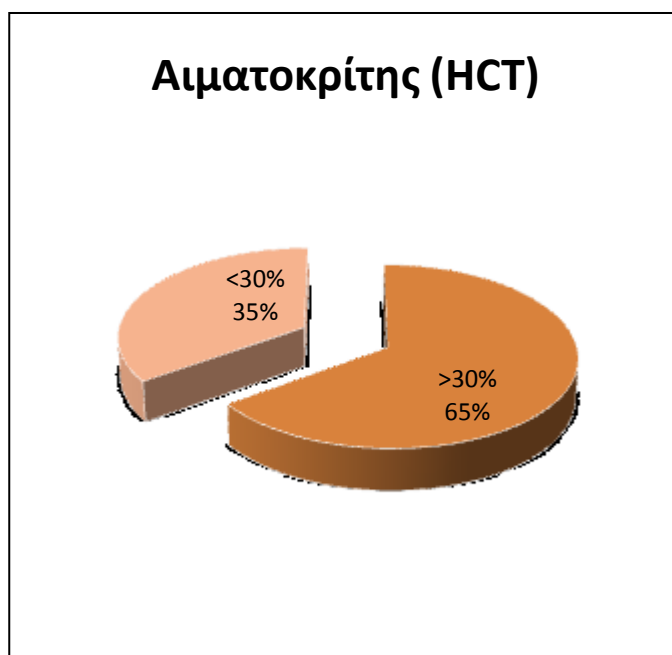
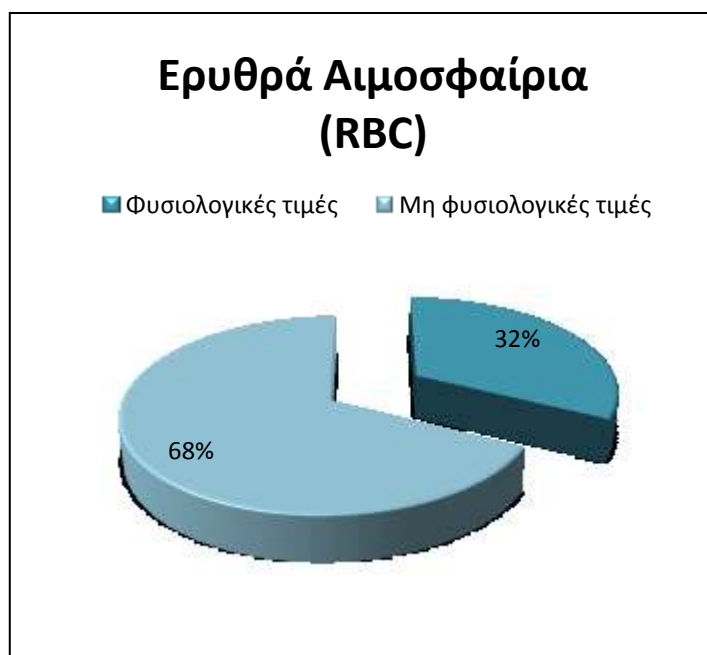
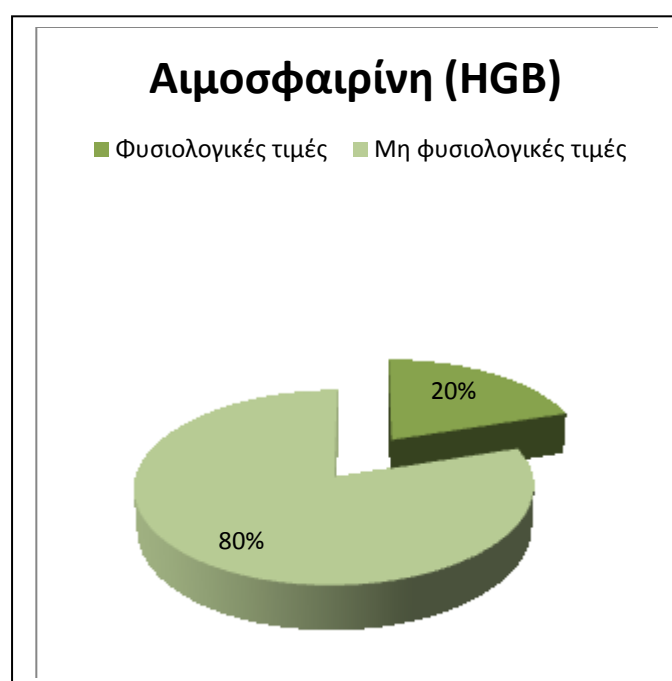
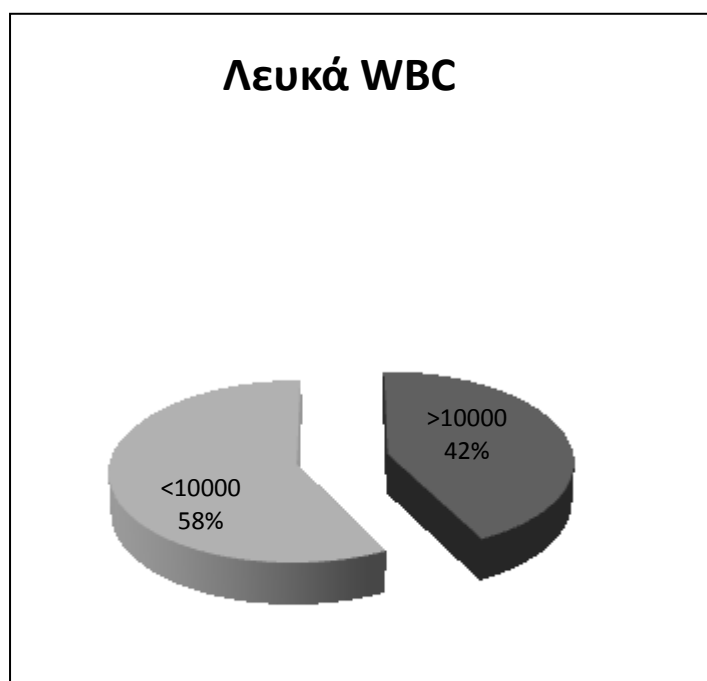


Εικόνα 4: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με την κατάταξη των κλινικών

Το μεγαλύτερο μέρος των συμμετεχόντων είχε εισαχθεί στην παθολογική κλινική σε ποσοστό 41,3% (n=33 άτομα) και στην καρδιολογική κλινική σε ποσοστό 27,5% (n=22 άτομα). Ακολουθούν, όσοι νοσηλεύθηκαν στη χειρουργική κλινική και τη ΜΕΘ σε ποσοστό 12,5% (n=10 άτομα) και 11,3% (n=9 άτομα) αντίστοιχα.

Στις υπόλοιπες κλινικές συναντάται χαμηλό ποσοστό του δείγματος.

Εικόνα 5-8: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με τα λευκά αιμοσφαίρια, την αιμοσφαιρίνη, τα ερυθρά αιμοσφαίρια και τον αιματοκρίτη



Οι αιματολογικές εξετάσεις έχουν δείξει ότι το μεγαλύτερο μέρος των συμμετεχόντων έχει λευκά αιμοσφαίρια περισσότερα από 10000 σε ποσοστό 58% (n=46 άτομα) και αιματοκρίτη μεγαλύτερο από 30% σε ποσοστό 65% (n=52 άτομα). Όσον αφορά την αιμοσφαιρίνη το 80% (n=64 άτομα) των συμμετεχόντων εμφανίζει φυσιολογικές τιμές¹, ενώ όσον αφορά τα ερυθρά αιμοσφαίρια το 32% (n=26 άτομα) εμφανίζει φυσιολογικές τιμές².

Η μέση τιμή των λευκών αιμοσφαιρίων είναι 10,85 (T.A.=6,49), των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) είναι 4,02 (T.A.=0,92), της αιμοσφαιρίνης HGB είναι 10,96 (T.A.=2,21) και του αιματοκρίτη 33,37 (T.A.=5,88).

