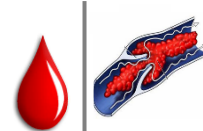




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΘΡΟΜΒΩΣΗ-ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ-ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΤΤΙΣΕΩΝ»

Διπλωματική εργασία

«ΕΠΙΠΕΔΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ XII ΣΕ ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ»

ΟΝΟΜΑ : Χρυσούλα Καλκανά

Αρ. Μητρώου : 20171020

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ : Αν. Καθηγήτρια Μαριάννα Πολίτου

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΘΡΟΜΒΩΣΗ-ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ-ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΓΙΣΕΩΝ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
«ΕΠΙΠΕΔΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΧΙΙ ΣΕ ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ»

Χρυσούλα Καλκανά
Ιατρός Παθολόγος

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μαριάννα Πολίτου
Γιαλεράκη Αργυρή
Κωνσταντόπουλος Κωνσταντίνος

Στους δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς
με αγάπη και σεβασμό για τον
καθημερινό τους αγώνα με τη νόσο

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Αντί προλόγου.....	5
2. Περίληψη.....	6
3. Summary.....	8
4. Γενικό μέρος	
4.1 Μηχανισμός αιμόστασης.....	11
4.2 Παράγοντας XII.....	15
4.3 Το σύστημα επαφής.....	17
4.3.1 Ενεργοποίηση του συστήματος επαφής in vitro.....	19
4.3.2 Ενεργοποίηση του συστήματος επαφής in vivo.....	19
4.3.3 Ρόλος του συστήματος επαφής in vivo.....	23
α. Σύστημα επαφής και θρόμβωση.....	23
β. Σύστημα επαφής και φλεγμονή.....	27
γ. Σύστημα επαφής και συμπλήρωμα.....	30
δ. Πλειοτροπικές δράσεις του παράγοντα XII.....	31
4.4 Δρεπανοκυτταρική νόσος: φλεγμονή και θρόμβωση.....	32
4.4.1 Παθοφυσιολογία της δρεπανοκυτταρικής νόσου.....	33
4.4.2 Δρεπανοκυτταρική νόσος και θρόμβωση.....	34
4.4.3 Δρεπανοκυτταρική νόσος και φλεγμονή.....	38
4.5 Αλληλεπίδραση πήξης-φλεγμονής.....	41
4.6 Παράγοντας XII στη δρεπανοκυτταρική νόσο.....	43
4.7 Σκοπός της μελέτης.....	45
5. Ειδικό μέρος	
5.1 Υλικό και μέθοδος.....	47
α. Πληθυσμός.....	47
β. Σχεδιασμός.....	47
γ. Μετρήσεις.....	48
δ. Στατιστική ανάλυση.....	49
5.2 Αποτελέσματα.....	49
5.2.1 Πληθυσμός.....	49
5.2.2 Παράγοντας XII.....	50

5.2.3 Βιολογικές παράμετροι.....	51
5.2.4 Ασθενείς.....	52
5.3 Συζήτηση.....	53
α. Παράγοντας XII.....	54
β. Βιολογικές παράμετροι.....	59
γ. Ασθενείς.....	61
5.4 Συμπέρασμα.....	63
6. Βιβλιογραφία.....	64
7. Παράρτημα.....	73
7.1 Έντυπο συγκατάθεσης ασθενών.....	74

Αντί προλόγου...

Ευχαριστώ θερμά την Καθηγήτρια κ. Μαριάννα Πολίτου για την υποστήριξη, την ενθάρρυνση και τις πολύτιμες συμβουλές και παρατηρήσεις προκειμένου να ολοκληρωθεί αυτή η εργασία.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες χρωστώ στον κ. Α. Πουλιάκη για την ουσιαστική βοήθειά του στην στατιστική ανάλυση.

Ευχαριστώ την κ. Θεοδώρα Κασσή και τον κ. Δημήτρη Κορακάκη για την βοήθειά τους στο τεχνικό μέρος των μετρήσεων.

Τέλος, ευχαριστώ το σύζυγο και τα παιδιά μου για την υπομονή, την ανοχή, τη στήριξη και τη βοήθειά τους μέχρι την ολοκλήρωση της εργασίας.

Αθήνα, Δεκέμβριος 2020

2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο παράγοντας XII είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που βρίσκεται στην κορυφή της ενδογενούς οδού της πήξης και είναι ένας από τους παράγοντες του συστήματος επαφής. Η απουσία αιμορραγίας σε άτομα με έλλειψη του παράγοντα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι ο ρόλος του στην αιμόσταση είναι μηδαμινός. Ωστόσο, έχει αποδειχθεί η συμβολή του στη σταθερότητα του θρόμβου αλλά και στη διαδικασία της ινωδόλυσης, ενώ ο ρόλος του στη θρομβωτική προδιάθεση στον άνθρωπο παραμένει αδιευκρίνιστος. Παράλληλα, μέσω της παραγωγής βραδυκινίνης και της ενεργοποίησης του συμπληρώματος μετά από κινητοποίηση του συστήματος επαφής, συμμετέχει σε φλεγμονώδεις διαδικασίες. Έτσι, η ενεργοποίηση του παράγοντα εκκινεί μονοπάτια φλεγμονής και θρόμβωσης.

Η δρεπανοκυτταρική νόσος, είναι κληρονομούμενη αιμοσφαιρινοπάθεια που χαρακτηρίζεται από δομική αλλαγή της αιμοσφαιρίνης και αποτελεί χαρακτηριστικό μοντέλο νόσου όπου φλεγμονή και θρόμβωση συνυπάρχουν. Οι αλλαγές στη μεμβράνη του ερυθροκυττάρου οδηγούν σε χρόνια αιμόλυση, αλληλεπίδραση των ερυθρών αιμοσφαιρίων με τα αιμοπετάλια, τα λευκά αιμοσφαίρια και το ενδοθήλιο των αγγείων, με αποτέλεσμα την παραγωγή φλεγμονωδών μορίων και την κινητοποίηση του μηχανισμού της πήξης που καταλήγουν σε απόφραξη της μικροκυκλοφορίας, ισχαιμία και βλάβη ιστών και οργάνων.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της συμμετοχής του παράγοντα XII στην παθοφυσιολογία της νόσου. Έγινε μέτρηση του παράγοντα XII σε 29 δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς και τα επίπεδά του συγκρίθηκαν με αυτά υγιών εθελοντών αιμοδοτών. Επιπλέον, διερευνήθηκε η ύπαρξη συσχέτισης του παράγοντα XII με συγκεκριμένες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου, όπως και η συσχέτισή του με αιματολογικούς και βιοχημικούς δείκτες, δείκτες φλεγμονής (CRP), πρωτεΐνες του συμπληρώματος (C3, C4) και παράγοντες πήξης (VWF).

Τα επίπεδα του παράγοντα XII ήταν χαμηλότερα στους δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς σε σχέση με τα επίπεδα των υγιών δοτών, κάτι που υποδηλώνει την

ενεργοποίηση του συστήματος επαφής στη δρεπανοκυτταρική νόσο. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση του παράγοντα XII με κλινικές εκδηλώσεις της νόσου, ωστόσο υπήρξε συσχέτισή του με τα στοιχεία C3 και C4 του συμπληρώματος, με το ινωδογόνο και με τα εμπύρηννα ερυθρά, υπονοώντας την συμμετοχή του στη φλεγμονή και την αιμόλυση που χαρακτηρίζει τη νόσο.

3. Summary

Levels of factor XII in patients with sickle cell disease

Factor XII is a glycoprotein that initiates the intrinsic coagulation cascade and is one of the constituents of the contact system. Deficiency of factor XII is not associated with hemorrhage, doubting his role in normal hemostasis.

However, he has been shown to contribute to thrombus stability and fibrinolysis, and it is still unclear whether his deficiency is a risk factor for thrombosis in humans. Furthermore, factor XII is participating in inflammatory reactions through complement activation and bradykinin production after the contact system initiating process. Thus, factor XII stands on the crossroad of inflammation and thrombosis.

Sickle cell disease, an inherited haemoglobinopathy, is due to a mutation in β -globin gene, resulting in structural change of hemoglobin under hypoxia and is a typical disease model where inflammation and thrombosis coexist. Red cell membrane changes lead to chronic hemolysis and complex interactions of red cells with platelets, leukocytes and vascular endothelium, with inflammatory molecule production and coagulation system activation, ultimately leading to microvascular obstruction, ischemia and organ damage.

The objective of this work was to evaluate the possible role of FXII in sickle cell disease. Levels of FXII were measured in 29 sickle cell disease patients and compared with those of healthy blood donors. Any association of FXII with certain clinical manifestations or with certain biological indexes of the disease was tested. For the purpose of this, full blood count and biochemical tests were done in sickle cell disease patients, along with coagulation tests, CRP measurement and measurement of C3 and C4 complement components.

Levels of FXII were significantly lower in patients with sickle cell disease compared to those of healthy blood donors, indicating activation of contact system in sickle cell disease. There was not any correlation between FXII and certain clinical manifestations of the disease, although significant correlations

were found between FXII and fibrinogen, C3, C4 and nucleated red blood cells.

Overall, the findings of this study are indicative of activation of contact system and participation of FXII in inflammatory and hemolytic procedure of sickle cell disease.

4. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ

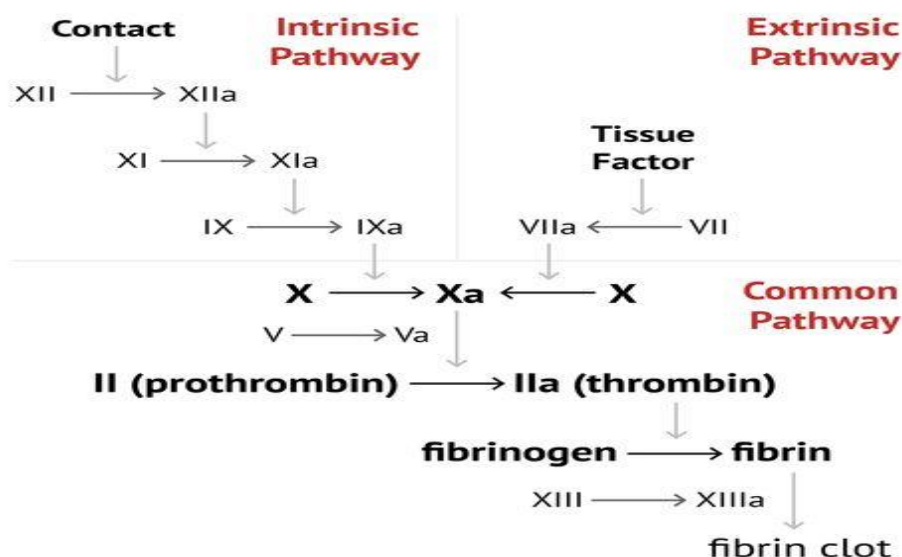
Ο μηχανισμός αιμόστασης αποτελεί την άμεσα κινητοποιούμενη αντίδραση του οργανισμού απέναντι στον αγγειακό τραυματισμό που έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό θρόμβου ινικής με σκοπό την επίσχεση της απώλειας αίματος και την αποκατάσταση της ιστικής βλάβης. Η διαδικασία αυτή διενεργείται από μια σειρά πρωτεϊνών του πλάσματος που κυκλοφορούν στο αίμα σε ανενεργή μορφή (ζυμογόνα) και αποκτούν βιολογική δραστηριότητα μετά την ενεργοποίησή τους. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι γνωστές ως παράγοντες πήξης. Η ενεργοποίηση του ενός παράγοντα οδηγεί σε σειρά αλληπάλληλων ενεργοποιήσεων των υπόλοιπων παραγόντων με τη μορφή του καταρράκτη. Οι παράγοντες πήξης συμβολίζονται με λατινικά νούμερα και η ενεργοποιημένη μορφή τους χαρακτηρίζεται από την προσθήκη του γράμματος “a” (activated) (1).

Η κινητοποίηση του μηχανισμού αιμόστασης γίνεται με δύο τρόπους: ο πρώτος είναι με την επαφή του αίματος με περιαγγειακούς ιστούς που εκφράζουν ιστικό παράγοντα (TF), για το λόγο αυτό ονομάζεται και “εξωγενής οδός” ή οδός “ιστικού παράγοντα” (extrinsic pathway). Ο δεύτερος τρόπος είναι η επαφή του αίματος με συγκεκριμένες επιφάνειες, βιολογικές ή τεχνητές, χωρίς να έχει προηγηθεί τραυματισμός και επαφή με εξωαγγειακούς ιστούς, γιαυτό και ονομάζεται “ενδογενής οδός” (intrinsic pathway) (Εικόνα 1).

Ο εκκινητής του εξωγενούς μονοπατιού είναι ο ιστικός παράγοντας (TF) ο οποίος δεν κυκλοφορεί στο αίμα αλλά βρίσκεται στους ιστούς που περιβάλλουν το αγγειακό τοίχωμα και αποκαλύπτεται με τον τραυματισμό του αγγειακού ενδοθηλίου. Ο ιστικός παράγοντας συνδέεται με τον παράγοντα VII και τον ενεργοποιεί, το σύμπλεγμα TF/VIIa είναι ισχυρός ενεργοποιητής της αιμόστασης, αφενός ενεργοποιεί τον παράγοντα X και σε μικρότερο βαθμό τον παράγοντα IX. Ο ενεργοποιημένος X (Xa), με τη βοήθεια του παράγοντα Va καταλύει τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη (κοινή οδός, common pathway) (1-3).

Το ενδογενές μονοπάτι ξεκινά από την ενεργοποίηση του παράγοντα XII, όταν αυτός έρθει σε επαφή με υδρόφιλες, αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες, που με

τη σειρά του ενεργοποιεί τον FXI. Ο ενεργοποιημένος XI (XIa) ενεργοποιεί τον FIX, και ο FIXa τον VIII (VIIIa) που καταλήγει σε ενεργοποίηση του X (Xa) με παραγωγή θρομβίνης.

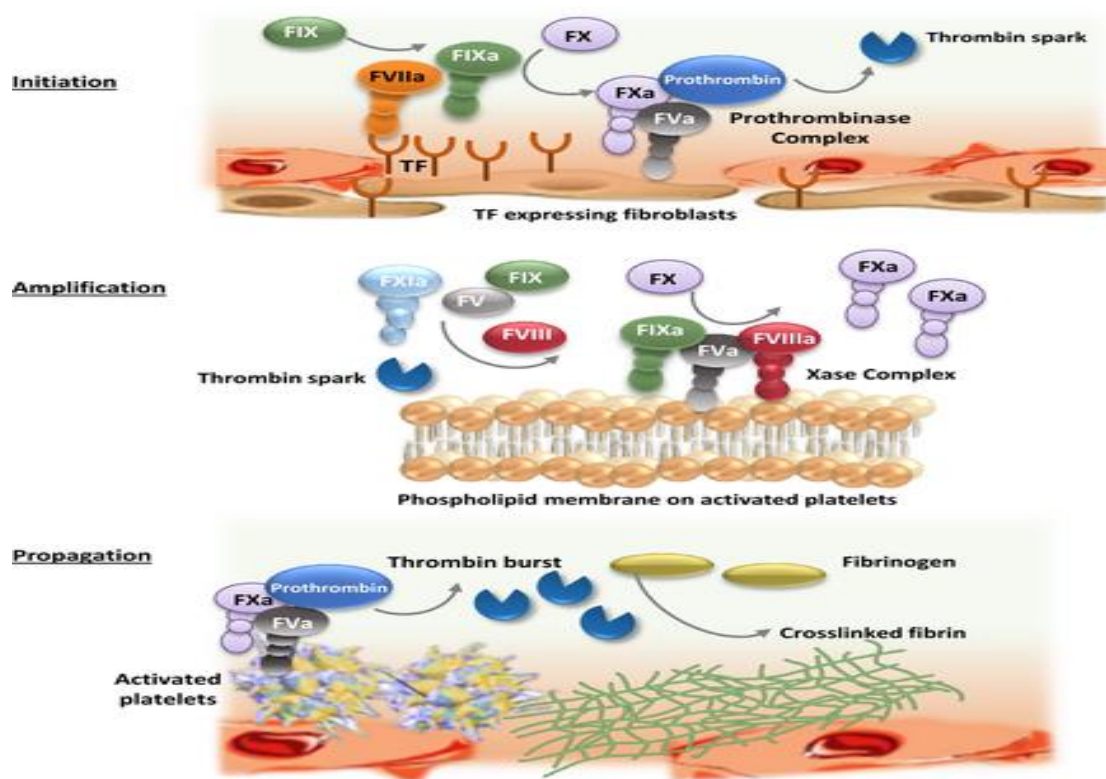


Εικόνα 1. Εξωγενής, ενδογενής και κοινή οδός του μηχανισμού πήξης. (Πηγή, medschool.co)

Η ενεργοποίηση του παράγοντα X είτε μέσω εξωγενούς είτε μέσω ενδογενούς οδού έχει σαν αποτέλεσμα τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη. Η παραγόμενη θρομβίνη μετατρέπει το διαλυτό ινωδογόνο σε αδιάλυτο ινώδες. Η τελευταία αυτή διαδικασία αποτελεί την επονομαζόμενη κοινή οδό της πήξης. Τα μόρια του ινώδους πολυμερίζονται και η δομή τους ενισχύεται από τον παράγοντα XIII, δίνοντας γένεση στο τρισδιάστατο πλέγμα ινικής το οποίο εγκλωβίζει αιμοπετάλια και ερυθρά αιμοσφαίρια δημιουργώντας θρόμβο που σφραγίζει το έλλειμα του αγγείου αποτρέποντας την περαιτέρω απώλεια αίματος (1-4).

Τις τελευταίες δεκαετίες η μεγάλη πρόοδος στην έρευνα του μηχανισμού πήξης έχει δείξει ότι ο διαχωρισμός της πήξης σε ενδογενή και εξωγενή οδό

είναι περισσότερο σχηματικός και δεν ανταποκρίνεται στην πραγματικότητα αφού τα δύο μονοπάτια βρίσκονται σε λειτουργική αλληλεπίδραση. Έτσι, το σύμπλεγμα TF/VIIa δεν ενεργοποιεί μόνο τον FX αλλά και τον FIX, πυροδοτώντας ταυτόχρονα και τις δύο οδούς. Επιπλέον, η ίδια η θρομβίνη κινητοποιεί αντιδράσεις θετικής ανατροφοδότησης που καταλήγουν σε εκρηκτική αύξηση της παραγωγής της, ενεργοποιώντας τον FV, αλλά και τους FVIII και FXI, τους παραδοσιακά θεωρούμενους παράγοντες της ενδογενούς οδού. Σήμερα έχει αποδειχθεί ότι ο μηχανισμός της αιμόστασης απαιτεί τη συνεργασία των παραγόντων πήξης, του ενδοθηλίου και βέβαια των αιμοπεταλίων, σε αυτό που αποκαλείται “κυτταρικό μοντέλο της πήξης” (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Κυτταρικό μοντέλο πήξης. (Από O'Donnell et al. Br J Haematol 2019)

Η συνεργασία αυτή ευθύνεται για την ενεργοποίηση, την ενίσχυση και τη διάδοση της παραγωγής θρομβίνης. Ο ιστικός παράγοντας θεωρείται ο βασικός εκκινητής του μηχανισμού (3), που καταλήγει στην παραγωγή μικρής

ποσότητας θρομβίνης στην περιοχή της βλάβης. Η θρομβίνη ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια που συναθροίζονται στο σημείο του τραυματισμού και αποτελούν το απαραίτητο κυτταρικό υπόστρωμα για την ενίσχυση της παραγωγής θρομβίνης μέσω ενεργοποίησης του παράγοντα IX και X στην επιφάνειά τους. Έτσι, η ενδογενής οδός λειτουργεί ως ενισχυτής της παραγωγής θρομβίνης ταυτόχρονα με την κινητοποίηση της πήξης από τον ιστικό παράγοντα. Επιπλέον, προϊόντα των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων ενεργοποιούν τον FXII αυξάνοντας περαιτέρω την παραγωγή θρομβίνης. Οι μεγάλες ποσότητες θρομβίνης που παράγονται είναι ικανές να μετατρέψουν το ινωδογόνο σε δίκτυο ινικής και σχηματισμό θρόμβου για να σφραγιστεί έτσι το έλλειμμα του αγγείου (5-7).

Το σύστημα αιμόστασης διαθέτει αυτορρυθμιστικούς μηχανισμούς που είναι κεφαλαιώδους σημασίας προκειμένου να αποφευχθεί η ανεξέλεγκτη δημιουργία και διάδοση του θρόμβου πέρα από το σημείο της βλάβης. Έτσι, πέρα από τους παράγοντες πήξης, το σύστημα διαθέτει και πρωτείνες που δρουν ως ανταγωνιστές της αιμόστασης. Τέτοιοι φυσικοί ανασταλτές είναι η αντιθρομβίνη (ATIII), η θρομβομοδουλίνη (TM), ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI), η οδός της πρωτεΐνης C και η πρωτεΐνη Z (2,8,9). Οι μηχανισμοί αυτοί κινητοποιούνται ταυτόχρονα με την κινητοποίηση της πήξης και ρυθμίζονται από τα προϊόντα της αιμοστατικής διαδικασίας. Η αντιθρομβίνη παράγεται στο ήπαρ. Ενεργοποιείται από την θειική ηπαράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων και αναστέλλει την θρομβίνη αλλά και τους ενεργοποιημένους IX, X, XI και XII. Ο TFPI παράγεται από το αγγειακό ενδοθήλιο και ενεργοποιείται με την παραγωγή μικρών ποσοτήτων Xa. Αδρανοποιεί τόσο τον Xa όσο και το σύμπλεγμα TF/VIIa (8,10). Η θρομβομοδουλίνη (TM) είναι μια πρωτεΐνη που εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η σύνδεσή της με τη θρομβίνη μετατρέπει την τελευταία σε ανενεργό μόριο (11). Η πρωτεΐνη C παράγεται στο ήπαρ, ενεργοποιείται από το σύμπλεγμα θρομβίνης-θρομβομοδουλίνης (APC) με τη βοήθεια του ενδοθηλιακού υποδοχέα της πρωτεΐνης C (EPCR), και με τη δράση της πρωτεΐνης S, που δρα ως συμπαράγοντας, αναστέλλει τους ενεργοποιημένους Va και VIIIa (8-11). Η πρωτεΐνη Z είναι η πιο πρόσφατα περιγραφόμενη ανασταλτική

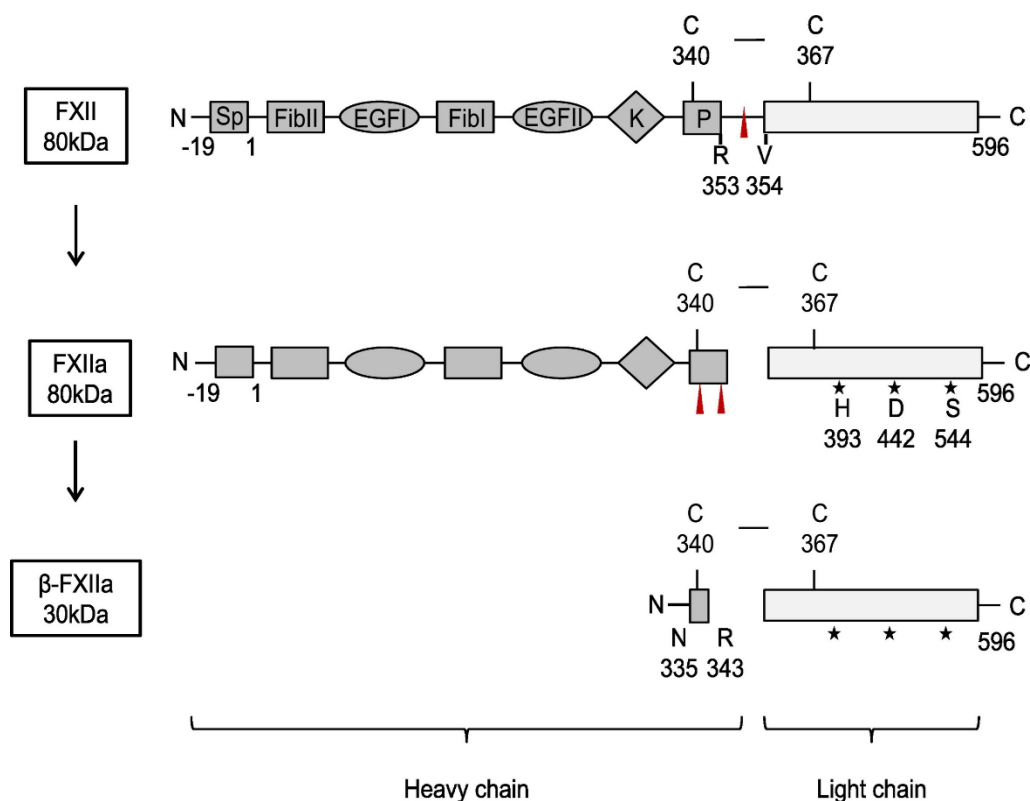
πρωτεΐνη του συστήματος πήξης. Παράγεται επίσης στο ήπαρ και αναστέλλει τον Xa (2).

