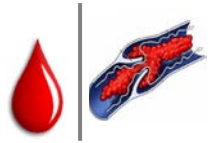




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΓΙΣΕΩΝ

Επιστημονική Υπεύθυνη: Ομότιμη Καθηγήτρια Ωρ. Σ. Τραυλού

Διπλωματική Εργασία

«Διαταραχές της αιμόστασης στους βαρέως πάσχοντες»

ΟΝΟΜΑ : ΝΤΟΥΕΝΑΣ ΣΕΣΙΛ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ : ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ κ. ΜΑΡΙΑΝΝΑ ΠΟΛΙΤΟΥ

Ακαδημαϊκό Έτος Εισαγωγής : 2015-2017

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Διαταραχές της αιμόστασης στους βαρέως
πάσχοντες**

Thesis

**Disorder of haemostatis in intensive care
patients**

Η παρούσα εργασία υποβάλλεται στα πλαίσια της ολοκλήρωσης των σπουδών για την απόκτηση μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών που απονέμει το τμήμα Ιατρικής στην *Θρόμβωση- Αιμορραγία- Ιατρική των Μεταγγίσεων*, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the Master degree of Science from the Medical School, in Thrombosis- Haemorrhage- Blood Transfusion Medicine at the National and Kapodistrian University of Athens.

Επιβλέπων/ Supervisor: Μαριάννα Πολίτου/ Marianna Politou

Όνομα φοιτήτριας/ Student's name: Ντουένας Σεσίλ/Duenas Cecille

Στοιχεία επικοινωνίας/ Contact information: sesilntouenas@yahoo.gr

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους ανθρώπους που με βοήθησαν και με στήριξαν σε όλα τα επίπεδα του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Αρχικά, θέλω να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην Διευθύντρια Αιμοδοσίας και Αιματολογικού Εργαστηρίου του Αρεταίειου Νοσοκομείου και Αναπληρώτρια καθηγήτρια, Κυρία Μαριάννα Πολίτου για την ιδιαίτερη βοήθεια και καθοδήγηση που μου παρείχε σε όλη την διάρκεια της εργασίας αυτής. Η ηθική υποστήριξη καθώς και το γνωστικό της υπόβαθρο στάθηκαν ικανά να με οδηγήσουν στη σωστή κατεύθυνση προκειμένου να επιτευχθούν οι ακαδημαϊκοί μου στόχοι. Ακόμα, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ και στους συναδέλφους μου στο εργαστήριο, στον καθένα ξεχωριστά για την πολύτιμη βοήθεια τους.

Επιπλέον, καθοριστικό ρόλο συνετέλεσε η συνεισφορά του Επ. καθηγητού Ιωάννη Βασιλιάδη, για τα στοιχεία των ασθενών της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας, και τον Αν. Καθ. Ευάγγελο Τέρπο, για την οικονομική του υποστήριξη στην έρευνα.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους διδάσκοντες του μεταπτυχιακού *‘Θρόμβωση-Αιμορραγία και Ιατρική των μεταγγίσεων’* που κατάφεραν να μας μεταδώσουν γνώσεις υψηλού επιπέδου που θα μπορέσουμε να τις χρησιμοποιήσουμε στην πορεία μας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, όχι μόνο για τον ενθαρρυντικό τους λόγο αλλά και για την ηθική και πνευματική υποστήριξη τους σε όλη την διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος. Έδειξαν βαθιά και πραγματική κατανόηση για τις ανάγκες μου συμμετέχοντας ενεργά στην εκπλήρωση των εκπαιδευτικών μου προσδοκιών.

Αθήνα, Ιούνιος 2017

*Στον σύζυγό μου Στέλιο και στα παιδιά μας
Θανάση και Βασιλική
για τα ανεξάντλητα αποθέματα αγάπης και
συμπάραστασης που μου προσφέρουν απλόχερα
όλα αυτά τα χρόνια.*

Περίληψη

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Αφορά στην μέτρηση επιπέδου θρομβομοντουλίνης (TM) σε ασθενείς Μονάδας Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) κατά την εισαγωγή τους εντός 24 ωρών στο νοσοκομείο.

Η θρομβομοντουλίνη (TM) είναι μεμβρανικός, γλυκοπρωτεϊνικός υποδοχέας που βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, ειδικά στην μικροκυκλοφορία, όπου δρα ως αντιπηκτικό. Κατά τη διάρκεια της σήψης, η έκφραση της TM στην επιφάνεια του ενεργοποιημένου ενδοθηλίου μειώνεται λόγω απόρριψης του μορίου και η συγκέντρωσή της στον ορό αυξάνει. Η αύξηση αυτή θεωρείται δείκτης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ενώ παράλληλα η TM θεωρείται ότι ασκεί προστατευτική δράση στο ενδοθήλιο κατά την σήψη. Τα επίπεδα της TM στην εξέλιξη της σήψης δεν έχουν επαρκώς μελετηθεί.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο έλεγχος της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, με τη μέτρηση των επιπέδων TM, σε ασθενείς της ΜΕΘ με εικόνα σοβαρής σήψης/σηπτικού shock, κατά την εισαγωγή και επί σημαντικής επιδείνωσης.

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ

Μελετήθηκαν 11 ασθενείς που εισήχθησαν στη ΜΕΘ δημόσιου νοσοκομείου από το Φεβρουάριο έως τον Μάρτιο του 2015. Ήταν 6 άνδρες και 5 γυναίκες, ηλικίας 70.55 ± 8.94 ετών με BMI 28.17 ± 6.46 Kg/m². Το APACHE εισαγωγής ήταν 22.45 ± 4.72 και το SOFA εισαγωγής 10.09 ± 3.42 . Οι ασθενείς είχαν εικόνα σοβαρής σήψης/σηπτικού shock και, παρά την εφαρμοζόμενη θεραπευτική αγωγή και την υποστήριξη των ζωτικών τους λειτουργιών, στη συνέχεια παρουσίασαν σημαντική επιδείνωση.

Ως επιδείνωση οριζόταν η αύξηση των αναγκών σε αγγειοδραστικά, κατά τον ορισμό των διαβαθμίσεων στο SOFA score, ή η αύξηση των

επιπέδων του γαλακτικού και η συνολική αύξηση του SOFA score. Οι 8 από τους ασθενείς είχαν λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού (με ταυτοποίηση του λοιμώδους αιτίου σε 2 από αυτούς: *Rhinovirus* και *Klebsiella pneumoniae*) ενώ οι υπόλοιποι παρουσίαζαν: λοιμώδη περικαρδίτιδα σε έδαφος καρκινωματώδους διασποράς, περιτονίτιδα μετά από διάτρηση στομάχου (από το περιτοναϊκό υγρό απομονώθηκαν *Staphylococcus aureus* και *Streptococcus anginosus*) και μεσοθωρακίτιδα (*Streptococcus constellatus*). Έγινε καταγραφή των βασικών κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων κατά την εισαγωγή και στο 24ωρο της επιδείνωσης ενώ μετρήθηκαν τα επίπεδα TM στον ορό των ασθενών τις ίδιες χρονικές στιγμές.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τους 11 ασθενείς οι 10 απεβίωσαν. Στον έλεγχο των ασθενών κατά τη φάση της επιδείνωσης παρατηρήθηκε, σε σχέση με την εισαγωγή, αύξηση του SOFA (12.18 ± 4.07 vs 10.09 ± 3.42 , $p=0.006$), αύξηση της μέσης δόσης νοραδρεναλίνης κατά τη διάρκεια του 24ώρου (0.424 ± 0.236 vs 0.185 ± 0.136 mcg/kg/min, $p=0.004$), αύξηση του αριθμού των λευκοκυττάρων (24797 ± 13465 vs 18271 ± 9269 /μl, $p=0.02$) και μείωση της αιμοσφαιρίνης (9.90 ± 1.45 vs 11.56 ± 1.85 g/dl, $p=0.004$) και του αριθμού των αιμοπεταλίων (161518 ± 127506 vs 254955 ± 119552 /μl, $p=0.064$). Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων του γαλακτικού οξέος (3.77 ± 3.20 vs 1.98 ± 0.96 mmol/l, $p=0.076$) και του ελλείμματος βάσης (1.69 ± 4.13 vs -4.12 ± 7.50 mmol/l, $p=0.075$) ενώ η συγκέντρωση της αλβουμίνης μειώθηκε σημαντικά (1.60 ± 0.46 vs 2.11 ± 0.96 g/dl, $p=0.011$). Τα επίπεδα θρομβομοντουλίνη στον ορό παρουσίασαν αύξηση, στα όρια της στατιστικής σημαντικότητας (10100.32 ± 6537.79 vs 7123.76 ± 3872.74 (pg/ml)·10, $p=0.087$) ενώ διαπιστώθηκαν ισχυρές, σημαντικές συσχετίσεις των επιπέδων θρομβομοντουλίνη κατά την εισαγωγή με το APACHE εισαγωγής ($r=0.696$, $p=0.017$), το SOFA στην εισαγωγή ($r=0.932$, $p<0.0001$) και τα επίπεδα αλβουμίνης (αρνητική συσχέτιση, $r=-0.547$, $p=0.08$). Στην επιδείνωση τα επίπεδα θρομβομοντουλίνης είχαν ισχυρή

συσχέτιση με το αντίστοιχο SOFA ($r=0.853$, $p=0.001$) και το έλλειμμα βάσης (αρνητική συσχέτιση, $r=-0.709$, $p=0.022$).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Τα επίπεδα θρομβομοντουλίνης αυξάνουν επί επιδείνωσης της αιμοδυναμικής αστάθειας και της ανεπάρκειας οργάνων και συστημάτων σε βαρέως πάσχοντες σηπτικούς ασθενείς ενώ παρουσιάζουν ισχυρή συσχέτιση με τα score βαρύτητας.

Abstract

Thrombomodulin (TM) is a membrane, glycoprotein receptor found on the surface of endothelial cells in large amounts, especially in the microcirculation, which acts as an anticoagulant. During sepsis, expression of TM on the surface of the activated endothelial decreases due to discharge of the molecule while its concentration in serum increases. This indicates an endothelial dysfunction while TM is thought to exert a protective effect on the endothelium during sepsis. The levels of TM in the development of sepsis have not been adequately studied.

The purpose of this study was to evaluate the endothelial dysfunction by measuring TM levels in ICU patients with severe sepsis / septic shock, at admission and for significant deterioration.

METHODS

11 patients admitted to the ICU of a public hospital from February to March of 2015 were studied, of whom six were men and five were women, Median age was 70.55 ± 8.94 years and the BMI was 28.17 ± 6.46 Kg / m². APACHE SCORE on admission was 22.45 ± 4.72 and SOFA SCORE admission was 10.09 ± 3.42 . Patients had severe sepsis / septic shock, and despite of the applied treatment and support of their vital functions, they showed a significant deterioration.

This deterioration was defined as an increase in the need for vasoactives or an increase in lactate levels, and an overall increase in SOFA score. Eight (8) of the patients had lower respiratory tract infection (with identification of the infectious cause in two of them: Rhinovirus and Klebsiella pneumoniae) while the rest of them showed: infectious pericarditis in soil cancerous dispersion, peritonitis after gastric perforation (from peritoneal fluid isolated Staphylococcus aureus and Streptococcus anginosus) and mediastinitis (Streptococcus constellatus). Recording of basic clinical and laboratory parameters during their admission and the 24-hour deterioration was done while TM levels were measured in serum of patients at the same time.

RESULTS

Among eleven patients ten of them pass away. During patient follow up in the phase of deterioration. a) we found an increase of SOFA SCORE (12.18 ± 4.07 vs 10.09 ± 3.42 , $p = 0.006$), in relation to their admission, b) increase of the average noradrenaline dose during a 24 hour period (0.424 ± 0.236 vs 0.185 ± 0.136 mcg / kg / min, $p = 0.004$) c) increase of the leukocytes number (24797 ± 13465 vs 18271 ± 9269 /ML, $p = 0.02$) and d) a decrease in hemoglobin (9.90 ± 1.45 vs 11.56 ± 1.85 g /dl, $p = 0.004$) and platelet count (161518 ± 127506 vs 254955 ± 119552 / ML, $p = 0.064$). Also an increase of the levels of lactic acid (3.77 ± 3.20 vs 1.98 ± 0.96 mmol /l, $p = 0.076$) and base deficit (1.69 ± 4.13 vs -4.12 ± 7.50 mmol /l, $p = 0.075$) was observed, while the concentration of albumin decreased significantly (1.60 ± 0.46 vs 2.11 ± 0.96 g / dl, $p = 0.011$). The levels of thrombomodulin in serum increased, within the limit of statistical significance (10100.32 ± 6537.79 vs 7123.76 ± 3872.74 (pg / ml) · 10, $p = 0.087$) while strong, significant correlations of thrombomodulin levels on patients admission by the APACHE SCORE ($r = 0.696$, $p = 0.017$), the admission the SOFA SCORE ($r = 0.932$, $p < 0.0001$) and albumin levels (negative correlation, $r = -0.547$, $p = 0.08$) was found. At the time of deterioration thrombomodulin levels had a strong association with the corresponding SOFA ($r = 0.853$, $p = 0.001$) and base deficit (negative correlation, $r = -0.709$, $p = 0.022$).