Πίνακας 1: Περιγραφικά μέτρα για τους δείκτες WBC, RBC, HGB, HCT

	WBC	RBC	HGB	HCT
Μέση τιμή	10,85	4,02	10,96	33,37
Τυπική Απόκλιση	6,49	0,92	2,21	5,88
Ελάχιστη τιμή	3,50	2,50	7,30	23,00
Μέγιστη τιμή	31,20	7,40	18,80	46,50

¹ Για τους άνδρες είναι 13-18,8 g/dL και για τις γυναίκες είναι 11,6-16,4 g/dL

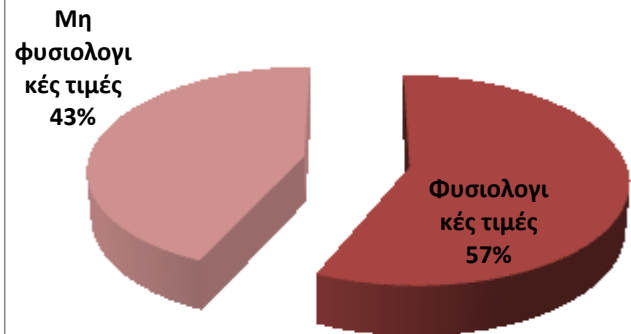
² Για τους άνδρες είναι 4,6-6,2 εκατ./mm³ και για τις γυναίκες είναι 4,2-5,4 εκατ./mm³

Εικόνα 9-12: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με τον μέσο όγκο ερυθρών αιμοσφαιρίων (MCV), την μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης (MCH), τα αιμοπετάλια (PLT) και το μέσο όγκο αιμοπεταλίων (MPV)

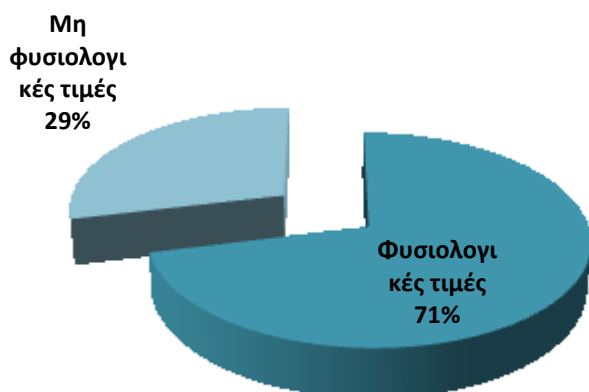
MCV



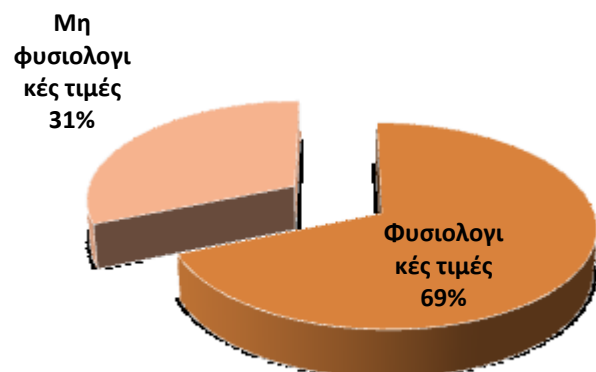
MCH



PLT



MPV



Πίνακας 2: Περιγραφικά μέτρα για τους δείκτες *MCV*, *MCH*, *PLT*, *MPV*

	MCV	MCH	PLT	MPV
Μέση τιμή	84,34	27,57	235,50	8,37
Τυπική Απόκλιση	9,64	3,58	119,94	1,63
Ελάχιστη τιμή	60,80	18,50	20,00	5,70
Μέγιστη τιμή	102,20	37,70	664,00	15,70

Οι περισσότεροι συμμετέχοντες έχουν φυσιολογικές τιμές αιμοπεταλίων³ (PLT) και μέσου όγκου αιμοπεταλίων⁴(MPV) σε ποσοστό 71% (n=57 άτομα) και 69% (n=55 άτομα) αντίστοιχα.

Ο μέσος όγκος ερυθρών αιμοσφαιρίων⁵ (MCV) και η μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης⁶ (MCH) βρίσκεται σε φυσιολογικά επίπεδα στο 47% (n=38 άτομα) και 57% (n=51 άτομα) των συμμετεχόντων. Η μέση τιμή των αιμοπεταλίων είναι 235,5 (Τ.Α.=119,94), του μέσου όγκου αιμοπεταλίων είναι 8,37 (Τ.Α.=1,63), του μέσου όγκου ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι 84,34 (Τ.Α.=9,64) και της μέσης περιεκτικότητας αιμοσφαιρίνης είναι 27,57 (Τ.Α.=3,58).

Η μέση τιμή στα ουδετερόφιλα είναι 8,60 (Τ.Α.=5,89), στα λεμφοκύτταρα είναι 1,24 (Τ.Α.=0,83), στα μονοκύτταρα είναι 0,53 (Τ.Α.=0,23), στα ηωσινόφιλα είναι 0,18 (Τ.Α.=0,30) και στα βασεόφιλα είναι 0,05 (Τ.Α.=0,07).

Πίνακας 3: Περιγραφικά μέτρα για τα ουδετερόφιλα, λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα.

	ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ	ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ	ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ	ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	ΒΑΣΕΟΦΙΛΑ
Μέση τιμή	8,60	1,24	0,53	0,18	0,05
Τυπική Απόκλιση	5,89	0,83	0,23	0,30	0,07

³ Οι φυσιολογικές τιμές είναι 150000-400000/μL

⁴ Οι φυσιολογικές τιμές είναι 7,5-11,5/μm³

⁵ Οι φυσιολογικές τιμές είναι 85-95 fL

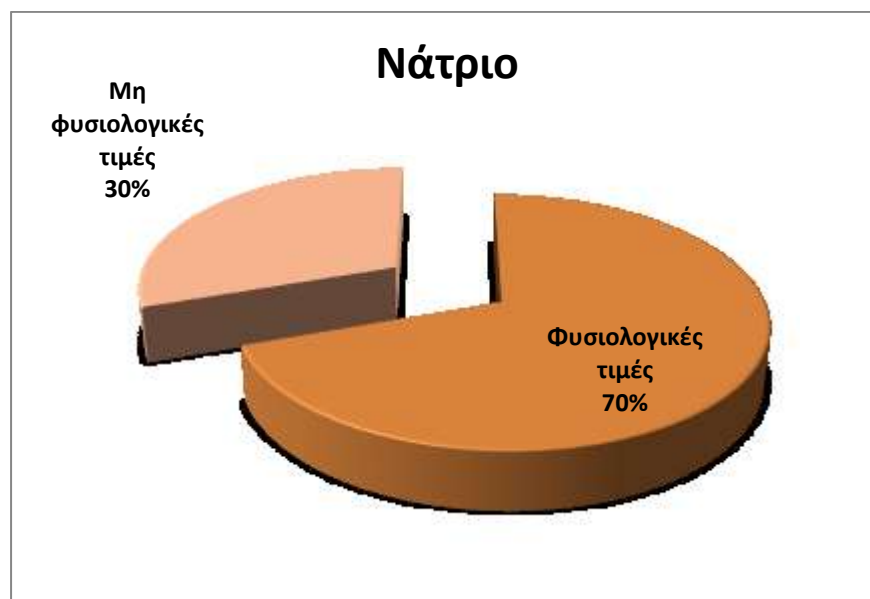
⁶ Οι φυσιολογικές τιμές είναι 27-34 pg

Ελάχιστη τιμή	1,80	0,10	0,08	0,00	0,00
Μέγιστη τιμή	28,26	5,32	1,31	2,50	0,50

Βιοχημικός έλεγχος

Ως προς τις ποσότητες καλίου⁷, νατρίου⁸, SGOT⁹ και SGTP¹⁰ η πλειοψηφία εμφανίζει φυσιολογικές τιμές σε ποσοστά 82% (n=65 άτομα), 70% (n=55 άτομα), 76% (n=59 άτομα) και 68% αντίστοιχα (n=53 άτομα).

Όσον αφορά, όμως, το σάκχαρο¹¹ και την ουρία¹² η πλειοψηφία εμφανίζει μη φυσιολογικές τιμές στην πλειοψηφία τους σε ποσοστά 67% (n=53 άτομα) και 59% (n=47 άτομα) αντίστοιχα.