Η λύση του θρόμβου με τη διαδικασία της ινωδόλυσης αποτελεί το τελικό στάδιο για την αποκατάσταση του τραυματισμένου αγγείου. Η ινωδόλυση ξεκινά με την πρωτεολυτική δράση της πλασμίνης πάνω στην ινική του σχηματισμένου θρόμβου. Η πλασμίνη παράγεται από το πλασμινογόνο με τη δράση του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA), που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, και σε μικρότερο βαθμό από τον τύπο ουροκινάσης ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (uPA). Η διάλυση της ινικής οδηγεί στην παραγωγή των προϊόντων αποδομής του ινώδους (FDP). Όπως συμβαίνει και στο μηχανισμό της πήξης, έτσι και ο μηχανισμός της ινωδόλυσης βρίσκεται κάτω από τον ρυθμιστικό έλεγχο ανασταλτών. Οι τρεις κύριοι ανασταλτές της ινωδόλυσης είναι ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 και 2, (PAI-1, PAI-2) που αδρανοποιούν τον tPA και η α2-αντιπλασμίνη που αδρανοποιεί την πλασμίνη. Επιπλέον, ο ενεργοποιημένος από τη θρομβίνη αναστολέας της ινωδόλυσης (TAFI) μειώνει την παραγωγή πλασμίνης μειώνοντας τις θέσεις σύνδεσης του πλασμινογόνου πάνω στο θρόμβο (12).

4.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ XII

Ο παράγοντας XII (FXII) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη 80kD που συντίθεται στο ήπαρ (13,14). Πρόσφατα δεδομένα αναφέρουν έκφραση του παράγοντα και σε άλλα κύτταρα, κυρίως λευκά αιμοσφαίρια και κύτταρα ενδομητρίου (15). Βρίσκεται στην κορυφή του παραδοσιακά περιγραφόμενου ενδογενούς καταρράκτη της πήξης, που καταλήγει στην παραγωγή θρομβίνης, και είναι ένας από τους παράγοντες του συστήματος επαφής (contact system). Κυκλοφορεί στο αίμα ως πρωτεϊνικό μόριο μονής αλυσίδας αποτελούμενης από 596 αμινοξέα, και ο χρόνος ημίσειας ζωής του είναι περίπου 50-70 ώρες (15). Το αμινοτελικό άκρο του αποτελείται από μια περιοχή τύπου φιμπρονεκτίνης II, μια περιοχή ομοιάζουσα με επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (epidermal-growth-factor-like domain EGF I), μια δεύτερη περιοχή

τύπου φιβρονεκτίνης I, μια δεύτερη περιοχή epidermal-growth-factor-like, (EGF II), μια περιοχή δακτυλοειδή (kringle domain), μια πλούσια σε προλίνη περιοχή και την καταλυτική περιοχή στο καρβοξυτελικό άκρο (15,16) (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Δομή του παράγοντα XII. (Από Weidmann et al. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res 2017).

Η ενεργοποίηση του παράγοντα γίνεται με περιορισμένη πρωτεόλυση στον πεπτιδικό δεσμό Arg353-Val354. Μετά από την ενεργοποίησή του κυκλοφορεί ως μόριο με δύο αλυσίδες (FXIIa), μια βαριά και μια ελαφριά αλυσίδα που ενώνονται μεταξύ τους με δισουλφιδικό δεσμό. Μέσω της βαριάς αλυσίδας γίνεται η δέσμευση στις αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες ενώ η ελαφριά αλυσίδα είναι υπεύθυνη για την ενζυματική δράση του παράγοντα (15). Περαιτέρω διάσπαση του FXIIa οδηγεί στο σχηματισμό β-FXIIa, ο οποίος διατηρεί την ιδιότητα να διασπά την καλλικρεΐνη αλλά δεν συνδέεται με αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες και δεν ενεργοποιεί τον παράγοντα XI (Εικόνα 3).

Η ενεργοποίηση του παράγοντα μπορεί να γίνει με δύο τρόπους: ο πρώτος τρόπος είναι η αυτοενεργοποίηση μέσω αλλαγής της διαμόρφωσής του όταν προσδεθεί σε αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες. Τα ιόντα ψευδαργύρου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αυτοενεργοποίηση. Ο δεύτερος τρόπος είναι με διάσπασή του από άλλες πρωτεάσες όπως η καλλικρεΐνη (15).

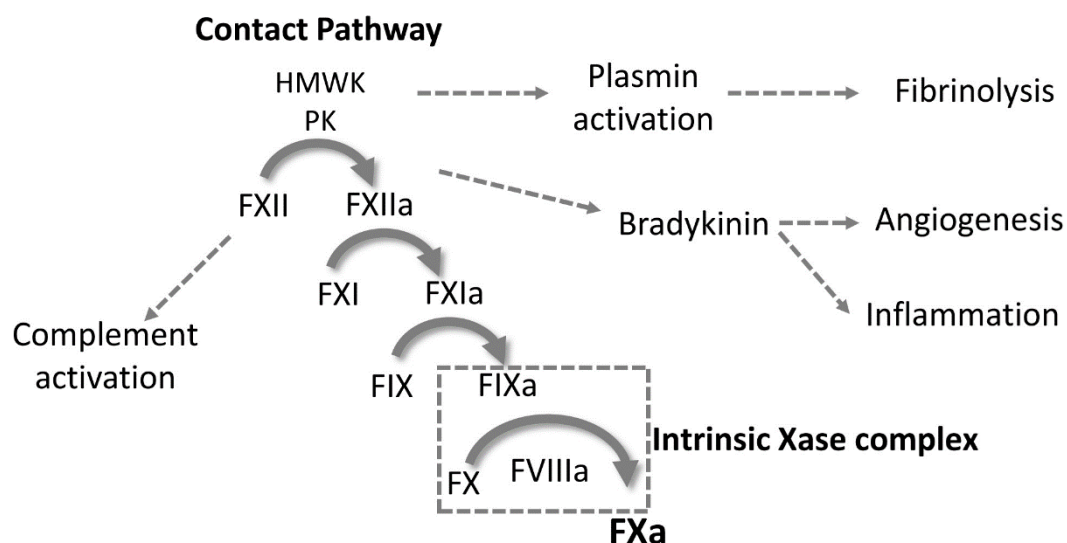
4.3 ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΠΑΦΗΣ

Το σύστημα επαφής είναι ένας “καταρράκτης” πρωτεασών στο πλάσμα που αποτελείται από τρεις πρωτεΐνες-ζυμογόνα: τον παράγοντα XII, τον παράγοντα XI και την προκαλλικρεΐνη (PK) καθώς και από ένα μη ενζυματικό συμπαράγοντα, το κινινογόνο υψηλού μοριακού βάρους (HK). Οι πρωτεΐνες του συστήματος επαφής συντίθενται στο ήπαρ (1). Η PK κυκλοφορεί συνδεδεμένη με το HK κατά 75% ενώ και ο παράγοντας XI σχηματίζει ετεροδιμερές με το HK. Η ονομασία του συστήματος οφείλεται στο ότι η ενεργοποίηση των παραγόντων προϋποθέτει επαφή με τεχνητές ή βιολογικές, αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες (13,14,17,18).

Η επαφή με τέτοιες επιφάνειες προκαλεί αυτο-ενεργοποίηση του παράγοντα XII μέσω αλλαγής της διαμόρφωσής του. Παράγεται τότε μικρή ποσότητα ενεργοποιημένου XIIa. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας (FXIIa) είναι μια πρωτεάση σερίνης, ενεργοποιεί την PK η οποία επάγει περαιτέρω ενεργοποίηση του FXII σε FXIIa, δημιουργώντας έναν ανατροφοδοτούμενο κύκλο συνεχούς παραγωγής FXIIa και PKa. Οι ενεργοποιημένοι FXIIa και PKa προάγουν την διάσπαση του HK σε HKa από την οποία απελευθερώνεται βραδυκίνη, ένα πεπτίδιο που προκαλεί αγγειοδιαστολή και αύξηση της διαπερατότητας του αγγειακού ενδοθηλίου (Εικόνα 4).

Οι διεργασίες αυτές καθίστανται πολύ πιο αποτελεσματικές λόγω της συνεργασίας των παραγόντων: η αυτο-ενεργοποίηση του FXII επιταχύνεται όταν αυτός επωάζεται με HK ή PK (1,14). Η PK δεν ενεργοποιείται από τη σύνδεση σε ξένη επιφάνεια όταν λείπει ο παράγοντας FXII. Το HK σταθεροποιεί την PK και διευκολύνει την ενεργοποίησή της από τον FXIIa. Το HK είναι επίσης ικανό να συνδέεται με τις αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες αλλά η ικανότητά του είναι περιορισμένη και ενισχύεται από την παρουσία του

FXIIa και Pka (13,14,17,18).



Εικόνα 4. Το σύστημα επαφής (Από O'Donnell, Br J Haematol 2019)

Ο ενεργοποιημένος FXIIa εκτός από την παραγωγή βραδυκινίνης καταλύει την ενεργοποίηση του FXI σε FXIa, κινητοποιώντας το ενδογενές μονοπάτι της πήξης. Άλλα υποστρώματα για τον FXIIa είναι το πλασμινογόνο και το κλάσμα C1 του συμπληρώματος. Έτσι, η ενεργοποίηση του συστήματος επαφής έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση μεσολαβητών θρόμβωσης, ινωδολύσης και φλεγμονής. Τόσο ο FXIIa όσο και η PKa αναστέλλονται από τον αναστολέα της C1 εστεράσης (C1INH). Η έλλειψη ή η δυσλειτουργία του C1INH οδηγεί στην κλινική εκδήλωση του αγγειοιδήματος τύπου I ή II αντίστοιχα, λόγω αύξησης των επιπέδων της βραδυκινίνης (13,14,17,18). Εκτός από την C1INH, η αντιθρομβίνη (ATIII) και ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου PAI-1 αναστέλλουν επίσης τον FXIIa και την Pka (19).

Ο ενεργοποιημένος παράγοντας FXIIa αποτελείται από μια βαριά και μια ελαφρά αλυσίδα ενωμένες με δισουλφιδικό δεσμό. Η ελαφρά αλυσίδα είναι υπεύθυνη για την ενζυματική δράση του παράγοντα, ενώ η σύνδεση με τις αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες γίνεται μέσω της βαριάς αλυσίδας (15). Περαιτέρω διάσπαση του FXIIa δίνει γένεση στον β-FXIIa, ο οποίος έχει

επίσης ικανότητα ενεργοποίησης της PK αλλά δεν συνδέεται με αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες και έτσι δεν κινητοποιεί τον ενδογενή μηχανισμό της πήξης (16,20).

4.3.1 Ενεργοποίηση του συστήματος επαφής in vitro

Όλες οι παραπάνω πληροφορίες προέρχονται από in vitro μελέτες (17). Ο τρόπος ενεργοποίησης του συστήματος επαφής in vitro είναι γνωστός εδώ και πολλά χρόνια και αποτελεί τη βάση για τη διαγνωστική δοκιμασία του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT). Κατά την δοκιμασία αυτή ο FXII, η PK και το HK του πλάσματος συγκεντρώνονται πάνω σε αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες όπως το γυαλί, η καολίνη, το διοξείδιο του πυριτίου (silica), το ελαγικό οξύ (1,17,19). Δημιουργείται τότε FXIIa είτε με αυτο-ενεργοποίηση του FXII είτε μέσω ενεργοποίησής του από την PKa, που καταλύει την ενεργοποίηση του FXI και την εκκίνηση του ενδογενούς μονοπατιού της πήξης. Με τη δοκιμασία εκτιμούνται οι ελλείψεις παραγόντων του ενδογενούς μονοπατιού της πήξης, όπως του παράγοντα VIII και IX. Η ενεργοποίηση του συστήματος είναι γνωστό ότι πραγματοποιείται και ex vivo, κατά την διαδικασία αιμοδιάλυσης, καρδιοπνευμονικής παράκαμψης και σε κυκλώματα εξωσωματικής κυκλοφορίας, όπου το αίμα έρχεται σε επαφή με τεχνητές επιφάνειες. Η ενεργοποίηση του FXII κινητοποιεί την πήξη και καθιστά απαραίτητη τη χρήση αντιπηκτικών ώστε να διατηρηθεί η ροή του αίματος δια μέσου του κυκλώματος, αυξάνοντας όμως, τον κίνδυνο αιμορραγικών επιπλοκών (1).

4.3.2 Ενεργοποίηση του συστήματος επαφής in vivo

Ο τρόπος ενεργοποίησης και η σημασία του συστήματος επαφής in vivo άρχισαν να μελετώνται τις τελευταίες δύο δεκαετίες και δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί (17-19). Φαίνεται, πάντως, ότι υπάρχουν αρκετοί ενδογενείς ενεργοποιητές του συστήματος.

Η έρευνα έχει δείξει ότι κατά τη βλάβη των ιστών, το RNA που απελευθερώνεται από την καταστροφή των κυττάρων μπορεί να

ενεργοποιήσει τον FXII, και η χορήγηση RNA-άσης, ενός ενζύμου που διασπά το RNA, μπορεί να λειτουργήσει θρομβοπροστατευτικά σε πειράματα με ποντίκια (19).

Η παρατήρηση ότι η ικανότητα σχηματισμού θρόμβου του παράγοντα XII ενισχύεται παρουσία αιμοπεταλίων οδήγησε στην υπόθεση ότι τα αιμοπετάλια μπορούν να είναι ένας άλλος *in vivo* ενεργοποιητής του παράγοντα XII. Τα αιμοπετάλια αποθηκεύουν polyPs μαζί με ιόντα ασβεστίου στα πυκνά κοκκία τους τα οποία απελευθερώνονται κατά την ενεργοποίησή τους. Τα polyP είναι ανόργανα, φωσφορικά πολυμερή, με πολυανιονική δομή παρόμοια με του RNA. Το μέγεθος του πολυμερούς μπορεί να κυμαίνεται από λίγα φωσφορικά μέχρι εκατοντάδες ή χιλιάδες φωσφορικές μονάδες, ανάλογα με τον οργανισμό και τον τύπο του κυττάρου (1). Βρίσκονται στα πυκνά κοκκία των αιμοπεταλίων και στα κοκκία των μαστοκυττάρων, αλλά έχουν βρεθεί και στα λυσοσώματα, στα μιτοχόνδρια, ή και στον πυρήνα. Τα polyP συνδέονται με μεγάλη συγγένεια απευθείας με τον FXII (και το HK) και είναι ισχυροί ενεργοποιητές του συστήματος επαφής *in vitro* (1,18,19). Η ικανότητά τους να ενεργοποιούν τον FXII *in vitro* οδήγησε σε μελέτες που επιβεβαίωσαν και τον *in vivo* ρόλο τους στην εκκίνηση του μηχανισμού πήξης μέσω FXII και ανεξάρτητα από την παρουσία του ιστικού παράγοντα (15). Η ενεργοποίηση του συστήματος επαφής εξαρτάται από το μήκος του πολυμερούς, με τη μέγιστη δραστηριότητα να εκδηλώνεται από τα μεγάλα μήκους πολυμερή, που ξεπερνούν ακόμα και τους τεχνητούς ενεργοποιητές, όπως η καολίνη. Τα polyP των αιμοπεταλίων δεν είναι μεγάλα μήκους πολυμερή και θεωρούνται ασθενείς ενεργοποιητές του συστήματος επαφής (1). Ωστόσο είναι διαλυτά και η συγκέντρωσή τους είναι μεγάλη σε περιοχές με υψηλή συγκέντρωση των αιμοπεταλίων, όπως η περιοχή του θρόμβου. Εξάλλου, εκτός από το μήκος του πολυμερούς ενδεχομένως να υπάρχουν και άλλοι παράγοντες, άγνωστοι ακόμη, από τους οποίους να εξαρτάται η ικανότητα ενεργοποίησης του συστήματος επαφής. Συνηγορητικά είναι τα αποτελέσματα μελέτης που δείχνουν ότι συνθετικά polyP ίδιου μήκους με αυτά των αιμοπεταλίων ήταν ισχυροί διεγέρτες του FXII με σχηματισμό θρόμβου σε ανθρώπινο πλάσμα (21). Σε ποντίκια με έλλειψη αιμοπεταλιακών polyP η ικανότητα σχηματισμού θρόμβου ήταν ελλιπής. Έτσι τα polyP δοκιμάζονται ως στόχος νέων

αντιπηκτικών φαρμάκων (18,21).

Όπως τα αιμοπετάλια, έτσι και τα MPs των αιμοπεταλίων εκφράζουν polyP και έχουν την ικανότητα να ενεργοποιούν τον FXII (18,21). Πρόσφατα φάνηκε ότι και η φωσφατυδιλσερίνη (PS), ένα αρνητικά φορτισμένο λιπίδιο της κυτταρικής μεμβράνης, ενεργοποιεί τον FXII (17).

Ο παράγοντας XII ενεργοποιείται και από εξωκυτάρια νουκλεινικά οξέα, που έχουν την ονομασία NETs (Neutrophil Extracellular Traps). Τα λευκά αιμοσφαίρια, κυρίως τα ουδετερόφιλα, όταν ενεργοποιούνται από ποικίλα βλαπτικά ερεθίσματα υφίστανται μια διαδικασία (NETosis) κατά την οποία ένζυμα του κυτταροπλάσματος, όπως η ελαστάση και η μυελουπεροξειδάση, μετακινούνται στον πυρήνα, αποδομούν τις ιστόνες και αποελίσσουν την χρωματίνη. Ακολουθεί κυτταρόλυση και απελευθέρωση ελεύθερων νουκλειικών οξέων που σχηματίζουν ένα δίκτυο (NETs) αποτελούμενο από DNA, ιστόνες, πρωτεΐνες, πρωτεάσες, με πολλαπλούς ρόλους στη διαδικασία της θρόμβωσης και φλεγμονής (21,22). Συγκεκριμένα, έχουν την ικανότητα να ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, να διεγείρουν την απελευθέρωση polyPs από τα αιμοπετάλια, ενώ το DNA τους αποτελεί επιφάνεια που οδηγεί σε αυτοενεργοποίηση του FXII (21).

Συσσωματώματα πρωτεϊνών με μη-φυσιολογική αναδίπλωση έχει φανεί *in vitro* να ενεργοποιούν τον παράγοντα XII και την καλλικρεΐνη (17,21). Τέτοιες πρωτεΐνες είναι το β-αμυλοειδές, οι ελαφρές αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών, η τρανσθυρεΐνη. Σε ασθενείς με νόσο Alzheimer υπάρχει συσσώρευση β-αμυλοειδούς στην κυκλοφορία και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα βραδυκινίνης και δείκτες ενεργοποίησης του συστήματος επαφής (17). Σε ασθενείς με συστηματική αμυλοείδωση, που χαρακτηρίζεται από την κυκλοφορία ελαφρών ανοσοσφαιρινικών αλυσίδων, έχει φανεί ενεργοποίηση του συστήματος κίνησης-καλλικρεΐνης απότοκος της ενεργοποίησης του FXII που δεν συνοδεύεται από ενεργοποίηση του FXI (17,21).

Η ηπαρίνη είναι μια γλυκοζαμινογλυκάνη, ένας αρνητικά φορτισμένος πολυσακχαρίτης με επαναλαμβανόμενη θειωμένη μονάδα δισακχαρίτη, που

απελευθερώνεται από τα μαστοκύτταρα. Η ιδιότητά της ως *in vitro* ενεργοποιητή του συστήματος επαφής είναι γνωστή (1,15,17,21). Πειραματικά μοντέλα σε ποντίκια έχουν δείξει ότι μπορεί να οδηγεί στην παραγωγή βραδυκινίνης *in vivo* (15). Η ηπαρίνη που απελευθερώνεται από μαστοκύτταρα ενεργοποιημένα από συμπλέγματα αντιγόνου/IgE οδηγούν σε άμεση ενεργοποίηση του FXII, ενώ η αναστολή του FXII ή των υποδοχέων B2 της βραδυκινίνης οδήγησε σε αναστολή του οιδήματος (15). Σε αναφυλακτικούς ασθενείς έχει φανεί ενεργοποίηση του FXII και της καλλικρεΐνης που συνδέονται με αυξημένα επίπεδα ηπαρίνης (1). Η ενεργοποίηση του FXII είναι ανάλογη της παραγωγής βραδυκινίνης και της σοβαρότητας των συμπτωμάτων (21). Πιο πρόσφατα δεδομένα ενισχύουν το ρόλο των γλυκοζαμινογλυκανών ως *in vivo* ενεργοποιητών του συστήματος: η πρόσμειξη θειικής χονδροϊτίνης με τέσσερις θειϊκές ομάδες (oversulfated chondroitin sulfate OSCS) σε σκευάσματα ηπαρίνης οδήγησαν σε αναφυλακτικές επιπλοκές από υπερενεργοποίηση του συστήματος επαφής σε άτομα που λάμβαναν ηπαρίνη (23). Στην αναφυλαξία η ενεργοποίηση του συστήματος επαφής δεν συνοδεύεται από εκκίνηση του ενδογενούς μονοπατιού της πήξης, παρότι η καλλικρεΐνη εμφανίζει δομική ομολογία με τον FXI (17,21).

Τέλος, από παλαιότερες μελέτες είναι γνωστό ότι το κολλαγόνο επίσης ενεργοποιεί τον FXII *in vitro* λόγω των αρνητικά φορτισμένων πεπτιδίων του (24). Όταν το κολλαγόνο έρθει σε επαφή με πλάσμα επάγει τη δημιουργία θρόμβου μέσω ενεργοποίησης του FXII, χωρίς συμμετοχή του ιστικού παράγοντα. Ο ρόλος του κολλαγόνου *in vivo* ερευνάται, φαίνεται όμως πως η δράση του εξαρτάται από την παρουσία των αιμοπεταλίων αφού η προσθήκη αιμοπεταλίων αύξησε τη θρομβογόνο δραστηριότητα του FXII σε πειραματικά μοντέλα σε ποντίκια (25). Η απουσία παραγωγής θρομβίνης εξαρτώμενης από την ενεργοποίηση του FXII στο σημείο αγγειακής βλάβης δείχνει ότι ο FXII ενεργοποιείται από το κολλαγόνο αλλά η δράση του εκτρέπεται προς άλλα, πλην της θρόμβωσης, μονοπάτια (21).

Η διαπίστωση ότι ο παράγοντας XII έχει ενεργοποιητές *in vivo* υποδηλώνει τη σημασία του συστήματος επαφής και τον κυρίαρχο ρόλο που μπορεί να

διαδραματίζει σε συνθήκες ιστικής βλάβης.

4.3.3 Ρόλος του συστήματος επαφής in vivo

α. Σύστημα επαφής και θρόμβωση

Για πολλά χρόνια θεωρήθηκε ότι οι πρωτεΐνες του συστήματος επαφής δεν διαδραματίζουν κανένα ρόλο στην in vivo αιμοστατική διαδικασία, αφού η -σπάνια- έλλειψή τους δεν συνδέεται με εμφάνιση αιμορραγίας αυτόματης ή μετά από τραύμα ή χειρουργική επέμβαση, παρά το γεγονός ότι προκαλεί παράταση του aPTT (13,15,19). Μόνο η έλλειψη του παράγοντα FXI συνδέεται με αιμορραγία μετά από τραύμα ή επέμβαση σε ιστούς με υψηλή ινωδολυτική ικανότητα, αλλά και πάλι τα αντιγονικά επίπεδα του FXI δεν είναι ανάλογα του κινδύνου αιμορραγίας (15,16). Εξάλλου, η ανακάλυψη ότι ο παράγοντας XI δεν ενεργοποιείται μόνο από τον FXII αλλά και από την θρομβίνη, μείωσε την σημασία του FXII για την εκκίνηση του ενδογενούς μονοπατιού παραγωγής θρομβίνης και, επομένως, το ρόλο του στην αιμόσταση. Επίσης, σε έλλειψη του αναστολέα C1 INH η υπερενεργοποίηση του συστήματος επαφής δεν οδηγεί σε θρομβώσεις αλλά στην κλινική εικόνα του αγγειοοιδήματος, υποβαθμίζοντας τη σημασία του συστήματος στη θρομβωτική διαδικασία (16).