CONCLUSIONS

Thrombomodulin levels increase at the time of deterioration hemodynamic instability and organ failure and systems in critically ill septic patients while showing strong correlations with the severity scores.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες.....	iv
Περίληψη.....	viii
Abstract.....	xii

ΚΕΦΑΛΑΙΟ I

1. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΣΤΟΥΣ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ.....	1
1.1 ΓΕΝΙΚΑ.....	1
1.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ.....	1
1.2.1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ.....	2
1.3 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΣΤΟΥΣ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ.....	3
1.4 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΣΤΗ ΣΗΨΗ.....	5
1.4. 1 ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΘΡΟΜΒΙΝΗΣ.....	5
1.4.2 ΑΝΕΠΑΡΚΗΣ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ.....	5
1.4.3 ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ,ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΙΝΗΣ, ΠΡΩΤΕΙΝΗ C (AT,PrC).....	6
1.4.4 ΤΡΑΥΜΑ/ΕΥΚΑΥΜΑ.....	7
1.4. 5 ΔΙΑΧΥΤΗ ΕΝΔΑΓΓΕΙΑΚΗ ΠΗΞΗ (Δ.Ε.Π.).....	9
1.4.5.1 ΟΡΙΣΜΟΣ.....	9
1.4.5.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ DIC.....	9
1.4.5.3 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΣΗΠΤΙΚΗ/ DIC.....	9
1.4.5.4 ΣΥΣΤΗΜΑ ΒΑΘΜΟΛΟΓΗΣΗΣ.....	10
1.4.5.5 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΔΙΑΧΥΤΗ ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΗ ΠΗΞΗ (DIC).....	12
1.4.5.6 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	13
1.5 ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΕΙΑ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ (MODS).....	14

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

2. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ.....	15
2.1 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΠΗΞΗΣ.....	15
2.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΠΗΚΤΙΚΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ.....	17
2.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΠΗΞΗΣ.....	19
2.4 ΜΟΝΤΕΛΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΕΚΒΑΣΗΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΣΤΗ ΣΗΨΗ.....	21
2.4.1 S.O.F.A SCORE.....	22
2.4.1.1 S.O.F.A. SCORING SYSTEM (ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ S.O.F.A.).....	23

2.4.1.2. ΓΡΗΓΟΡΟ SOFA SCORE	24
2.4.1.3 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ TOTAL SCORE ΚΑΙ ΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ	25
2.4.2 APACHE II SCORE.....	26
2.4.2.1 APACHE SCORING SYSTEM (ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ APACHE II)	28

ΚΕΦΑΛΑΙΟ III

3. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΣΗΨΗ/ΦΛΕΓΜΟΝΗ	31
3.1 ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ.....	31
3.1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ	31
3.1.2 ΔΕΙΚΤΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	31
3.2 ΣΗΨΗΣ	32
3.2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ	32
3.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΣΗΨΗ	33
3.4 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΗ ΣΗΠΤΙΚΗ/DIC.....	34
3.4.1 ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΙΝΗ (ΑΤ)	35
3.4.2 ΗΠΑΡΙΝΗ	35
3.4.3 ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗ (ΤΜ)	36

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

4. ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗ.....	37
4.1 ΟΡΙΣΜΟΣ	37
4.2 ΔΟΜΗ.....	38
4.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ.....	40
4.4 ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΗ ΙΔΙΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗΣ.....	41
4.5 ΑΝΤΙ-ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΜΔ1(KNOCK-OUT).....	42
4.6 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗΣ.....	45
4.6.1 ΤΜ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	49
4.6.2 ΤΜ ΣΗΨΗ.....	51
4.6.3 ΤΜ ΣΤΗΝ A.R.DS (Σύνδρομο Οξείας Αναπνευστικής Δυσχέρειας).....	54
4.6.4 ΤΜ ΚΑΙ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΟΝΕΦΡΙΤΙΔΑ.....	55

4.6.5 ΤΜ ΚΑΙ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ.....	57
4.6.6 Η ΤΜ ΣΤΙΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΕΣ.....	58
4.6.7 ΤΜ ΣΤΗ ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΦΛΕΓΜΟΝΟΔΩΝ ΚΑΙ ΑΘΗΡΟΘΡΟΜΒΟΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ.....	58
4.6.8 ΤΜ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ (from bench to bedside.).....	59
4.6.9 ΤΜ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ.....	59
4.7. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΜ.....	61
4.8 ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	62

ΚΕΦΑΛΑΙΟ V ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	63
5.2 ΜΕΘΟΔΟΣ - ΥΛΙΚΑ.....	63
5.3 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ.....	75
5.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	78
5.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	78
5.6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	79
ABBREVIATION.....	86
BIBLIOΓΡΑΦΙΑ.....	90

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

1. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΣΤΟΥΣ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ

Οι διαταραχές του πηκτικού μηχανισμού εμφανίζονται πολύ συχνά στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς, οι οποίες μπορεί να οφείλονται σε κληρονομικά ή επίκτητα αίτια. Ένα ποσοστό περίπου 13 % των ασθενών που νοσηλεύονται σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) θα εμφανίσει κάποιο κλινικό συμβάν σχετιζόμενο με διαταραχή του πηκτικού μηχανισμού, ενώ 60 % των ασθενών θα παρουσιάσει εργαστηριακά ευρήματα συμβατά με τέτοιες διαταραχές (π.χ., παράταση του χρόνου προθρομβίνης)¹. Η εμφάνιση διαταραχών της ομοιοστασίας του πηκτικού μηχανισμού σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα και νοσηρότητα. Σε αυτή την περίπτωση χρειάζεται έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπισή, είτε με χρήση αντιθρομβωτικών είτε αντιπηκτικών φαρμάκων. Σήμερα έχει οδηγήσει στην αύξηση της επίπτωσης των σοβαρών αιμορραγιών, που είναι η πιο συχνή τους επιπλοκή, καθιστώντας αναγκαία πολλές φορές την άμεση παρέμβαση για την αντιστροφή της δράσης τους²⁻³

1.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ

Ο μηχανισμός της πήξης και η αιμόσταση αποτελούν ένα περίπλοκο σύστημα του οργανισμού που έχει ως στόχο την επούλωση των αγγειακών βλαβών, την αποφυγή θρομβώσεων, άλλα και τη διατήρηση της περίπλοκης ομοιοστασίας της πήξης. Σε περίπτωση αγγειακής βλάβης, η ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης διακρίνεται σε τρία στάδια:

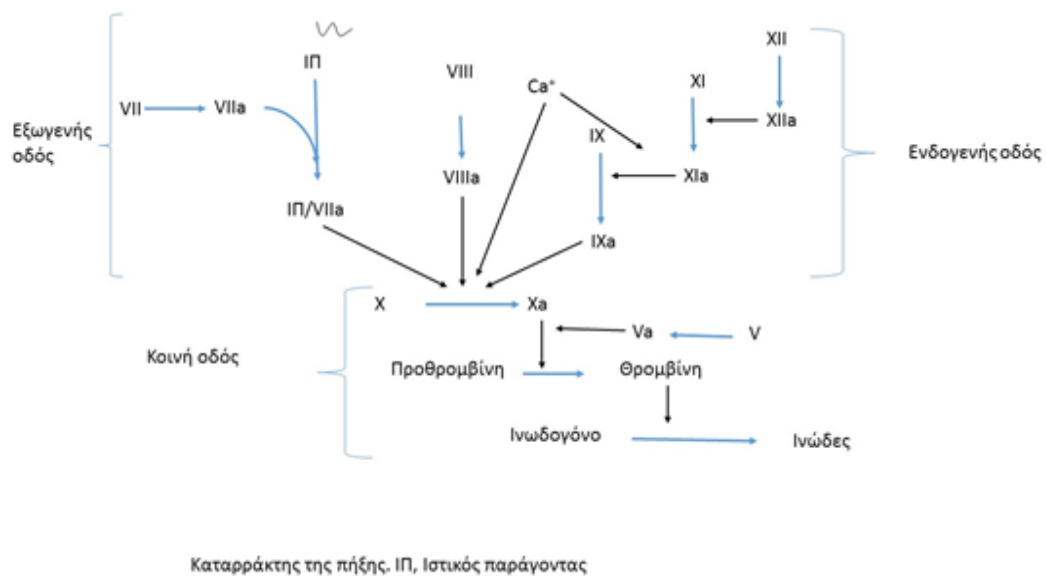
Το **πρώτο στάδιο**, είναι αυτό της αγγειοσύσπασης, ενεργοποιείται από νευρογενή αντανακλαστικά, και έχει ως στόχο τον περιορισμό της απώλειας του αίματος.

Το **δεύτερο στάδιο**, είναι το στάδιο του σχηματισμού του αιμοπεταλιακού θρόμβου (ή αλλιώς, το στάδιο της πρωτογενούς αιμόστασης). Σ' αυτό το στάδιο υπάρχει ενεργοποίηση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων, καθώς και πρόσδεσή τους τόσο στο τραυματισμένο ενδοθήλιο όσο και μεταξύ τους, με τελικό αποτέλεσμα τον σχηματισμό του προσωρινού αιμοπεταλιακού θρόμβου. Σημαντικό ρόλο στο συγκεκριμένο στάδιο διαδραματίζει η θρομβοξάνη A2 και ο παράγοντας von Willebrand (vW).

Το **τρίτο στάδιο** και τελευταίο, περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης με τον σχηματισμό της ινικής και τη μονιμοποίηση του θρόμβου. Ο καταρράκτης της πήξης αποτελείται από δύο οδούς, την ενδογενή, και την εξωγενή που καταλήγουν σε μια κοινή. Αυτές οι οδοί χαρακτηρίζονται από μια σειρά ενζυμικών αντιδράσεων με τη συμμετοχή διαφόρων παραγόντων πήξης και τελικό αποτέλεσμα τον σχηματισμό της θρομβίνης, η οποία μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινική.⁴

Η *ενδογενής οδός*, ενεργοποιείται κατά την επαφή με μια αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια, αρχίζει με την ενεργοποίηση του παράγοντα XII και τη μετέπειτα διαδοχική ενεργοποίηση των παραγόντων XI, IX, X, μια αντίδραση που απαιτεί τη συμμετοχή του παράγοντα VIIIa.

Η *εξωγενής οδός*, αρχίζει με τον σχηματισμό του συμπλέγματος του ιστικού παράγοντα (ο οποίος εκφράζεται στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αγγειακών κυττάρων) με τον παράγοντα VIIa, το οποίο με τη σειρά του θα ενεργοποιήσει τον παράγοντα X. Με την ενεργοποίηση του παράγοντα αυτού ξεκινά και η κοινή οδός του καταρράκτη της πήξης με το παράγοντα Xa να μετατρέπει, με τη βοήθεια του παράγοντα Va, την προθρομβίνη σε θρομβίνη και αυτή, με τη σειρά της, να μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινική (Εικόνα 1). Η διαταραχή σε οποιαδήποτε φάση του πήκτικού μηχανισμού μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή της ισορροπίας της αιμόστασης, καταλήγοντας είτε σε θρομβωτική είτε σε αιμορραγική προδιάθεση.⁴



Εικόνα 1. Καταρράκτης της πήξης

1.2.1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ

Η διαδικασία της πήξης συντελείται σε τρεις αλληλεπικαλυπτόμενες φάσεις, (*έναρξη-ενίσχυση-εξάπλωση*) που συμβαίνουν στην κυτταρική μεμβράνη διαφόρων κυττάρων, τα οποία παρέχουν ως υπόστρωμα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια και στα οποία συνδέονται τα προπηκτικά συμπλέγματα των πρωτεϊνών της πήξης (κυτταρικό μοντέλο της

πήξης). Το ερέθισμα έναρξης της πήξης είναι ο ιστικός παράγοντας. Μαζί με τον παράγοντα VIIa ενεργοποιούν, τόσο τον παράγοντα IX, όσο και το σύμπλοκο προθρομβινάσης πάνω στα ΑΜΠ, και καταλύουν τη μετατροπή μικρών ποσοτήτων προθρομβίνης σε θρομβίνη. Η προαγωγή της πήξης ενισχύεται περαιτέρω από μηχανισμούς θετικής ανάδρασης. Συγκεκριμένα, οι μικρές αυτές ποσότητες θρομβίνης είναι ικανές να ενεργοποιήσουν αναδραστικά: **(α)** τα αιμοπετάλια, **(β)** τον FVIII με αποτέλεσμα αυτός να αποσυνδέεται από τον παράγοντα von Willebrand (vWF) με τον οποίο κυκλοφορεί ως σύμπλεγμα, **(γ)** τον παράγοντα V, οποίος εκκρίνεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και **(δ)** τον παράγοντα XI.