⁷Οι φυσιολογικές τιμές είναι 3,5-5,2

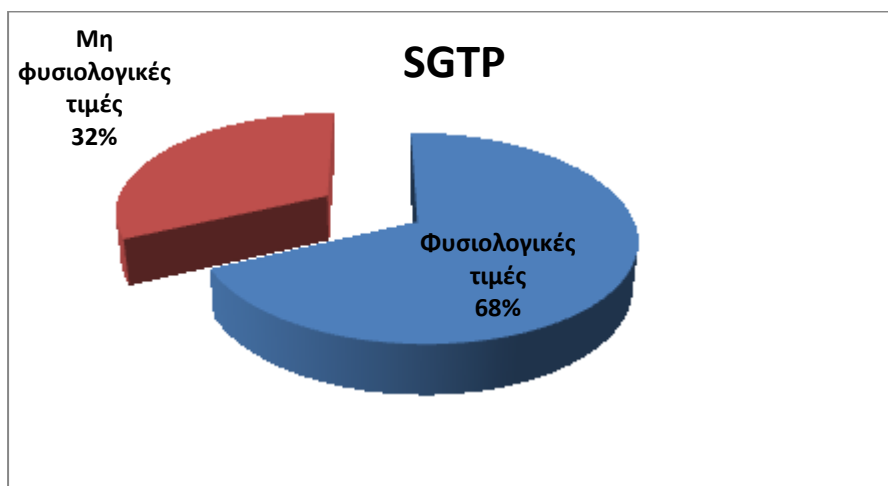
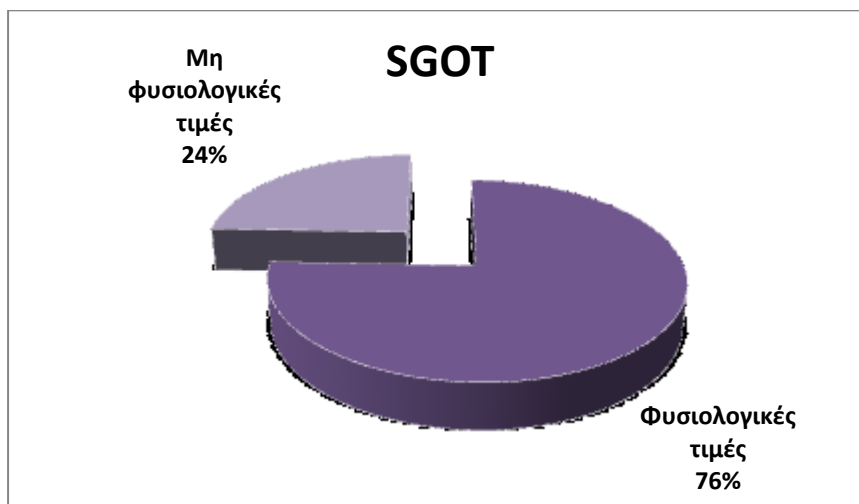
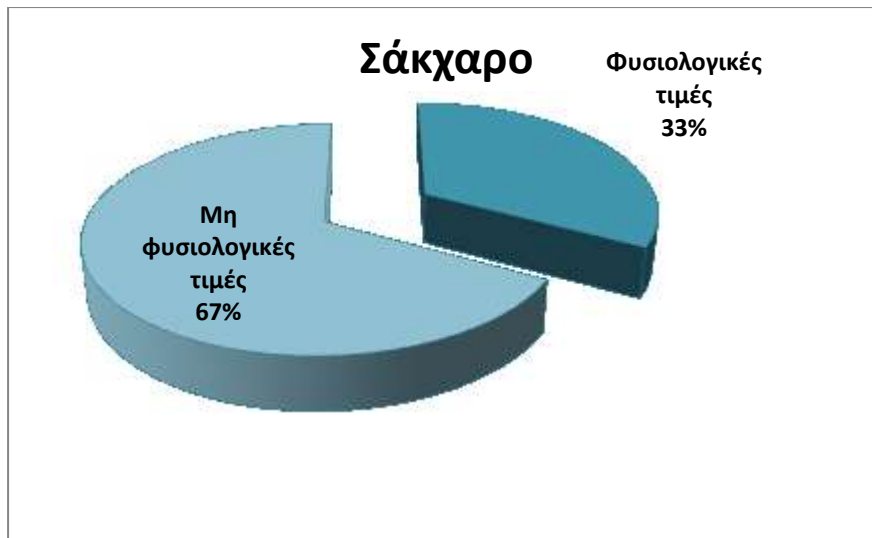
⁸Οι φυσιολογικές τιμές είναι 135-146

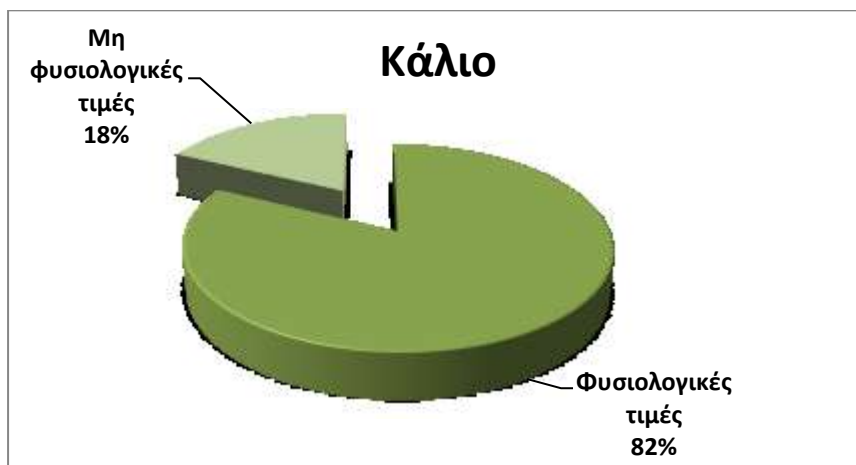
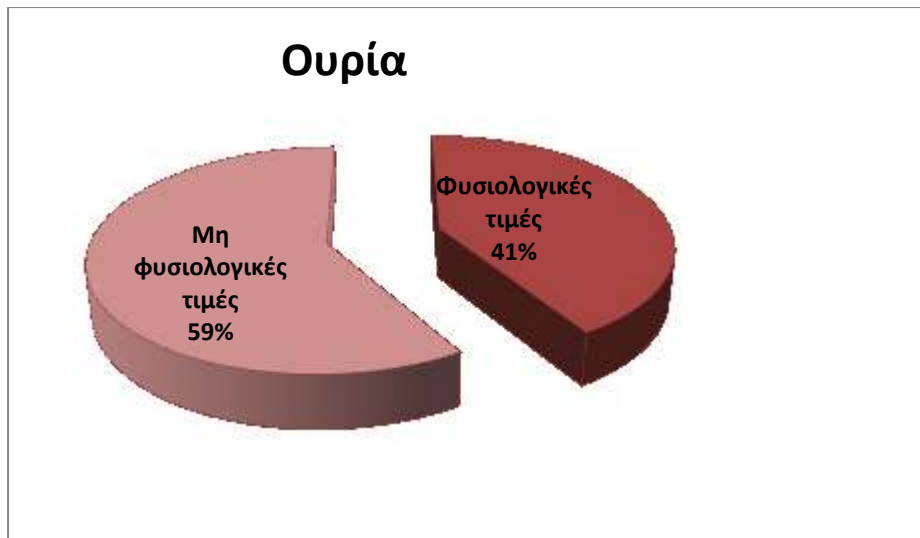
⁹Οι φυσιολογικές τιμές είναι 5-40