Ωστόσο, η έλλειψη των παραγόντων του συστήματος επαφής είναι εξαιρετικά σπάνια (19,26) και η διατήρησή τους κατά την εξελικτική διαδικασία υπονοεί πως έχουν βιολογική σημασία η οποία μένει να διαλευκανθεί. Η έρευνα προς την κατεύθυνση αυτή κατέστη δυνατή με τη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων πειραματοζώων με έλλειψη του παράγοντα XII (FXII deficient mice) (27). Τα ζώα αυτά, όπως και τα άτομα με έλλειψη του FXII, δεν παρουσίαζαν αιμορραγία μετά από τραυματισμό ή επέμβαση (28). Εμφάνισαν όμως σημαντική διαταραχή στην ικανότητα σχηματισμού θρόμβου όταν υποβλήθηκαν σε πειραματικά μοντέλα αγγειακού τραυματισμού. Επιπλέον οι θρόμβοι που σχηματίστηκαν ήταν μικροί, ασταθείς, εύκολα αποσπώμενοι με ικανότητα πρόκλησης εμβολισμού. Η δυνατότητα σχηματισμού θρόμβου αποκαταστάθηκε και η παράταση του aPTT διορθώθηκε όταν τους χορηγήθηκε παράγοντας FXII ανθρώπινης προέλευσης (28).

Διατυπώνεται λοιπόν εύλογα η θεωρία ότι τα ζώα με έλλειψη προστατεύονται από θρομβοεμβολικές επιπλοκές. Πράγματι, η έλλειψη του παράγοντα FXII σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια είχε θρομβοπροφυλακτική επίδραση σε πειράματα όπου αυτά υποβλήθηκαν σε εγκεφαλική ισχαιμία (29). Ακόμα και όταν εκτέθηκαν σε ιστικό παράγοντα τα ζώα αυτά εμφάνισαν μικρούς θρόμβους, ανίκανους να αποφράξουν το αγγείο (21). Επίσης σε φυσιολογικά ποντίκια η χορήγηση αναστολέα του παράγοντα FXII είχε προφυλακτική επίδραση ως προς την εμφάνιση εγκεφαλικού επεισοδίου, πνευμονικής εμβολής ή αθηροθρόμβωσης (18). Η θρομβοπροφυλακτική επίδραση της ένδειας του παράγοντα δεν περιορίζεται μόνο σε ποντίκια, αλλά έχει παρατηρηθεί και σε άλλα ζώα όπως αρουραίους, μπαμπούινους και κουνέλια (18).

Προστασία από θρομβώσεις εμφάνισαν και γενετικά τροποποιημένα ποντίκια με εξάλειψη του γόνου του FXI (18), αλλά και της προκαλικρεΐνης και του κινινογόνου (17,30,31). Επίσης σε κουνέλια η γενετική εξάλειψη του FXI μείωσε την επαγόμενη από καθετήρα φλεβική θρόμβωση (32). Η ενδοφλέβια χορήγηση μιας πρωτεΐνης που αναστέλλει τον ενεργοποιημένο FXII, FXI και την καλλικρεΐνη επίσης οδήγησε σε δόσοεξαρτώμενη μείωση της ικανότητας σχηματισμού θρόμβου σε ποντίκια (33).

Από αυτά τα δεδομένα προκύπτει ότι οι πρωτεΐνες του συστήματος επαφής εμπλέκονται στην παθολογική δημιουργία ινικής μέσω της ενδογενούς οδού χωρίς να επηρεάζουν την αιμόσταση. Το γεγονός αυτό καθιστά τους παράγοντες αυτούς ιδανικούς ή τουλάχιστον ελκυστικούς στόχους μιας αντιπηκτικής θεραπείας που θα είναι απαλλαγμένη από τον κίνδυνο αιμορραγίας που εμφανίζουν τα υπόλοιπα αντιπηκτικά φάρμακα.

Παρά τις ενδείξεις που συνδέουν το σύστημα επαφής με προστασία από θρομβώσεις στα ζώα, ο ρόλος του στη θρομβοεμβολική νόσο στον άνθρωπο παραμένει αμφίβολος (17,18). Άτομα με έλλειψη του FXII δεν παρουσιάζουν αιμορραγία αλλά αντίθετα με ό,τι έχει παρατηρηθεί στα πειραματικά μοντέλα σε ζώα, έχουν εμφανίσει θρομβοεμβολικές επιπλοκές: ο John Hageman, με ένδεια του παράγοντα XII, από τον οποίο πήρε το όνομά του ο παράγοντας, όπως και η Mayme Williams, με ανεπάρκεια του κινινογόνου κατέληξαν από

πνευμονική εμβολή (17). Αυτοί οι ασθενείς συμπεριλαμβάνονται μαζί με άλλους σε παλαιότερες αναφορές που κάνουν λόγο για επεισόδια θρομβώσεων και εμφραγμάτων μυοκαρδίου σε ασθενείς με έλλειψη FXII (34-37). Με δεδομένο ότι ασθενείς με ένδεια του παράγοντα εμφάνισαν θρομβώσεις διατυπώθηκε η υπόθεση ότι η έλλειψη του παράγοντα όχι μόνο δεν προστατεύει αλλά ενδεχομένως είναι και παράγοντας κινδύνου για θρόμβωση. Ωστόσο οι ασθενείς με έλλειψη του παράγοντα στις μελέτες αυτές, είχαν επιπλέον παράγοντες κινδύνου, όπως τραύμα, εγκυμοσύνη, έλλειψη αντιθρομβίνης ή ετεροζυγωτία Leiden, που θα μπορούσαν να προδιαθέσουν σε θρόμβωση ανεξάρτητα από την έλλειψη του FXII, ενώ το ενδεχόμενο η παράταση του aPTT σε αυτούς να οφειλόταν σε άλλους λόγους, όπως πχ ύπαρξη αντιφωφολιπιδικών αντισωμάτων, δεν μπορεί να αποκλειστεί (38,39,40). Μεταγενέστερη μελέτη που παρακολούθησε άτομα με έλλειψη του παράγοντα από 14 ελβετικές οικογένειες για 6 χρόνια δεν ανέδειξε συσχέτιση μεταξύ έλλειψης του παράγοντα και αυξημένου θρομβοεμβολικού κινδύνου (41).

Υπάρχουν παλαιότερες μελέτες που θεωρούν την έλλειψη του FXII ως παράγοντα κινδύνου για αρτηριακές κυρίως θρομβώσεις. Έχουν αναφερθεί αρκετές περιπτώσεις ασθενών με έλλειψη του παράγοντα FXII που εμφάνισαν έμφραγμα του μυοκαρδίου χωρίς να αναδειχθούν αγγειογραφικά στενώσεις στα στεφανιαία αγγεία (34-36). Σε μια μελέτη φάνηκε ότι τα χαμηλά επίπεδα FXII συνδέθηκαν με αυξημένο κίνδυνο για στεφανιαία επεισόδια (42). Αντίθετα άλλες μελέτες έδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα του ενεργοποιημένου FXII είναι προγνωστικός παράγοντας θνητότητας (43) και καρδιαγγειακής νοσηρότητας μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου (44). Σε προοπτική μελέτη, πάντως, που συμμετείχαν 79 άτομα με έλλειψη του παράγοντα XII και παρακολουθήθηκαν για 16 χρόνια δεν παρατηρήθηκαν εμφράγματα ή άλλη αρτηριακή θρόμβωση ούτε στους ομοζυγώτες ούτε στους ετεροζυγώτες με ένδεια του παράγοντα (45). Οι περιγραφείς περιπτώσεις εμφραγμάτων της βιβλιογραφίας ανασκοπήθηκαν και αποδόθηκαν από τους συγγραφείς σε ύπαρξη κλασικών παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο όπως η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, το κάπνισμα και ο διαβήτης. Πρόσφατα δημοσιεύτηκε μελέτη στην οποία παρακολουθήθηκαν 72 άτομα με έλλειψη

FXII επί 22 χρόνια και δεν υπήρξε διαφορά στην επίπτωση θρόμβωσης, αρτηριακής ή φλεβικής, σε σχέση με μέλη της ίδιας οικογένειας χωρίς ένδεια του παράγοντα (46).

Αν και ο αριθμός των ατόμων με έλλειψη του FXII είναι περιορισμένος και τα επιδημιολογικά δεδομένα δεν είναι πολλά, τα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν πως η έλλειψη του παράγοντα FXII δεν συσχετίζεται ούτε με αυξημένη πιθανότητα θρόμβωσης αλλά ούτε και με προστασία από θρομβώσεις (40,47,48).

Τα αποτελέσματα αυτά ενδεχομένως αντανακλούν το διπλό ρόλο που έχει ο παράγοντας FXII τόσο στο σχηματισμό του θρόμβου, όσο και στην ινωδολυτική διαδικασία.

Ο παράγοντας XII εμφανίζει δομική ομολογία με τον ιστικό ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA) αλλά και οι άλλες πρωτείνες του συστήματος επαφής, ο FXI, και η PK εμφανίζουν ομολογία με το πλασμινογόνο και οδηγούν σε παραγωγή πλασμίνης (49). Ήδη από παλαιότερες μελέτες ήταν γνωστό ότι ο FXII μπορεί να μετατρέψει το πλασμινογόνο σε πλασμίνη αν και σε μικρότερο βαθμό από ό,τι ο tPA και ο uPA (50) και ότι τα άτομα με έλλειψη του FXII είχαν μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα (51). Αλλά και η προκαλλικρεΐνη δρα ως ενεργοποιητής του πλασμινογόνου με άμεσο και έμμεσο τρόπο (ως συμπαράγοντας του FXII σε αυτήν την ενεργοποίηση) (52).

Καθοριστικός παράγοντας για την διάλυση του θρόμβου είναι και η ίδια η σύσταση του θρόμβου. Θρόμβοι με λεπτές και πυκνές ίνες είναι ανθεκτικοί στην ινωδόλυση. Ο παράγοντας XII έχει φανεί ότι αλλάζει τη σύσταση του θρόμβου και τον ενισχύει με πιο λεπτές και πιο πυκνές ίνες, καθιστώντας τον έτσι σταθερό και δύσκολα προσβάσιμο από τις πρωτείνες του ινωδολυτικού συστήματος. Επιπλέον, η παραγωγή θρομβίνης μέσω της κινητοποίησης της ενδογενούς οδού ενισχύει περαιτέρω το θρόμβο. Υπάρχουν πιο πρόσφατα δεδομένα που υποστηρίζουν ότι ο FXIIa μπορεί να ενεργοποιήσει την προθρομβίνη για παραγωγή θρομβίνης ανεξάρτητα από τον FXI (53). Οι δράσεις αυτές μεταφράζονται κλινικά σε σταθερότερους θρόμβους με μείωση των εμβολικών επεισοδίων με τη δράση του FXII. Ωστόσο, είναι δεδομένη και η ινωδολυτική ικανότητα του FXII, ειδικά στα πρώτα στάδια της ινωδόλυσης και ιδιαίτερα όταν τα επίπεδα του tPA είναι χαμηλά. Ενδεχομένως, ο ρόλος του

FXII είναι να δρα ρυθμιστικά, είτε ως ενισχυτής του θρόμβου είτε ως εκκινητής της ινωδόλυσης, ανάλογα με τις εκάστοτε συνθήκες εξηγώντας τα αντικρουόμενα αποτελέσματα των μελετών (54).

Τα επιδημιολογικά δεδομένα για τη σχέση του FXI με τη θρόμβωση είναι ισχυρότερα. Η έλλειψη του FXI φάνηκε να μειώνει τον κίνδυνο για εγκεφαλικό επεισόδιο και εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση (40,47,55,56). Αντίθετα, τα υψηλά επίπεδα του FXI ήταν παράγοντας κινδύνου για φλεβικές θρομβώσεις και εγκεφαλικό επεισόδιο ενώ τα επίπεδα του FXI συσχετίζονται με εγκεφαλικό επεισόδιο σε γυναίκες υπό θεραπεία με αντισυλληπτικά (40,48). Επιπλέον, ο αποκλεισμός του παράγοντα XI είχε αντιθρομβωτική προστασία παρόμοια με της ενοξαπαρίνης σε άτομα που υποβλήθηκαν σε αρθροπλαστική γόνατος (57).

β. σύστημα επαφής και φλεγμονή

Ο ρόλος του συστήματος επαφής στη φλεγμονώδη διαδικασία είχε για πολλά χρόνια υποεκτιμηθεί. Τα πρόσφατα δεδομένα δείχνουν πως εμπλέκεται σε μεγάλο βαθμό στη φλεγμονή αλλά και στην άμυνα του οργανισμού.

Η ενεργοποίηση του συστήματος οδηγεί στην παραγωγή βραδυκινίνης (BK). Η BK είναι ένας ισχυρός προφλεγμονώδης παράγοντας. Δρα μέσω σύνδεσης με τους υποδοχείς της, τους B1 και B2. Ενώ οι B1 υποδοχείς εκφράζονται μόνο ως απάντηση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα στα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι B2 εκφράζονται συστηματικά στο ενδοθήλιο των αγγείων και τις λείες μυϊκές ίνες. Η σύνδεση της BK με τους υποδοχείς προκαλεί αγγειοδιαστολή και δημιουργία οιδήματος ενώ η δράση της στους υποδοχείς B1 των λευκών προκαλεί χημειοταξία και έκκριση κυτοκινών.(13,14,17,58). Η BK αποδομείται εντός δευτερολέπτων από ειδικά ένζυμα, τις κινινάσες. Μία από αυτές είναι και το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης. Σε αναστολή του ενζύμου (AMEA) εμφανίζεται κάποιες φορές η κλινική εικόνα του αγγειοοιδήματος.

Η έλλειψη ή η λειτουργική ανεπάρκεια του ανασταλτή του συστήματος επαφής (C1INH) οδηγούν επίσης στην κλινική εικόνα του κληρονομικού αγγειοοιδήματος (HAE I και HAE II αντίστοιχα). Ο τρίτος τύπος του

αγγειοοιδήματος (HAE III) οφείλεται σε μετάλλαξη του γόνου του FXII, που προκαλεί αυξημένη δραστηριότητα του FXIIa, με φυσιολογικά επίπεδα C1INH, και έχει ίδια κλινική εικόνα με τους άλλους δύο.

Η κλινική εικόνα χαρακτηρίζεται από οίδημα που αφορά κυρίως το πρόσωπο, το γαστρεντερικό σύστημα, τα άκρα και τα γεννητικά όργανα. Οφείλεται σε υπερπαραγωγή της βραδυκινίνης (BK), που δεν αναστέλλεται εντός δευτερολέπτων, όπως φυσιολογικά γίνεται, λόγω της έλλειψης/υπολειτουργίας του ανασταλτή (C1INH) ή της υπερλειτουργίας του FXII. Η υποκατάσταση του αναστολέα ή ο αποκλεισμός της PKa με μονοκλωνικό αντίσωμα περιορίζει την κλινική εκδήλωση του αγγειοοιδήματος, όπως και ο αποκλεισμός των υποδοχέων B2 της βραδυκινίνης. Ερωτήματα παραμένουν σχετικά με τον ακριβή ρόλο του FXII έναντι της PK για την παραγωγή βραδυκινίνης και για την έκλυση των οξέων επεισοδίων αγγειοοιδήματος (13,14,17,18).

Ενδιαφέρον είναι ότι στην κλινική εικόνα του αγγειοοιδήματος δεν υπάρχει ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης, τουλάχιστον κλινικά εμφανής, καθώς δεν φαίνεται να ενεργοποιείται ο παράγοντας FXI κάτω από αυτές τις συνθήκες (18).

Αυξημένα επίπεδα BK έχουν βρεθεί σε ασθενείς με αναφυλαξία, όπου φαίνεται ότι υπάρχει ενεργοποίηση του συστήματος επαφής από την ηπαρίνη που εκκρίνεται από τα μαστοκύτταρα. Μάλιστα η σοβαρότητα της κλινικής εικόνας φάνηκε να σχετίζεται με τα επίπεδα της βραδυκινίνης και της ηπαρίνης, ενώ η αναστολή του FXII ή των B2 υποδοχέων μετρίασε την επαγόμενη υπόταση από την ενεργοποίηση των μαστοκυττάρων.

Σε ασθενείς με αναφυλαξία έχει παρατηρηθεί παράταση του aPTT, δηλώνοντας την ενεργοποίηση και συμμετοχή του συστήματος επαφής (16,58).

Το σύστημα επαφής έχει φανεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην άμυνα του οργανισμού έναντι μικροβίων, παρασίτων και ιών (13,17). Παθογόνοι οργανισμοί όπως *Trypanosoma cruzi*, *Candida*, HSV1, hantavirus, *vibrio vulnificus* έχει βρεθεί ότι ενεργοποιούν το σύστημα επαφής είτε απελευθερώνοντας άμεσα BK από το HK (λειτουργία κινινάσης) είτε έμμεσα, ενεργοποιώντας την PK ή τον FXII (16). Εξάλλου η προσπάθεια του

οργανισμού να αντιμετωπίσει τις βακτηριακές λοιμώξεις οδηγεί στη δημιουργία NETs (Neutrophil Extracellular Traps) από τα πολυμορφοπύρηνα που είναι γνωστοί διεγέρτες του συστήματος επαφής (13). Η παραγόμενη από την ενεργοποίηση του συστήματος BK αφενός προκαλεί συνάθροιση πολυμορφοπυρήνων και μακροφάγων στο σημείο της εισβολής, αφετέρου αυξάνει τη διαπερατότητα των αγγείων. Επιπλέον, η επαγόμενη ενεργοποίηση του συμπληρώματος προκαλεί το θάνατο των μικροβίων. Η συντονισμένη δράση του FXIa, HK, BK αποτελεί εμπόδιο στην εξάπλωση των βακτηριακών λοιμώξεων, αφού τα μικρόβια παγιδεύονται στο δίκτυο ινικής που σχηματίζεται από την κινητοποίηση του μηχανισμού της πήξης. Σε πειράματα με ποντίκια που μολύνθηκαν με στρεπτόκοκκο η αναστολή του FXIIa/PKa οδήγησε σε μεγάλη αύξηση του μικροβιακού φορτίου στο σπλήνα, ενισχύοντας την υπόθεση για αντιβακτηριακή δράση του συστήματος επαφής (58). Η υπερβολική, όμως, κινητοποίηση του μηχανισμού και η ανεξέλεγκτη φλεγμονώδης απάντηση μπορεί να έχει δραματικές συνέπειες, όπως υπόταση, οίδημα και πολυοργανική ανεπάρκεια, κάτι που συμβαίνει σε σηπτικές καταστάσεις. Πράγματι, σε σηπτικούς ασθενείς έχουν μετρηθεί χαμηλά επίπεδα FXII και PK και υψηλά επίπεδα BK, υποδηλώνοντας την κινητοποίηση του συστήματος επαφής. Επιπλέον, η αναστολή του FXII μετρίασε την υπόταση σε μπαμπούνιους με σοβαρή σήψη από *Klebsiella* (58). Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι ο FXII αφενός μπορεί να παράγεται και από τα ουδετερόφιλα αφετέρου έχει μια πολύπλοκη σχέση με τα κύτταρα αυτά. Έχει την ικανότητα να συνδέεται με τον uPAR υποδοχέα στην επιφάνειά τους και να προάγει τη συγκόλληση, μετανάστευση και χημειοταξία των λευκών (14).

Οι παράγοντες του συστήματος επαφής φαίνεται να συμμετέχουν και σε άλλες φλεγμονώδεις παθολογικές καταστάσεις. Ασθενείς πάσχοντες από ρευματοειδή αρθρίτιδα εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα FXIIa και PKa και μειωμένα επίπεδα HK, καθώς και αυξημένα επίπεδα FXII, HK και BK στο αρθρικό υγρό και στο πλάσμα, που μάλιστα συσχετίζονται με το βαθμό της φλεγμονής. Η αναστολή της PKa καθώς και η γενετική έλλειψη PK και BK μείωσαν το βαθμό της αρθρίτιδας σε πειραματικά μοντέλα με ποντίκια (16,58). Ενεργοποίηση του συστήματος επαφής έχει δειχθεί και σε φλεγμονώδη νόσο

του εντέρου (13,16). Σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα PK, HK, C1INH έχουν βρεθεί σε ασθενείς με ενεργό ελκώδη κολίτιδα υποδηλώνοντας κατανάλωση των παραγόντων αυτών.

Πρόσφατα έχει αναγνωρισθεί ο ρόλος του συστήματος επαφής και σε ασθένειες του νευρικού συστήματος. Σε ασθενείς με νόσο Alzheimer και σε πειράματα σε ποντίκια το β αμυλοειδές κινητοποιεί φλεγμονή και θρόμβωση μέσω ενεργοποίησης του FXII. Ο FXII φαίνεται ότι συμμετέχει και σε μηχανισμούς αυτοανοσίας που εμπλέκονται στην παθογένεια της πολλαπλής σκλήρυνσης αφού έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα του παράγοντα, όπως και της BK, σε τέτοιους ασθενείς (16,20). Η έλλειψη ή η φαρμακευτική αναστολή του παράγοντα οδηγεί σε μείωση της σοβαρότητας της φλεγμονής σε πειραματικά μοντέλα αυτοάνοσης εγκεφαλομυελίτιδας (20).

γ. σύστημα επαφής και συμπλήρωμα

Το σύστημα επαφής θεωρείται ότι ανήκει στο εγγενές αμυντικό σύστημα του οργανισμού μαζί με το σύστημα του συμπληρώματος, τις πρωτεΐνες της πήξης, και το ινωδολυτικό σύστημα (59), με στόχο την αναγνώριση και εξουδετέρωση εισβολέων του οργανισμού μέσα από φλεγμονώδεις διαδικασίες με τελικό σκοπό την αποκατάσταση της βλάβης. Μέσα σε αυτό το πλαίσιο, το σύστημα επαφής αλληλεπιδρά στενά με το σύστημα συμπληρώματος (60,61).

Το σύστημα του συμπληρώματος είναι ένα πολύπλοκο δίκτυο που περιλαμβάνει περίπου 50 παράγοντες που λειτουργούν ως μόρια αναγνώρισης, σηματοδότησης, ρύθμισης, ενζυμικής δράσης (πρωτεάσες), και “συμπληρώνουν” την κυτταρική και χυμική ανοσία στην ανοσολογική επιτήρηση και τη διαφύλαξη της ομοιόστασης του οργανισμού (62).

Το σύστημα συμπληρώματος ενεργοποιείται μέσα από τρία μονοπάτια: την κλασσική οδό, την οδό της λεκτίνης και την εναλλακτική οδό. Το εναρκτήριο ερέθισμα για την κλασσική οδό είναι η δημιουργία ανοσοσυμπλεγμάτων που συνδέονται με το C1 κλάσμα, για την οδό της λεκτίνης είναι η αναγνώριση δομικών πρωτεϊνών του τοιχώματος των βακτηρίων που καταλήγουν στη

δημιουργία πρωτεασών (MASPs, mannose-binding serine proteases) που ενεργοποιούν το C2 και C4 κλάσμα, ενώ η εναλλακτική οδός βρίσκεται σε μια κατάσταση ήπιας, μόνιμης ενεργοποίησης με αυτόματη υδρόλυση του C3 σε C3a και C3b και αύξηση του βαθμού ενεργοποίησης ως απάντηση σε ποικίλα ερεθίσματα (λοιμώξεις, φάρμακα, θρόμβωση, αυτοάνοσα νοσήματα). Και οι τρεις οδοί ενεργοποίησης καταλήγουν στην κοινή οδό όπου το C3 κλάσμα ενεργοποιεί το C5 με παραγωγή της αναφυλατοξίνης C5a και του C5b. Το C5b ενώνεται με τα C6, C7, C8 C9 και σχηματίζει το σύμπλεγμα επίθεσης Cb5-9 (membrane attack complex, MAC) που οδηγεί στη λύση του κυττάρου εισβολέα (63). Μπορεί ακόμη να προκαλέσει βλάβη και απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Ο FXII ενεργοποιεί το C1q κλάσμα του συμπληρώματος (13,20,63,64). Η καλλικρεΐνη επίσης ενεργοποιεί την εναλλακτική οδό με δράση C3 κονβερτάσης (61,65). Επιπλέον, ο C1 INH δεν είναι μόνο ο κύριος αναστολέας των πρωτεϊνών του συστήματος επαφής (FXII, καλλικρεΐνης), αλλά και ο μοναδικός ρυθμιστής των τριών μονοπατιών του συμπληρώματος (66,67).