Επιπλέον, τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια, στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, προσφέρουν το έδαφος για τον ενεργοποιημένο από τη θρομβίνη FIXa παράγοντα, να σχηματίσει σύμπλεγμα με το συμπαραγοντά του FVIIIa (σύμπλεγμα τενάσης). Το σύμπλεγμα αυτό έχει τη δυνατότητα να μετατρέπει μεγαλύτερες ποσότητες FX σε FXa, να ενεργοποιεί το σύμπλοκο προθρομβινάσης, και άρα να προωθεί τη δημιουργία μεγαλύτερων ποσοτήτων θρομβίνης.⁵

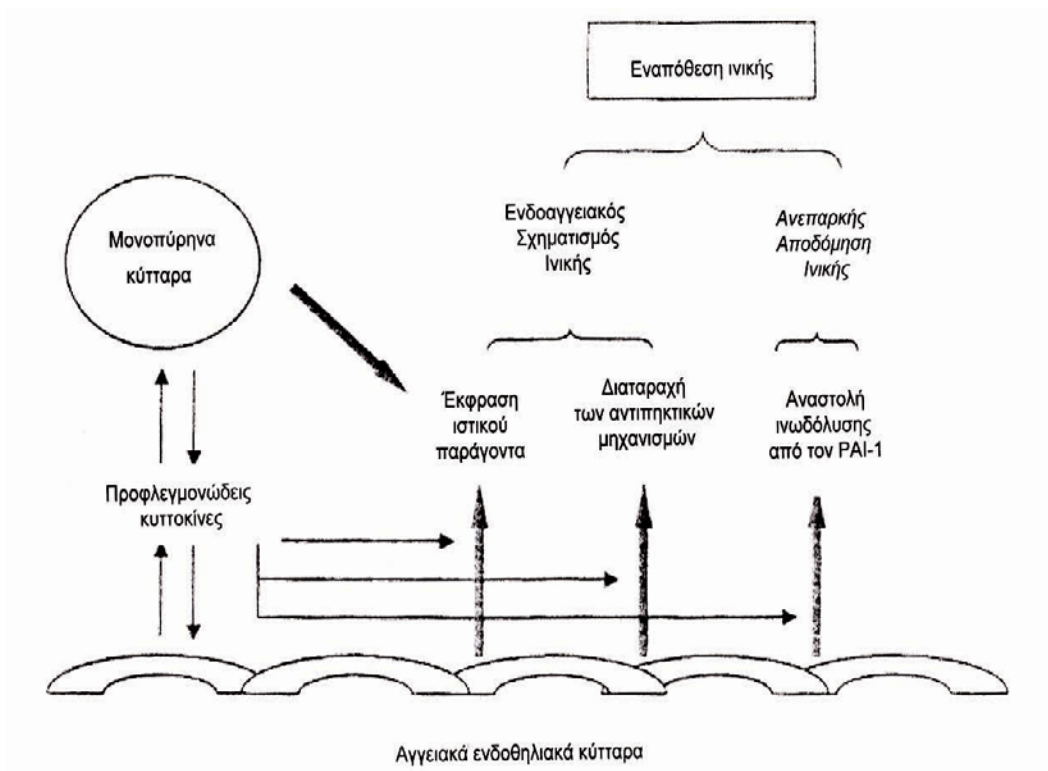
Συνοψίζοντας, το κυτταρικό μοντέλο της πήξης, όλη η διαδικασία της αλληλοδιάδοξης ενεργοποίησης των παραγόντων πήξης λαμβάνει χώρα σε επιφάνειες αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων. Η θρομβίνη είναι το μόριο κλειδί, που με θετικούς και αρνητικούς αναδραστικούς μηχανισμούς ελέγχει τόσο την παραγωγή του θρόμβου, όσο και τη διάλυσή του σε περιπτώσεις υπέρμετρης παραγωγής. Ο βασικός εργαστηριακός έλεγχος αιμόστασης περιλαμβάνει τη μέτρηση των αιμοπεταλίων, του χρόνου προθρομβίνης (PT), του χρόνου ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης (αΡΤΤ) και του ινωδογόνου.⁵

1.3 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΣΤΟΥΣ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Η ενεργοποίηση του συστήματος πήξης παρατηρείται συχνά στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς μετά από σήψη, τραύμα, έγκαυμα. Οι διαταραχές στην ισορροπία των προπηκτικών και ινωδολυτικών παραγόντων οδηγούν στην κατάσταση η οποία κλινικά εμφανίζεται ως διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC). Στην παθογένεια της διαταραχής, θεμελιώδης είναι η επαφή του αίματος με τον ιστικό παράγοντα (TF) στα σημεία βλάβης του ενδοθηλίου με επακόλουθο την ενεργοποίηση της πήξης και παραγωγή θρομβίνης. Τα συνηθέστερα αίτια που συμβάλλουν στην επαφή του αίματος με τον TF και στην ενεργοποίηση της ομοιόστασης είναι τα παρακάτω:

- Μηχανική καταστροφή του ιστού και απελευθέρωση του TF (τραύμα)
- Μηχανική ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από τεχνητή επιφάνεια ή ανώμαλο ενδοθήλιο (καρδιοπνευμονική παράκαμψη, ανεύρυσμα αορτής)
- Απελευθέρωση προπηκτικών ουσιών, όπως TF, TNF-α, καρκινικές πρωτεάσες (κακοήθη νοσήματα)
- Απελευθέρωση ενδοτοξινών (λοιμώξεις, σήψη, έγκαυμα)
- Ενεργοποίηση του συμπληρώματος και του TF με ανοσολογικούς μηχανισμούς (αλλεργικές αντιδράσεις, μετάγγιση μη συμβατού αίματος)⁶

Στην παθογένεση της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς παίζουν σημαντικό ρόλο οι μηχανισμοί οι οποίοι περιγράφονται στην (εικόνα 2.) Η εναπόθεση του ινώδους είναι αποτέλεσμα της εξαρτώμενης από τον ιστικό παράγοντα παραγωγής θρομβίνης. Η διαδικασία αυτή αναστέλλεται ανεπαρκώς από το σύστημα φυσικών αναστολέων πήξης (AT, PrC). Επιπροσθέτως, το σύστημα αποδόμησης του ινώδους πάσχει λόγω της μειωμένης δραστηριότητας του ινωδολυτικού συστήματος, και κυρίως, λόγω της μείωσης των επιπέδων του αναστολέα ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1).



Εικόνα 2. Σχηματική παρουσίαση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης. Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες των προφλεγμονωδών κυτοκινών, οι οποίες με τη σειρά τους οδηγούν στην ενεργοποίηση της πήξης. Η ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού προκαλείται από την αύξηση της έκφρασης του ιστικού παράγοντα στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών και μονοκύτταρων κυττάρων. Η αναστολή της ινωδολύσης και η μειωμένη δραστηριότητα των φυσικών αναστολέων πήξης συμβάλλουν στην παραγωγή και εναπόθεση του ινώδους στο αγγειακό δίκτυο.⁷

1.4 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΣΤΗ ΣΗΨΗ

1.4.1 ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΘΡΟΜΒΙΝΗΣ

Η απελευθέρωση της συστηματικής κυκλοφορίας των προφλεγμονωδών κυτοκινών προκαλεί την ενεργοποίηση της πήξης. Οι παράγοντες φλεγμονής, όπως TNF-α, IL-1, IL-6, και IL-8, προάγουν την έκφραση του ιστικού παράγοντα.⁸ Η ενεργοποίηση της πήξης στη φλεγμονή μπορεί να αποδειχθεί από τα υψηλά επίπεδα TF και τα χαμηλά επίπεδα FVII, δείχνοντας έτσι την κατανάλωση του παράγοντα αυτού. Ο μεσολαβητής της φλεγμονής TNF-α *per se* ενεργοποιεί τη σύνθεση του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1) που είναι ένας ιδιαίτερα αποτελεσματικός ανασταλτικός παράγοντας της ινωδολύσης.

Η έκφραση του αναστολέα του ιστικού παράγοντα (TFPI) παρουσιάζει μόνο μία μικρή αύξηση από την επίδραση της ενδοτοξίνης στη σήψη και συνεπώς, η αυξημένη παραγωγή του ιστικού παράγοντα (TF) είναι σε θέση να προκαλέσει την ενεργοποίηση της πήξης. Η ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού σε ασθενείς με SIRS και σήψη διαπιστώνεται από τα υψηλά επίπεδα των προθρομβινικών θραυσμάτων 1 και 2 (F1+2), των D-διμερών και του συμπλέγματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης (TAT). Η υπερπαραγωγή της θρομβίνης είναι ιδιαίτερα επιβλαβής και προκαλεί τη διέγερση των προφλεγμονωδών διαδικασιών, την εναπόθεση του ινώδους στη μικροκυκλοφορία και την ανάπτυξη του συνδρόμου ανεπάρκειας ή δυσλειτουργίας οργάνων.

1.4.2 ΑΝΕΠΑΡΚΗΣ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ

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

Η *βακτηραιμία* και η *ενδοτοξιναιμία* οδηγούν στην αύξηση της ινωδολυτικής

δραστηριότητας λόγω της απελευθέρωσης των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου από τα κύτταρα του ενδοθηλίου. Η προινωδολυτική αυτή αντίδραση όμως, ακολουθείται σχεδόν αμέσως από την καταστολή του ινωδολυτικού συστήματος από τα αυξανόμενα επίπεδα του αναστολέα ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1 (PAI-1). Επίσης, έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA) στη σήψη και στη SIRS, η δράση του οποίου αντισταθμίζεται από τα αυξημένα επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1 (PAI-1). Παρατηρήθηκε, επίσης, ότι τα επίπεδα των t-PA και PAI-1 είναι υψηλότερα στους μη-επιβίωσαντες και τείνουν να φτάσουν στα κανονικά επίπεδα στους επιβίωσαντες από βαριά σήψη.⁸⁻⁹ Φαίνεται ότι η ινωδόλυση σε καταστάσεις SIRS (συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης), αν και είναι ενεργοποιημένη, δεν επαρκεί για να αντισταθμίσει το σχηματισμό του ινώδους. Η αυξημένη παραγωγή του ινώδους, η οποία σχετίζεται με την εξασθενημένη ινωδόλυση μπορεί να οδηγήσει σε δυσλειτουργία οργάνων και σε θάνατο σε ασθενείς με σήψη. Η πλήρης καταστολή της παραγωγής της θρομβίνης με αντισώματα έναντι του ιστικού παράγοντα στην ενδοτοξαιμία δεν επηρεάζει την ενεργοποίηση και την καταστολή του ινωδολυτικού συστήματος και αυτό αποδεικνύει την ανεξάρτητη ρύθμιση της θρομβογένεσης και της ινωδόλυσης.

1.4.3 ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ, ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΙΝΗΣ, ΠΡΩΤΕΪΝΗ C (AT, PrC)

Η ανεπαρκής δραστηριότητα των φυσικών αναστολέων πήξης επηρεάζει την παραγωγή της θρομβίνης και την εναπόθεση του ινώδους. Τα επίπεδα των αναστολέων πήξης (AT, PrC) είναι συνήθως χαμηλά σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς. Η μείωση των επιπέδων των αναστολέων πήξης προκαλείται από την συνδυασμένη δράση διάφορων διεργασιών, όπως:

- α)** η υπερκατανάλωσή τους λόγω αυξημένης παραγωγής θρομβίνης,
- β)** η αποδόμησή τους από τις ελασάσες του πλάσματος, οι οποίες απελευθερώνονται από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και
- γ)** η ανεπαρκής σύνθεσή τους.

Η θρομβίνη παράγεται και ανταγωνίζεται την αντιθρομβίνη, με αποτέλεσμα τα χαμηλά επίπεδα της AT στο αίμα των περισσότερων ασθενών με βαριά φλεγμονή. Μαζί με την υπερκατανάλωση παρατηρείται, επίσης και η καταστροφή της AT από τις πρωτεάσες των λευκοκυττάρων.