¹⁰Οι φυσιολογικές τιμές είναι 5-35

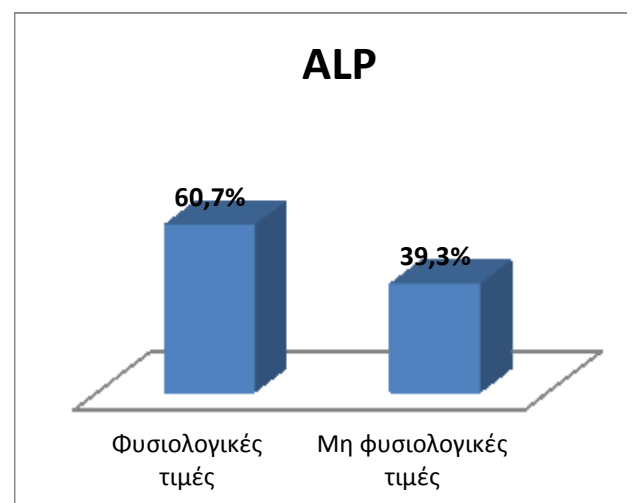
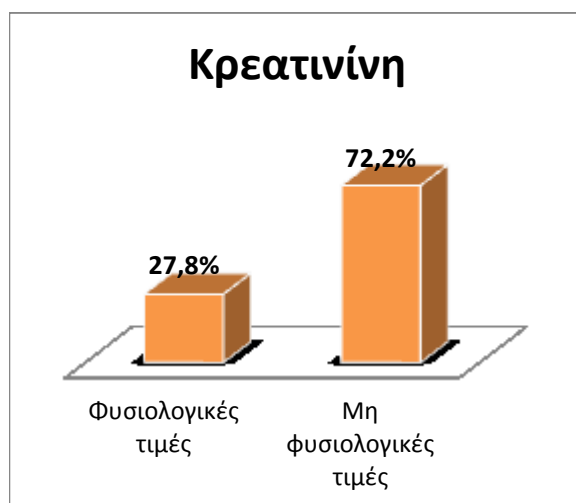
¹¹Οι φυσιολογικές τιμές είναι <100

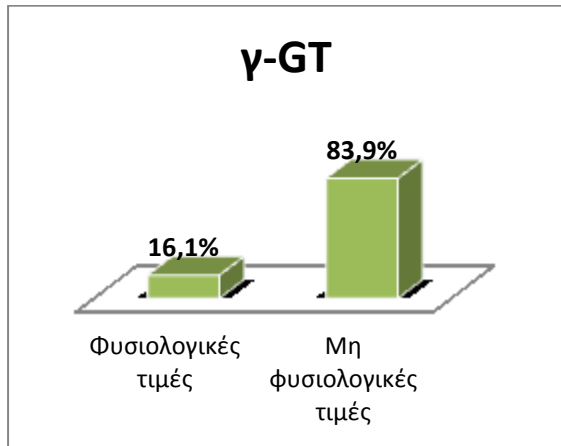
¹²Οι φυσιολογικές τιμές είναι 14-50





Εικόνα 13-18: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με το νάτριο, το κάλιο, το σάκχαρο, την ουρία, το SGOT, το SGTP





Εικόνα 19-21: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με τις τιμές της κρεατινίνης, του ALP και του γ -GT.

Η πλειοψηφία του δείγματος εμφανίζει μη φυσιολογικές τιμές κρεατινίνης¹³ σε ποσοστό 72,2% (n=57 άτομα) και γ-GT¹⁴ σε ποσοστό 83,9% (n= 47 άτομα). Από την άλλη πλευρά, εμφανίζει φυσιολογικές τιμές ALP¹⁵ σε ποσοστό 60,7% (n=34 άτομα).

	ΝΑΤΡΙΟ	ΚΑΛΙΟ	ΣΑΚΧΑΡΟ	ΟΥΡΙΑ	ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ	ALP	SGOT	SGTP	γ-GT
Μέση τιμή	137,87	4,33	133,95	91,05	1,85	145,58	50,73	50,49	103,00
Τυπική Απόκλιση	6,03	0,74	51,76	72,53	1,19	188,83	85,41	95,42	143,11
Ελάχιστη τιμή	119,00	3,10	20,00	16,00	0,20	46,00	9,00	11,00	12,00
Μέγιστη τιμή	157,00	6,70	344,00	354,00	8,10	1279,00	637,00	734,00	897,00

Πίνακας 4: Περιγραφικά μέτρα για το νάτριο, το κάλιο, το σάκχαρο, την ουρία, την κρεατινίνη, το ALP, το SGOT, το SGPT, το γ-GT

Από τον Πίνακα 4 προκύπτει ότι η μέση τιμή νατρίου στον οργανισμό των συμμετεχόντων είναι 137,87 (Τ.Α.=6,03). Αντίστοιχα οι μέσες τιμές για το κάλιο είναι 4,33 (Τ.Α.=0,74), για το σάκχαρο είναι 133,95 (Τ.Α.=51,76), για την ουρία είναι 91,05 (Τ.Α.=72,53), για

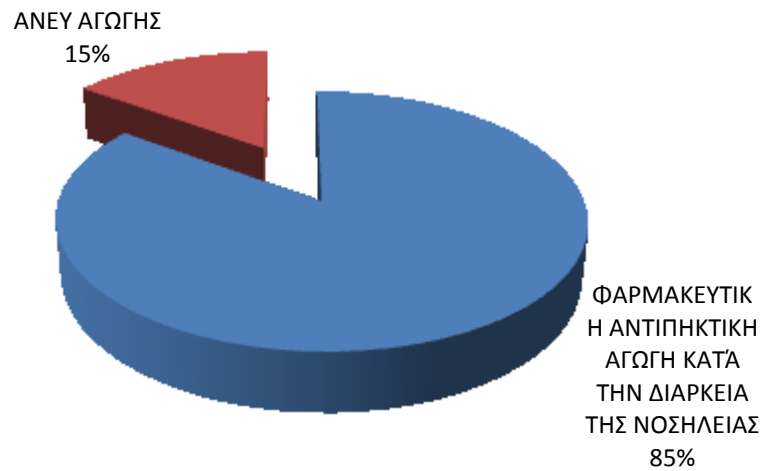
¹³ Για τους άνδρες είναι 13-18,8 mg/dL και για τις γυναίκες είναι 11,6-16.4 g/dL

¹⁴ Για τους άνδρες είναι 13-18,8 g/dL και για τις γυναίκες είναι 11,6-16.4 g/dL

¹⁵ Για τους άνδρες είναι 13-18,8 g/dL και για τις γυναίκες είναι 11,6-16.4 g/dL

την κρεατινίνη είναι 1,85 (Τ.Α.=1,19), για το ALP είναι 145,58 (Τ.Α.=188,83), για το SGOT είναι 50,73 (Τ.Α.=85,41), για το SGTP είναι 50,49 (Τ.Α.=95,42) και το γ-GT είναι 103 (Τ.Α.=143,11).

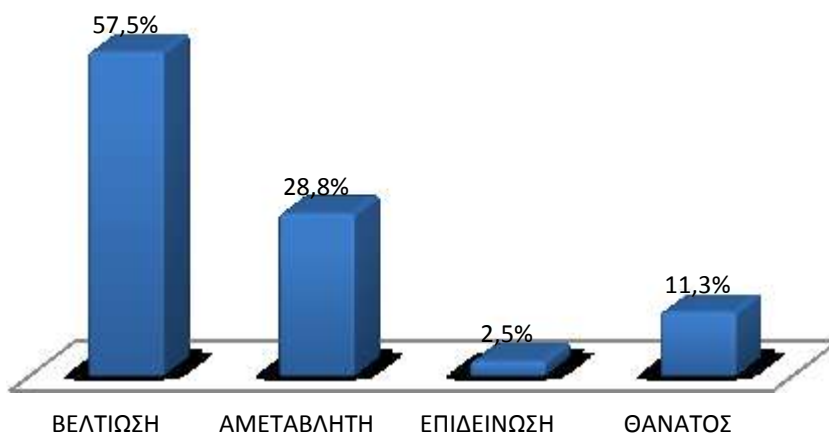
Χορήγηση Αγωγής



Εικόνα 22: Κατανομή δείγματος σύμφωνα τη χορήγηση αγωγής

Με κριτήριο, τη χορήγηση αγωγής, η πλειοψηφία των συμμετεχόντων έχει λάβει φαρμακευτική αντιπηκτική αγωγή κατά τη διάρκεια της νοσηλείας, σε ποσοστό 85% (n=68 άτομα).