δ. πλειοτροπικές δράσεις του παράγοντα FXII

Υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι οι παράγοντες επαφής, και συγκεκριμένα ο FXII, εκτός από την ενζυματική δράση που αποκτά μετά την ενεργοποίησή του, μπορεί ως ζυμογόνο, να συνδέεται με τον υποδοχέα του τύπου ουροκινάσης ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (uPAR), το C1q κλάσμα του συμπληρώματος καθώς και την κυτταροκερατίνη των ενδοθηλιακών κυττάρων, διαδραματίζοντας ρόλο στην αγγειογένεση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και ενδεχομένως στην εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων και τη δημιουργία μεταστάσεων (14,20,58,68).

Τόσο ο FXII όσο και ο FXIIa έχειδειχθεί ότι αλληλεπιδρούν με τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα του σπλήνα ρυθμίζοντας τη λειτουργία τους και παρεμβαίνοντας στην ανοσολογική και φλεγμονώδη απάντηση (58).

Φαίνεται τελικά πως έχει διανυθεί μεγάλη απόσταση από την εποχή που ο

παράγοντας XII ήταν μια πρωτεΐνη με άγνωστη δράση *in vivo*. Με τα τελευταία δεδομένα ο παράγοντας XII είναι ένα μόριο που συμμετέχει σε πλήθος διαδικασιών, στην πήξη, στη φλεγμονή, στην ανοσολογική άμυνα, αλλά και στην αγγειογένεση, την κυτταρική ανάπτυξη και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μέσω πολύπλοκων μοριακών αλληλεπιδράσεων. Περαιτέρω έρευνα θα αποκαλύψει κάτω από ποιες ακριβώς συνθήκες οργανώνεται η ενεργοποίησή του, εάν μπορεί να λειτουργήσει ως αιτιολογικός παράγοντας νόσου και με ποια μορφή, εάν η ενεργοποίησή του αποβαίνει τελικά ωφέλιμη ή βλαπτική για τον οργανισμό και εάν η εξουδετέρωση της δράσης του είναι επιθυμητή.

4.4 ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΝΟΣΟΣ: ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΘΡΟΜΒΩΣΗ

Η δρεπανοκυτταρική νόσος είναι η πιο σημαντική κληρονομούμενη αιμοσφαιρινοπάθεια παγκοσμίως από άποψη συχνότητας και επίπτωσης στην υγεία και την κοινωνική ζωή του πάσχοντος ατόμου, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (69).

Η δρεπανοκυτταρική νόσος προκύπτει από μια σημειακή μετάλλαξη στο γόνο της β αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης που οδηγεί σε αντικατάσταση ενός αμινοξέος, του υδρόφιλου γλουταμινικού οξέος από την υδρόφοβη βαλίνη, στη θέση 6 της β αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης. Η μετάλλαξη μπορεί να αφορά και τους δύο γόνους της β αλυσίδας (ομόζυγη) με συνέπεια την εκδήλωση της σοβαρής μορφής νόσου που ονομάζεται δρεπανοκυτταρική αναιμία, ή να συκληρονομείται με άλλες διαταραχές της αιμοσφαιρίνης (β-θαλασσαιμία, αιμοσφαιρινοπάθεια H, C, E, (διπλή ετεροζυγωτία), δίνοντας μια πιο ήπια κλινική εικόνα κάτω από τον όρο “δρεπανοκυτταρική νόσος” (70).

Η αλλαγή στην αλληλουχία των αμινοξέων της β αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης έχει ως αποτέλεσμα τον πολυμερισμό της τελευταίας κάτω από συνθήκες υποξίας, με επακόλουθο δραματικές αλλαγές στη μεμβράνη, το σχήμα και τη λειτουργία του ερυθροκυττάρου. Οι βλάβες της μεμβράνης είναι αναστρέψιμες με την επανοξυγόνωση αλλά οι συχνές παραμορφώσεις οδηγούν τελικά σε μόνιμη παραμόρφωση του ερυθροκυττάρου που καθορίζει και τη βαρύτητα της νόσου. Μέσα από συνεχείς αλληλεπιδράσεις με το ενδοθήλιο των

αγγείων, με τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια το παθολογικό ερυθροκύτταρο προάγει τη φλεγμονή και απόφραξη της μικροκυκλοφορίας που κλινικά εκδηλώνονται με αγγειοαποφρακτικές, οξείες επώδυνες κρίσεις, αιμόλυση και χρόνια βλάβη των ιστών και οργάνων (71,72).

4.4.1 Παθοφυσιολογία της δρεπανοκυτταρικής νόσου

Κεντρικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου κατέχει ο πολυμερισμός της παθολογικής αιμοσφαιρίνης σε συνθήκες υποξίας. Είναι ενδιαφέρον, όμως, το γεγονός ότι στην παθογένεια και εξέλιξη της κλινικής εικόνας της νόσου παίζουν ουσιαστικό ρόλο τα λευκά αιμοσφαίρια, τα αιμοπετάλια, και βέβαια το ενδοθήλιο των αγγείων, κύτταρα που δεν μοιράζονται την μοριακή βλάβη των ερυθρών (73).

Η πολυμερισμένη αιμοσφαιρίνη εκτός από την παραμόρφωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων που προκαλεί, υφίσταται και αυτοοξειδωση και συσσωρεύεται στην εσωτερική επιφάνεια της μεμβράνης των ερυθρών, προκαλώντας οξειδωτική βλάβη, αποδιοργάνωση του κυτταροσκελετού και αλλαγή της διαμόρφωσης των λιπιδίων (73). Αυτό οδηγεί στην έκφραση υδρόφοβων μορίων στην επιφάνεια των ερυθρών αλλά και στη δημιουργία μικροσωματιδίων (MPs) που είναι πλούσια σε υδρόφοβα μόρια όπως η φωσφατυδιλσερίνη (PS). Η εμφάνιση αυτών των μορίων προκαλεί χημειοταξία των μονοκυττάρων με σκοπό την απομάκρυνση των παθολογικών ερυθρών από την κυκλοφορία (72).

Επιπλέον, τα δρεπανωμένα ερυθρά εκφράζουν μόρια προσκόλλησης που ευνοούν τη μεταξύ τους συγκόλληση αλλά και την προσκόλληση σε άλλα κύτταρα, κυρίως κύτταρα του ενδοθηλίου αλλά και λευκά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια, οδηγώντας σε παγίδευση κυττάρων και απόφραξη της μικροκυκλοφορίας (72).

Η απώλεια του φυσιολογικού σχήματος των ερυθρών συνεπεία των αλλαγών στη μεμβράνη τους και της δράσης των ελεύθερων ριζών οδηγεί σταδιακά σε μόνιμη παραμόρφωση του σχήματός τους και τα καθιστά ευάλωτα στην αιμόλυση, συντομεύοντας το χρόνο ζωής τους. Η αιμοσφαιρίνη που απελευθερώνεται δεν μπορεί να δεσμευτεί από την απτοσφαιρίνη, καθώς η τελευταία έχει κορεστεί λόγω της χρόνιας αιμολυτικής διαδικασίας. Η ελεύθερη

αιμοσφαιρίνη καταναλώνει το μονοξείδιο του αζώτου (NO). Η έλλειψη του NO προκαλεί αγγειοσυστολή και συσσώρευση αιμοπεταλίων (72). Εκτός από τις αγγειοδραστικές ιδιότητές του, το NO έχει και ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση, μειώνοντας την ενεργοποίηση και χημειοταξία των λευκών αιμοσφαιρίων και την αλληλεπίδρασή τους με το ενδοθήλιο καθώς και την παραγωγή κυτοκινών από το ενδοθήλιο. Έτσι, η εξουδετέρωσή του από την ελεύθερη αιμοσφαιρίνη οδηγεί σε ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, χημειοταξία λευκών, ενεργοποίηση αιμοπεταλίων και εκκίνηση φλεγμονής.

Ο ρόλος του ενδοθηλίου είναι καθοριστικής σημασίας στην παθογένεια της νόσου και την έκλυση αγγειοαποφρακτικών κρίσεων. Όπως εκτέθηκε παραπάνω, τα παραμορφωμένα ερυθρά με τις διαταραχές της μικροκυκλοφορίας και με την αυξημένη συγκολλητικότητά τους στο ενδοθήλιο το τραυματίζουν και οδηγούν στην απόπτωσή του και στην δημιουργία οξειδωτικής βλάβης. Το οξειδωτικό στρες του ενδοθηλίου επάγει έκφραση μορίων προσκόλλησης (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin) (74). Η κατανάλωση του NO, η ελεύθερη αίμη και η αίμη των MPs επίσης οδηγούν σε ενεργοποίηση του ενδοθηλίου. Το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο προκαλεί τη χημειοταξία και προσκόλληση λευκών αιμοσφαιρίων κυρίως στα μετατριχοειδικά φλεβίδια αλλά και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων (74). Τα προσκολλημένα λευκοκύτταρα αλληλεπιδρούν και παγιδεύουν τα κυκλοφορούντα δρεπανοκύτταρα με κατάληξη την απόφραξη της μικροκυκλοφορίας (71).

Η παθοφυσιολογία της νόσου περιλαμβάνει ενεργοποίηση και αλληλεπίδραση των μηχανισμών φλεγμονής και πήξης μέσα από την συνεχή ανάδραση και ανατροφοδότηση μεταξύ των βασικών παραγόντων: ερυθροκύτταρο, ενδοθήλιο, λευκά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια.

4.4.2 Δρεπανοκυτταρική νόσος και θρόμβωση

Η δρεπανοκυτταρική νόσος χαρακτηρίζεται από τάση για σχηματισμό θρόμβων και απόφραξης της μικροκυκλοφορίας ακόμα και σε ασθενείς που δεν βρίσκονται σε κρίση (70).

Οι ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο εμφανίζουν συχνότερα θρομβοεμβολικές διαταραχές σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Ειδικότερα, φαίνεται ότι οι γυναίκες με δρεπανοκυτταρική νόσο σε περίοδο εγκυμοσύνης έχουν έως και 5 φορές υψηλότερο κίνδυνο για θρόμβωση σε σχέση με γυναίκες χωρίς νόσο (75).

Τα επεισόδια εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης σε δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς πλησιάζουν εκείνα του πληθυσμού με κληρονομική θρομβοφιλία (έλλειψη πρωτεΐνης S ή C) σύμφωνα με πιο πρόσφατες μελέτες (76,78,79). Μια αναδρομική μελέτη με 404 δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς έδειξε ότι το 25% αυτών είχαν ιστορικό εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης, και μεταξύ εκείνων που το θρομβωτικό τους επεισόδιο δεν σχετιζόταν με κεντρικό φλεβικό καθετήρα, το 40% δεν είχε άλλον, πλην της νόσου, προδιαθεσικό παράγοντα για θρόμβωση (79). Σε μια αναδρομική μελέτη στην Πενσυλβάνια των Ηνωμένων Πολιτειών η πνευμονική εμβολή ήταν συχνότερη σε δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (78). Επιπλέον, οι δρεπανοκυτταρικοί ασθενείς με θρόμβωση έχουν αυξημένο κίνδυνο θανάτου σε σχέση με εκείνους χωρίς θρόμβωση (76).

Εξάλλου, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, που συνιστά σοβαρή εκδήλωση της νόσου με μόνιμη ενίοτε αναπηρία, αφορά το 25% των ασθενών μέχρι την ηλικία των 45 ετών (76,77). Προδιαθεσικοί παράγοντες για την εμφάνισή του είναι η χαμηλή αιμοσφαιρίνη, ο αυξημένος αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων, το οξύ θωρακικό σύνδρομο εντός των δύο εβδομάδων που προηγήθηκαν του επεισοδίου, η υπέρταση, καθώς και η νυχτερινή υποξαιμία (80). Ωστόσο, σε νεκροτομικές μελέτες ασθενών με εγκεφαλικό επεισόδιο έχει παρατηρηθεί ύπαρξη θρόμβων εντός των μεγάλων και μικρών αγγείων υποδηλώνοντας την συμμετοχή διαταραχών του μηχανισμού πήξης στην κλινική εκδήλωση (81).

Φαίνεται ότι υπάρχει χρόνια κινητοποίηση του μηχανισμού πήξης στη δρεπανοκυτταρική νόσο στη σταθερή κατάσταση, όπως μαρτυρούν τα αυξημένα επίπεδα συμπλεγμάτων θρομβίνης-αντιθρομβίνης (TAT), πλασμίνης-αντιπλασμίνης (PAP), θραυσμάτων προθρομβίνης 1+2 (F1-2) και D-dimers. Αντικρουόμενα είναι τα αποτελέσματα μελετών για περαιτέρω ενεργοποίηση κατά τις κρίσεις της νόσου και για τη σχέση μεταξύ της συχνότητας των κρίσεων και της ενεργοποίησης της πήξης (70,76).

Εργαστηριακά δεδομένα και στοιχεία από την παθοφυσιολογία της νόσου δείχνουν πως όλοι οι παράγοντες που προδιαθέτουν σε θρομβώσεις (τριάδα Virchow: αργή ροή, αύξηση παραγόντων πήξης, βλάβη του αγγείου) είναι παρόντες σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο, τόσο στην σταθερή κατάσταση όσο και στις οξείες κρίσεις (82,83). Έτσι, τόσο τα αιμοπετάλια, τα ερυθρά αιμοσφαίρια, οι πρωτείνες πήξης, οι αντιπηκτικές πρωτείνες, το ινωδολυτικό σύστημα αλλά και το ενδοθήλιο εμφανίζουν αλλαγές προς την κατεύθυνση της ευόδωσης της θρομβωτικής διαδικασίας. Παραμένει άγνωστο κατά πόσο οι αλλαγές αυτές ευθύνονται για την παθογένεια της νόσου ή είναι απλώς το επιφαινόμενο (70,76,83).

Πλήθος παραγόντων που συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία της νόσου συμβάλλουν στον αυξημένο θρομβωτικό κίνδυνο: η αιμόλυση, η PS που εκφράζεται στην επιφάνεια των ερυθρών, η κατανάλωση του NO, η βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, η βλάβη του ενδοθηλίου και η φλεγμονή (73). Η βλάβη της κυτταρικής μεμβράνης του ερυθροκυττάρου προκαλεί αιμόλυση και δημιουργία μικροσωματιδίων (MPs). Η αίμη που απελευθερώνεται κατά την αιμολυτική διαδικασία καταναλώνει το NO προκαλώντας αφενός αγγειοσυστολή και βλάβη του ενδοθηλίου αφετέρου ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται περαιτέρω και από τα MPs των ερυθρών, την PS που εκφράζουν τα δρεπανωμένα ερυθρά, καθώς και από τη μεγάλη συγκέντρωση αγωνιστών (ADP, κολλαγόνου, αδρεναλίνης, θρομβίνης) και απελευθερώνουν και αυτά μικροσωματίδια (PMPs) εκκινώντας μηχανισμούς πήξης (70). Δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων είναι αυξημένοι σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο. Τέτοιοι δείκτες είναι ο αιμοπεταλιακός παράγοντας 3 και 4, η θρομβοσπονδίνη 1, P-selectin, CD40L, CD63, IIb/IIIa γλυκοπρωτεΐνη (70,76,82,84). Αυξημένα επίπεδα και υψηλού μοριακού βάρους πολυμερή του παράγοντα vWF παρατηρούνται σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο, προάγοντας τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων και την περαιτέρω ενεργοποίησή τους (70,73,76,84). Η αύξηση του vWF έχει αποδοθεί σε μειωμένη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης ADAMTS 13 (85,86). Τα ενεργοποιημένα ερυθρά και αιμοπετάλια απελευθερώνουν μικροσωματίδια (MPs), όπως εξάλλου και τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα

μικροσωματίδια, χαρακτηρίζονται από πρωτείνες των κυττάρων από τα οποία προέρχονται (ενδοθηλιακά EMPs, αιμοπεταλιακά PMPs, ερυθροκυτταρικά RMPs), φέρουν στην επιφάνειά τους PS αλλά εκφράζουν και ιστικό παράγοντα (TF) αποτελώντας ισχυρούς προπηκτικούς παράγοντες. Κατά τη διάρκεια των κρίσεων, οπότε και αυξάνεται η ενδοθηλιακή βλάβη και η ενεργοποίηση αντίστοιχων κυττάρων, έχει παρατηρηθεί αύξηση των EMPs, MMPs, PMPs (22,75,76). Ο ιστικός παράγοντας δεν προσφέρεται μόνο από τα MP αλλά και από τα ίδια τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα και κινητοποιεί το εξωγενές μονοπάτι της πήξης.

Εξάλλου και η αίμη έχει φανεί να αυξάνει τα επίπεδα της θρομβίνης μέσω έκφρασης ιστικού παράγοντα από τα λευκοκύτταρα (76,87). Επίσης, η PS στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων αλλά και των MPs αποτελεί υπόστρωμα για την ενεργοποίηση των πρωτεϊνών της πήξης. Παράλληλα, οι αντιπηκτικές πρωτείνες S και C παρουσιάζουν μειωμένα επίπεδα με περαιτέρω μείωση κατά τη διάρκεια των κρίσεων, ίσως από κατανάλωσή τους λόγω της αύξησης της θρομβίνης (70,72,76).

Αλλά και η ινωδολυτική διαδικασία παρουσιάζεται διαταραγμένη, πιθανόν από αυξημένα επίπεδα του PAI 1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1), ενός ανασταλτή της ινωδόλυσης που παράγεται από διάφορους πληθυσμούς κυττάρων, μεταξύ αυτών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αιμοπετάλια (70).

Το αποτέλεσμα όλων των παραπάνω είναι η αυξημένη παραγωγή θρομβίνης που πιστοποιείται από τα αυξημένα επίπεδα κλασμάτων προθρομβίνης (F1+2) και του συμπλέγματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης (TAT), με την γνωστή, καταλυτική της δράση σε όλα τα στάδια του μηχανισμού πήξης (22,70,73,84). Η ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης και ο πιθανός ρόλος της στην παθοφυσιολογία της νόσου οδήγησε στη διεξαγωγή μελετών με χορήγηση αντιαιμοπεταλιακών και αντιπηκτικών φαρμάκων για έλεγχο της ανταπόκρισης των ασθενών σε σχέση με την αναστολή των επώδυνων κρίσεων. Οι περισσότερες από τις μελέτες αυτές ήταν μικρές και μη-τυχαιοποιημένες (82). Μικρή, τυχαιοποιημένη μελέτη με τη χρήση εππιφιμπατίδης δεν έδειξε διαφορά στη μείωση χαρακτηριστικών των επώδυνων κρίσεων (ένταση, διάρκεια, χρόνος νοσηλείας). Αντίθετα, σε τυχαιοποιημένη μελέτη η χρήση της πρασουγρέλης έδειξε στατιστικά σημαντική μείωση των δεικτών

ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (P-selectin) αλλά μη σημαντικά αποτελέσματα σε ότι αφορούσε την επίπτωση των επώδυνων κρίσεων. Ομοίως, τυχαιοποιημένη μελέτη με χορήγηση ασενοκουμαρόλης έδειξε μείωση των δεικτών ενεργοποίησης της πήξης (σύμπλεγμα TAT, θραύσματα F1,2 προθρομβίνης, D.dimers), αλλά όχι στατιστικά σημαντική μείωση των επώδυνων κρίσεων. Αντίθετα, η χορήγηση τινζαπαρίνης σε θεραπευτική δόση σε ασθενείς που νοσηλεύονταν για επώδυνη κρίση μείωσε τη διάρκεια νοσηλείας, την ένταση και τη διάρκεια του πόνου (82). Σε εξέλιξη βρίσκονται μελέτες με χρήση νεότερων από του στόματος αντιπηκτικών φαρμάκων (ριβαροξαμπάνη, απιξαμπάνη) σε ασθενείς που δεν βρίσκονται σε επώδυνη κρίση για έλεγχο της μείωσης των δεικτών φλεγμονής (VCAM-1, IL-6) (88) και μείωσης της επίπτωσης των επώδυνων κρίσεων (89).

Τα αποτελέσματα από τη χρήση των αντιπηκτικών-αντ αιμοπεταλιακών φαρμάκων δεν είναι μέχρι τώρα εντυπωσιακά. Παρόλα αυτά, η μείωση των δεικτών φλεγμονής και θρόμβωσης που έχει παρατηρηθεί, συνδέεται θεωρητικά με την μείωση της χρόνιας βλάβης ιστών και την πρόληψη της λειτουργικής έκπτωσης των οργάνων. Κάτι τέτοιο έχει δειχθεί σε πειράματα με δρεπανοκυτταρικά ποντίκια όπου η χορήγηση ριβαροξαμπάνης μείωσε την IL-6 και σε συνδυασμό με αναστολή της προθρομβίνης, εκτός από μείωση των d.dimers, IL-6, VCAM-1, μειώθηκε η θνητότητα και η χρόνια βλάβη των οργάνων (76). Η επίδραση των αντιπηκτικών φαρμάκων στην χρόνια βλάβη των οργάνων σε δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς είναι προς το παρόν άγνωστη.

4.4.3 Δρεπανοκυτταρική νόσος και φλεγμονή

Η δρεπανοκυτταρική νόσος χαρακτηρίζεται τόσο από οξείες επώδυνες κρίσεις όσο και από χρόνια βλάβη των οργάνων. Στην παθογένεια των επιπλοκών αυτών η φλεγμονή παίζει κεντρικό ρόλο. Σε δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς σε σταθερή κατάσταση τα επίπεδα των λευκών αιμοσφαιρίων και φλεγμονωδών μορίων και μεσολαβητών είναι αυξημένα (70). Τέτοια μόρια είναι οι κυτοκίνες TNFα, IL-1α, IL-6, IL-1β, IL-17, IFN-γ, που παράγονται κυρίως από τα λευκά αιμοσφαίρια, ενδοθηλίνη 1 (ET-1), προσταγλανδίνες που παράγονται από το ενδοθήλιο, οι CD40L TNSF14 που παράγονται από τα αιμοπετάλια, χυμοκίνες, αυξητικοί και αγγειογενετικοί παράγοντες. Έχει φανεί μάλιστα ότι ο

πολυμορφισμός στα υπεύθυνα για την έκφραση τέτοιων μορίων γονίδια (IFN- γ , TNF- α) συνδέεται με διαφορές στην κλινική έκφραση της νόσου.

Είναι δύσκολο να εντοπίσει κανείς τους ακριβείς μηχανισμούς που εκκινούν τη φλεγμονώδη διαδικασία στη δρεπανοκυτταρική νόσο. Τα δεδομένα πάντως δείχνουν ότι τα παθολογικά ερυθρά, η αιμόλυση, το τραυματισμένο ενδοθήλιο και η βλάβη επαναιμάτωσης είναι οι αρχικοί υπεύθυνοι (70).

Τα δρεπανωμένα ερυθρά, η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη, η αίμη, η κατανάλωση του NO από αυτήν, καθώς και τα MPs των ερυθρών με τη βλάβη των ιστών που προξενούν οδηγούν στην παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου, που ενεργοποιούν τα πολυμορφοπύρηνα και τα μονοκύτταρα. Οι δρεπανοκυτταρικοί ασθενείς ακόμα και σε σταθερή κατάσταση έχουν αυξημένο αριθμό ουδετεροφίλων και μονοκυττάρων (70,73). Η αλληλεπίδραση των λευκών με το ενδοθήλιο είναι ουσιώδους σημασίας για την κινητοποίηση της φλεγμονής, επάγοντας την έκφραση μορίων προσκόλλησης (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin) και κυτοκινών (TNF- α , IL-1 β). Οι ελεύθερες ρίζες και οι κυτοκίνες προάγουν την περαιτέρω έκκριση κυτοκινών και χυμοκινών μέσω διέγερσης του NF-kB συντηρώντας έναν ανατροφοδοτούμενο φλεγμονώδη κύκλο (70,90).

Τα iNKT κύτταρα, ένας υποπληθυσμός των T λεμφοκυττάρων έχει βρεθεί να αυξάνεται στη δρεπανοκυτταρική νόσο και παράγει μεγάλες ποσότητες κυτοκινών (IFN- γ , χυμοκίνες) προξενώντας βλάβη στο ενδοθήλιο των πνευμονικών αγγείων που προλαμβάνεται με την φαρμακευτική αδρανοποίησή τους (91).

Το ενδοθήλιο ενεργοποιείται, όπως αναφέρθηκε, από τα μονοκύτταρα, τα δρεπανωμένα ερυθρά, τα αιμοπετάλια, την ελεύθερη αίμη και εκφράζει μόρια προσκόλλησης που επάγουν περαιτέρω αλληλεπιδράσεις κυττάρων και διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην έναρξη αγγειοαποφρακτικών κρίσεων. Οι αγγειοαποφρακτικές κρίσεις συνιστούν εξ ορισμού μια φλεγμονώδη διεργασία με τελική κατάληξη την ισχαιμία του ιστού. Κατά τη φάση της επαναιμάτωσης η επανοξυγόνωση των ιστών οδηγεί, παράδοξα, σε περαιτέρω βλάβη μέσω έκκρισης IFN- γ και χυμοκινών ίσως από ενεργοποίηση των iNKT κυττάρων (71,91).