Στους ασθενείς με σήψη και SIRS παρατηρείται επίσης σημαντική μείωση των επιπέδων της πρωτεΐνης C, ιδιαίτερη μείωση της δραστηριότητας αναφέρεται στους μη-επιβιώσαντες. Τα χαμηλά επίπεδα πρωτεΐνης C είναι πιθανό να οφείλονται σε υπερκατανάλωση, καθώς και στη μειωμένη ενεργοποίησή της πρωτεΐνης C που οφείλεται στα χαμηλά επίπεδα της θρομβομοδουλίνης (TM) στην επιφάνεια των κυττάρων. Στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς με σήψη και SIRS παρατηρείται μείωση της έκφρασης της θρομβομοδουλίνης στα κύτταρα του ενδοθηλίου, λόγω της επίδρασης των προφλεγμονωδών κυτοκινών, όπως ο TNF-α και η IL-1. Περιγράφεται αύξηση των επιπέδων του πλάσματος της διαλυτής TM στους ασθενείς με σήψη. Η διαλυτή μορφή της TM, όμως, δεν είναι σε θέση να ενεργοποιήσει την πρωτεΐνη C με αποτελεσματικό τρόπο. Η μη φυσιολογική λειτουργία του ήπατος των ασθενών με φλεγμονή μπορεί επίσης να επηρεάσει τον πηκτικό μηχανισμό με τη μείωση της σύνθεσης των πρωτεϊνών πήξης (συμπεριλαμβανομένων και των αναστολέων πήξης) και τη μειωμένη κάθαρση των ενεργοποιημένων παραγόντων και συμπλεγμάτων ενζύμων-αναστολέων.⁸⁻⁹

1.4.4 ΤΡΑΥΜΑ/ΕΥΚΑΥΜΑ

Η θερμική κάκωση και το τραύμα συμβάλλουν στην ενεργοποίηση της πήξης και της ινωδόλυσης. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των αντιθρομβωτικών, προθρομβωτικών παραγόντων και ινωδολυτικών διαδικασιών στο αγγειακό δίκτυο ρυθμίζουν την ομοιόσταση του μηχανισμού πήξης. Αν και ο σχηματισμός των μικροθρόμβων είναι ένας σημαντικός μηχανισμός για τη διατήρηση της ακεραιότητας των αγγείων που περιβάλλουν τον τραυματισμένο ιστό, ο γενικευμένος συστηματικός σχηματισμός μικροθρόμβων οδηγεί σε δυσλειτουργία και σε ανεπάρκεια των οργάνων. Αυτό το φαινόμενο δυνητικά μπορεί να οδηγήσει σε κατάσταση υπερπηκτικότητας και διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης. Υποστηρίζεται η άποψη, ότι ο σχηματισμός και η εναπόθεση του ινώδους στο μικροαγγειακό δίκτυο κατά τη διάρκεια των πρώτων μετεγκαυματικών ημερών (που συνοδεύονται από μια σχετικά αναποτελεσματική ινωδόλυση, λόγω της σύνδεσης του t-PA με τις υψηλές συγκεντρώσεις του PAI-1) θα μπορούσε να παίζει έναν παθοφυσιολογικό ρόλο στην ανάπτυξη της ανεπάρκειας οργάνων μετά από το θερμικό τραύμα.

Υπάρχουν σημαντικές διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών πήξης μετά από έγκαυμα και τραύμα. Κατά τη διάρκεια της οξείας μετεγκαυματικής και μετατραυματικής φάσης, υπάρχει γενικευμένη μείωση των επιπέδων των πρωτεϊνών πήξης. Η αιμοαρραϊωση

λόγω της χορήγησης μεγάλης ποσότητας υγρών κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου και η απώλεια πρωτεϊνών πλάσματος στον διάμεσο χώρο θα μπορούσαν να εξηγήσουν μερικώς τη μείωση των συγκεντρώσεων πολλών πρωτεϊνών πήξης. Η διαταραχή της λειτουργίας του ήπατος, ένα κοινό χαρακτηριστικό των ασθενών με βαριά εγκαυματική βλάβη μπορεί, επίσης, να επηρεάσει την πήξη με τη μειωμένη σύνθεση των πρωτεϊνών πήξης και τη μειωμένη αποδομή των ενεργοποιημένων παραγόντων και των συμπλεγμάτων ενζύμου-αναστολέα του ενζύμου.¹⁰

Οι κλινικές μελέτες δείχνουν ότι οι αντιθρομβωτικοί παράγοντες, όπως η αντιθρομβίνη και οι πρωτεΐνες S και C, μειώνονται στους ασθενείς-εγκαυματίες και πολυτραυματίες, ενώ τα επίπεδα TAT, PAP, t-PA, PAI-1 και D-dimer αυξάνονται. Συνεπώς, οι ασθενείς βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης (DIC), η οποία μπορεί να διαδραματίσει έναν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της πολυοργανικής ανεπάρκειας. Έχει αναφερθεί ότι το 30% των ασθενών με βαριά εγκαύματα (post-mortem) παρουσιάζουν ευρήματα συμβατά με DIC και εκτεταμένες θρομβώσεις σε διάφορα όργανα και συστήματα. Πολλές από τις παραμέτρους ελέγχου της αιμόστασης είναι δυνατόν να είναι επηρεασμένες ανάλογα με την βαρύτητα του τραύματος και την εγκατάσταση ή όχι της DIC.¹¹⁻¹²

Τα εργαστηριακά ευρήματα είναι ενδεικτικά αυξημένης υπερπηκτικότητας και αυξημένης ινωδολυτικής δραστηριότητας, καταστάσεις που χαρακτηρίζουν συχνά τη οξεία φάση του τραυματισμού. Παράταση των PTT, PT, ινωδογονοπενία, θρομβοπενία και αιμορραγική διάθεση αποτελούν ευρήματα εγκατεστημένης DIC. Ο αριθμός των αιμοπεταλίων στην οξεία φάση συνήθως είναι αυξημένος και οφείλεται στον απεγκλωβισμό τους από το σπλήνα λόγω του stress. Στη συνέχεια μειώνεται λόγω κατανάλωσης στις τραυματικές και εγκαυματικές επιφάνειες και της χορήγησης μεγάλης ποσότητας υγρών.¹³

Ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με μείζον τραύμα και σημαντική απώλεια αίματος θα εμφανίσει διαταραχές της πήξης, οι οποίες σε συνδυασμό με το αιμορραγικό shock συσχετίζονται με σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα¹⁴. Η εκδηλώσεις των διαταραχών της πήκτικότητας (traumatic coagulopathy) εξαρτώνται από το γενετικό υπόστρωμα του ασθενή (προϋπάρχουσες διαταραχές του μηχανισμού πήξης), τη φαρμακευτική αγωγή που λάμβανε ο ασθενής (π.χ., αντιπηκτικά) και τα συνυπάρχοντα νοσήματα (π.χ., νεοπλασίες). Οι παραπάνω παράγοντες σε συνδυασμό μ' αυτούς που σχετίζονται άμεσα με το τραύμα (απώλεια και κατανάλωση παραγόντων πήξης και αιμοπεταλίων, υποθερμία, οξέωση, αιμοραϊώση, ενεργοποίηση κυτταροκινών και μηχανισμού ινωδόλυσης) οδηγούν σε σοβαρές διαταραχές της ομοιοστασίας του πήκτικού μηχανισμού.⁴

1.4. 5 ΔΙΑΧΥΤΗ ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΗ ΠΗΞΗ (Δ.Ε.Π.)

1.4.5.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Έχοντας εξετάσει κάποια δεδομένα η SSC και η ISTH πρότειναν το δικό τους ορισμό DIC: *"Η DIC είναι ένα επίκτητο σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από την γενικευμένη ενδοαγγειακή ενεργοποίηση της πήξης η οποία προκύπτει από τις διαφορετικές αιτίες. Μπορεί να προέλθει από ή/και να προκαλέσει βλάβη του ενδοθηλίου της μικροκυκλοφορίας και η βλάβη αυτή, αν είναι αρκετά βαριά, μπορεί να οδηγήσει σε δυσλειτουργία οργάνων".*¹⁴

Κλινικά, η DIC ορίζεται από ταυτόχρονη διάχυτη θρόμβωση και αιμορραγία. Η κατανάλωση των παραγόντων πήξης λόγω της συνεχούς θρόμβωσης οδηγεί τελικά σε μια υποπηκτική κατάσταση. Σχετικές διαταραχές της πήξης υπάρχουν στο 50 έως 70% των ασθενών με σοβαρή λοίμωξη, ενώ περίπου 35% των ασθενών ανταποκρίνεται πράγματι στα κριτήρια για DIC.¹⁴ Το σήμα κατατεθέν για τη θεραπεία της DIC παραμένει για την εξάλειψη της υποκείμενης αιτίας της νόσου και την υποστήριξη πηκτικών διαταραχών καθώς εμφανίζονται. Ωστόσο, οι εκδηλώσεις της DIC πρέπει ακόμα να αντιμετωπιστούν γρήγορα καθώς η θνησιμότητα που συνδέεται με αυτή τη σοβαρή διάγνωση είναι υψηλή.

1.4.5.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ DIC

Η Διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC) κατηγοριοποιείται σε: **1)** αιμορραγία, **2)** ανεπάρκεια οργάνων, **3)** μαζική αιμορραγία, **4)** και μη-συμπτωματικούς τύπους ανάλογα με το άθροισμα των φορέων υπερπηκτικότητας και υπερινωδύλωσης. Η Βρετανική Επιτροπή Προτύπων Αιματολογίας, η Ιαπωνική Κοινωνία της Θρόμβωσης και αιμόστασης καθώς και η Ιταλική Εταιρεία για την θρόμβωση και αιμόσταση, έχει δημοσιεύσει χωριστές κατευθυντήριες γραμμές για την DIC. Ωστόσο, υπάρχουν αρκετές διαφορές μεταξύ αυτών των τριών συνόλων κατευθυντήριων γραμμών. Ως εκ τούτου, η Διεθνής Εταιρεία Θρόμβωσης και Αιμόστασης (ISTH) εναρμόνισε πρόσφατα αυτές τις διαφορές και δημοσίευσε την καθοδήγηση της διάγνωσης και της θεραπείας για την DIC.

1.4.5.3 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΣΗΠΤΙΚΗ/ DIC

Διαφορετικά διαγνωστικά κριτήρια της σηπτικής DIC έχουν καθιερωθεί από την (ISTH) Διεθνή Κοινότητα για τη Θρόμβωση και την Αιμόσταση¹⁵, το Ιαπωνικό Υπουργείο Υγείας, Εργασίας και Πρόνοιας (JMWLW)¹⁶, και την ιαπωνική ένωση Οξείας Ιατρικής (JAAM)¹⁷. Αν και τα κριτήρια του JAAM είναι τα πιο συγκεκριμένα για τη σηπτική DIC^{17,18} μία προσδοκώμενη μελέτη στην Ιαπωνία δεν διαπίστωσε σημαντικές διαφορές στις αναλογίες πιθανοτήτων για την πρόβλεψη των αποτελεσμάτων DIC υπολογιζόμενες βάσει των τριών αυτών διαγνωστικών κριτηρίων¹⁹. Δεδομένου ότι το ποσοστό θνησιμότητας της DIC εξακολουθεί να είναι υψηλό, η

έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία είναι απαιτούμενες. Τρία είναι τα διαφορετικά διαγνωστικά κριτήρια σύμφωνα με το Ιαπωνικό Υπουργείο Υγείας, Εργασίας και Πρόνοιας (JMHLW), την ISTH, και τον ιαπωνικό Σύλλογο Οξεία Ιατρικής (JAAM). Το πρώτο και το δεύτερο κριτήριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της αιμορραγίας ή μαζικής αιμορραγίας τύπου DIC, ενώ το τρίτο κριτήριο καλύπτει την ανεπάρκεια οργάνων και τη μαζική τύπου αιμορραγία της DIC.