Πορεία νόσου

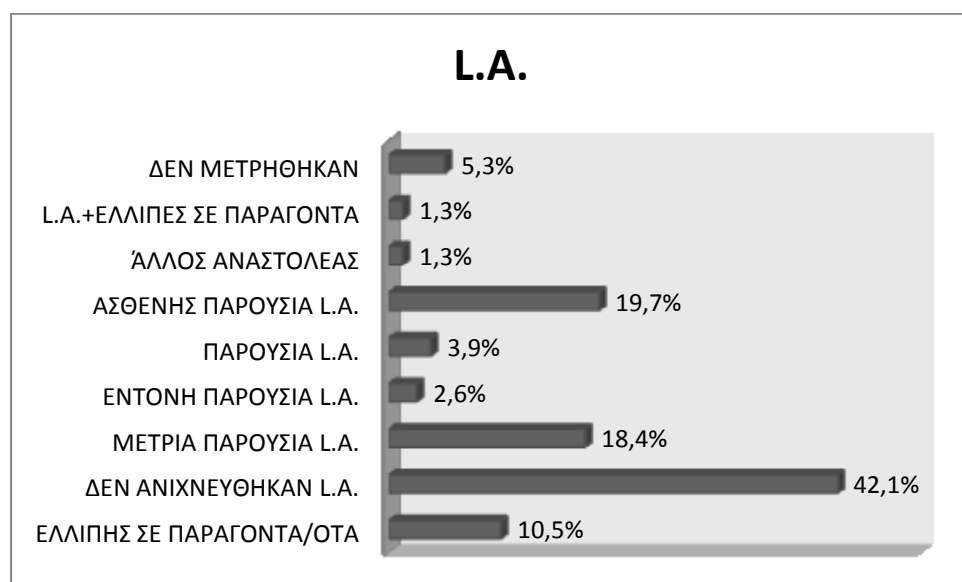


Εικόνα 23: Κατανομή δείγματος σύμφωνα την πορεία νόσου

Στη συντριπτική πλειοψηφία των συμμετεχόντων, διαπιστώνεται, σε ποσοστό 57,5% (n=46 άτομα,) ότι έχει βελτιωθεί η κατάστασή τους, ενώ ακολουθούν, σε ποσοστό 28,8% (n=23 άτομα), όσοι, η κατάστασή τους έχει μείνει αμετάβλητη.

Σε μικρότερο ποσοστό ακολουθούν όσοι απεβίωσαν και, σε όσους, η κατάστασή τους επιδεινώθηκε σε ποσοστό 11,3% (n=9 άτομα) και 2,5% (n=1 άτομα) αντίστοιχα.

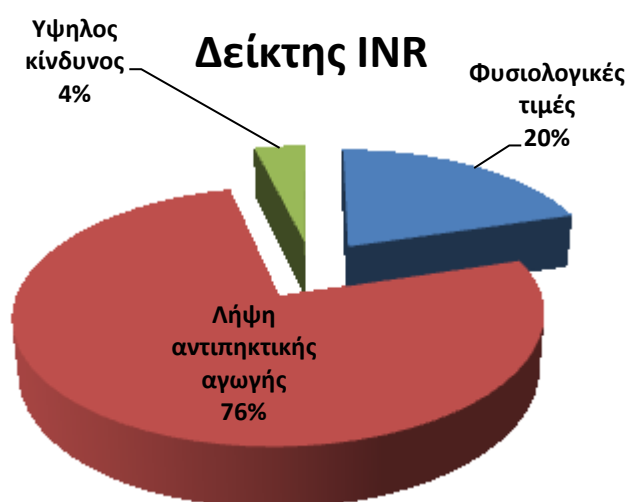
Στην πλειοψηφία των συμμετεχόντων διαπιστώνεται ότι δεν ανιχνεύτηκαν L.A. σε ποσοστό 42,1% (n=32 άτομα) και ακολουθούν όσοι εμφανίζουν ασθενή παρουσία L.A. σε ποσοστό 19,7% (n=15 άτομα), όσοι εμφανίζουν μέτρια παρουσία L.A. σε ποσοστό 18,4% (n=14 άτομα) και όσοι εμφανίζουν έλλειψη σε παράγοντα/ΟΑΤ σε ποσοστό 10,5% (n=8 άτομα).



Εικόνα 23: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με την παρουσία L.A.

Με κριτήριο το δείκτη INR, στην συντριπτική πλειοψηφία, σε ποσοστό 76% (n=60 άτομα) λαμβάνουν αντιπηκτική αγωγή και ακολουθούν όσοι εμφανίζουν φυσιολογικές τιμές INR σε ποσοστό 20% (n=16 άτομα).

Μόλις το 4% (n=3 άτομα) των συμμετεχόντων, εμφανίζουν υψηλό κίνδυνο πιθανής θρόμβωσης, με τιμές INR, μη θεραπευτικές.

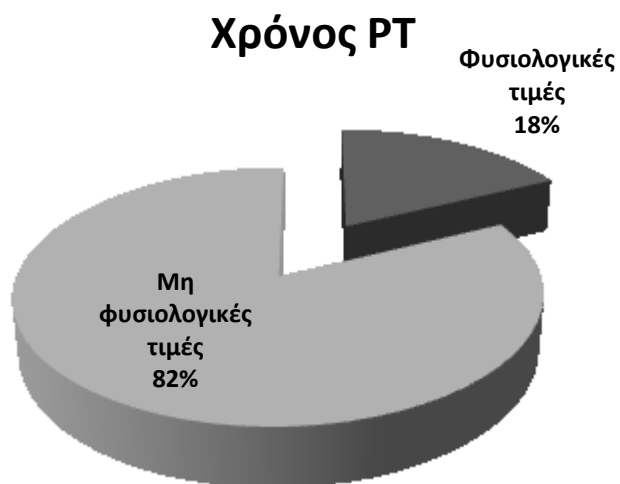


Εικόνα 24: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με το δείκτη INR

Όσον αφορά στο χρόνο APTT¹⁶, διαπιστώνεται ότι όλοι οι συμμετέχοντες έχουν μη φυσιολογικές τιμές ενώ, σε σχέση με το χρόνο PT¹⁷ διαπιστώνεται ότι μόνο το 18% (n=14 άτομα) εμφανίζει φυσιολογικές τιμές PT.

¹⁶ Οι φυσιολογικές τιμές είναι 25-35 sec

¹⁷ Οι φυσιολογικές τιμές είναι 11-13,5 sec



Εικόνα 25: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με το χρόνο PT

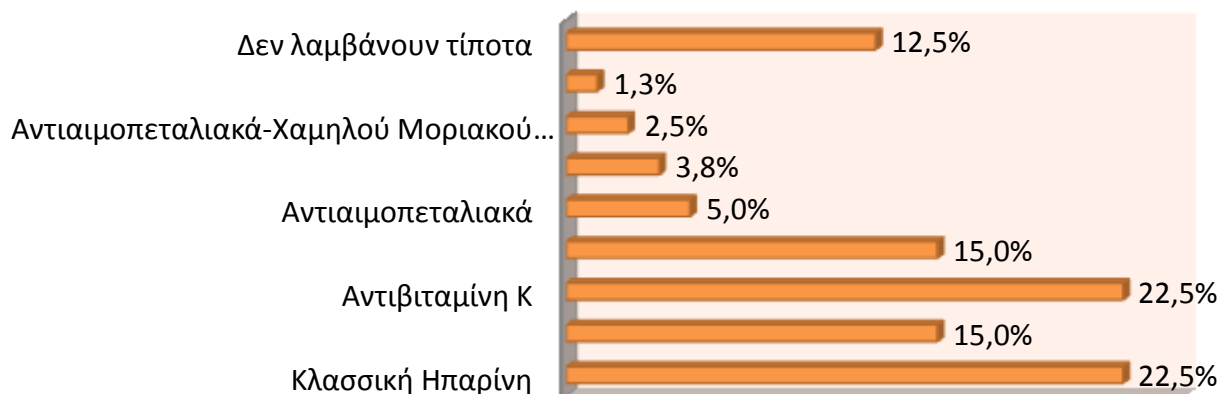
	APTT	PT
Μέση τιμή	53,24	20,25
Τυπική	14,97	9,17
Απόκλιση		
Μέγιστη τιμή	116,40	63,72
Ελάχιστη τιμή	39,20	10,90

Πίνακας 5: Περιγραφικά μέτρα για το χρόνο APTT και PT

Η μέση τιμή του χρόνου APTT είναι 53,24 sec (T.A.=14,97 sec) και η μέση τιμή του χρόνου PT είναι 20,25 sec (T.A.=9,17 sec).