Εξάλλου και τα MPs των ερυθρών αιμοσφαιρίων φαίνεται ότι επάγουν την παραγωγή IL-6, TNF α και IL-1 β από τα μονοκύτταρα, καθώς και τον

τραυματισμό του ενδοθηλίου από την μεταφορά αίμης προς αυτό (91).

Τέλος η κινητοποίηση του μηχανισμού πήξης και η παραγωγή θρομβίνης συμμετέχουν στη φλεγμονώδη διαδικασία. Η θρομβίνη μέσω ενεργοποίησης των uPAR υποδοχέων των ενδοθηλιακών κυττάρων και ινοβλαστών κινητοποιεί την παραγωγή TNF α , IL-1 β , IL-6 και την χημειοταξία των μονοκυττάρων, την αλληλεπίδραση λευκών-αιμοπεταλίων-ενδοθηλίου με συνεχή ανατροφοδότηση της φλεγμονώδους διαδικασίας στο αγγειακό ενδοθήλιο (22,84). Έχει φανεί ότι η αναστολή του TF μειώνει την φλεγμονή των αγγείων. Η αναστολή του παράγοντα X και του υποδοχέα της θρομβίνης στα κύτταρα μειώνουν τα επίπεδα της IL-6 στο πλάσμα (71,90). Η γενετική εξάλειψη της προθρομβίνης σε δρεπανοκυτταρικά ποντίκια μείωσε τη βλάβη των οργάνων (92).

Στη δρεπανοκυτταρική νόσο έχει παρατηρηθεί ενεργοποίηση του συμπληρώματος σε πειράματα με ποντίκια αλλά και σε κλινικές μελέτες (62,91,93) και πιθανολογείται ότι το συμπλήρωμα συμμετέχει στην παθοφυσιολογία της νόσου και τη φλεγμονώδη βλάβη των ιστών (91,94). Σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο μικρές μελέτες έχουν δείξει αντικρουόμενα αποτελέσματα ως προς τα επίπεδα του συμπληρώματος, με μερικές να δείχνουν αύξηση, (95,96) και κάποιες άλλες μείωση του C3 κυρίως (97,98,99).

Το συμπλήρωμα ενεργοποιείται από την ελεύθερη αίμη, τα MPs των ερυθρών, τα δρεπανωμένα ερυθρά και τις αλλαγές του ενδοθηλίου. Φαίνεται ότι η αίμη είναι κυρίως υπεύθυνη για την ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος αλλά και της κλασικής οδού μέσω σύνδεσης με το C1q κλάσμα. Αλλά και η PS που εμφανίζεται στη μεμβράνη των δρεπανοκυττάρων ενεργοποιεί το συμπλήρωμα μέσω της εναλλακτικής οδού *in vitro*. Η P-selectin που εκφράζει το ενδοθήλιο υφιστάμενο την τοξική δράση της αίμης επίσης ενεργοποιεί την εναλλακτική οδό του συμπληρώματος. Τέλος, η θρομβίνη μπορεί να ενεργοποιήσει απευθείας τα C3 και C5 κλάσματα, παρακάμπτοντας την κλασική και την εναλλακτική οδό (91). Έχει φανεί ότι το C5a κλάσμα επάγει έκφραση μορίων προσκόλλησης (VCAM, ICAM, P-selectin, E-selectin) και εκλύει αγγειοαποφρακτικά επεισόδια όταν χορηγείται

σε ποντίκια (94). Επιπλέον, οι μηχανισμοί που ελέγχουν τη λειτουργία/υπερλειτουργία του συμπληρώματος καθίστανται ανεπαρκείς στα άτομα με δρεπανοκυτταρική αναιμία καθιστώντας τα ερυθρά ακόμα πιο ευάλωτα στη δράση του συμπληρώματος (63). Σε μοντέλα ενδαγγειακής αιμόλυσης σε ποντίκια η αναστολή του C3 και C5 οδήγησε σε μείωση της ιστικής βλάβης ενώ η χορήγηση αιμοπηξίνης (που δεσμεύει την αίμη) μείωσε την ενεργοποίηση του συμπληρώματος και τη θνητότητα.

4.5 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΗΞΗΣ-ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Τα συστήματα πήξης-φλεγμονής είναι συστήματα που αλληλεπιδρούν και οργανώνουν την αντίσταση του οργανισμού απέναντι σε οποιαδήποτε βλαπτικό ερέθισμα με θαυμαστή ισορροπία μεταξύ τους. Η ενεργοποίηση του ενός συστήματος οδηγεί σε απάντηση του άλλου συστήματος ενώ η δυσλειτουργία οποιουδήποτε από τα δύο διαταράσσει την ισορροπία και μπορεί να οδηγήσει σε υπερβολική φλεγμονώδη ή προπηκτική αντίδραση.

Όπως εκτέθηκε παραπάνω, ο ιστικός παράγοντας εκφράζεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα σε απάντηση απέναντι στις κυτοκίνες που εκλύονται μετά από οποιοδήποτε φυσικό ή χημικό τραυματισμό-φλεγμονή. Ενώνεται με τον παράγοντα VII και οδηγεί στην ενεργοποίηση του X και την παραγωγή θρομβίνης. Η θρομβίνη αποτελεί κεντρικό μόριο για την αλληλεπίδραση πήξης-φλεγμονής, καθώς μέσω των PAR υποδοχέων ενεργοποιεί τα μονοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα αιμοπετάλια, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, το συμπλήρωμα, με παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών που αυξάνουν περαιτέρω την έκφραση ιστικού παράγοντα σε έναν κύκλο πήξης-φλεγμονής. Η φλεγμονώδης απάντηση χαρακτηρίζεται επίσης από την παραγωγή μικροκυστιδίων (MPs) και εξωκυττάρων νουκλεϊνικών οξέων NETs, με δράσεις προπηκτικές όπως έχει ήδη αναφερθεί (22).

Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος προάγει τη φλεγμονή και την εξουδετέρωση μικροβίων, ανοσοσυμπλεγμάτων και άλλων επιβλαβών κυττάρων που εισέρχονται στον οργανισμό και μπορεί να καταλήξει σε βλάβη

και απόπτωση του ενδοθηλίου και αύξηση της προπηκτικής του δράσης. Έτσι η θρομβίνη, οι ενεργοποιημένοι Xa και XIa, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, η πλασμίνη, όλα λειτουργούν ως C3 και C5 κονβερτάσες, ο FXII ενεργοποιεί το C1q, ενώ η πλασμίνη επιπλέον ασκεί έλεγχο στο σύστημα του συμπληρώματος αναστέλλοντας την δημιουργία των τελικών προϊόντων του (63,100). Τα αιμοπετάλια, επίσης, κατά την ενεργοποίησή τους απελευθερώνουν από τα α κοκκία τους θειϊκή χονδροϊτίνη A, που είναι ισχυρός διεγέρτης του συμπληρώματος. Αντίστροφα, τα τελικά προϊόντα της ενεργοποίησης του συμπληρώματος επάγουν την έκκριση vWF, TF και P-selectin από τα ενδοθηλιακά κύτταρα ασκώντας προπηκτική δράση. Ακόμη, ο C1 αναστολέας εμποδίζει την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου, αναστέλλοντας την ινωδόλυση (63).

Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης-συμπληρώματος ίσως ευθύνεται για τη θρομβωτική διάθεση που εμφανίζεται σε νοσήματα με υπερλειτουργία του συμπληρώματος, όπως είναι η παροξυσμική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία (PNH). Στους ασθενείς αυτούς η αναστολή του συμπληρώματος με eculizumab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στρέφεται κατά του C5 στοιχείου του συμπληρώματος, μείωσε τα θρομβωτικά επεισόδια πολύ περισσότερο από ότι η κλασική αντιπηκτική θεραπεία, υποδηλώνοντας τον κριτικό ρόλο που έχει το συμπλήρωμα στη θρομβωτική διάθεση (100,101).

Στη δρεπανοκυτταρική αναιμία τα ερεθίσματα που εκκινούν αγγειοαποφρακτικές κρίσεις ενεργοποιούν το συμπλήρωμα και όπως εκτέθηκε και παραπάνω, το μηχανισμό πήξης. Ενδεχομένως, η αναστολή του συμπληρώματος θα μπορούσε να ανατρέψει τις αγγειοαποφρακτικές κρίσεις και τη θρομβωτική προδιάθεση της νόσου.

Από τη σκοπιά της αλληλεπίδρασης των συστημάτων πήξης-φλεγμονής, παράγοντες που επηρεάζουν ή αναστέλλουν μόρια του ενός συστήματος μπορούν να έχουν ευεργετικές επιδράσεις και στο άλλο.

4.6 ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ XII ΣΤΗ ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΝΟΣΟ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η δρεπανοκυτταρική νόσος είναι μια κατάσταση όπου οι μηχανισμοί πήξης-φλεγμονής είναι ενεργοποιημένοι και είναι πλέον γνωστό ότι αλληλεπιδρούν προάγοντας την βλάβη των ιστών.

Ο παράγοντας FXII συμμετέχει στο μηχανισμό της φλεγμονής μέσω παραγωγής βραδυκινίνης και ενεργοποίησης του συμπληρώματος, ενώ η συμβολή του στο μηχανισμό της πήξης διενεργείται μέσω ενεργοποίησης του παράγοντα FXI και της εκκίνησης του ενδογενούς μονοπατιού.

Στη δρεπανοκυτταρική νόσο, σε σταθερή κατάσταση αλλά και σε επώδυνες κρίσεις, κυκλοφορούν πλήθος μορίων με δυνατότητα ενεργοποίησης του FXII και του συστήματος επαφής, όπως τα PolyPs από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, NETs, από ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα, η PS στην επιφάνεια των ερυθρών και των MPs, το τραυματισμένο ενδοθήλιο των αγγείων.

Το ενδογενές μονοπάτι της πήξης φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη βλάβη επαναιμάτωσης, μιας από τις κύριες παραμέτρους της παθοφυσιολογίας της δρεπανοκυτταρικής νόσου (102). Τα επίπεδα του FXII, PK και HK σε δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς είναι μειωμένα, πιθανόν λόγω υπερκατανάλωσης (103,104).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί τα αυξημένα επίπεδα TAT, D-dimers F1-2 στη δρεπανοκυτταρική νόσο υποδηλώνουν την κινητοποίηση του μηχανισμού της πήξης. Τα επίπεδα των δεικτών αυτών εμφανίζουν μικρή ή καθόλου συσχέτιση με τα επίπεδα του TF του ολικού αίματος και των MPs (76). Αυτό υπονοεί ότι στην παραγωγή θρομβίνης μπορεί να συμμετέχει σε ικανό βαθμό το σύστημα επαφής, ανεξάρτητα από την ύπαρξη TF. Σε μελέτη σε 25 δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς, η παραγωγή θρομβίνης συσχετίστηκε με τον αριθμό των κυκλοφορούντων μικροσωματιδίων (MPs), και αναστάλη κατά 50% με την αναστολή του παράγοντα XI, υποδηλώνοντας τη σημασία της ενδογενούς οδού της πήξης στην υπερπηκτική κατάσταση της νόσου (105). Τα μικροσωματίδια στη δρεπανοκυτταρική νόσο προέρχονται κυρίως από τα αιμοπετάλια και τα ερυθρά αιμοσφαίρια (106). Αυτά τα MPs δεν εκφράζουν ιστικό παράγοντα στην επιφάνειά τους αλλά εκφράζουν PS και συμμετέχουν στην παραγωγή θρομβίνης κυρίως μέσω FXII-FXI εκκίνησης της ενδογενούς

οδού, με πολύ μικρή συμμετοχή του ιστικού παράγοντα. Σε άτομα με έλλειψη του FXII η παραγωγή θρομβίνης από τα MPs μειώθηκε σημαντικά (106).

Υπάρχουν άλλα πειραματικά δεδομένα που δείχνουν ότι ο FXII στη δρεπανοκυτταρική νόσο σε σταθερή κατάσταση συμμετέχει στην παραγωγή θρομβίνης όχι μέσω της ενεργοποίησης του FXI, αλλά μέσω του συστήματος HK/καλλικρεΐνης που επάγει την παραγωγή ιστικού παράγοντα από τα λευκοκύτταρα. Αντίθετα, κατά τις αγγειοαποφρακτικές κρίσεις επάγει την παραγωγή θρομβίνης και μέσω της ενεργοποίησης του FXI (107).

Τα αποπτωτικά κύτταρα που παράγονται σε καταστάσεις φλεγμονής, αυτοανοσίας ή κακοήθειας είναι γνωστό ότι εκκινούν το μηχανισμό της πήξης. Υπάρχουν δεδομένα από πειράματα που δείχνουν ότι τα κύτταρα αυτά εκκινούν το μηχανισμό της πήξης ενεργοποιώντας κυρίως τον παράγοντα FXII ενώ δεν επηρεάζουν τους άλλους παράγοντες πήξης. Η παραγωγή θρομβίνης που επάγουν ελαττώνεται με την αναστολή του παράγοντα FXII (108). Η δρεπανοκυτταρική νόσος, ως φλεγμονώδης κατάσταση, επάγει απόπτωση των κυττάρων, επομένως ο παράγοντας XII θα μπορούσε να έχει κρίσιμο ρόλο στον περιορισμό της θρομβωτικής διαδικασίας της νόσου.

Δεδομένα από πειράματα σε ποντίκια με έλλειψη του παράγοντα FXII δείχνουν ότι ο παράγοντας εμπλέκεται στην αντίδραση των λευκών αιμοσφαιρίων σε απάντηση στον τραυματισμό. Στα ζώα αυτά η μετανάστευση και συσσώρευση λευκοκυττάρων είναι ελαττωμένη μετά από τραυματισμό δέρματος και αυτό, παραδόξως, συμβάλλει στην ταχύτερη επούλωση (109). Αυτό θα μπορούσε να σημαίνει ότι πέρα από την αναστολή της παραγωγής βραδυκινίνης και της ενεργοποίησης του συμπληρώματος η αναστολή του παράγοντα θα μπορούσε να μετριάσει τη φλεγμονή που οφείλεται στην συσσώρευση και ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων.

Η δρεπανοκυτταρική είναι χαρακτηριστικό παράδειγμα νόσου όπου φλεγμονή και θρόμβωση συνυπάρχουν και αλληλεπιδρούν. Ο παράγοντας FXII συμμετέχει τόσο σε φλεγμονώδεις όσο και σε θρομβωτικές οδούς. Έτσι, ο

ρόλος του θα μπορούσε, θεωρητικά, να είναι σημαντικός και η αναστολή του να είναι θεραπευτική στην αντιμετώπιση των κρίσεων και των επιπλοκών της νόσου.

4.7 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της μελέτης είναι να μετρηθούν τα επίπεδα του παράγοντα XII σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο, τόσο σε σταθερή κατάσταση όσο και σε κατάσταση επώδυνης κρίσης και να συγκριθούν με αυτά των υγιών εθελοντών καθώς και να διερευνηθεί η ύπαρξη συσχέτισης του παράγοντα FXII με κλινικές παραμέτρους (π.χ. επώδυνη κρίση, είδος θεραπείας, χρόνια βλάβη οργάνων) και ο ρόλος του στην παθογένεια ή τις επιπλοκές της νόσου.

5. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1 ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Πρόκειται για μια συγχρονική μελέτη που διενεργήθηκε από 1/11/2019 έως 15/03/2020. Η διεξαγωγή της εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του νοσοκομείου.

α. Πληθυσμός

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελείται από ασθενείς της Μονάδας Μεσογειακής Αναιμίας του νοσοκομείου “Ο Ευαγγελισμός” που πάσχουν από ομόζυγη δρεπανοκυτταρική ή μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία. Για να εξασφαλιστεί η ανωνυμία των ασθενών τα ονόματά τους αντικαταστάθηκαν από τα αρχικά του ονοματεπώνυμους τους. Σε κάθε ασθενή δόθηκε ένας αριθμός στον οποίο αντιστοιχούν τα αρχικά του ονόματός του.

Η εισαγωγή των ασθενών στη μελέτη έγινε μόνο αφού είχαν δώσει την ενυπόγραφη συγκατάθεσή τους μετά από ενημέρωση για το είδος και το σκοπό της μελέτης.

β. Σχεδιασμός

Σε μια τυπική επίσκεψη του ασθενούς στο τμήμα εκτός από την κλινική εξέταση και τον καθιερωμένο εργαστηριακό έλεγχο με γενική αίματος και βιοχημικό έλεγχο (συμπεριλαμβανομένων LDH και ουρικού οξέος) ελήφθησαν επιπλέον δείγματα αίματος για έλεγχο της πήξης, που περιελάμβαναν μέτρηση PT, aPTT, INR, ινωδογόνου, προσδιορισμό του παράγοντα XII, και του παράγοντα VWF, καθώς και μέτρηση των στοιχείων C3 και C4 του συμπληρώματος και μέτρηση της CRP. Το χρονικό διάστημα μεταξύ της τελευταίας μετάγγισης (για τους ασθενείς που υποβάλλονταν σε μεταγγίσεις) και της λήψης των δειγμάτων ήταν μεγαλύτερο του μηνός για το σύνολο, πλην ενός, των ασθενών.

Από το φάκελλο του ασθενή έγινε συλλογή δημογραφικών στοιχείων και αναζητήθηκαν κλινικές πληροφορίες για τον τύπο του νοσήματος, το είδος της θεραπείας (υδροξουρία, μεταγγίσεις, καμία θεραπεία), το ποσοστό της παθολογικής αιμοσφαιρίνης S, της αιμοσφαιρίνης F, το ιστορικό

σπληνεκτομής (αυτόματης ή χειρουργικής) καθώς και το ιστορικό επιπλοκών (συχνότητα επώδυνων κρίσεων, ιστορικό οξέος θωρακικού συνδρόμου, αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, θρόμβωσης ή πνευμονικής εμβολής, ηπατικής ή νεφρικής προσβολής). Η συχνότητα των επώδυνων κρίσεων εκτιμήθηκε με βάση το συνολικό αριθμό των κρίσεων, τόσο των ήπιων, που αντιμετωπιζόνταν με απλά παυσίπονα στο σπίτι, όσο και των κρίσεων που χρειάζονταν νοσηλεία στο νοσοκομείο. Οι ασθενείς που είχαν τουλάχιστον μια επώδυνη κρίση το μήνα θεωρήθηκε ότι έχουν συχνές κρίσεις. Η ηπατική προσβολή εκτιμήθηκε με βάση τις βιοχημικές παραμέτρους ενδεικτικές χολόστασης (χολερυθρίνη, αλκαλική φωσφατάση, γGT), την μείωση της συνθετικής ικανότητας του ήπατος (αλβουμίνη, χρόνος προθρομβίνης) και τον απεικονιστικό έλεγχο (ίνωση, κίρρωση του ήπατος). Η νεφρική προσβολή εκτιμήθηκε με την eGFR και το λόγο αλβουμίνης προς κρεατινίνη (ACR) σε δείγμα ούρων. Τιμές eGFR < 60 ml/min και ACR > 300 mg/g θεωρήθηκαν ως ενδεικτικές νεφρικής βλάβης.

Σε περίπτωση που ο ασθενής προσερχόταν με επώδυνη κρίση γινόταν ξανά ο παραπάνω εργαστηριακός έλεγχος (γενική αίματος, βιοχημικός έλεγχος, έλεγχος πήξης, μέτρηση FXII, VWF, C3, C4, CRP).

Η σύγκριση των επιπέδων του παράγοντα XII των ασθενών έγινε με τα επίπεδα υγιών εθελοντών αιμοδοτών από τη διεθνή βιβλιογραφία.

Χρησιμοποιήθηκε μια παλαιότερη και μια πιο πρόσφατη μελέτη όπου συμμετείχαν 29 και 300 εθελοντές αιμοδότες αντίστοιχα, των οποίων η μέτρηση του FXII έγινε με χρωμογονική μέθοδο (110-111).

γ. Μετρήσεις

Ο έλεγχος της πήξης έγινε με συλλογή του αίματος σε φιαλίδιο με EDTA και φυγοκέντρηση εντός 30 λεπτών από την λήψη στις 4000 rpm για 10 λεπτά. Η διατήρηση του πλάσματος έγινε σε θερμοκρασία - 80°C όπου τοποθετήθηκε άμεσα μετά τη φυγοκέντρηση.

Ο παράγοντας FXII μετρήθηκε με χρωμογονική μέθοδο.

δ. Στατιστική ανάλυση

Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS. Για τη σύγκριση των τιμών του FXII μεταξύ ασθενών και αιμοδοτών χρησιμοποιήθηκε το one sample t-test, ενώ για τη σύγκριση μεταξύ υποομάδων των ασθενών όπου οι κατανομές δεν ήταν κανονικές χρησιμοποιήθηκε το Kruskal-Wallis test. Για τη σχέση του FXII με εργαστηριακές παραμέτρους χρησιμοποιήθηκε η κατά Spearman συσχέτιση (μη κανονικές κατανομές). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας καθορίστηκε με βάση την τιμή $p < 0,05$.

5.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.2.1. Πληθυσμός

Στη μελέτη συμμετείχαν συνολικά 29 άτομα, το 41.4% (12 άτομα) ήταν άνδρες. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν $48,3 \pm 11,6$ έτη (εύρος 26-67). Τέσσερις ασθενείς (13,8%) ήταν ομοζυγώτες για το γονίδιο της παθολογικής αιμοσφαιρίνης S ενώ οι υπόλοιποι είναι διπλοί ετεροζυγώτες δρεπανοκυτταρικής νόσου/θαλασσαιμίας.

Δέκα ασθενείς (34,5%) υποβάλλονταν σε πρόγραμμα τακτικών μεταγγίσεων / αφαιμαξομεταγγίσεων. Οι μισοί περίπου (55,2%) λάμβαναν υδροξουρία.

Οκτώ ασθενείς (27,5%) δεν ακολουθούσαν ειδική αγωγή πέρα από συμπλήρωμα φυλλικού οξέος και βιταμινών.

Περίπου ένας στους τρεις (34,5%) ανέφερε συχνές επώδυνες κρίσεις.

Δεκαοκτώ ασθενείς (62%) είχαν άσηπτη νέκρωση ισχίου ή βραχίονα. Επτά ασθενείς (24,1%) είχαν ιστορικό εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης/πνευμονικής εμβολής. Έξι (20,7%) είχαν ιστορικό οξέος θωρακικού συνδρόμου, έξι (20,7%) ιστορικό σπληνικού εγκλωβισμού, τέσσερις (13,8%) ιστορικό αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, ενώ τρεις ασθενείς (10,3%) είχαν ιστορικό κίρρωσης ήπατος, ένας εκ των οποίων εμφάνισε ηπατική ανεπάρκεια. Ίδιο ποσοστό (10,3%) έπασχε από πνευμονική υπέρταση, έλκη κάτω άκρων και νεφρική νόσο (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών. N= 29

Φύλο (άνδρες/γυναίκες)		12 (41,4%) / 17 (58,6%)
Ηλικία (έτη)		48,3 ± 11,6
Γονότυπος	Ομοζυγώτες βs/βs	4 (13,8%)
Θεραπεία	• Μεταγγίσεις / αφαιμαξομεταγγίσεις • Υδροξουρία • Χωρίς ειδική θεραπεία	10 (34,5%) 16 (55,2%) 8 (27,5%)
Κλινικά χαρακτηριστικά / επιπλοκές	• Επώδυνες κρίσεις • Άσηπτη νέκρωση οστού • Θρόμβωση / Πν.εμβολή • Οξύ θωρακικό σύνδρομο • Σπληνικός εγκλωβισμός • Εγκεφαλικό επεισόδιο • Ηπατική νόσος • Πνευμονική υπέρταση • Νεφρική νόσος	10 (34,5%) 18 (62%) 7 (24,1%) 6 (20,7%) 6 (20,7%) 4 (13,8%) 3 (10,3%) 3 (10,3%) 3 (10,3%)

5.2.2. Παράγοντας XII

Η μέση τιμή του παράγοντα XII στους δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς ήταν $84,83 \pm 20,88$ (με εύρος 42,5 - 116,2). Η τιμή αυτή ήταν χαμηλότερη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό από τη μέση τιμή των υγιών εθελοντών και των δύο βιβλιογραφικών αναφορών ($99,8 \pm 23,8$ με εύρος 40-134, $p=0,0006$ και $99,4 \pm 26,7$, με εύρος 45-186, $p=0,008$).