Διαγνωστικά κριτήρια για DIC έχουν αναπτυχθεί τα οποία χρησιμοποιούν κοινά εργαστηριακά και κλινικά κριτήρια. Τα κριτήρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν κλινικά για τη διάκριση έκδηλης DIC με διάχυτη αιμορραγία και μη εμφανούς DIC όπου η αντιπηκτική θεραπεία θα μπορούσε να είναι χρήσιμη.²⁰ Η DIC διαγιγνώσκεται όταν υπάρχει ο συνδυασμός κλινικών καταστάσεων και παθοφυσιολογικών διαταραχών, όπως έναρξη μιας έκδηλης εντοπισμένης ή γενικευμένης φλεγμονώδους αντίδρασης με την απελευθέρωση πρωτεασών, κυτοκινών και ορμονών από τα κύτταρα του ξενιστή που οδηγεί σε εκτενή βλάβη του ενδοθηλίου της μικροκυκλοφορίας. Το φαινόμενο αυτό συνοδεύεται από:

- Αγγειοδιαστολή, απώλεια των συνδέσεων μεταξύ των κυττάρων του ενδοθηλίου, διαταραχές διαπερατότητας και έξοδο υγρών στο διάμεσο χώρο
- Διαταραχές της ομοιόστασης του πήκτικού μηχανισμού, ενεργοποίηση των παραγόντων πήξης και υπερβολική παραγωγή θρομβίνης με τον σχηματισμό μικροθρόμβων σε περιοχές απομακρυσμένες από την αρχική εντόπιση της βλάβης, γεγονός που οδηγεί σε ισχαιμία και δυσλειτουργία οργάνων.
- Υπερκατανάλωση των παραγόντων πήξης και των αιμοπεταλίων που οδηγεί σε αιμορραγική διάθεση.²⁰

1.4.5.4 ΣΥΣΤΗΜΑ ΒΑΘΜΟΛΟΓΗΣΗΣ

Διάφορες υποκείμενες κλινικές συνθήκες μπορεί να έχουν επίδραση στις εργαστηριακές παραμέτρους που λαμβάνονται συνήθως για τη διάγνωση της DIC, όπως η υπερθέρμανση του τεστ πήξης, του αριθμού των αιμοπεταλίων, ο χρόνος προθρομβίνης (PT), και το ινωδογόνο, υπερινωδογόνο, και των προϊόντων αποδόμησης του ινώδους (FDPs).¹⁴

Προκειμένου να διευκολυνθεί η διαγνωστική διαδικασία για την ανίχνευση DIC, η χρήση ενός συστήματος βαθμολόγησης συνίσταται από κάθε μία από τις τέσσερις διαφορετικές κατευθύνσεις.²¹⁻²² Τρία διαφορετικά διαγνωστικά κριτήρια που ενσωματώνουν παρόμοιες δοκιμές παγκόσμιας πήξης έχουν συσταθεί από την ISTH / SSC²³ το Ιαπωνικό Υπουργείο Υγείας, Εργασίας και Πρόνοιας (JMHLW)²⁴ και την Ιαπωνική Ένωση Οξείας

Ιατρικής(JAAM)¹⁶. Το σκορ JMHLW συσχετίζεται καλά με τη σοβαρότητα της DIC και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προβλέψει την έκβαση της νόσου²⁵. Η ISTH κλινικά DIC βαθμολογία είναι χρήσιμη και ειδικά για τη διάγνωση DIC λόγω μολυσματικών και μη μολυσματικών αιτιών^{26,27}. Η βαθμολογία JAAM είναι ευαίσθητη για την ανίχνευση σηπτικής DIC και συσχετίζεται με τις ISTH και JMHLW βαθμολογίες και τα αποτελέσματα της νόσου^{26,16}. Μια προοπτική μελέτη στην Ιαπωνία δεν ανέφερε σημαντικές διαφορές στο ποσοστό πιθανότητας για την πρόβλεψη των αποτελεσμάτων DIC μεταξύ των τριών αυτών διαγνωστικών κριτηρίων²⁸, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο προσδιορισμός των μοριακών αιμοστατικών δεικτών και οι αλλαγές των παγκόσμιων δοκιμών πήξης απαιτούνται εκτός από την εφαρμογή των συστημάτων βαθμολόγησης. Η χρήση ενός συνδυασμού δοκιμών που επαναλαμβάνονται με την πάροδο του χρόνου σε ασθενείς με υποψία DIC μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της διαταραχής με εύλογη βεβαιότητα στις περισσότερες περιπτώσεις^{29,30}.

Ένα πρότυπο για ένα σύστημα μη εμφανής-DIC βαθμολόγησης, συμπεριλαμβανομένων των παγκόσμιων δοκιμών πήξης, αλλαγών στις παγκόσμιες εξετάσεις πήξης καθώς και αιμοστατικής μοριακών δεικτών, έχει προταθεί.^{23,31}

- Χαρακτηριστικό ιστορικό (είναι σημαντικό, γιατί δύναται να εμφανιστούν ίδια εργαστηριακά ευρήματα σε σοβαρή ηπατική νόσο, αλλά και στη DIC)
- Παράταση χρόνου προθρομβίνης (PT) και ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT).
- Το επίπεδο ινωδογόνου(FDP_s) θα είναι αυξημένο λόγω της υποκείμενης φλεγμονώδους κατάστασης. Ως εκ τούτου, ένα κανονικό (ή ακόμη και αυξημένο) επίπεδο μπορεί να συμβεί σε άνω από το 57% των περιπτώσεων. Ένα χαμηλό επίπεδο, ωστόσο, είναι πιο συνεπές με την καταναλωτική διαδικασία DIC.
- Μια ραγδαία πτώση του αριθμού των αιμοπεταλίων(PLT)
- Τα υψηλά επίπεδα των προϊόντων αποικοδόμησης ινώδους (D-dimers) είναι, ευρέως εξαιτίας της έντονης ινωδολυτικής δραστηριότητας που διεγείρεται από την παρουσία του ινώδους στην κυκλοφορία.
- Το επίχρισμα περιφερικού αίματος(Γενική αιματος- πλακάκι) μπορεί να δείξει κατακερματισμένα ερυθρά αιμοσφαίρια(γνωστα ως σχιστοκύτταρα)

Ένας διαγνωστικός αλγόριθμος έχει προταθεί από τη Διεθνή Εταιρεία Θρόμβωσης και Αιμόστασης.(ISTH) Αυτός ο αλγόριθμος φαίνεται να είναι 91% ευαίσθητος και 97% ειδικός για

τη διάγνωση της εμφανείς DIC. Ένα σκορ 5 ή νεότερη έκδοση είναι συμβατή με DIC και συνιστάται ότι το σκορ επαναλαμβάνεται καθημερινά, ενώ μια βαθμολογία κάτω του 5 είναι ενδεικτική αλλά όχι καταφατική για DIC και συνιστάται να επαναλαμβάνεται μόνο περιστασιακά³²⁻³³ έχει προταθεί ένα σύστημα βαθμολόγησης να χρησιμοποιηθεί στη διάγνωση και τη διαχείριση του DIC για την βελτίωση της έκβασης.³⁴

- Παρουσία μιας υποκείμενης διαταραχής είναι γνωστό ότι σχετίζονται με DIC (χωρίς = 0, ναι = 2)
- Παγκόσμια αποτελέσματα της πήξης, αριθμός αιμοπεταλίων (> 100k = 0, <100 = 1, <50 = 2)
- Προϊόντα αποικοδόμησης ινώδους όπως D-Dimer (χωρίς αύξηση = 0, μέτρια αύξηση = 2, ισχυρή αύξηση = 3)
- Παρατεταμένος χρόνος προθρομβίνης (<3 sec = 0, > 3 sec = 1
- (> 6 sec = 2)
- Επίπεδα ινωδογονού (>1.0g/L = 0 , <1.0g/L = 1)

1.4.5.5 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΔΙΑΧΥΤΗΣ ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΠΗΞΗΣ (DIC)

Η θεραπεία της DIC είναι επικεντρωμένη γύρω από τη θεραπεία της υποκείμενης πάθησης με.³⁵⁻³⁹

1) Μεταγγίσεις αιμοπεταλίων (PLT) ή (FFP) φρέσκου κατεψυγμένου πλάσματος μπορεί να θεωρηθεί σε περιπτώσεις σημαντικής αιμορραγίας, ή εκείνων με μια προγραμματισμένη επεμβατική διαδικασία. Στόχος μετάγγιση εξαρτάται από την κλινική κατάσταση. Κραιοιζημα μπορεί να χορηγηθεί σε άτομα με χαμηλό επίπεδο ινωδογονού .

2) Θεραπεία με αντιπηκτικά, όπως η ηπαρίνη στις θρόμβωσεις, χρησιμοποιείται σπάνια λόγω του κινδύνου αιμορραγίας.

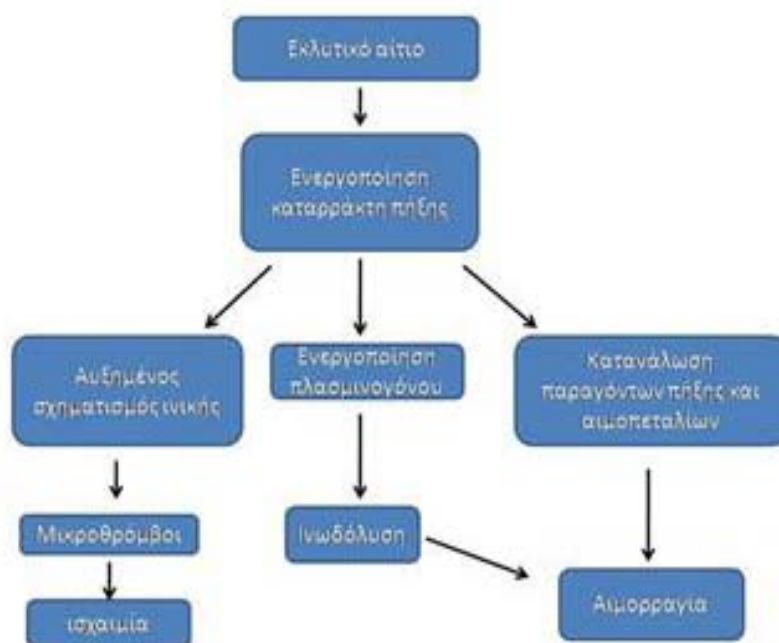
3) Ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (PrC) προηγουμένως συνιστάται σε άτομα με σοβαρή σήψη και DIC αλλά έχει αποδειχθεί, ότι δεν παρέχει όφελος και αποσύρθηκε από την αγορά το 2011.

4) Ανασυνδυασμένος παράγοντας VII έχει προταθεί ως «ύστατη λύση» σε άτομα με σοβαρή αιμορραγία που οφείλεται σε μαιευτικές ή άλλες αιτίες, αλλά τα συμπεράσματα σχετικά με τη χρήση του εξακολουθούν να είναι ανεπαρκή.⁴⁰

1.4.5.6 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η Διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC) παρατηρείται στο 1% περίπου των ακαδημαϊκών εισαγωγών σε νοσοκομείο.⁴¹ DIC εμφανίζεται σε υψηλότερα ποσοστά σε ασθενείς με βακτηριακή σήψη (83%)⁴² σοβαρό τραύμα (31%),⁴³ και τον καρκίνο (6,8%).⁴⁴

Πίνακας 1. Κλινικές καταστάσεις οι οποίες πυροδοτούν την εμφάνιση της DIC
Σήψη-βαριά λοίμωξη
Τραύμα
Παγκρεατίτιδα
Κακοήθεις νόσοι
Εμβολή ενάμνιου υγρού, αποκόλληση πλακούντα
Αγγειακές διαταραχές, ανευρύσματα αγγείων
Ηπατική ανεπάρκεια
Σοβαρές τοξικές, ανοσολογικές αντιδράσεις (φαρμακευτικές αντιδράσεις, δήγμα φιδιού, αντιδράσεις από μετάγγιση, απόρριψη του μεταμοσχευμένου ιστού)



Εικόνα 3. Παθοφυσιολογία της διάχυτης ενδοαγγειακή πήξης

1.5 ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΕΙΑ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ (MODS)

Η ανεπάρκεια οργάνων συσχετιζόμενη με σοβαρή σήψη εμφανίζεται λόγω των πολλαπλών αλληλεπιδράσεων μεταξύ της προφλεγμονώδους κατάστασης και της υπερπηκτικότητας. Ο ρόλος της DIC ως αιτιολογικός παράγοντας σε MODS είναι καλώς υποστηριζόμενος.