Όσον αφορά στις ακραίες τιμές διαπιστώνεται ότι η μέγιστη τιμή του χρόνου APTT είναι 116,4 sec και η ελάχιστη τιμή είναι 39,2 sec και για το χρόνο PT η μέγιστη τιμή είναι 20,25 sec και η ελάχιστη τιμή είναι 9,17 sec.

Φαρμακευτική Αγωγή



Εικόνα 26: Κατανομή δείγματος σύμφωνα με τη φαρμακευτική αγωγή

Με κριτήριο τη φαρμακευτική αγωγή, οι περισσότεροι συμμετέχοντες σε ποσοστό 22,5% (n=18 άτομα) έχουν λάβει κλασσική ηπαρίνη.

Αντιβιταμίνες Κ, έχουν λάβει, σε ποσοστό 22,5% (n=18 άτομα).

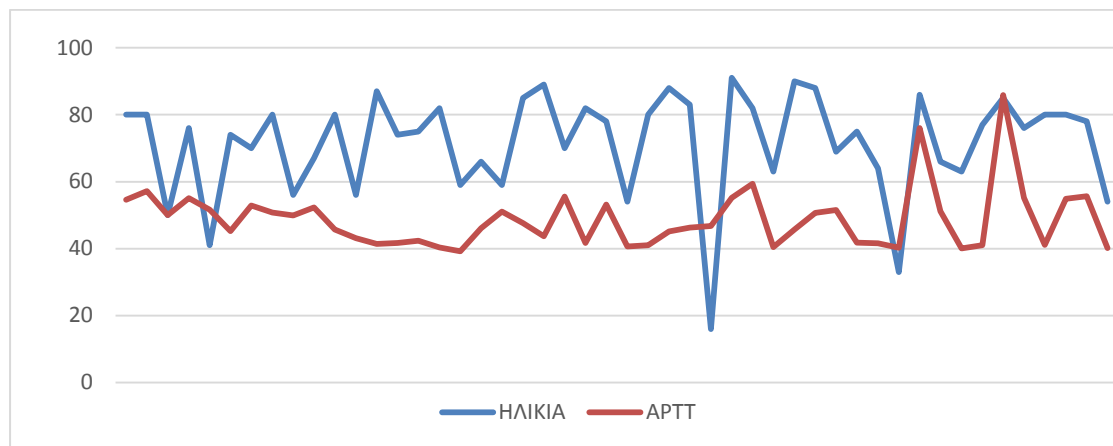
Ακολουθούν, όσοι έχουν λάβει χαμηλού MB ηπαρίνη και νεότερα, από του στόματος, αντιπηκτικά, σε ποσοστό 15% (n=12 άτομα) και σε ποσοστό 15% (n=12 άτομα), αντίστοιχα.

Όσοι δεν λαμβάνουν καμία αντιπηκτική αγωγή, ανέρχονται σε ποσοστό 12,5% (n=10 άτομα).

Σε μικρότερα ποσοστά κατατάσσονται, όσοι λαμβάνουν:

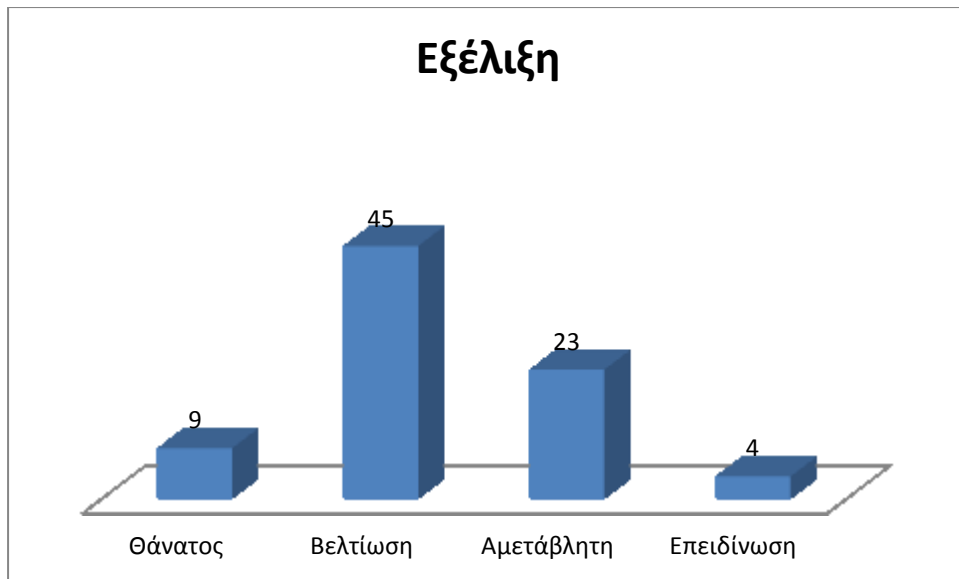
- αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα (n=4 άτομα),
- αντιβιταμίνες Κ σε συνδυασμό με, χαμηλού MB, ηπαρίνη (n=3 άτομα),
- αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα σε συνδυασμό με, χαμηλού MB, ηπαρίνη (n=2 άτομα) και
- αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα μαζί με αντιβιταμίνες Κ (n=1 άτομο).

Στην συνέχεια, πραγματοποιήθηκε έλεγχος για να διαπιστώσουμε αν διαφοροποιείται το APTT σε άτομα με διαφορετική ηλικία και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική γραμμική συσχέτιση ($r=0,123$, $p\text{-value}=0,0132>5\%$).



Η τιμή του APTT, όμως, διαφοροποιείται με κριτήριο το αν υπάρχει ιστορικό θρομβώσεων και λήψη αντιπηκτικής αγωγής ($t=12,324$, $p\text{-value}=0,012<5\%$) με τα άτομα που εμφανίζουν ιστορικό να έχουν την τάση να εμφανίζουν πιο υψηλή τιμή APTT ($M=59,23$ vs. $M=49,43$), γεγονός που συνδέεται με τη χορήγηση της δέουσας φαρμακευτικής αγωγής.

Όσον αφορά στην κλινική εισαγωγής, τα αποτελέσματα του ελέγχου δείχνουν ότι δεν διαφοροποιείται η μέση τιμή του APTT ανάλογα με την κλινική εισαγωγής ($F=1,23$, $p\text{-value}=0,423>5\%$).



Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι 45 από τους ασθενείς της μελέτης βελτίωσαν την κλινική τους εικόνα, ενώ, 23 ασθενείς παραμένουν στάσιμοι.

Μόλις 9 ασθενείς απεβίωσαν, ενώ 4 ασθενείς επιδείνωσαν την κλινική τους εικόνα. Οι περισσότεροι θάνατοι οφείλονται σε λοιμώδη αίτια – σηψαιμία.

Η μέση τιμή του APTT, φαίνεται, να μην σχετίζεται με την εξέλιξη της νόσου ($F=1,12$, $p\text{-value}=0,231>5\%$).

Επίσης, η φαρμακευτική αγωγή, φαίνεται να μην διαφοροποιείται με κριτήριο την τιμή του APTT ($F=1,54$, $p\text{-value}=0,564>5\%$).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από το σύνολο των ασθενών με παράταση του χρόνου ΑΡΤΤ, που μελετήθηκαν, διαπιστώθηκε, ότι η πλειονότητά τους αφορά σε καρδιολογικούς ασθενείς, οι οποίοι, ήδη, λαμβάνουν φαρμακευτική αγωγή και χρειάζονται νοσηλεία, σε γενικό νοσοκομείο, λόγω, άλλοτε, άλλων αιτίων.

Η παθολογική κλινική, υποδέχτηκε, τους περισσότερους από τους ελεγχόμενους ασθενείς, για αντιμετώπιση, κυρίως, λοιμωδών αιτίων και ακολουθούν, η καρδιολογική κλινική, είτε για αιμορραγίες, λόγω, μη σωστής ρύθμισης της δόσης των αντιπηκτικών φαρμάκων, είτε, λόγω, απορρύθμισης της βασικής τους νόσου.