Δεν φάνηκε διαφορά στα επίπεδα του παράγοντα μεταξύ εκείνων που μεταγγίζονταν σε σχέση με εκείνους που δεν μεταγγίζονταν, ούτε μεταξύ αυτών που έπαιρναν έναντι εκείνων που δεν έπαιρναν υδροξυουρία.

Τα επίπεδα του παράγοντα δεν φάνηκαν να συσχετίζονται με συγκεκριμένες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου αφού δεν προέκυψε διαφορά στις τιμές του μεταξύ των ασθενών που είχαν έναντι εκείνων που δεν είχαν ιστορικό συχνών επώδυνων κρίσεων, οξέος θωρακικού συνδρόμου, άσηπτης νέκρωσης, εγκεφαλικού επεισοδίου, πνευμονικής υπέρτασης, ηπατικής νόσου. Ειδικότερα, δεν προέκυψε διαφορά μεταξύ των ασθενών που είχαν ή δεν είχαν ιστορικό θρόμβωσης / πνευμονικής εμβολής.

Υπήρξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων του παράγοντα XII με εργαστηριακές παραμέτρους. Πιο συγκεκριμένα φάνηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τα εμπύρνηνα ερυθρά ($r = 0,4$ $p = 0.03$), με τα επίπεδα του παράγοντα C3 του συμπληρώματος ($r = 0.47$ $p = 0.01$), με τα επίπεδα του C4 ($r = 0.39$ $p = 0.04$), με τα επίπεδα του ινωδογόνου ($r = 0.56$ $p = 0.015$), και ισχυρή αρνητική συσχέτιση, όπως αναμενόταν, με το aPTT ($r = -0.81$ $p < 0.01$) αλλά και με το χρόνο προθρομβίνης ($r = -0.4$ $p = 0.02$).

5.2.3. Βιολογικές παράμετροι

Από τις μετρήσεις των βιολογικών παραμέτρων προέκυψαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις. Κάποιες από αυτές ήταν αναμενόμενες με βάση την παθοφυσιολογία της αιμόλυσης. Τέτοια είναι η αρνητική συσχέτιση της αιμοσφαιρίνης με το ποσοστό των δικτυοερυθροκυττάρων ($r = -0.5$ $p = 0.006$), και με τα επίπεδα της LDH ($r = -0.54$ $p = 0.007$) όπως και η συσχέτιση που εμφάνισαν τα δικτυοερυθροκύτταρα με τα εμπύρνηνα ερυθρά ($r = 0.85$, $p < 0.0001$), αλλά και με την LDH ($r = 0.44$ $p = 0.03$).

Αρνητική, στατιστικά σημαντική ήταν η συσχέτιση της αιμοσφαιρίνης με τα επίπεδα της CRP ($r = -0.48$ $p = 0.007$) ενώ και τα δικτυοερυθροκύτταρα φάνηκε να συσχετίζονται με την CRP ($r = 0.39$ $p = 0.04$) όπως και η LDH με τη CRP ($r = 0.48$ $p = 0.02$).

Οι βιολογικοί δείκτες αιμόλυσης (ΔΕΚ, εμπύρηννα ερυθρά, LDH) εμφάνισαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση και με τον παράγοντα VWF ($r=0.56$ $p=0.002$, $r=0.46$ $p=0.01$, $r=0.47$ $p=0.023$ αντίστοιχα). Η CRP επίσης συσχετίστηκε με τον VWF ($r=0.42$ $p=0.02$).

Τα λευκά αιμοσφαίρια εμφάνισαν συσχέτιση με τα ΔΕΚ, με τα εμπύρηννα ερυθρά, με τα αιμοπετάλια και αρνητική συσχέτιση με το ουρικό οξύ ($r=0.4$ $p=0.02$, $r=0.5$ $p=0.0078$, $r=0.4$ $p=0.03$, $r=-0.39$ $p=0.04$ αντίστοιχα).

Ισχυρή συσχέτιση αναδείχθηκε μεταξύ του C3 με το ινωδογόνο ($r=0.71$ $p<0.0001$), την CRP ($r=0.4$ $p=0.03$), το C4 ($r=0.58$ $p=0.001$) και τον παράγοντα XII, όπως έχει ήδη αναφερθεί. Υπήρξε αρνητική συσχέτιση του C3 με το χρόνο προθρομβίνης ($r=-0.55$ $p=0.002$), όπως και του ινωδογόνου με το χρόνο προθρομβίνης ($r=-0.51$ $p=0.004$).

Τέλος, το C4 εμφάνισε συσχέτιση με το ινωδογόνο ($r=0.59$ $p=0.001$) και τον παράγοντα FXII.

Υπήρξε επίσης αρνητική συσχέτιση του ουρικού οξέος με τα λευκά αιμοσφαίρια ($r=-0.39$ $p=0.040$), τα εμπύρηννα ερυθρά ($r=-0.52$ $p=0.006$) και τα αιμοπετάλια ($r=-0.4$ $p=0.03$).

5.2.4. Ασθενείς

Στους ασθενείς που υποβάλλονταν σε μεταγγίσεις / αφαιμαξομεταγγίσεις η τιμή της CRP, τα εμπύρηννα ερυθρά όπως και τα επίπεδα της LDH ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές των ασθενών που δεν μεταγγίζονταν (1.5 vs 0.27, $p=0.0004$, 484.13 vs 370.2, $p=0.02$ και 65.89 vs 12.9 $p=0.01$ αντίστοιχα).

Υψηλότερα επίπεδα C3, οριακά έξω από τα στατιστικά σημαντικά, είχαν οι ασθενείς που έπαιρναν υδροξυουρία σε σχέση με εκείνους που δεν έπαιρναν (96.91 vs 86.58, $p=0.058$).

Οι ασθενείς που είχαν ιστορικό οξέος θωρακικού συνδρόμου είχαν

υψηλότερες τιμές LDH και μεγαλύτερη ηλικία από εκείνους χωρίς ιστορικό (565.25 vs 377.11 $p=0.007$, και 55.8 vs 46.3 $p=0.04$ αντίστοιχα).

Οι ασθενείς με συχνές επώδυνες κρίσεις εμφάνισαν τάση για υψηλότερα επίπεδα VWF και χαμηλότερα PLT έναντι αυτών που δεν είχαν κρίσεις (216,41 vs 171,61 $p=0.06$ και 253,67 vs 377,39 $p=0.06$). Υψηλότερα επίπεδα VWF όχι όμως στατιστικά σημαντικά, είχαν και οι ασθενείς με ιστορικό θρόμβωσης ή πνευμονικής εμβολής (243,11 vs 169,22 $p=0.066$).

Τα επίπεδα της CRP ήταν υψηλότερα, οριακά εκτός στατιστικής σημαντικότητας, στους ασθενείς με ιστορικό εγκεφαλικού επεισοδίου (1,13 vs 0,62 $p=0,054$).

Τα επίπεδα του C3 ήταν υψηλότερα στους ασθενείς με άσηπτη νέκρωση (96,98 vs 83,38 $p=0.04$).

Τέλος, οι άνδρες είχαν χαμηλότερα επίπεδα ινωδογόνου (257,17 vs 311,06) χαμηλότερο αριθμό εμπύρηνων ερυθρών (11,13 vs 51,22) και υψηλότερα επίπεδα ουρικού οξέος (6,48 vs 4,73) από τις γυναίκες σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ($p < 0.05$).

5.3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο σκοπός της μελέτης ήταν να μετρήσει και να συγκρίνει τα επίπεδα του παράγοντα FXII δρεπανοκυτταρικών ασθενών και υγιών εθελοντών και να διερευνήσει τη συσχέτισή του με κλινικές εκδηλώσεις της νόσου.

Τα κυριότερα ευρήματα της μελέτης είναι, συνοπτικά, τα εξής:

1. Τα επίπεδα του παράγοντα XII είναι στατιστικά χαμηλότερα στους δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς σε σύγκριση με τους υγιείς εθελοντές.
2. Δεν προέκυψε συσχέτιση του FXII με κλινικές εκδηλώσεις της νόσου.
3. Ο FXII συσχετίζεται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με το ινωδογόνο, τα C3 και C4 κλάσματα του συμπληρώματος και τα εμπύρηννα ερυθρά.
4. Υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση των δεικτών αιμόλυσης με τους δείκτες φλεγμονής.
5. Υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση των δεικτών αιμόλυσης με τον

παράγοντα VWF.

6. Οι ασθενείς που μεταγγίζονται έχουν υψηλότερους δείκτες αιμόλυσης και φλεγμονής.

Η αναλυτική προσέγγιση των αποτελεσμάτων που ακολουθεί επιχειρεί να καθορίσει τη σημασία τους και να οδηγήσει στη διεξαγωγή συμπερασμάτων για το ρόλο του παράγοντα XII στη δρεπανοκυτταρική νόσο.

α. Παράγοντας XII

Όπως προκύπτει από τη μελέτη τα επίπεδα του παράγοντα FXII στους ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία ήταν χαμηλότερα, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, από αυτά των υγιών εθελοντών αιμοδοτών. Το αποτέλεσμα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα ευρήματα παλαιότερων μελετών. Σε μελέτη που έγινε σε 21 παιδιά με ομόζυγη δρεπανοκυτταρική αναιμία αλλά χωρίς συμπτώματα, τα επίπεδα του παράγοντα ήταν χαμηλότερα σε σχέση με εκείνα υγιών εθελοντών με μικρή περαιτέρω μείωση κατά τη διάρκεια επώδυνης κρίσης (103). Σε αυτήν, όπως και σε άλλες μελέτες φάνηκε ότι και τα επίπεδα της προκαλλικρεΐνης και του κινινογόνου είναι μειωμένα στους δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς, με περαιτέρω μείωση κατά τις επώδυνες κρίσεις (104,112). Στην παρούσα μελέτη ο αριθμός των ασθενών σε επώδυνη κρίση δεν ήταν μεγάλος (μόνο σε δύο ασθενείς με επώδυνη κρίση έγινε μέτρηση του παράγοντα) κι έτσι δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για την μείωση ή όχι του παράγοντα σε αυτή τη συνθήκη.

Η μείωση των επιπέδων του παράγοντα XII θα μπορούσε να οφείλεται είτε στην ανεπαρκή παραγωγή του από το ήπαρ ή στην αυξημένη κατανάλωσή του. Ωστόσο, οι 26 από τους 29 ασθενείς (89,6%) που συμμετείχαν στη μελέτη δεν είχαν επηρεασμένη ηπατική λειτουργία και η συνθετική ικανότητα του ήπατος ήταν αkéραιη, όπως προκύπτει από τα επίπεδα της αλβουμίνης και του χρόνου προθρομβίνης. Από τους τρεις ασθενείς που είχαν ηπατική νόσο μόνο ο ένας είχε σχετικά χαμηλά επίπεδα του παράγοντα XII, που δεν ήταν πάντως τα χαμηλότερα επίπεδα που παρατηρήθηκαν στη μελέτη. Επομένως τα χαμηλά επίπεδα του FXII στο σύνολο των ασθενών δε θα μπορούσαν να αποδοθούν σε μειωμένη παραγωγή του.

Η εναλλακτική εξήγηση είναι η υπερλειτουργία του συστήματος επαφής και η συνακόλουθη κατανάλωση των παραγόντων του. Παρόμοια ενεργοποίηση του συστήματος επαφής με μείωση του FXII έχει δείχθει και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις, κυρίως σε σοβαρή σήψη (113-116) και καρδιακή νόσο (117,118). Με δεδομένο το ρόλο του συστήματος επαφής στην φλεγμονώδη απάντηση και τη συμμετοχή του στο εγγενές αμυντικό σύστημα του οργανισμού κάτι τέτοιο δε φαίνεται παράδοξο να συμβαίνει σε καταστάσεις όπως οι παραπάνω. Βέβαια, σε άλλα χρόνια νοσήματα, κυρίως σε κακοήθειες και ιδιαίτερα μεταστατικές, στη χρόνια νεφρική νόσο (119), στη ρευματοειδή αρθρίτιδα όπως και στην πολλαπλή σκλήρυνση (120,121) τα επίπεδα του FXII έχουν βρεθεί αυξημένα. Ενδεχομένως η διαφορά μεταξύ των μελετών να οφείλεται στη μέτρηση διαφορετικής μορφής του FXII που μετρείται (αντιγονικά επίπεδα ή ενεργοποιημένος παράγοντας) ή τα μονοπάτια ενεργοποίησης να διαφέρουν ανάλογα με τη νόσο.

Από τη μελέτη δεν προέκυψε συσχέτιση του παράγοντα XII με κλινικές εκδηλώσεις της νόσου. Τα επίπεδα του FXII δεν διέφεραν στους ασθενείς που εμφάνιζαν συχνές επώδυνες κρίσεις ούτε σε εκείνους με ιστορικό εγκεφαλικού επεισοδίου, οξέος θωρακικού συνδρόμου, σπληνικού εγκλωβισμού ή οστεονέκρωσης. Επίσης δεν υπήρχε διαφορά στα επίπεδα του παράγοντα μεταξύ αυτών με και χωρίς ιστορικό θρόμβωσης. Ωστόσο ο αριθμός των ασθενών με ιστορικό θρόμβωσης/πνευμονικής εμβολής ήταν μικρός όπως και ο αριθμός των ασθενών σε κάθε μια από τις παραπάνω υποομάδες και οποιαδήποτε υπαρκτή διαφορά θα ήταν δύσκολο να αναδειχθεί.

Τα επίπεδα του παράγοντα FXII δεν φάνηκε να διαφέρουν ανάλογα με το είδος της θεραπείας για τη νόσο. Εννέα από τους 29 ασθενείς υποβάλλονταν σε θεραπεία με μεταγγίσεις ή αφαιμαξομεταγγίσεις και η μέση τιμή του FXII δεν διέφερε από εκείνη των ασθενών που δεν μεταγγίζονταν. Χωρίς διαφορά ήταν και τα επίπεδα μεταξύ εκείνων που λάμβαναν (55%) ή όχι υδροξυουρία. Την έλλειψη διαφοράς με λήψη ή όχι υδροξυουρίας είχε δείξει και παλαιότερη μελέτη σε 11 παιδιά με δρεπανοκυτταρική νόσο και ενδιάμεση β-θαλασσαιμία όπου τα επίπεδα του παράγοντα XII μετρήθηκαν στους ασθενείς πριν τη χορήγηση και κατά τον έκτο μήνα θεραπείας με υδροξυουρία (122). Αντίθετα,

πρόσφατη μελέτη σε 51 παιδιά με δρεπανοκυτταρική νόσο έδειξε ότι τα επίπεδα του παράγοντα XII ήταν χαμηλότερα σε εκείνα που έπαιρναν υδροξυουρία, γεγονός που οι συγγραφείς απέδωσαν στην αύξηση της HbF που επιτυγχάνεται με την υδροξυουρία και τη συνεπακόλουθη μείωση της αιμόλυσης και της φλεγμονής (123). Πιθανόν το μικρό δείγμα της παρούσας μελέτης να ευθύνεται για τη μη ανάδειξη οποιασδήποτε διαφοράς.

Παρά την απουσία συσχέτισης του FXII με κλινικά χαρακτηριστικά υπήρξε στατιστικά σημαντική συσχέτισή του με εργαστηριακές παραμέτρους. Οι παράμετροι αυτές ήταν τα εμπύρνηνα ερυθρά ($r=0.4$, $p=0.038$), το κλάσμα C3 ($r=0.47$, $p=0.01$), το C4 ($r=0.39$, $p=0.044$), το ινωδογόνο ($r=0.56$, $p=0.015$) και βέβαια ισχυρή αρνητική συσχέτιση, ως αναμενόταν, με το aPTT ($r=-0.81$, $p<0.001$).

Η πιο ισχυρή συσχέτιση ήταν αυτή με το ινωδογόνο. Το ινωδογόνο είναι γνωστή πρωτεΐνη οξείας φάσης, τα επίπεδά του αυξάνονται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις και έχει χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την ανάδειξη και διατήρηση της φλεγμονής (120). Η σύνδεσή του με τους υποδοχείς CD18b/CD11 των ιστικών μακροφάγων και κυκλοφορούντων μονοκυττάρων κινητοποιεί την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών, όπως ο TNF- α και η IL-1 (124). Παρουσιάζει όμως αξιοσημείωτο ρόλο και στην αποκατάσταση της ιστικής βλάβης (125, 126) καθώς και στην ανάπτυξη ινώδους συνδετικού ιστού (124,127,128).

Η συσχέτιση FXII-ινωδογόνου θα μπορούσε να αποδοθεί στην άμεση σχέση τόσο του FXII όσο και του ινωδογόνου με τη φλεγμονή, που έτσι κι αλλιώς, χαρακτηρίζει τη δρεπανοκυτταρική νόσο. Ωστόσο δεν προέκυψε συσχέτιση του FXII με τη CRP, τον κλασικό δείκτη φλεγμονής, παρατηρήθηκε όμως συσχέτιση του FXII με τα κλάσματα C3 και C4 του συμπληρώματος, με πιο ισχυρή αυτή με το C3. Η συσχέτιση αυτή ενδεχομένως αντικατοπτρίζει την λειτουργική σχέση του FXII με το συμπλήρωμα (ο παράγοντας ενεργοποιεί το συμπλήρωμα όπως έχει ήδη εκτεθεί) αλλά και το ρόλο που διαδραματίζουν τόσο ο FXII όσο και το συμπλήρωμα στη χρόνια φλεγμονή. Εξάλλου το C3 φάνηκε να συσχετίζεται με την CRP ($r=0.4$) αλλά και με το ινωδογόνο ($r=0.7$) που είναι αμφότερες πρωτεΐνες οξείας φάσης.

Υπάρχουν μελέτες που υποδεικνύουν ότι το συμπλήρωμα ενδεχομένως να εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της νόσου και η αναστολή του να έχει θέση στη θεραπεία της νόσου (94). Η συσχέτιση που προέκυψε μεταξύ του συμπληρώματος με τον FXII με δεδομένη και τη σχέση τους από τη σκοπιά της φυσιολογίας, θα μπορούσε να υπονοήσει ότι η αναστολή του FXII ή ο C1-INH που αναστέλλει τόσο τον FXII όσο και το συμπλήρωμα θα ήταν ένας δυνητικός θεραπευτικός στόχος.

Η συσχέτιση του FXII με το ινωδογόνο ενδεχομένως αποκτά και άλλη σημασία εάν ληφθεί υπ' όψιν η σχέση του ινωδογόνου με τη διαδικασία της ίνωσης. Στη δρεπανοκυτταρική νόσο έχει παρατηρηθεί εναπόθεση ινώδους συνδετικού ιστού σε όργανα, όπως ο πνεύμονας (129), που έχει αποδοθεί στα επαναλαμβανόμενα, υποκλινικά επεισόδια ισχαιμίας και αποκατάστασης της ιστικής βλάβης, ενώ έχει βρεθεί και αυξημένος αριθμός ινωδοπαραγωγών κυττάρων στην κυκλοφορία ποντικών και ασθενών με δρεπανοκυτταρική νόσο (130,131). Εκτός από τον πνεύμονα ίνωση παρουσιάζει και το ήπαρ. Περίπου το 20% των δρεπανοκυτταρικών ασθενών εμφάνισε εναπόθεση ινώδους ιστού στα πυλαία διαστήματα ενώ 16% είχε εικόνα κίρρωσης σε νεκροτομικό υλικό (132,133). Το μυοκάρδιο επίσης παρουσιάζει διάχυτη μυοκαρδιακή ίνωση που συνδέεται με διαστολική δυσλειτουργία και δυσλειτουργία του αριστερού κόλπου στους δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς (134,135).

Ο παράγοντας XII φαίνεται ότι με κάποιον τρόπο συμμετέχει στη διαδικασία της ίνωσης. Σε μελέτη έχει φανεί ότι σε πνεύμονες ασθενών με ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση υπάρχει αυξημένη έκφραση και ενεργοποίηση του παράγοντα XII ο οποίος συνδέεται με πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και εναπόθεση ινικής. Η αναστολή του FXII κατέργησε την εναπόθεση ινικής στον τραυματισμένο πνεύμονα σε πειραματικά μοντέλα με ποντίκια (136) και μείωσε την παραγωγή της IL-6, που προάγει την ίνωση, από πνεύμονες ασθενών με ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση (137) και ARDS (138) και έχει προταθεί ως πιθανή θεραπεία για την πνευμονική ίνωση. Η δράση αυτή του XII φάνηκε να είναι ανεξάρτητη από την κινητοποίηση του ενδογενούς μονοπατιού της πήξης, του συμπληρώματος και του κινινογόνου.

Αυξημένη εναπόθεση FXII έχει δειχθεί επίσης σε νεφρικά παρασκευάσματα ασθενών και ποντικών με διαβητική νεφροπάθεια. Σε γενετικά τροποποιημένα διαβητικά ποντίκια με εξάλειψη του γόνου του FXII παρατηρήθηκε βελτίωση της αλβουμινουρίας, της διαμεσοσωληναριακής ίνωσης και της σπειραματικής βλάβης (139). Το ίδιο συνέβη και σε δρεπανοκυτταρικά ποντίκια γενετικά τροποποιημένα ώστε το ινωδογόνο να μην αλληλεπιδρά με τους CD18b/CD11 υποδοχείς (140). Σε ποντίκια με εξάλειψη του γόνου της αντιθρομβίνης / πρωτεΐνης C και ταυτόχρονη εξάλειψη του γόνου του FXII φάνηκε λιγότερη ίνωση στο ήπαρ (141).

Η σχέση FXII-ινωδογόνου έχει μελετηθεί τα τελευταία χρόνια στα νευροεκφυλιστικά νοσήματα, κυρίως σε νόσο Alzheimer, σε πειράματα με ποντίκια. Έχει βρεθεί ότι στη νόσο Alzheimer το β-αμυλοειδές αλληλεπιδρά τόσο με το ινωδογόνο όσο και με τον FXII κινητοποιώντας τα μονοπάτια θρόμβωσης και φλεγμονής. Διατυπώνεται, έτσι, η υπόθεση ότι το ινωδογόνο ίσως να έχει ρόλο στην παθοφυσιολογία της νόσου, όπου παρατηρείται αυξημένη εναπόθεση ινικής στον εγκέφαλο και ειδικά σε περιοχές κυτταρικού θανάτου. Η μείωση των κυκλοφορούντων επιπέδων ινωδογόνου μείωσε την εναπόθεση ινικής στον εγκέφαλο και βελτίωσε την εγκεφαλική λειτουργία, το ίδιο συνέβη και με την αναστολή του παράγοντα XII σε ποντίκια με νόσο (142,143) υποδεικνύοντας ότι ο FXII αλληλεπιδρά με το ινωδογόνο και παρεμβαίνει στη διαδικασία της εναπόθεσης ινικής.

Από τα παραπάνω στοιχειοθετείται η υπόθεση ότι ο παράγοντας FXII συμμετέχει με κάποιο τρόπο στη διαδικασία της ίνωσης, αφετηρία της οποίας είναι το ινωδογόνο/δίκτυο ινικής (144) και παρέχει, ενδεχομένως, ένα θεωρητικό υπόστρωμα για τη συσχέτιση του FXII-ινωδογόνου που προέκυψε στην παρούσα μελέτη.

Έχουν μέχρι στιγμής αναφερθεί τρεις πιθανοί μηχανισμοί μέσω του οποίου ο FXII συμμετέχει στη διαδικασία της ίνωσης. α) ο FXIIβ επάγει την παραγωγή ινωδοπαραγωγών κυτοκινών (IL-6) από τους ινοβλάστες (145) β) συνδέεται μέσω του uPAR στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προάγει την ίνωση (136) γ) συνδέεται με το ινωδογόνο μέσω του N-τελικού άκρου του FXIIa και αλλάζει τη σύσταση του θρόμβου καθιστώντας τον ισχυρότερο και ανθεκτικό στην

ινωδόλυση (146), η αναστολή της οποίας σχετίζεται με την ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης καθώς έχει φανεί μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα σε ασθενείς με χρόνια φλεγμονώδη πνευμονική νόσο (147).

Στην παρούσα μελέτη ο παράγοντας XII συσχετίστηκε επίσης με τα εμπύρηννα ερυθρά. Τα εμπύρηννα είναι πρόδρομες μορφές ερυθροκυττάρων που δεν κυκλοφορούν στο αίμα των ενηλίκων κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Η παρουσία τους στο περιφερικό αίμα υποδηλώνει την απάντηση του μυελού (ή/και των αιμοποιητικών οργάνων) στην ανάγκη για επιτακτική αιμοποίηση (148,149). Στους ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο η χρόνια αιμόλυση και η υπολειτουργία ή η απουσία του σπλήνα είναι η αιτία της παρουσίας των εμπύρηννων ερυθρών στην κυκλοφορία. Σε καταστάσεις αποτελεσματικής ερυθροποίησης η παρουσία τους ακολουθείται από την παρουσία δικτυοερυθροκυττάρων στην κυκλοφορία (148). Στην παρούσα μελέτη υπήρξε ισχυρή συσχέτιση των εμπύρηννων ερυθρών με τα δικτυοερυθροκύτταρα ($r = 0.85$, $p < 0.0001$). Ωστόσο ο παράγοντας FXII δεν εμφάνισε συσχέτιση με τα ΔΕΚ αλλά μόνο με τα εμπύρηννα.