Πρόσφατες εργασίες έχουν οδηγήσει στην κατανόηση άλλων μεσολαβητών της MODS, δηλαδή την επίδραση της νεκρωτικής και αποπτωτικής κυτταρικής απελευθέρωσης ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών. Πρωτεΐνες υψηλής κινητικότητας της ομάδας (*box 1 (HMGB-1)*) που προέρχονται από τα θνήσκοντα κύτταρα, απελευθερώνονται στην κυκλοφορία του ξενιστή προκαλώντας συστηματική φλεγμονή, και αναπτύσσοντας θρόμβωση.⁴⁵ Τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, και τα μονοκύτταρα μπορούν να απελευθερώσουν πρωτεΐνες HMGB-1. Αυτές οι πρωτεΐνες που ενεργοποιούνται από την κυτοκίνη είναι επίμονα αυξημένες σε σηπτικούς ασθενείς και σχετίζονται με θνησιμότητα σε μοντέλα ποντικών.⁴⁵ Άλλες ενδοκυτταρικά απελευθερώσιμες πρωτεΐνες όπως οι ιστόνες σχετίζονται με ουδετερόφιλες εξωκυτταρικές παγίδες (NETS) και είναι ιδιαίτερα τοξικές για τα όργανα. Αυτές, επάγουν φλεγμονή και προωθούν τη θρόμβωση.⁴⁶⁻⁴⁸ Οι NETS εκπέπονται από φλεγμονώδεις κυτοκίνες και ενεργοποίηση αιμοπεταλίων και αποτελούνται από ίνες DNA πλούσιες σε ιστόνες και αντιμικροβιακές πρωτεΐνες.⁴⁸

Οι ιστόνες (H3 και H4) προκαλούν δημιουργία θρομβίνης με πολλαπλούς μηχανισμούς. *Πρώτον*, εξωκυτταρική δόση ιστόνης παρέλυσε εξαρτώμενα την ενεργοποίηση θρομβομοντουλίνης της Πρωτεΐνης C μειώνοντας έτσι το φυσικό αντιπηκτικό APC και εξαλείφοντας τις αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες του.⁴⁷ *Δεύτερον*, η παραγωγή θρομβίνης αυξήθηκε με ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων με μεσολάβηση ιστόνης και με παραγωγή P-σελεκτίνης. Η παραγωγή P-σελεκτίνης αυξάνει την πρόσφυση των αιμοπεταλίων σε ενδοθηλιακά κύτταρα και λευκοκύτταρα.⁴⁶ Έτσι, η απελευθέρωση HMGB-1 και ιστόνης στην κυκλοφορία αυξάνει τη φλεγμονή και τη θρόμβωση, προωθεί την κυτταρική θνησιμότητα, και ενισχύει τη δυσλειτουργία οργάνων πολλαπλών συστημάτων.⁴⁹

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ

2. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

2.1 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΠΗΞΗΣ

Η διαγνωστική προσέγγιση των διαταραχών της αιμόστασης των ασθενών βασίζεται: **α)** στο ιστορικό με έμφαση στην παρούσα νόσο, σε τυχόν ύπαρξη ατομικού αναμνηστικού με διαταραχές πήξης ή αιμορραγική διάθεση, στο ιστορικό ηπατοπάθειας / νεφρικής νόσου και στα φάρμακα που λαμβάνει ή έλαβε πρόσφατα ο ασθενής, **β)** στη φυσική εξέταση για ανεύρεση σημείων θρόμβωσης ή αιμορραγιών και οργανομεγαλίας, και στην ψηλάφηση μαζών και **γ)** στην αξιολόγηση γενικής αίματος, PT, aPTT, ινωδογόνου και δ-διμερών, και στη μορφολογία και τον αριθμό των κυττάρων στο περιφερικό αίμα, καθώς και στον λοιπό εργαστηριακό έλεγχο.¹

Σε περίπτωση που οι ασθενείς έχουν ενεργό αιμορραγία, η διαφορική διάγνωση έχει ως εξής: Ασθενείς που παρουσιάζουν παράταση των χρόνων PT και aPTT με ή χωρίς ελάττωση των αιμοπεταλίων έχουν είτε ηπατική νόσο, είτε διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ), τέλος, είτε, αυξημένη κατανάλωση ή ελαττωμένη παραγωγή παραγόντων πήξης. Ασθενείς με θρομβοπενία και με συντρίμματα ερυθρών αιμοσφαιρίων έχουν μικρο-αγγειοπαθητική θρομβοπάθεια. Ασθενείς με θρομβοπενία και φυσιολογικούς χρόνους πήξης έχουν είτε κατανάλωση-καταστροφή των αιμοπεταλίων (σήψη / θρομβοπενία από ηπαρίνη), είτε μειωμένη σύνθεση αιμοπεταλίων (έλλειψη φυλλικού οξέος, μυελοκατασταλτικά φάρμακα, νεοπλάσματα), είτε υπερσπληνισμό^{2,3} (Πίνακες 2 και 3).

Πίνακας 2. Καταστάσεις που συνδυάζουν θρόμβωση και θρομβοπενία.

Καταστάσεις που μπορεί να συνοδεύονται από θρόμβωση και από θρομβοπενία
Διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη
Θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα
Ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο
Συστηματικός ερυθματώδης λύκος ή άλλη αγγειίτιδα
Παροξυσμική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία
Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο
Δευτεροπαθής θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια

Πίνακας 3. Εργαστηριακός έλεγχος σε διαταραχές του πήκτικού μηχανισμού PT χρόνος προθρομβίνης, aPTT χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης

Νόσημα	PT	aPTT	PLT	Ινωδογόνο	Δ-διμερή	Περιφερικό επίχρισμα αίματος
Διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη	Αυξημένο	Αυξημένο	Ελαττωμένα	Ελαττωμένο	Αυξημένα	Σχιστοκύτταρα
Θρομβωτικές μικροαγγειοπάθειες	Αμετάβλητο	Αμετάβλητο	Πολύ ελαττωμένα	Αμετάβλητο	Αμετάβλητα	Σχιστοκύτταρα
Ηπατοπάθειες	Αυξημένο	Αυξημένο	Ελαττωμένα	Ελαττωμένο	Ελαττωμένα	-

2.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΠΗΚΤΙΚΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ

Οι βασικές εργαστηριακές εξετάσεις για τον έλεγχο του πήκτικου μηχανισμού είναι, ο χρόνος προθρομβίνης (prothrombin time, PT) που ελέγχει την εξωγενή οδό της πήξης, ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (activated partial thromboplastin time, aPTT) ο οποίος ελέγχει την ενδογενή οδό της πήξης, αλλά και ο αριθμός των αιμοπεταλίων. Άλλες δοκιμασίες είναι τα δ-διμερή, ο χρόνος θρομβίνης, το ινωδογόνο κ.ά.

Ο **χρόνος προθρομβίνης (PT)** εκφράζει την εξωγενή οδό της πήξης και επηρεάζεται κυρίως από διαταραχές της προθρομβίνης (παράγοντας II), καθώς και διαταραχές των παραγόντων V, VII, X και του ινωδογό-νου. Πιο συχνή αιτία παράτασης του PT σε ασθενείς στη ΜΕΘ είναι η έλλειψη βιταμίνης Κ. Ακολουθούν σε συχνότητα οι ηπατοπάθειες, η χρήση ασενοκουμαρόλης ή βαρφαρίνης, η διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (ΔΕΠ), η έλλειψη ινωδογόνου, η ανεπάρκεια των παραγόντων II, V, VII, X, καθώς και πολύ υψηλές δόσεις χορηγούμενης ηπαρίνης. Το INR θεσπίστηκε ως δοκιμασία για τη μέτρηση του χρόνου προθρομβίνης σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιπηκτική αγωγή με ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να υπάρχει επαναληψιμότητα του αποτελέσματος σε οποιοδήποτε εργαστήριο παγκοσμίως. Ως δοκιμασία εξέτασης διαταραχών του πήκτικου μηχανισμού προτιμάται ο PT.

Ο **χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT)** εξετάζει την ενδογενή οδό της πήξης και η παράτασή του υποδηλώνει διαταραχή στον πήκτικό μηχανισμό. Η πιο συχνή αιτία παράτασης του aPTT είναι η χρήση ηπαρίνης, ενώ άλλες αιτίες κατά σειρά φθίνουσας συχνότητας αποτελούν το αντιπηκτικό του λύκου, οι ηπατο-πάθειες, η διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη, η μαζική μετάγγιση, το χαμηλό ινωδογόνο και η έλλειψη παραγόντων II, V, VIII, IX, X, XI και προκαλλικρεΐνης.

Ο **χρόνος θρομβίνης (thrombin time, TT)** εξετάζει κυρίως τη δραστηριότητα του ινωδογόνου και τη μετατροπή του σε ινώδες, αλλά επηρεάζεται και από τη δράση της ηπαρίνης. Ανευρίσκεται παρατεταμένος σε υποϊνωδογοναιμία, σε καταστάσεις που συνοδεύονται από αυξημένα προϊόντα αποδόμησης της ινικής (δ-διμερή), όπως διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη, ηπατοπάθειες και χρήση ηπαρίνης ή ανταγωνιστών θρομβίνης.^{2,3}

Πίνακας 4. Αίτια της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης

Αίτια	
Σήψη	Gram– Gram+ βακτήρια
Τραύμα	Ιδίως στο ΚΝΣ
Επιπλοκές της κύησης	Προεκλαμψία-HELLP Οξύ λιπώδες ήπαρ της κύησης Αποβολή
Νεοπλάσματα	Οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία Κακοήθη νεοπλάσματα Kasabach–Merritt
Ενδοαγγειακή αιμόλυση	Οξεία αιμολυτική αντίδραση σε μετάγγιση
Άλλα αίτια	Λιπώδης εμβολή Δήγματα φιδιού Θερμοπληξία Αγγειακές βλάβες (π.χ., ανεύρυσμα αορτής) Τραύματα εκ συμπίεσεως Υπερδοσολογία από αμφεταμίνες Καταστροφικό αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο

ΚΝΣ: Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, HELLP: Haemolysis Elevated Liver Low Platelets

Πίνακας 5. Κλινικές εκδηλώσεις διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης.

Όργανο-σύστημα	Διαταραχή
Νεφροί	Οξεία νεφρική ανεπάρκεια
Ήπαρ	Ίκτερος
Πνεύμονες	ARDS
Κεντρικό νευρικό σύστημα	Κώμα, σύγχυση, εστιακή νευρολογική σημειολογία
Επινεφρίδια	Επινεφριδιακή ανεπάρκεια (σύνδρομο Waterhouse-Friderichsen)
Δέρμα	Purpura fulminans

ARDS: Acute Respiratory Distress Syndrome

Ο εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει αυξημένες τιμές PT, aPTT, θρομβοπενία, ελαττωμένο ινωδογόνο και αυξημένα δ-διμερή. Αφού δεν υπάρχει ειδική θεραπεία για τη ΔΕΠ, είναι σημαντικό να αντιμετωπιστεί έγκαιρα η υποκείμενη ασθένεια, που αποτελεί και τον εκλυτικό παράγοντα. Ταυτόχρονα, λαμβάνεται φροντίδα για την αποκατάσταση του ενδοαγγειακού όγκου και της αρτηριακής πίεσης, και τη μεταφορά O₂. Σε περιπτώσεις αιμορραγίας ή πριν από επείγουσες επεμβάσεις χορηγούνται αιμοπετάλια και φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα (fresh frozen plasma, FFP), με στόχο τη διατήρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων > 50.000/ml και PT και aPTT μικρότερο του 1,5 του χρόνου μάρτυρα. Μπορεί, επίσης, να χορηγηθεί κρυσταθιζήμα ή FFP με στόχο ινωδογόνο > 1,5 g/L σε ασθενείς που αιμορραγούν. Η αντιθρομβίνη III ή σύμπλοκα προθρομβίνης πρέπει να χρησιμοποιούνται με επιφύλαξη και σε συγκεκριμένες μόνο περιπτώσεις, καθώς αφενός η αποτελεσματικότητά τους είναι ακόμα αμφιλεγόμενη και αφετέρου μπορεί να επιδεινώσουν μια θρομβωτική κατάσταση^{2,3}. Αντινοδωλυτικά φάρμακα αντενδείκνυνται στη ΔΕΠ. Η χρήση της ηπαρίνης περιορίζεται μόνο σε περιπτώσεις όπου κυριαρχούν τα θρομβωτικά φαινόμενα και δεν υπάρχουν κατευθυντήριες οδηγίες για τη χρήση της.^{2,3}