Τρίτη, σε συχνότητα εισαγωγών, αναδείχθηκε η χειρουργική κλινική, είτε για αντιμετώπιση θρομβώσεων, σχετιζόμενων με την, ήδη, χορηγούμενη αγωγή, είτε για την αντιμετώπιση, συναφών, με την κλινική, περιστατικών.

Ακολουθεί η ΜΕΘ και, σε μικρότερα ποσοστά, οι άλλες κλινικές.

Στην πλειοψηφία τους, οι ασθενείς, έλαβαν διπλή αντιπηκτική αγωγή, όπου, το οξύ σύμβαμα και η υποκείμενη νόσος, το απαιτούσαν.

Από τις συνήθεις αιτίες, η συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση και/ή σήψη, παρατείνουν, περαιτέρω, το ΑΡΤΤ, σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιπηκτική αγωγή.

Ένας ασθενής του δείγματος μας, νοσηλευόμενος στη χειρουργική κλινική για επέμβαση ρουτίνας, ανέφερε, κατά τη λήψη του ιστορικού του, ότι έπασχε από νόσο von Willebrand, γεγονός που επιβεβαιώθηκε από τον παρατεταμένο χρόνο ΑΡΤΤ, κατά τον προεγχειρητικό του έλεγχο.

Σε ποσοστό 12,5% (n=10 άτομα) των εξεταζόμενων ασθενών, διαπιστώθηκε ήπια παράταση του ΑΡΤΤ, χωρίς να λαμβάνουν κάποια αντιπηκτική αγωγή. Φλεγμονώδη αίτια λοιμώδους ή άλλης αιτιολογίας, φαίνεται να σχετίζονται με αυτό το αποτέλεσμα.

Σε ποσοστό 44.6% των εξεταζόμενων ασθενών, διαπιστώθηκε, κατά τον γενόμενο έλεγχο, η παρουσία αντισωμάτων L.A. (αντιπηκτικού του λύκου), άλλοτε, άλλης

έντασης. Η παρουσία τους δεν φαίνεται να σχετίζεται με συγκεκριμένη νοσολογική οντότητα, σε κάθε περίπτωση, όμως, χρήζει, περαιτέρω, ελέγχου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Éva Ajzner et al. An international study of how laboratories handle and evaluate patient samples after detecting an unexpected APTT prolongation. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53(10): 1593–1603.
2. Johnsen JM, Konkle BA. Differential diagnosis of the bleeding patient. In: Marder VJ, Aird WC, Bennett JS, Schulman S, White GC, II, editors. *Haemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice*, 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2014:648–58. 2. Tripodi A, Chantarangkul V, Martinelli I, Bucciarelli P,
3. Mannucci PM. A shortened activated partial thromboplastin time is associated with the risk of venous thromboembolism. *Blood* 2004; 104:3631–4.
4. Tcherniantchouk O, Laposata M, Marques MB. The isolated prolonged PTT. *Am J Hematol* 2013;88:82–5.
5. Kamal AH, Tefferi A, Pruthi RK. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc* 2007;82:864–73.
6. Schindhelm RK, Wondergem MJ, Admiraal J, Nap G, Boekel ET, Hani L. A patient with a prolonged activated partial thromboplastin time and a deep intracerebral haemorrhage. *Case Rep Neurol* 2012;4:131–6.
7. Cugno M, Gualtierotti R, Tedeschi A, Meroni PL. Autoantibodies to coagulation factors: from pathophysiology to diagnosis and therapy. *Autoimmun Rev* 2014;13:40–8.
8. Kershaw G, Orellana D. Mixing tests: diagnostic aides in the investigation of prolonged prothrombin times and activated partial thromboplastin times. *Semin Thromb Hemost* 2013;39:283–90.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Onestage prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) test; approved guideline. NCCLS document H47-A1996;vol. 28, no. 20.
10. Laposata M, Connor AM, Hicks DG, Phillips DK. Laboratory assays. In: Laposata M, Connor AM, Hicks DG, Phillips DK, editors. *The clinical hemostasis handbook*, 1st ed. Chicago (IL): Year Book Medical Publisher, 1989:193–279.
11. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and

- Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost* 2009;7:1737–40.
12. Zeitler H, Ulrich-Merzenich G, Goldmann G, Vidovic N, Brackmann HH, Oldenburg J. The relevance of the bleeding severity in the treatment of acquired haemophilia – an update of a single-centre experience with 67 patients. *Haemophilia* 2010;16:95–101.
 13. Laposata ME, Laposata M, Van Cott EM, Buchner DS, Kashalo MS, Dighe AS. Physician survey of a laboratory medicine interpretive service and evaluation of the influence of interpretations on laboratory test ordering. *Arch Pathol Lab Med* 2004;128:1424–7.
 14. Verboeket-van de Venne WP, Aakre KM, Watine J, Oosterhuis WP. Reflective testing: adding value to laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1249–52.
 15. Laposata M, Dighe A. “Pre-pre” and “post-post” analytical error: high-incidence patient safety hazards involving the clinical laboratory. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:712–9.
 16. Reding MT, Cooper DL. Barriers to effective diagnosis and management of a bleeding patient with undiagnosed bleeding disorder across multiple specialties: result of a quantitative case-based survey. *J Multidiscip Healthc* 2012;5:277–87.
 17. Huth-Kühne A, Baudo F, Collins P, Ingerslev J, Kessler CM, Lévesque H, et al. International recommendations on the diagnosis and treatment of patients with acquired hemophilia A. *Haematologica* 2009;94:566–75.
 18. SurveyMonkey Enterprise. Enterprise survey software and research tools. Available from: <http://www.surveymonkey.com>. Accessed August, 2012.
 19. Dardikh M, Meijer P, van der Meer F, Favaloro EJ, Verbruggen B. Acquired functional coagulation inhibitors: review on epidemiology, results of a wet-workshop on laboratory detection, and implications for quality of inhibitor diagnosis. *Semin Thromb Hemost* 2012;38:613–21.
 20. Fritsma GA, Dembitzer FR, Randhawa A, Marques MB, Van Cott EM, Adcock-Funk D, et al. Recommendations for appropriate activated partial thromboplastin time reagent selection and utilization. *Am J Clin Pathol* 2012;137:904–8.
 21. Rosner E, Pauzner R, Lusky A, Modan M, Many A. Detection and quantitative evaluation of lupus circulating anticoagulant activity. *Thromb Haemost* 1987;57:144–7.
 22. Verbruggen B, Novakova I, Wessels H, Boezeman J, van den Berg M, Mauser-Bunschoten E. The Nijmegen modification of the Bethesda assay for factor VIII:C inhibitors: improved specificity and reliability. *Thromb Haemost* 1995;73:247–51.