Αν και η παρουσία των εμπύρηννων στην κυκλοφορία έχει συσχετιστεί με δυσμενή πρόγνωση και αυξημένη θνητότητα σε σειρές ασθενών στη μονάδα εντατικής θεραπείας, ασθενών με σήψη, ασθενών με ARDS (150), ο ρόλος τους στην δρεπανοκυτταρική νόσο, ως δείκτης σοβαρότητας της νόσου, δεν είναι επαρκώς μελετημένος. Σε πρόσφατη μελέτη η αύξηση του αριθμού των εμπύρηννων ερυθρών συσχετίστηκε με την εμφάνιση επιπλοκών σε παιδιατρικούς δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς που νοσηλεύονταν για αγγειοαποφρακτική κρίση (151). Η συσχέτιση που προέκυψε στην παρούσα μελέτη προφανώς συνδέει τον FXII με την αιμόλυση παρόλο που δεν προέκυψε συσχέτιση με άλλους δείκτες αιμόλυσης (LDH, ΔΕΚ).

β. Βιολογικές παράμετροι

Οι συσχετίσεις των λοιπών βιολογικών παραμέτρων που προέκυψαν από τη μελέτη αντανakλούν την παθοφυσιολογία της αιμόλυσης. Έτσι, υπήρξε αρνητική συσχέτιση της αιμοσφαιρίνης με τα ΔΕΚ και με τα επίπεδα της LDH, και θετική συσχέτιση των ΔΕΚ με τα εμπύρηννα ερυθρά και την LDH.

Ενδιαφέρουσα ήταν η συσχέτιση που αναδείχθηκε μεταξύ των δεικτών αιμόλυσης με τη CRP και τα λευκά αιμοσφαίρια. Συγκεκριμένα, η αιμοσφαιρίνη συσχετίστηκε αρνητικά ενώ τα ΔΕΚ και η LDH είχαν θετική συσχέτιση με τη CRP. Επίσης τα λευκά αιμοσφαίρια συσχετίστηκαν με τα ΔΕΚ και τα εμπύρηννα ερυθρά. Κάτι τέτοιο υποδηλώνει την άμεση, και ενδεχομένως, αιτιολογική σχέση της αιμόλυσης με τη φλεγμονή: Η φλεγμονή οδηγεί σε αιμόλυση ή και το αντίστροφο, η αιμόλυση επάγει φλεγμονή. Η πρώτη υπόθεση είναι κοινή πεποίθηση και εμπειρία ασθενών και ιατρών, καθώς γνωρίζουν ότι ακόμα και ήπιες λοιμώξεις προκαλούν αγγειοαποφρακτικές κρίσεις συνοδευόμενες τις περισσότερες φορές με αιμόλυση. Η δεύτερη εκδοχή έχει επιβεβαιωθεί από τη μελέτη της παθοφυσιολογίας της νόσου όπως έχει ήδη εκτεθεί.

Η CRP συσχετίστηκε επίσης με τον παράγοντα VWF. Ο VWF συσχετίστηκε με τους δείκτες αιμόλυσης, δηλαδή με τα ΔΕΚ, τα εμπύρηννα ερυθρά και την LDH. Η συσχέτιση αυτή έχει επιβεβαιωθεί και από άλλες μελέτες σε πληθυσμό δρεπανοκυτταρικών ασθενών. Ο Chen έδειξε ότι ο βαθμός της αιμόλυσης, όπως εκφράζεται με τα επίπεδα της LDH, σχετίζεται με τα επίπεδα του ενεργοποιημένου VWF (152). Σε πιο πρόσφατη μελέτη (153) φάνηκε θετική συσχέτιση της ελεύθερης αίμης με τα επίπεδα του VWF. Έχει δειχθεί ότι η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη που κυκλοφορεί ως αποτέλεσμα της αιμόλυσης συνδέεται με τον VWF και αυξάνει τη δραστικότητά του “προστατεύοντάς” τον από τη δράση της ADAMTS-13 με αποτέλεσμα τη συνάθροιση πολυμερών VWF υψηλού μοριακού βάρους, που συμβάλλουν στην εμφάνιση αγγειοαποφρακτικών κρίσεων και επιπλοκών (154,155). Η αλληλεπίδραση της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης με τον VWF με κατάληξη τη θρόμβωση έχει φανεί και σε άλλους, πλην της δρεπανοκυτταρικής νόσου, αιμολυτικούς μηχανισμούς, κυρίως σε ασθενείς που φέρουν συσκευές υποστήριξης της λειτουργίας της αριστερής κοιλίας ή ασθενείς που υποβάλλονται σε επεμβάσεις με εξωσωματική κυκλοφορία (156,157).

Τα παραπάνω επιβεβαιώνουν τον ανατροφοδοτούμενο κύκλο φλεγμονής-αιμόλυσης και υποστηρίζουν τον πρωτεύοντα και επιβαρυντικό ρόλο της αιμόλυσης στην διαδικασία της φλεγμονής και στις επιπλοκές της δρεπανοκυτταρικής νόσου. Η συσχέτιση του παράγοντα FXII με τα εμπύρηννα

ερυθρά, που είναι ένας δείκτης αιμόλυσης, καθώς και με το ινωδογόνο και το συμπλήρωμα, που είναι δείκτες φλεγμονής, υποδηλώνει την συμμετοχή του στην όλη διεργασία της αιμόλυσης-φλεγμονής.

Ερωτηματικά προκαλεί η αρνητική συσχέτιση του ουρικού οξέος με τα λευκά αιμοσφαίρια, τα αιμοπετάλια και τα εμπύρηννα ερυθρά. Το εύρημα αυτό έρχεται σε αντίθεση με δεδομένα από τη βιβλιογραφία που δείχνουν θετική συσχέτιση του ουρικού οξέος με τα λευκά και τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Το ουρικό οξύ σύμφωνα με μελέτες δεν θεωρείται πια ένα αθώο προϊόν μεταβολισμού, αλλά του αποδίδονται ιδιότητες οξειδωτικού και φλεγμονώδους παράγοντα, έχει συσχετιστεί με δείκτες φλεγμονής (CRP, IL-6) ενώ φαίνεται να είναι ανεξάρτητος παράγοντας καρδιαγγειακού κινδύνου (158-161). Η σχέση του με τα λευκά φαίνεται να αντιστρέφεται στην παρούσα μελέτη κάτι που θα μπορούσε να σχετίζεται με το ιδιαίτερο φλεγμονώδες υπόστρωμα της δρεπανοκυτταρικής νόσου σε συνδυασμό με τον υψηλό ρυθμό μεταβολισμού του ουρικού οξέος λόγω της χρόνιας αιμόλυσης.

γ. Ασθενείς

Ενδιαφέρον ήταν το εύρημα ότι οι ασθενείς που υποβάλλονταν σε μεταγγίσεις παρουσίασαν μεγαλύτερη αιμόλυση και φλεγμονή, όπως προκύπτει από τα επίπεδα της LDH, των εμπύρηνων ερυθρών και της CRP. Η ίδια η μετάγγιση άραγε λειτουργεί ως φλεγμονώδες ερέθισμα και επάγει αιμόλυση ή είναι η σοβαρότητα της νόσου και η αυξημένη αιμόλυση που οδηγεί σε αναγκαστική μετάγγιση τους ασθενείς αυτούς; Το ερώτημα για το εάν η μετάγγιση αίματος και παραγώγων οδηγεί σε φλεγμονώδη απάντηση του οργανισμού μελετάται τα τελευταία χρόνια μετά από κλινικές μελέτες που έδειξαν χειρότερη πρόγνωση, αύξηση της θνητότητας, αύξηση των μετεγχειρητικών λοιμώξεων, πολυοργανική ανεπάρκεια σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε μεταγγίσεις (162,163) ενώ ο περιορισμός των μεταγγίσεων είχε ευνοϊκό αποτέλεσμα στην έκβαση των ασθενών (164,165). Οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες της μετάγγισης, οι αλλεργικές και οι πυρετικές μη-αιμολυτικές αντιδράσεις (FNHTR), συνιστούν φλεγμονώδη απάντηση (166). Αλλά και οι αιμολυτικές αντιδράσεις, που κάποτε ενεργοποιούν και το συμπλήρωμα και οδηγούν σε

αντίδραση του ενδοθηλίου μπορούν, κάτω από την ευρεία έννοια, να θεωρηθούν φλεγμονώδεις. Οι κύριοι αλλά όχι οι μόνοι υπεύθυνοι για αυτές τις αντιδράσεις είναι τα λευκά αιμοσφαίρια που έχουν παραμείνει στα αποθηκευμένα ερυθρά. Ακόμα, όμως, και τα λευκαφαιρεμένα παράγωγα περιέχουν φλεγμονώδη μόρια, όπως κυτοκίνες, ελεύθερη αίμη, μικροκυστίδια, βιοενεργά λιπίδια, ελεύθερο σίδηρο (NTBI) που ενοχοποιούνται για τις αρνητικές, φλεγμονώδεις επιπτώσεις της μετάγγισης (166,167,168). Ωστόσο, δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα που να αποδεικνύουν την παρουσία φλεγμονωδών κυτοκινών μετά από μετάγγιση σε ανθρώπους παρά μόνο σε πρόωρα νεογνά (169). Επιπρόθετα, η μετάγγιση επάγει ανοσοτροποποίηση (TRIM) που συνίσταται σε “υποτονική” αντίδραση των μακροφάγων και μονοκυττάρων, που αναστέλλουν μάλλον παρά αυξάνουν τη φλεγμονώδη αντίδραση, προδιαθέτοντας έτσι σε λοιμώξεις (170).

Στην παρούσα μελέτη παρουσιάστηκε τάση, που δεν άγγιξε τα επίπεδα της στατιστικής σημαντικότητας ($p=0.058$), για αυξημένα επίπεδα του C3 στους ασθενείς υπό υδροξυουρία. (ενώ γενικά στη δρεπανοκυτταρική νόσο έχουν βρεθεί ελαττωμένα επίπεδα, βιβλιογραφία κυρίως από Αφρική). Στην μελέτη του Brewin η μεταβολή των επιπέδων του C3 με τη λήψη υδροξυουρίας δεν ήταν σταθερή και δεν αναλύθηκε περισσότερο (123). Αν αυτή η διαφορά όντως υπάρχει και καταστεί στατιστικά σημαντική με ένα μεγαλύτερο δείγμα ασθενών, θα ερμηνευόταν από την ευεργετική δράση της υδροξυουρίας στη μείωση της φλεγμονής και της κατανάλωσης στοιχείων του συμπληρώματος.

Επίσης, τα αυξημένα επίπεδα LDH σε ασθενείς με ιστορικό οξέος θωρακικού συνδρόμου φανερώνει ότι ο υψηλός βαθμός αιμόλυσης αποτελεί ένα δείκτη κινδύνου για σοβαρές κλινικές εκδηλώσεις, και τα υψηλότερα επίπεδα του C3 σε ασθενείς με άσηπτη νέκρωση υποδηλώνουν τη συμμετοχή του συμπληρώματος στην ισχαιμία της μικροκυκλοφορίας.

Οι ασθενείς με συχνές επώδυνες κρίσεις εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα του παράγοντα VWF αν και όχι στατιστικά σημαντικά, παρέχοντας μια ασθενή ένδειξη για τον επιβαρυντικό ρόλο του VWF στην εκδήλωση αγγειοαποφρακτικών επεισοδίων, κάτι που έχει δειχθεί σε πρόσφατες μελέτες (155,171,172).

5.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η δρεπανοκυτταρική νόσος είναι ένα χαρακτηριστικό μοντέλο νόσου όπου φλεγμονή και θρόμβωση συνυπάρχουν και αλληλεπιδρούν. Σημαντικό ρόλο στην διαδικασία αυτή διαδραματίζει η αιμόλυση που πυροδοτεί αντιδράσεις και προς τις δύο αυτές κατευθύνσεις κάτι που αντικατοπτρίζεται και στα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

Τα επίπεδα του παράγοντα XII είναι μειωμένα σε δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς παρέχοντας μια ένδειξη ενεργοποίησής του στη δρεπανοκυτταρική νόσο και συμμετοχής του στη διαδικασία της φλεγμονής και αιμόλυσης, με ενδεχόμενη συμμετοχή του και στη διαδικασία της ίνωσης που απαντάται σε ιστούς δρεπανοκυτταρικών ασθενών.

Μελέτες με μεγαλύτερο δείγμα ασθενών θα είχαν, ίσως, την ισχύ να αποδείξουν συσχετίσεις του FXII με κλινικές παραμέτρους και να οδηγήσουν σε πιο ξεκάθαρα συμπεράσματα για το ρόλο του παράγοντα στη δρεπανοκυτταρική νόσο.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Smith SA, Travers RJ, Morrissey JH. How it all starts: initiation of the clotting cascade. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2015 ; 50(4): 326–336.
2. Palta S, Saroa R, Palta A. Overview of the coagulation system. *Indian J Anaesth* 2014;58(5): 515–523.
3. Vojacek JF. Should we replace the terms intrinsic and extrinsic coagulation pathways with tissue factor pathway? *Clin Appl Thromb Hemost* 2017;23(8):922-927.
4. Hoffman Z, de Maat S, Hack CE et al. Bradykinin: inflammatory product of the coagulation system. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2016;51:152–161.
5. Hoffman M, Monroe DM. Rethinking the coagulation cascade. *Curr Hematol Rep* 2005;4:391-396.
6. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 2001;85:958-965.
7. Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M et al. New fundamentals in hemostasis. *Physiol Rev* 2013;93:327-358.
8. Lammle B, Griffin JH. Formation of the fibrin clot: the balance of procoagulant and inhibitory factors. *Clin Haematol* 1985;14(2):281-342.
9. Lippi G, Favaloro EJ, Franchini M. et al. Milestones and perspectives in coagulation and hemostasis. *Semin Thromb Hemost* 2009;35:9–22.
10. O'Donnell JS, O'Sullivan JM, Preston RJS. Advances in understanding the molecular mechanisms that maintain normal haemostasis. *Br J Haematol* 2019;186(1):24-36.
11. Loghmani H, Conway EM. Exploring traditional and nontraditional roles for thrombomodulin. *Blood* 2018;132(2):148–158.
12. Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev* 2015;29(1):17-24.
13. Long AT, Kenne E, Jung R et al. Contact system revisited: an interface between inflammation, coagulation, and innate immunity. *J Thromb Haemost* 2016;14:427–37.
14. Schmaier AH, Stavrou EX. Factor XII – What's important but not commonly thought about. *Res Pract Thromb Haemost*. 2019;3:599–606.
15. Bjorkqvist J, Nickel KF, Stavrou E et al. In vivo activation and functions of the protease factor XII. *Thromb Haemost* 2014;112: 868–875.
16. Weidmann H, Heikaus L, Long AT et al. The plasma contact system, a protease cascade at the nexus of inflammation, coagulation and immunity. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2017;1864(11 Pt B):2118-2127.
17. Wu Y. Contact pathway of coagulation and inflammation. *Thromb J* 2015;13:17.
18. Maas C, Renne T. Coagulation factor XII in thrombosis and inflammation. *Blood* 2018;131(17):1903–1909.
19. Renne T, Schmaier AH, Nickel KF et al. In vivo roles of factor XII. *Blood* 2012; 120(22):4296-4303.
20. Gobel K, Eichler S, Wiendl H, et al. The coagulation factors fibrinogen, thrombin and factor XII in inflammatory disorders-a systematic review. *Front Immunol* 2018 Jul 26;9:1731.
21. Naudin C, Burillo E, Blankenberg S et al. Factor XII contact activation. *Semin Thromb Hemost* 2017;43:814–826.
22. Foley JH, Conway EM. Cross talk pathways between coagulation and inflammation. *Circ Res* 2016;118:1392-1408.
23. Kishimoto TK, Viswanathan K, Ganguly T, et al. Contaminated heparin associated with adverse clinical events and activation of the contact system. *N Engl J Med*

- 2008;358:2457–2467.
24. Wilner GD, Nossel HL, LeRoy EC. Activation of Hageman factor by collagen. *J Clin Invest* 1968;47(12):2608-15.
 25. van der Meijden PE, Munnix IC, Auger JM et al. Dual role of collagen in factor XII-dependent thrombus formation. *Blood* 2009;114(4):881-90.
 26. Arphan Azaad M, Zhang Q, Li Y. Factor XII (Hageman Factor): a very rare coagulation disorder. *Open Journal of Blood Diseases* 2015; 5:39-42.
 27. Pauer HU, Renne T, Hemmerlein B, et al. Targeted deletion of murine coagulation factor XII gene: a model for contact phase activation in vivo. *Thromb Haemost* 2004;92(3):503-508.
 28. Renne T, Pozgajova M, Gruner S, et al. Defective thrombus formation in mice lacking coagulation factor XII. *J Exp Med* 2005;202(2):271-281.
 29. Kleinschnitz C, Stoll G, Bendszus M, et al. Targeting coagulation factor XII provides protection from pathological thrombosis in cerebral ischemia without interfering with hemostasis. *J Exp Med* 2006;203(3):513–8.
 30. Revenko AS, Gao D, Crosby JR, et al. Selective depletion of plasma prekallikrein of coagulation factor XII inhibits thrombosis in mice without increased risk of bleeding. *Blood* 2011;118(19):5302-5311.
 31. Kokoye Y, Ivanov I, Cheng Q et al. A comparison of the effects of factor XII deficiency and prekallikrein deficiency on thrombus formation. *Thromb Res* 2016;140:118-124.
 32. Yau JW, Liao P, Fredenburgh JC et al. Selective depletion of factor XI or XII with antisense oligonucleotides attenuates catheter thrombosis in rabbits. *Blood* 2014;123(13):2102–7.
 33. Decrem Y, Rath G, Blasioli V et al. Ir-CPI, a coagulation contact phase inhibitor from the tick *Ixodes ricinus*, inhibits thrombus formation without impairing hemostasis. *J Exp Med* 2009;206(11):2381–95.
 34. Goodnough LT, Ratnoff OD. Thrombosis or myocardial infarction in congenital clotting factor abnormalities and chronic thrombocytopenias: a report of 21 patients and a review of 50 previously reported cases. *Medicine* 1983;62(4):248-55.
 35. Glueck HI, Roehll W. Myocardial infarction in a patient with a Hageman (Factor XII) defect. *Ann Intern Med* 1966;64(2):390-396.
 36. Cei M, Mumoli N, Giuntoli S, et al. Concomitant ST-elevation myocardial infarction and deep vein thrombosis in a patient with severe factor XII deficiency: case report and review of the literature. *Q J Med* 2011;104:1083–1086.
 37. Penny WJ, Covin BT, Brooks N. Myocardial infarction with normal coronary arteries and factor XII deficiency. *Br Heart J* 1985;53(2): 230–234.
 38. Nickel KF, Long AT, Fuchs TA et al. Factor XII as a therapeutic target in thromboembolic and inflammatory diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37:00-00.
 39. Girolami A, Randi ML, Gavasso S, et al. The occasional venous thromboses seen in patients with severe (homozygous) FXII deficiency are probably due to associated risk factors: a study of prevalence in 21 patients and review of the literature. *J Thromb Thrombolysis* 2004;17:139–143.
 40. Key NS. Epidemiologic and clinical data linking factors XI and XII to thrombosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014 Dec 5;2014(1):66-70.
 41. Zeerleder S, Schloesser M, Redondo M et al. Reevaluation of the incidence of

- thromboembolic complications in congenital Factor XII deficiency: A study on 73 subjects from 14 Swiss families. *Thromb Haemost* 1999;82(4):1240-6.
42. Doggen CJM, Rosendaal FR, Meijers JCM. Levels of intrinsic coagulation factors and the risk of myocardial infarction among men: Opposite and synergistic effects of factors XI and XII. *Blood* 2006;108(13):4045–4051.
 43. Ponitz V, Brugger-Andersen T, Pritchard D et al. Activated factor XII type A predicts long-term mortality in patients admitted with chest pain. *J thromb hemost* 2009;7(2):277-87.
 44. Grundt H, Nilsen DWT, Hetland O et al. Activated factor 12 (FXIIa) predicts recurrent coronary events after an acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2004;147(2):260-6.
 45. Girolami A, Morello M, Girolami B, et al. Myocardial infarction and arterial thrombosis in severe (homozygous) FXII deficiency: no apparent causative relation. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005;11(1):49-53.
 46. Girolami A, Ferrari S, Cosi E, et al. Thrombotic events in severe FXII deficiency in comparison with unaffected family members during a long observation period. *J Thromb Thrombolysis* 2019;47(3):481-485.
 47. Girolami A, Cosi E, Santarossa C, et al. Thrombotic events in asymptomatic FXII deficiency versus symptomatic FXI deficiency: surprising observations. *Acta Haematol* 2016;136:118-122.
 48. Fredenburgh JC, Gross PL, Weitz JI. Emerging anticoagulant strategies. *Blood* 2017;129(2):147-154.
 49. Colman RW. Activation of plasminogen by human plasma kallikrein. *Biochem Biophys Res Commun* 1969;35:273–9.
 50. Goldsmith GH, Saito Jr H, Ratnoff OD. The activation of plasminogen by Hageman factor (FactorXII) and Hageman factor fragments. *J Clin Invest* 1978;54-60.
 51. Levi M, Hack CE, de Boer JP et al. Reduction of contact activation related fibrinolytic activity in factor XII deficient patients. Further evidence for the role of the contact system in fibrinolysis in vivo. *J Clin Invest* 1991;88:1155-1160.
 52. Kluft C, Trumpsi-Kalshoven MM, Jie AF et al. Factor XII-dependent fibrinolysis: a double function of plasma kallikrein and the occurrence of a previously undescribed factor XII- and kallikrein-dependent plasminogen proactivator. *Thromb Haemost* 1979;41(4):756-773.
 53. Puy C, Tucker EI, Wong ZC et al. Factor XII promotes blood coagulation independent of factor XI in the presence of longchain polyphosphates. *J Thromb Haemost* 2013;11(7):1341–1352.
 54. Konings J, Hoving LR, Ariens RS et al. The role of activated coagulation factor XII in overall clot stability and fibrinolysis. *Thromb Research* 2015;136:474-480.
 55. Salomon O, Steinberg DM, Koren-Morag N et al. Reduced incidence of ischemic stroke in patients with severe Factor XI deficiency. *Blood* 2008;111(8):4113-7.
 56. Salomon O, Steinberg DM, Zucker M, et al. Patients with severe Factor XI deficiency have a reduced incidence of deep-vein thrombosis. *Thromb Haemost* 2011;105(2):269-73.
 57. Buller HR, Bethune C, Bhanot S, et al. Factor XI antisense oligonucleotide for prevention of venous thrombosis. *N Engl J Med* 2015;372:232-40.
 58. Didiasova M, Wujak L, Schaefer L, et al. Factor XII in coagulation, inflammation