2.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΠΗΞΗΣ

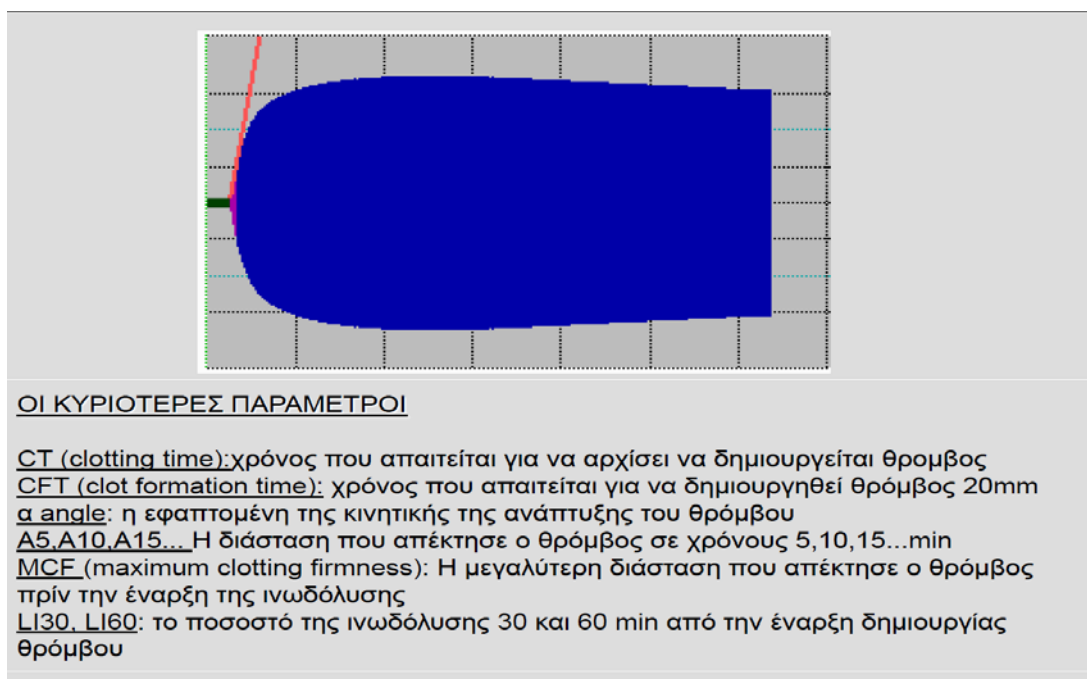
Η *θρομβοελαστομετρία* (TEM) μπορεί να χρησιμεύσει ως ένας ευεργετικός προγνωστικός παράγοντας για την ανάπτυξη διαταραχής της πήξης. Όσον αφορά την προγνωστική αξία της θρομβοελαστομετρίας για τον προσδιορισμό της θνησιμότητας σε οξεία σήψη, πρόωρη υποπηκτικότητα ήταν ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για θνησιμότητα 28 ημερών σε

μια σειρά από σοβαρά σηπτικούς ασθενείς.^{51,52} Επιπλέον, πολλές μελέτες χρησιμοποιούν TEM στη σήψη για να καθορίσουν τη σωστή θεραπείας των ασθενών.⁵⁰

Η θρομβοελαστογραφία (TEG) χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση σοβαρών πασχόντων ασθενών κατά την εισαγωγή τους στην μονάδα εντατικής θεραπείας (ICU). Το εύρημα αυτό μπορεί να επιτρέψει τη διαστρωμάτωση των ασθενών που έχουν υψηλό κίνδυνο εξέλιξης σε ανεπάρκεια οργάνων.^{51,52}

Η συσσωματομετρία αιμοπεταλίων προσφέρει μια άλλη σημαντική ιξωδοελαστική μέτρηση κατά τη σήψη. Η δοκιμή χρησιμοποιεί πολλαπλούς αγωνιστές αιμοπεταλίων και ηλεκτρική αντίσταση κατά μήκος πηνίων για τον προσδιορισμό της λειτουργίας των αιμοπεταλίων σε ολικό δείγμα αίματος.⁵⁴

Ο θρομβοελαστογράφος (ROTEM delta) είναι ένα διαγνωστικό όργανο, σχεδιασμένο να παρακολουθεί και να αναλύει την κατάσταση πήξης του δείγματος αίματος έτσι ώστε να βοηθήσει στην εκτίμηση των συνθηκών κλινικής αιμόστασης των ασθενών. Η υπόδειξη για την χρήση του ROTEM delta είναι σε ενήλικους ασθενείς όπου είναι επιθυμητή η αξιολόγηση των ιδιοτήτων της πήξης του αίματός τους. Οι αξιολογήσεις θρόμβωσης χρησιμοποιούνται συχνά για να εκτιμήσουν κλινικές καταστάσεις κατά την μεταμόσχευση οργάνων, το καρδιαγγειακό χειρουργείο, τις καρδιολογικές διαδικασίες και τραύματα, να εκτιμήσουν μετεγχειρουργική αιμορραγία και/ή θρόμβωση.^{6,53-56}



Εικόνα 4

ΤΑ ΒΑΣΙΚΑ ΤΕΣΤ

NATEM : Προστίθεται μόνο ασβέστιο στο αίμα και ο θρόμβος σχηματίζεται χωρίς άλλη ενεργοποίηση.

INTEM : Προστίθεται ασβέστιο και ενεργοποιητής της ενδογενούς οδού της πήξης (allagic acid).

EXTEM : Προστίθεται ασβέστιο και ενεργοποιητής της εξωγενούς οδού της πήξης(TF).

APTEM : Προστίθεται ασβέστιο και ενεργοποιητής της εξωγενούς οδού και απρωτινίνη που παρεμποδίζει την ινωδόλυση. Το αποτέλεσμα συγκρίνεται με το διάγραμμα της EXTEG.

FIBTEM : Περιέχει κυτοχλαζίνη D που απενεργοποιεί τα αιμοπετάλια.

Η δημιουργία του θρόμβου οφείλεται αποκλειστικά στην δευτερογενή αιμόσταση. Το αποτέλεσμα συγκρίνεται με το διάγραμμα της EXTEG.

HEPTEM : Περιέχει ηπαρίνωση που αποδραστηριοποιεί την ηπαρίνη το αποτέλεσμα συγκρίνεται με το διάγραμμα του INTEG⁵⁶

2.4 ΜΟΝΤΕΛΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΕΚΒΑΣΗΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΣΤΗ ΣΗΨΗ

Η μέτρηση με (SOFA) σκορ Αξιολόγηση Διαδοχικής Ανεπάρκειας Οργάνων και (APACHE II) σκορ Οξεία Φυσιολογία και Χρόνια Αξιολόγησης Υγείας είχαν την υψηλότερη αξιολόγηση στη πρόβλεψη διαταραχές της πηκτικότητας στη σήψη.⁵⁴

Μια περιοχή ενδιαφέροντος στον τομέα της έρευνας, αποτελεί η χρήση συνδυαστικών σημείων για την πρόβλεψη ασθενών σε κίνδυνο για ανάπτυξη MODS έπειτα απο την διαταραχή της πηκτικότητας προκαλούμενης από σήψη. Διαγνωστική αλγόριθμοι όπως σκορ ISTH DIC, SAPS II, SOFA, και APACHE II σε συνδυασμό με κλασικές και ιξωδοελαστικές μετρήσεις μπορούν να παρέχουν τις ακριβέστερες προγνωστικές τιμές.⁵⁷ Μελέτη του 2005 με τη χρήση σύνθετης βαθμολόγησης για διαταραχή της πηκτικότητας αποκάλυψε εμφάνιση των διαταραχών της πήξης τις πρώτες είκοσι τέσσερις ώρες της σοβαρής σήψης. Επιδεινούμενη διαταραχή της πήξης την πρώτη ημέρα συσχετίστηκε με μεγαλύτερη θνησιμότητα 28 ημερών.⁵⁸

2.4.1 S.O.F.A SCORE

(Sequential Organ Failure Assessment)

Βαθμολογία αξιολόγησης ανεπάρκειας οργάνων σήψης που σχετίζονται, επίσης γνωστή ως Διαδοχική οργάνων βαθμολογία αξιολόγησης αποτυχία (βαθμολογία SOFA), χρησιμοποιείται για να παρακολουθείτε η κατάσταση ενός ατόμου κατά τη διάρκεια της παραμονής του σε μια μονάδα εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ). Είναι ένα από τα πολλά ΜΕΘ συστήματα βαθμολόγησης .

Η βαθμολογία *SOFA* είναι ένα σύστημα βαθμολόγησης για να καθοριστεί η έκταση της λειτουργίας των οργάνων ενός ατόμου ή ποσοστό αποτυχίας. Ο όρος βασίζεται σε έξι διαφορετικών αποτελεσμάτων, ένα για το αναπνευστικό καρδιαγγειακό, ηπατικό, πήξη, νεφρικό και νευρολογικών συστημάτων. Τόσο η μέση τιμή και υψηλότερες βαθμολογίες *SOFA* είναι προάγγελοι του αποτελέσματος. Μια αύξηση στη βαθμολογία *SOFA* κατά τη διάρκεια των πρώτων 24 έως 48 ωρών στη ΜΕΘ προβλέπει ένα ποσοστό θνησιμότητας τουλάχιστον 50% μέχρι 95%.βαθμολογία λιγότερο από 9 δίνει πρόβλεψη θνησιμότητας κατά 33%, ενώ πάνω από 11 μπορεί να είναι κοντά ή πάνω από το 95% . Η αποτυχία Διαδοχική Οργάνου Αξιολόγησης (*SOFA*) είναι ένας όρος νοσηρότητα σοβαρότητα και εκτίμηση της θνησιμότητας εργαλείο που αναπτύχθηκε από ένα μεγάλο δείγμα ασθενών ΜΕΘ σε όλο τον κόσμο. Σε αντίθεση με άλλα συστήματα βαθμολόγησης, όπως οι *SAPS II* και *APACHE II* η *SOFA* έχει σχεδιαστεί για να επικεντρωθεί σε δυσλειτουργία οργάνων και νοσηρότητας, με λιγότερη έμφαση στην πρόβλεψη της θνησιμότητας. Το σύστημα έχει σχεδιαστεί με έμφαση στο *SOFA* την εφαρμοσιμότητα και την απλότητα, χρησιμοποιώντας ευρέως διαθέσιμες μεταβλητές.

Η βαθμολογία *SOFA* είναι κατασκευασμένη από 6 μεταβλητές, η κάθε μία αντιπροσωπεύει ένα σύστημα οργάνων. Κάθε σύστημα οργάνου αποδίδεται αξία σημείο από 0 (κανονικό) έως 4 (υψηλός βαθμός δυσλειτουργίας / αποτυχίας) Οι χειρότερες φυσιολογικές μεταβλητές συλλέχθηκαν σειριακά κάθε 24 ώρες από την εισαγωγή στη ΜΕΘ του ασθενούς. Η «χειρότερη» μέτρηση ορίστηκε ως το μέτρο που συσχετίζεται με τον υψηλότερο αριθμό πόντων. Η βαθμολογία *SOFA* κυμαίνεται από 0 έως 24.⁵⁹⁻⁶³

2.4.1.1 S.O.F.A. SCORING SYSTEM (ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ S.O.F.A.)

Πίνακας 6: ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

ΡαΟ 2 / FiO 2 (mmHg)	Βαθμολογία SOFA
<400	1
<300	2
<200 και μηχανικό αερισμό	3
<100 και μηχανικό αερισμό	4

Πίνακας 7: ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Κλίμακα Γλασκώβης	Βαθμολογία SOFA
13-14	1
10-12	2
6-9	3
<6	4

Πίνακας 8: ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η μέση αρτηριακή πίεση ή χορήγηση αγγειοδιασταλτικών απαιτείται	Βαθμολογία SOFA
ΧΑΡΤΗΣ <70 χιλιοστά / Hg	1
DOP <= 5 ή έτος γέννησης (οποιαδήποτε δόση)	2
DOP > 5 ή epi <= 0,1 ή NOR <= 0,1	3
DOP > 15 ή epi > 0,1 ή NOR > 0,1	4

(Δόσεις φαρμάκου αγγειοσυσπαστική είναι σε μg / kg / min)

Συνομογραφίες φάρμακο: DOP για ντοπαμίνη , έτος γέννησης για δοβουταμίνη , epi για την επινεφρίνη και NOR για νορεπινεφρίνη.