23. Exner T. Conceptions and misconceptions in testing for lupus anticoagulants. *J Autoimmun* 2000;15:179–83.
24. Franchini M, Gandini G, Di Paolantonio T, Mariani G. Acquired hemophilia A: concise review. *Am J Hematol* 2005;80:55–63.
25. Favaloro EJ, Bonar R, Duncan E, Earl G, Low J, Aboud M, et al. Misidentification of factor inhibitors by diagnostic haemostasis laboratories: recognition of pitfalls and elucidation of strategies. A follow up to a large multicentre evaluation. *Pathology* 2007;39:504–11.
26. Lim EM, Sikaris KA, Gill J, Calleja J, Hickman PE, Beilby J, et al. Quality assessment of interpretative commenting in clinical chemistry. *Clin Chem* 2004;50:632–7.
27. Laposata M. Patient-specific narrative interpretations of complex clinical laboratory evaluations: who is competent to provide them? [editorial] *Clin Chem* 2004;50:472–2.
28. Favaloro EJ, Meijer P, Jennings I, Sioufi J, Bonar RA, Kitchen DP, et al. Problems and solutions in laboratory testing for hemophilia. *Semin Thromb Hemost* 2013;39:816–33.
29. Aarsand AK, Sandberg S. How to achieve harmonisation of laboratory testing – the complete picture. *Clin Chim Acta* 2013;432:8–14.
30. Deborah M. Siegal,¹ David A. Garcia,² and Mark A. Crowther¹ How I treat target-specific oral anticoagulant-associated bleeding *BLOOD*, 20 FEBRUARY 2014 x VOLUME 123, NUMBER 8
31. Samama MM, Guinet C. Laboratory assessment of new anticoagulants. *Clin Chem Lab Med*. 2011; 49(5):761-772.
32. Garcia D, Barrett YC, Ramacciotti E, Weitz JI. Laboratory assessment of the anticoagulant effects of the next generation of oral anticoagulants. *J Thromb Haemost*. 2013;11(2): 245-252.
33. Stangier J, Rathgen K, Staehle H, Gansser D, Roth W. The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2007;64(3):292-303.
34. Blech S, Ebner T, Ludwig-Schwellinger E, Stangier J, Roth W. The metabolism and disposition of the oral direct thrombin inhibitor, dabigatran, in humans. *Drug Metab Dispos*. 2008; 36(2):386-399.
35. Mann KG, Brummel K, Butenas S. What is all that thrombin for? *J Thromb Haemost*. 2003;1(7): 1504-1514.
36. Hankey GJ, Eikelboom JW. Dabigatran etexilate: a new oral thrombin inhibitor. *Circulation*. 2011; 123(13):1436-1450.
37. Perzborn E, Strassburger J, Wilmen A, et al. In vitro and in vivo studies of the novel antithrombotic agent BAY 59-7939—an oral, direct Factor Xa inhibitor. *J Thromb Haemost*. 2005;3(3):514-521.

38. Jiang X, Crain EJ, Luetttgen JM, Schumacher WA, Wong PC. Apixaban, an oral direct factor Xa inhibitor, inhibits human clot-bound factor Xa activity in vitro. *Thromb Haemost*. 2009;101(4): 780-782.
39. Furugohri T, Isobe K, Honda Y, et al. DU-176b, a potent and orally active factor Xa inhibitor: in vitro and in vivo pharmacological profiles. *J Thromb Haemost*. 2008;6(9):1542-1549.
40. Kubitza D, Becka M, Voith B, Zuehlendorf M, Wensing G. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of single doses of BAY 59-7939, an oral, direct factor Xa inhibitor. *Clin Pharmacol Ther*. 2005;78(4):412-421.
41. Kubitza D, Becka M, Wensing G, Voith B, Zuehlendorf M. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of BAY 59-7939—an oral, direct Factor Xa inhibitor—after multiple dosing in healthy male subjects. *Eur J Clin Pharmacol*. 2005;61(12):873-880.
42. Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM, Palareti G. Oral anticoagulant therapy: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed. American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2012;141(2 Suppl):e44Se88S.
43. Bayer Pharma AG. Xarelto summary of product characteristics. http://www.xarelto.com/html/downloads/2013-07_SPC_June2013_F2_low.pdf. Accessed August 17, 2013.
44. Weinz C, Schwarz T, Kubitza D, Mueck W, Lang D. Metabolism and excretion of rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor, in rats, dogs, and humans. *Drug Metab Dispos*. 2009;37(5): 1056-1064.
45. Raghavan N, Frost CE, Yu Z, et al. Apixaban metabolism and pharmacokinetics after oral administration to humans. *Drug Metab Dispos*. 2009;37(1):74-81.
46. Eriksson BI, Quinlan DJ, Weitz JI. Comparative pharmacodynamics and pharmacokinetics of oral direct thrombin and factor xa inhibitors in development. *Clin Pharmacokinet*. 2009;48(1): 1-22.
47. Basu D, Gallus A, Hirsh J, Cade J. A prospective study of the value of monitoring heparin treatment with the activated partial thromboplastin time. *N Engl J Med* 1972, 287, 325–7.
48. Boneu B. Low molecular weight heparin therapy: Is monitoring needed? *Thromb Haemost* 1994;72:330–4.
49. Fiore L, Deykin L. Anticoagulant therapy. In: Beutler, Lichtman, Coller, Kipps (eds). *Williams Hematology*. 2nd edition. Mc Graw Hill inc. 1995: 1562–1581.
50. Hirsh J. Low molecular weight heparin. *Thromb Haemost* 1993, 70 (1), 204–207.
51. Makris E, Pantelis, Pithara E. LMW Heparin's Monitoring therapy. *International Journal of Angiology*. 1998; 17(2): 69-80.

52. Makris PE, Pithara E, Dimitriadou K, Louizou C. LMW– Heparin's monitoring: New method, ATHU–test. In "Progress in Angiology 1991" ed by P Balas, Edizioni Minerva Medica, 1991, 255–258.
53. Poller L, Taberner DA. Dosage and control of oral anticoagulants: an international survey. *Br J Haematol* 1982; 41: 479-85.
54. Μακρής ΠΕ. Θρομβοφιλία Leiden. Άρθρο σύνταξης στα "Αρχεία της Ελληνικής Ιατρικής" 14, 239-240, 1997.
55. Borgel D., Gandrille S. and Aiach J M.. Vermynen, M.F. Hoylaerts and J. Arnout. Protein S deficiency *Thromb Haemost* 77(6) 351 (1997).
56. Esmon CT, Yasuhiro WDK, Gu JM, Ferrell G, Regan LM, Stearns–Kurosawa DJ, Kurosawa S, Mather T, Laszik Z, and Esmon NL. The Protein C Pathway: New Insights *Thromb Haemost* 77(6) 70–74 (1997).
57. Lambropoulos AF, Foka Z, Makris M, Daly M, Kotsis A, Makris PE. Factor V Leiden in Greek thrombophilic patients : relationship with activated protein C resistance test and levels of thrombin -antithrombin complex and prothrombin fragment 1+2. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 8, 485-489, 1997.
58. Ambrozic A, Avicin T, Ichikawa K, Kveder T, Matsuura E, Hojnik M, Atsumi T, Rozman B, Koike T. Anti–beta(2)– glycoprotein I antibodies in children with atopic dermatitis. *Int Immunol* 2002 Jul; 14(7): 823-30.
59. Ben Hadj Slama F, Mahjoub T, Fejji S, Maaroufi A, Trabelsi A, Amri F, Laouani C. [Catastrophic antiphospholipid syndrome. Report of two cases] *Tunis Med* 2002 Feb;80 (2):94-6.
60. Best IM, Vansandani G, Rust G, Bumpers HL. Recurrent ischemia in a young man with the antiphospholipid syndrome. *Am Surg* 2002 Jul;68(7):598-602.
61. Brancaccio G, Di Gioia C, Prifti E, D'Amati G, Michielon G, Miraldi F. Antiphospholipid antibodies and intracardiac thrombosis. A case report. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2002 Aug; 43(4):479-82.
62. Brandt et al *Thrombosis and Haemostasis* 1995. Brandt et al, SSC study, 1995.
63. Brandt JT, Triplett DA, Alning B, Sharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulant: an update. *Thromb. Haemost* 1995, 74 1185-1190.
64. Carreras L.O, Forastiero RR. Pathogenic role of antiproteinphospholipid antibodies. *Haemostasis* 1996, 26 Suppl 4, 340-357.
65. De Cuypere E, Peerlinck K, Verhaeghe R, Vanrusselt M, Arnout J, Vermynen J. A vitamin K antagonist rapidly reverses a blue toe syndrome in a patient with lupus anticoagulant and antiprothrombin antibodies. *Acta Clin Belg* 2002 Mar-Apr;57(2):74-8.
66. Dobado–Berrios PM, Lopez–Pedrera C, Velasco F, Aguirre MA, Torres A, Cuadrado MJ. Increased levels of tissue factor mRNA in mononuclear blood cells of patients with primary antiphospholipid syndrome. *Thromb. Haemost.* 1999, Dec; 82(6):1578-82.

67. Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης: κατευθυντήρια οδηγία για τη διαπίστευση κλινικών εργαστηρίων. ΚΑΤΑ ΕΛΟΤ EN ISO 15189. ΕΣΥΔ ΚΟ-ΚΛΙΝΕΡΓ 01/02/30-01-2014.
68. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost. 2006; 4:295-306.
69. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. Blood. 2011; 118:4714-4718.