- and beyond. *Cell Signal*. 2018;51:257-265.
59. Ekdahl K, Teramura Y, Hamad OA, et al. Dangerous Liaisons: Complement, Coagulation, and Kallikrein/Kinin cross-talk act as a linchpin in the events leading to thromboinflammation. *Immunol Rev* 2016;274(1):245-269.
 60. Ghebrehiwet B, Kaplan AP, Joseph K, et al. The complement and contact activation systems: partnership in pathogenesis beyond angioedema. *Immunol Rev* 2016;274(1):281-289.
 61. Irmischer S, Doring M, Halder LD, et al. Kallikrein cleaves C3 and activates complement. *J Innate Immun* 2018;10:94–105
 62. Merle NS, Bhoudhabhay I, Leon J, et al. Complement activation during intravascular hemolysis: Implication for sickle cell disease and hemolytic transfusion reactions. *Transfus Clin Biol* 2019;26(2):116-124.
 63. Chapin J, Terry HS, Kleinert D, et al. The role of complement activation in thrombosis and hemolytic anemias. *Transfus Apher Sci*. 2016;54(2):191-8.
 64. Ghebrehiwet B, Silverberg M, Kaplan AP. Activation of the classical pathway of complement by Hageman factor fragment. *J Exp Med* 1981;153(3):665-76.
 65. DiScipio RG. The activation of the alternative pathway C3 convertase by human plasma kallikrein. *Immunology* 1982;45(3):587-95.
 66. Amara U, Flierl MA, Rittirsch D, et al. Molecular intercommunication between the complement and coagulation systems. *J Immunol* 2010;185(9):5628-36.
 67. van Montfoort ML, Meijers JCM. Recent insights into the role of the contact pathway in thrombo-inflammatory disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014;2014(1):60-5.
 68. LaRusch GA, Mahdi F, Shariat-Madar Z, et al. Factor XII stimulates ERK1/2 and Akt through uPAR, integrins, and the EGFR to initiate angiogenesis. *Blood* 2010;115 (24): 5111–5120.
 69. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ* 2008;86(6):480-487.
 70. Toledo SLO, Guedes JVM, Alpoim PN, et al. Sickle cell disease: Hemostatic and inflammatory changes, and their interrelation. *Clin Chim Acta* 2019;493:129-137.
 71. Zhang D, Xu C, Manwani D, et al. Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. *Blood* 2016;127(7):801–809.
 72. Piccin A, Murphy C, Eakins A, et al. Insight into the complex pathophysiology of sickle cell anaemia and possible treatment. *Eur J Haematol*. 2019;102:319–330.
 73. Moerdler S, Manwani D. New insights into the pathophysiology and development of novel therapies for sickle cell disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2018;2018(1):493-506.
 74. Kaul DK, Finnegan E, Barabino GA. Sickle red cell - endothelium interactions. *Microcirculation*. 2009;16(1):97–111.
 75. Seaman CD, Yabes J, Li J et al. Venous thromboembolism in pregnant women with sickle cell disease: a retrospective database analysis *Thromb Res* 2014;134(6):1249-52.
 76. Noubouossie D, Key NS, Ataga KI. Coagulation abnormalities of sickle cell disease: relationship with clinical outcomes and the effect of disease modifying therapies. *Blood Rev*. 2016;30(4):245–256.
 77. Prengler M, Pavlakis SG, Prohovnik I et al. (2002) Sickle cell disease: the neurological complications. *Ann Neurol* 2002;51(5):543-52.
 78. Novelli EM, Huynh C, Gladwin MT, et al. Pulmonary embolism in sickle cell

- disease: a case-control study. *J Thromb Haemost*. 2012;10(5):760-766.
79. Naik RP, Streiff MB, Haywood C, et al. Venous thromboembolism in adults with sickle cell disease: a serious and underrecognized complication. *Am J Med*. 2013;126(5):443-449.
 80. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 1998;91(1):288-94.
 81. Rothman SM, Fulling KH, Nelson JS. Sickle cell anemia and central nervous system infarction: a neuropathological study. *Ann Neurol* 1986;20(6):684-90.
 82. Wun T, Brunson A. Sickle cell disease: an inherited thrombophilia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2016;(1): 640–647.
 83. Ogunsile FJ, Naik R, Lanzkron S. Overcoming challenges of venous thromboembolism in sickle cell disease treatment. *Expert Rev Hematol* 2019;12(3):173-182.
 84. Nasimuzzaman M, Malik P. Role of the coagulation system in the pathogenesis of sickle cell disease. *Blood Adv*. 2019;3(20):3170-3180.
 85. Zhou Z, Han H, Cruz MA et al. Hemoglobin blocks vWf proteolysis by ADAMTS 13: a mechanism associated with sickle cell disease. *Thromb Haemost* 2009;101:1070-7.
 86. Novelli EM, Kato GJ, Hildesheim ME, et al. Thrombospondin-1 inhibits ADAMTS-13 activity in sickle cell disease. *Haematologica* 2013;98:e132-4.
 87. Sparkenbaugh EM, Chantrathammachart P, Wang S, et al. Excess of heme induces tissue factor-dependent activation of coagulation in mice. *Haematologica* 2015;100(3):308-14.
 88. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02072668. The effect of rivaroxaban in sickle cell disease.
 89. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02179177. Apixaban in patients with sickle cell disease.
 90. Sparkenbaugh EM, Chantrathammachart P, Mickelson J, et al. Differential contribution of FXa and thrombin to vascular inflammation in a mouse model of sickle cell disease. *Blood* 2014;123(11):1747-56.
 91. Conran A, Belcher JD. Inflammation in sickle cell disease. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2018;68(2-3): 263–299.
 92. Arumugam P, Mullins ES, Shanmukhappa SK, et al. Genetic diminution of circulating prothrombin ameliorates multiorgan pathologies in sickle cell disease mice. *Blood* 2015;126(15):1844-55.
 93. Gavriilaki E, Mainou M, Christodoulou I, et al. In vitro evidence of complement activation in patients with sickle cell disease. *Haematologica*. 2017;102(12):e481–e482.
 94. Vercellotti GM, Dalmaso AP, Schaid Jr TR, et al. Critical role of C5a in sickle cell disease. *Am J Hematol* 2019;94(3):327-337.
 95. Al-Awamy BH, Niazi GA, Al-Mouzan MI et al. Serum immunoglobulin and complement levels in patients with sickle cell anaemia from eastern province of Saudi Arabia. *Trop Geogr Med* 1988;40(1):13-6.
 96. Okeke TI, Musa BOP, Babadoko AA et al. Complement levels in Nigeria patients with sickle cell anaemia in the asymptomatic state. *Niger J Clin Pract* 2018;21(9):1139-1143.
 97. DiEye TM, Ndiaye O, Ndiaye AB et al. Complement and serum immunoglobulins in homozygous and heterozygous sickle cell anemia in Senegal. *Dakar Med* 1999;44(2):175-9.

98. Akanmori BD, Adjei AA, Nyarko AK et al. Serum immunoglobulin and complement levels in Ghanaian sickle cell patients in the steady asymptomatic state. *East Afr Med J* 1991;68(5):378-82.
99. DeCeulaer K, Forbes M, Maude GH et al. Complement and immunoglobulin levels in early childhood in homozygous sickle cell disease. *J Clin Lab Immunol* 1986;21(1):37-41.
100. Keragala CB, Draxler DF, McQuilten ZK et al. Haemostasis and innate immunity – a complementary relationship. *Br J Haematol* 2018;180(6):782-798.
101. Hillmen P, Muus P, Duhresen U et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2007;110(12):4123-4128.
102. Jackson SP, Darbousset R, Schoenwaelder SM. Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defence mechanisms. *Blood* 2019;133(9):906-918.
103. Gordon EM, Klein BL, Berman BW et al. Reduction of contact factors in sickle cell disease. *J Pediatr* 1985;106(3):427-30.
104. Miller RL, Verma PS, Adams RG. Studies of the Kallikrein-Kinin system in patients with sickle cell anemia. *J Natl Med Assoc* 1983;75:551–6.
105. van Beers E, Schaap MCL, Berckmans RJ, et al. Circulating erythrocyte-derived microparticles are associated with coagulation activation in sickle cell disease. *Haematologica* 2009;94(11):1513-9.
106. Van Der Meijden PEJ, Van Schilfgaarde M, Van Oerle R, et al. Platelet- and erythrocyte-derived microparticles trigger thrombin generation via factor XIIa. *J Thromb Haemost* 2012;10:1355–62.
107. Sparkenbaugh EM, Faes C, Noubouossie D, et al. FXIIa differentially regulates thrombin generation during steady state and vaso-occlusive crisis in sickle cell mice. *Blood* (2016);128(22):162.
108. Yang A, Wu Y. Coagulation Factor XII plays an important role in procoagulant activity of apoptotic cells. *Blood* 2018;132(Suppl1):2457.
109. Stavrou E, LaRusch GA, Fullana MJ et al. Factor XII promotes leukocyte inflammation and its deficiency results in faster wound healing. *Blood* 2011;118(21):368.
110. Egberg N, Overmark-Berggren I. Assay for Hageman factor (FXII) in human plasma by means of chromogenic substrate for plasma kallikrein. *Thromb Res* 1983;31:875-881.
111. Gallimore MJ, Harris SL, Jones DW et al. Plasma levels of factor XII, prekallikrein and high molecular weight kininogen in normal blood donors and patients having suffered venous thrombosis. *Thromb Res* 2004;114(2):91-6.
112. Verma PS, Adams RG, Miller RL. Reduced plasma kininogen concentration during sickle cell crisis. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1983;41:313–22.
113. Srisikandan S, Cohen J. Kallikrein-kinin system activation in streptococcal toxic shock syndrome. *Clin Infect Dis*. 2000;30(6):961-2.
114. Aasen AO, Erichsen NS, Gallimore MJ et al. Studies on components of the plasma kallikrein-kinin system in plasma samples from normal individuals and patients with septic shock. *Adv Shock Res* 1980;4:1-10.
115. Willemin WA, Fijnvandraat K, Derkx BH et al. Activation of the intrinsic pathway of coagulation in children with meningococcal septic shock. *Thromb Haemos* 1995;74(6):1436-41.

116. Coppola R, Cristilli P, Cugno M et al. Measurement of activated factor XII in health and disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996;7(5):530-5.
117. Gallimor MJ, Jones DW, Wendel HP. A chromogenic substrate assay kit for factor XII: evaluation and use for the measurement of factor XII levels in cardiopulmonary bypass patients. *Thromb Res* 1999;94(2):103-9.
118. Bach J, Endler G, Winkelmann BR et al. Coagulation factor XII (FXII) activity, activated FXII, distribution of FXII C46T gene polymorphism and coronary risk. *J Thromb Haemost* 2008;6(2):291-6.
119. Deutsch E, Dragosics B, Kopsa H et al. Prekallikrein, HMW-kininogen and factor XII in various disease states. *Thromb Res* 1983;31(2):351-64.
120. Gobel K, Eichler S, Wiendl H, et al. The coagulation factors fibrinogen, thrombin and factor XII in inflammatory disorders-a systematic review. *Front Immunol* 2018 Jul 26;9:1731.
121. Ziliotto N, Baroni M, Straudi S et al. Coagulation factor XII levels and intrinsic thrombin generation in multiple sclerosis. *Front Neurol* 2018;9:245.
122. Koc A, Gumruk F, Gurgey A. The effect of hydroxyurea on the coagulation system in sickle cell anemia and beta-thalassemia intermedia patients: a preliminary study. *Pediatr Hematol Oncol* 2003;20(6):429-34.
123. Brewin J, Tewari S, Menzel S et al. The effects of hydroxycarbamide on the plasma proteome of children with sickle cell anaemia. *Br J Haematol* 2019;186(6):879-86.
124. Davalos D, Akassoglou K. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Semin Immunopathol* 2012;34(1):43-62.
125. Adams RA, Schachtrup C, Davalos D et al. Fibrinogen signal transduction as a mediator and therapeutic target in inflammation: Lessons from multiple sclerosis. *Curr Medicinal Chemistry* 2007;14:2925-2936.
126. Luyendyk JP, Schoenecker JG, Flick MJ. The multifaceted role of fibrinogen in tissue injury and inflammation. *Blood* 2019;133(6):511-520.
127. Vidal B, Serrano AL, Tjwa M et al. Fibrinogen drives dystrophic muscle fibrosis via a TGF β /alternative macrophage activation pathway. *Genes Dev* 2008;22(13):1747–1752.
128. Sorensen I, Susnik N, Inhester T et al. Fibrinogen, acting as a mitogen for tubulointerstitial fibroblasts, promotes renal fibrosis. *Kidney Int* 2011;80(10):1035-44.
129. Powars D, Weidman JA, Odom-Maryon T et al. Sickle cell chronic lung disease: prior morbidity and the risk of pulmonary failure. *Medicine (Baltimore)* 1988;67(1):66-76.
130. Field JJ, Burdick MD, DeBaun MR et al. The role of fibrocytes in sickle cell lung disease. *PLoS One* 2012;7(3): e33702.
131. Karafin MS, Dogra S, Rodeghier M et al. Increased circulating fibrocytes are associated with higher reticulocyte percent in children with sickle cell anemia. *Pediatr Pulmonol* 2016;51(3):295-9.
132. Bauer TW, Moore GW, Hutchins GM. The liver in sickle cell disease: A clinicopathologic study of 70 patients. *Am J Med* 1980;69(6):833-7.
133. Pinto VM, Gianesin B, Balocco M et al. Noninvasive monitoring of liver fibrosis in sickle cell disease: Longitudinal observation of a cohort of adult patients. *Am J Hematol* 2017;92(12):E666-E668.
134. Niss O, Fleck R, Makue F et al. Association between diffuse myocardial fibrosis

- and diastolic dysfunction in sickle cell anemia. *Blood* 2017;130: 205–213.
135. Alsaied T, Niss O, Tretter JT et al. Left atrial dysfunction in sickle cell anemia is associated with diffuse myocardial fibrosis, increased right ventricular pressure and reduced exercise capacity. *Sci Rep* 2020;10(1):1767.
 136. Wygrecka M, Jablonska E, Henneke I et al. Coagulation factor XII mediates fibrotic response to lung injury. *Pneumologie* 2015;69-P05.
 137. Wong M, Jaffar J, MacMillan M et al. CSL312, a novel anti-FXII antibody, blocks FXII-induced IL-6 production from primary non-diseased and idiopathic pulmonary fibrosis fibroblasts. *Am J Resp Crit Care Med* 2020;201:A6363.
 138. Hess R, Wujak L, Hesse C et al. Coagulation factor XII regulates inflammatory responses in human lungs. *Thromb Haemost* 2017;117(10):1896-1907.
 139. Elwakiel A, Shahzad K, Rana R et al. Coagulation factor XII signaling triggers inflammasome-associated renal damage in diabetic nephropathy [abstract]. *Res Pract Thromb Haemost*. 2020; 4 (Suppl 1).
 140. Nasimuzzaman M, Arumugam PI, Mullins ES et al. Elimination of the fibrinogen integrin $\alpha_M\beta_2$ -binding motif improves renal pathology in mice with sickle cell anemia. *Blood Adv* 2019;3(9):1519–1532.
 141. Heestermans M, Salloum-Asfar S, Streif T et al. Mouse venous thrombosis upon silencing of anticoagulants depends on tissue factor and platelets, not FXII or neutrophils *Blood* 2019;133(19):2090-2099.
 142. Hyung JA, Chen ZL, Zamolodchikov D et al. Interactions of β -amyloid peptide with fibrinogen and coagulation factor XII may contribute to Alzheimer's disease. *Curr Opin Hematol* 2017;24(5):427-431.
 143. Chen ZL, Revenko AS, Singh P et al. Depletion of coagulation factor XII ameliorates brain pathology and cognitive impairment in Alzheimer disease mice. *Blood* 2017;129(18):2547-2556.
 144. Mercer PF, Chambers RC. Coagulation and coagulation signalling in fibrosis. *Biochim Biophys Acta* 2013; PMID: 23298546 Review.
 145. Wong M, Jaffar J, MacMillan M et al. CSL312, a novel anti-FXII antibody, blocks FXII-induced IL-6 production from primary non-diseased and idiopathic pulmonary fibrosis fibroblasts. *Am J Resp Crit Care Med* 2020;201:A6363.
 146. Konings J 2014. The role of coagulation factor XII in fibrin clot formation and fibrinolysis. Maastricht University.
 147. Hattori N, Degen JL, Sisson TH et al. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in fibrinogen-null mice. *J Clin Invest* 2000;106(11): 1341–1350.
 148. Constantino B, Cogionis B. Nucleated RBCs—Significance in the peripheral blood film. *Lab Med* 2000;31(4):223.
 149. Shreier S, Triampo W. The blood circulating rare cell population. What is it and what is it good for? *Cells* 2020;9(4): 790.
 150. Menk M, Giebelhauser L, Vorderwulbecke G et al. Nucleated red blood cells as predictors of mortality in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): an observational study. *Ann Intensive Care* 2018;8(1):42.
 151. Ballantine JD, Kwon S, Liem R. Nucleated red blood cells in children with sickle cell disease hospitalized for pain. *J Pediatr Hematol Oncol* 2019;41(8):e487-e492.
 152. Chen J, Hobbs WE, Le J et al. The rate of hemolysis in sickle cell disease correlates with the quantity of active von Willebrand factor in the plasma. *Blood* 2011;117(13): 3680–3683.
 153. Chenou F, Hounkpe WE, Domingos I et al. Evaluation of markers of intravascular hemolysis and endothelial dysfunction in sickle cell anemia patients with and without hydroxyurea therapy. *Blood* 2019;134 (Supplement_1): 4826.
 154. Zhou Z, Han H, Cruz MA et al. Haemoglobin blocks von Willebrand factor proteolysis by ADAMTS-13: a mechanism associated with sickle cell disease. *Thromb Haemost* 2009;101(6):1070-7.

155. Sins JWR, Shimmel M, Luken BM et al. Dynamics of von Willebrand factor reactivity in sickle cell disease during vaso-occlusive crisis and steady state. *J Thromb Haemost* 2017;15(7):1392-1402.
156. Bartoli CR, Zhang D, Kang J et al. Clinical and in vitro evidence that subclinical hemolysis contributes to LVAD thrombosis. *Ann Thorac Surg* 2018;105(3):807-814.
157. Valladolid C, Yee A, Cruz MA. von Willebrand Factor, free hemoglobin and thrombosis in ECMO. *Front Med* 2018;5: 228.
158. Su P, Hong L, Zhao Y et al. The association between hyperuricemia and hematological indicators in a chinese adult population. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(7):e2822.
159. Kocaman SA, Sahinarslan A, Cemri M et al. Independent relationship of serum uric acid levels with leukocytes and coronary atherosclerotic burden. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19(10):729-35.
160. Ruggiero C, Cherubini A, Ble A et al. Uric acid and inflammatory markers. *Eur Heart J* 2006;27:1174e81.
161. Stelmach MJ, Szczerbinski L, Wasilewska N et al. Hematological parameters in adolescents with hyperuricemia. *Indian Pediatr* 2014;51(12):1003-5.
162. Shander A, Javidroozi M, Ozawa S et al. What is really dangerous: anemia or transfusion? *Br J Anaesth* 2011;107Suppl 1:i41-59.
163. Marik PE, Corwin HL. Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature. *Crit Care Med* 2008;36(9):2667-74.
164. Carson JL, Grossman BJ, Kleinman S et al. Red blood cell transfusion: a clinical practice guideline from the AABB. *Ann Intern Med* 2012;157(1):49-58.
165. Leahy MF, Hofmann A, Towler S et al. Improved outcomes and reduced costs associated with a health-system-wide patient blood management program: a retrospective observational study in four major adult tertiary-care hospitals. *Transfusion* 2017;57(6):1347-1358.
166. Garraud O, Tariket S, Sut C et al. Transfusion as an inflammation hit: knowns and unknowns. *Front Immunol* 2016;7:534.
167. Lannan KL, Sahler J, Spinelli SL et al. Transfusion immunomodulation--the case for leukoreduced and (perhaps) washed transfusions. *Blood Cells Mol Dis* 2013;50(1):61-8.
168. Remy K, Hall MW, Cholette J et al. Mechanisms of red blood cell transfusion-related immunomodulation. *Transfusion* 2018;58:804–815.
169. Hod EA. Red blood cell transfusion-induced inflammation: myth or reality. *ISBT Sci Ser* 2015;10(Suppl 1):188-191.
170. Youssef LA, Spitalnik SL. Transfusion-related immunomodulation: A reappraisal. *Curr Opin Hematol* 2017;24(6):551-557.
171. Zhou Z, Yee DL, Guchheit P. Molecular link between intravascular hemolysis and vascular occlusion in sickle cell disease. *Curr Vasc Pharmacol* 2012;10(6):756-61.
172. Wick TM, Moake JL, Udden MM, et al. Unusually large von Willebrand factor multimers increase adhesion of sickle erythrocytes to human endothelial cells under controlled flow. *J Clin Invest* 1987;80(3):905-910.

7. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

7.1 ΕΝΤΥΠΟ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΑΣΘΕΝΩΝ

ΕΝΤΥΠΟ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΤΟΠΙΝ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗΣ

ΤΙΤΛΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ “ΕΠΙΠΕΔΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ XII ΣΕ ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ”

A. ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Σκοπός της μελέτης στην οποία σας καλούμε να συμμετάσχετε είναι να κατανοήσουμε καλύτερα το ρόλο του παράγοντα XII, ενός από τους παράγοντες που συμμετέχουν στη διαδικασία πήξης του αίματος και σχηματισμού θρόμβων, σε άτομα με δρεπανοκυτταρική νόσο. Η δρεπανοκυτταρική νόσος αποτελεί ένα μοντέλο νόσου όπου φλεγμονή και θρόμβωση στα μικρά αιμοφόρα αγγεία συνυπάρχουν και ευθύνονται πιθανότατα για τις επιπλοκές και τις χρόνιες βλάβες των οργάνων. Ο παράγοντας πήξης XII συμμετέχει στον ανθρώπινο οργανισμό τόσο σε διαδικασίες θρόμβωσης όσο και φλεγμονής. Η εξακρίβωση του ρόλου του σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο θα ήταν χρήσιμη, και θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη πιθανών θεραπειών για τις κρίσεις ή τις χρόνιες επιπλοκές της νόσου.

Η μελέτη αποτελεί το θέμα της διπλωματικής μου εργασίας στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών “Θρόμβωση-Αιμορραγία-Ιατρική των Μεταγγίσεων” το οποίο παρακολουθώ και δεν χρηματοδοτείται από καμιά εταιρεία.

Πρόκειται για μελέτη καταγραφής κλινικών χαρακτηριστικών (επώδυνες κρίσεις, επιπλοκές, είδος θεραπείας) των ασθενών με δρεπανοκυτταρική αναιμία και λήψης δειγμάτων αίματος για μέτρηση του παράγοντα πήξης XII. Η συλλογή και καταγραφή των πληροφοριών που αφορούν το ιστορικό σας και των δειγμάτων αίματος θα γίνει σε μια τυπική επίσκεψή σας στο τμήμα και μόνο αφού έχετε δώσει τη συγκατάθεσή σας. Σε περίπτωση που προσέλθετε με επώδυνη κρίση θα γίνει αιμοληψία για εκ νέου μέτρηση του παράγοντα. Οι πληροφορίες από το ιστορικό θα καταγράφονται σε ηλεκτρονικό αρχείο και τα δείγματα αίματος θα αποσταλούν στο εργαστήριο όπου θα γίνει η μέτρηση του παράγοντα (Αρεταίειο Νοσοκομείο).

Δεν θα υπάρξει οικονομικό κόστος για εσάς από τη συμμετοχή σας στη μελέτη.

Έχετε κάθε δικαίωμα να αρνηθείτε τη συμμετοχή σας στη μελέτη. Η άρνησή σας να συμμετάσχετε δεν συνεπάγεται οποιαδήποτε αλλαγή στη συνηθισμένη παροχή φροντίδας και αντιμετώπισης της νόσου σας. Το ίδιο ισχύει και εφόσον για οποιοδήποτε λόγο θελήσετε να αποσύρετε την συγκατάθεσή σας. Τα δεδομένα που θα συλλεχθούν θα αναλυθούν στο τέλος της μελέτης

σύμφωνα με τη νομοθεσία περί προστασίας των προσωπικών δεδομένων. Πρόσβαση στα δεδομένα θα έχουν μόνο οι ιατροί που συμμετέχουν στη μελέτη. Σε κανένα αρχείο δε θα γίνεται αναφορά στο όνομά σας, αυτό θα έχει αντικατασταθεί από τα αρχικά του ονοματεπώνυμού σας και από έναν αριθμό.

B. ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ

Ο/Η κάτωθι υπογεγραμμένος/η..... δηλώνω ότι συγκατατίθεμαι να συμμετάσχω στη μελέτη “Επίπεδα παράγοντα XII σε δρεπανοκυτταρικούς ασθενείς” και να χρησιμοποιηθούν βιολογικά δείγματα και κλινικές πληροφορίες που αφορούν την πορεία της νόσου μου για ερευνητικούς-επιστημονικούς σκοπούς.

Η συγκατάθεσή μου δίνεται έχοντας διαβάσει και κατανοήσει τις προηγούμενες πληροφορίες και αφού απαντήθηκαν οι σχετικές απορίες μου.

Έχω αντιληφθεί ότι όλα τα προσωπικά μου στοιχεία θα παραμείνουν ανώνυμα με σεβασμό προς την προσωπικότητά μου.

Έχω καταλάβει ότι είμαι ελεύθερος να αποσύρω την συγκατάθεσή μου οποιαδήποτε στιγμή χωρίς αυτό να έχει αντίκτυπο στην καθιερωμένη ιατρική φροντίδα προς το πρόσωπό μου.

Υπογραφή συμμετέχοντα

Υπογραφή ιατρού
Καλκανά Χρυσούλα

Ημερομηνία --/--/----

Υπογράφηκαν δύο αντίγραφα. Το ένα αντίγραφο προορίζεται για τον ασθενή.