Πίνακας 9: ΗΠΑΤΟΣ

Χολερυθρίνη (mg / dl) [μmol / L]	Βαθμολογία SOFA
1.2-1.9 [$> 20-32$]	1
2,0 έως 5,9 [33-101]	2
6,0 έως 11,9 [102-204]	3
> 12.0 [> 204]	4

Αν η χολερυθρίνη είναι μικρότερη από 1,2, το σκορ είναι 0

Πίνακας 10: ΠΗΞΗΣ

Τα αιμοπετάλια $\times 10^3$ / μl	Βαθμολογία SOFA
<150	1
<100	2
<50	3
<20	4

Αν ο αριθμός των plt. είναι πάνω από 150 το σκορ είναι 0

Πίνακας 11: ΝΕΦΡΑ

Κρεατινίνη (mg / dl) [μmol / L] (ή παραγωγή ούρων)	Βαθμολογία SOFA
1.2-1.9 [110-170]	1
2,0 έως 3,4 [171-299]	2
3.5 - 4.9 [300-440] (ή <500 ml / d)	3
> 5.0 [> 440] (ή <200 ml / d)	4

2.4.1.2. ΓΡΗΓΟΡΟ SOFA SCORE

Η Βαθμολογία Γρήγορο SOFA (quick SOFA ή qSOFA) εισήχθη από την ομάδα Σήψη-3, τον Φεβρουάριο του 2016, όμως μια απλοποιημένη έκδοση του Δείκτη SOFA ως τρόπος για τον εντοπισμό των ασθενών που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο για κακή έκβαση με μια μόλυνση. Οι ορισμοί Κριτήρια Κύριοι της σήψης που αντικαθίσταται, καθώς βρέθηκαν να έχουν πάρα πολλούς περιορισμούς η «τρέχουσα χρήση 2 ή

περισσότερα κριτήρια Κύριοι για τον εντοπισμό σήψη ομόφωνα θεωρείται από την ομάδα εργασίας για να είναι άχρηστη." Η qSOFA απλοποιεί το σκορ SOFA δραστικά περιλαμβάνοντας μόνο τα 3 κλινικά κριτήρια και με τη συμπερίληψη «κάθε αλλοιωμένη μογή» αντί της απαίτησης ~~μ~~ GCS. qSOFA μπορεί εύκολα και γρήγορα να επαναληφθεί σειριακά σε ασθενείς.⁶⁴

Πίνακας 12: Πίνακας 12 Εκτίμηση της βαθμολογία quickSOFA

Εκτίμηση	Βαθμολογία qSOFA
Χαμηλή αρτηριακή πίεση (ΣΑΠ \leq 100 mmHg)	1
Υψηλή αναπνευστικό ρυθμό \geq 22 αναπνοές / λεπτό)	1
Altered μογής (GCS <15)	1

Η βαθμολογία κυμαίνεται από 0 έως 3 βαθμούς. Η παρουσία 2 ή περισσότερα σημεία qSOFA κοντά στην έναρξη της μόλυνσης συσχετίστηκε με μεγαλύτερο κίνδυνο θανάτου ή παρατεταμένης παραμονής σε μονάδα εντατικής θεραπείας. Αυτά είναι τα αποτελέσματα που είναι πιο συχνά σε μολυσμένους ασθενείς οι οποίοι μπορεί να είναι πιο σηπτικός από εκείνους με μη επιπλεγμένη λοίμωξη. Με βάση αυτά τα ευρήματα, η Τρίτη Διεθνής Συναίνεση Ορισμοί για Σήψη συνιστά qSOFA ως μια απλή προτροπή για τον εντοπισμό μολυσμένων ασθενών εκτός ΜΕΘ που είναι πιθανό να είναι σηπτικό.⁶⁴

2.4.1.3 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ TOTAL SCORE ΚΑΙ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΗ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ

Η εκτίμηση βασίζεται στη μέγιστη (υψηλότερη) βαθμολογία SOFA κατά τη διάρκεια μιας μέρας παραμονής του ασθενούς στη ΜΕΘ.

Πίνακας 13:Συσχέτιση τιμών SOFA SCORE με ποσοστά θνησιμότητας

Ανώτατο όριο SOFA Σκορ	Θνησιμότητα
0 έως 6	<10%
7 έως 9	15 - 20%
10 έως 12	40-50%
13 μέχρι 14	50 - 60%
15	> 80%
15 έως 24	> 90%

Πάνω: Νοσοκομειακό ποσοστό θνησιμότητας που σχετίζεται με μέγιστη βαθμολογία SOFA. Το ποσοστό θνησιμότητας ήταν σχεδόν 90% σε ασθενείς με βαθμολογία SOFA πάνω από 15.⁶⁰

- Οι βαθμολογίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μια σειρά από τρόπους:
- Ως επιμέρους βαθμολογίες για κάθε όργανο για να προσδιορίσει την εξέλιξη της οργανικής δυσλειτουργίας.
- Ως το άθροισμα των βαθμολογιών σε μία ενιαία ημέρα σε ΜΕΘ.
- Ως το άθροισμα των χειρότερων βαθμολογιών κατά τη διάρκεια της νοσηλείας σε ΜΕΘ.

Ο Υπολογισμός της βαθμολογίας δεν περιορίζεται στις τιμές εισαγωγής.

- βαθμολογία SOFA μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλους τους ασθενείς που εισήχθησαν σε μια μονάδα εντατικής θεραπείας.
- Δεν είναι σαφές αν η βαθμολογία μπορεί να χρησιμοποιηθεί με αξιοπιστία σε ασθενείς που μεταφέρθηκαν από άλλη ΜΕΘ.

Η βαθμολογία SOFA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του επιπέδου δυσλειτουργίας οργάνων και του κινδύνου θνησιμότητας σε ασθενείς της ΜΕΘ.^{60,63}

2.4.2 APACHE II SCORE

Acute Physiology and Chronic Health Evaluation(APACHE)

Οξεία Φυσιολογία και Χρόνια Αξιολόγησης Υγείας (APACHE II) Υπολογιστής

- Διαφέρει από την αρχική βαθμολογία APACHE σε κάποια σημεία: ο αριθμός των μεταβλητών μειώνεται και το βάρος ορισμένων μεταβλητών ρυθμίζεται.

- Η APACHE II είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη βαθμολογία πρόβλεψης θνησιμότητας στη ΜΕΘ.
- Οι βαθμολογίες APACHE III και APACHE IV αναπτύχθηκαν επίσης, αλλά δεν χρησιμοποιούνται ευρέως επειδή η στατιστική τους μέθοδος είναι υπό έλεγχο πνευματικών δικαιωμάτων.
- Η βαθμολογία προήλθε από ένα γενικό πληθυσμό ΜΕΘ και μπορεί να είναι λιγότερο ακριβείς, όταν εφαρμόζεται σε συγκεκριμένους πληθυσμούς, όπως με ηπατική ανεπάρκεια ή σε ασθενείς με HIV.
- Από τότε που η APACHE II μελετήθηκε σε πρόσφατα εισαχθέντες ασθενείς στη ΜΕΘ, δεν είναι ακριβής, όταν εφαρμόζεται σε ασθενείς που έχουν μεταφερθεί από άλλη μονάδα ή σε άλλο νοσοκομείο. Αυτό είναι γνωστό ως χρόνος προκατάληψης και παραπέμπεται στην APACHE III.
- Η βαθμολογία APACHE II πρέπει να επαναβαθμονομείται πριν να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε έναν πληθυσμό, εκτός από εκείνο που προορίζεται.
- Γενικά, οι βαθμολογίες πρόβλεψης των ΜΕΘ χρειάζεται να προσαρμοστούν αναλόγως, περιοδικά, για να αντανακλούν τις αλλαγές στις πρακτικές και τα δημογραφικά στοιχεία του ασθενούς.
- Η βαθμολογία αυτή μπορεί να υπολογιστεί σε όλους τους προσφάτως εισαχθέντες ασθενείς στη μονάδα εντατικής θεραπείας. Αν και δεν είναι υποχρεωτική και δεν θα βοηθήσει με τη διαχείριση των ασθενών, είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για τη διαστρωμάτωση του κινδύνου και τη σύγκριση της φροντίδας που λαμβάνεται από ασθενείς με παρόμοια χαρακτηριστικά κινδύνου σε διαφορετικές μονάδες.
- Οι βαθμολογίες πρόβλεψης θνησιμότητας, όπως η APACHE II συχνά χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση των ομάδων βασικού κινδύνου που συγκρίνονται σε κλινικές δοκιμές.
- Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για να καθορίσουν την πρόγνωση και να βοηθήσουν τα μέλη της οικογένειας να κάνουν συνειδητές αποφάσεις σχετικά με την επιτακτικότητα της φροντίδας.^{55,65}
- **Ορισμοί της «σοβαρής ανεπάρκειας του συστήματος οργάνων» και**

«ανοσοκαταστολή»

- Συκώτι: βιοψία κίρρωση με πυλαία υπέρταση(τα επεισόδια του παρελθόντος ανώτερου γαστρεντερικού αιμορραγία που δόθηκε στη πυλαία υπέρταση) ή πριν από τα επεισόδια της ηπατικής ανεπάρκειας, εγκεφαλοπάθεια, ή κώμα
- Καρδιαγγειακές: New York Heart Association (NYHA) κατηγορίας IV καρδιακή ανεπάρκεια
- Αναπνευστική: Χρόνια περιοριστικά, αποφρακτική, ή αγγειακό νόσημα που καταλήγει σε σοβαρό περιορισμό της άσκησης (δηλαδή, δεν μπορεί να ανέβει σκάλες ή να εκτελέσει τα καθήκοντά του νοικοκυριού) τεκμηριωμένα χρόνια υποξία, υπερκαπνία, δευτερογενή πολυκυτταραιμία, σοβαρή πνευμονική υπέρταση (> 40 mmHg) ή αναπνευστική εξάρτηση
- Νεφρική: Λήψη χρόνιας αιμοκάθαρσης
- Ανοσοκατεσταλμένα: Ο ασθενής έλαβε θεραπεία που καταστέλλει την αντίσταση στις λοιμώξεις (π.χ., ανοσοκαταστολή, χημειοθεραπεία, ακτινοβολία, μακροπρόθεσμα ή υψηλή δόση στεροειδών, ή προχωρημένο λευχαιμία, το λέμφωμα ή το AIDS)

2.4.2.1 APACHE SCORING SYSTEM (ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ APACHE II)

ΕΚΤΙΜΗΣΕΙΣ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΜΕΘ

(Μετατρέποντας APACHE II σε ποσοστό θνησιμότητα)

Πίνακας 14: Χρόνιας ανεπάρκειας οργάνου ή ιστορικό ανοσοκαταστολή

Ναι (επείγουσα χειρουργική επέμβαση/ρ +s)+5
Ναι(+s/ρ εκλεκτική επέμβαση)..... +2
Ναι (αλλά όχι μετα-ορ)..... +5
Όχι 0

Πίνακας 15: Οξεία νεφρική ανεπάρκεια

Ναι	+1
Όχι.....	0

Πίνακας 16: Ηλικία Θερμοκρασία

<86 ^ο F (30 ^ο C).....	+ 4
86 – 89,5 ^ο F(30 – 31,9 ^ο C)	+3
89,6 – 93,1 ^ο F (32 – 33,9 ^ο C)	+2
93,2 - 96,8 ^ο F (34 – 35,9 ^ο C).....	+1
96,9 – 101,2 ^ο F (36 – 38,4 ^ο C).....	0
101,3 – 102,1 ^ο F(38,5 – 38,9 ^ο C).....	+1
102,2 - 105,5 ^ο F (39 - 40,9 ^ο C).....	+3
>105,6 ^ο F (40,9 ^ο C).....	+4

- Μέση αρτηριακή πίεση (mm Hg)
- PH
- Heart rate/pulse(καρδιακ παλμοί).... (κτύπο ανά λεπτό)brpm
- Ρυθμός αναπνοής.....(αναπνοή ανά λεπτό)

Πίνακας 17: Χημεία

Νάτριο.....	(mmol/L)
Κάλιο.....	(mmol/L)
Κρεατινίνη.....	(mmol/L)

Πίνακας 18: Αιματολογία

Αιματοκρίτης.....(--%)

Λευκά αιμοσφαίρια WBC)(--χ $10^9/L$)

Πίνακας 19: Κλίμακα Γλασκώβης

Αα Κλίση(αν $FiO_2 > 0,5$)

PaO_2 (αν $FiO_2 < 0,5$)

Χρησιμοποιήστε την πιο ακραία τιμή για κάθε φυσιολογικές μεταβλητές μέσα στις τελευταίες 24 ώρες. ^{55,65}

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

3. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΣΗΨΗ/ΦΛΕΓΜΟΝΗ

3.1 ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

3.1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Μία ανοσολογική άμυνα έναντι τραυματισμού, λοίμωξης ή αλλεργίας, που χαρακτηρίζεται από αύξηση της τοπικής αιματικής ροής, μετανάστευση λευκών αιμοσφαιρίων, και απελευθέρωση χημικών τοξινών. Η φλεγμονή είναι ένας μηχανισμός που χρησιμοποιεί το σώμα για να προστατεύεται από την εισβολή ξένων οργανισμών και για την αποκατάσταση των ιστικών τραυμάτων. Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της είναι η ερυθρότητα, η θερμότητα, το οίδημα, το άλγος, και η απώλεια λειτουργικότητας του τμήματος του σώματος. Συστηματικά, η φλεγμονή μπορεί να δημιουργήσει πυρετούς, αρθραλγίες και μυαλγίες, δυσλειτουργίες οργάνων και καταβολή.⁶⁶

3.1.2 ΔΕΙΚΤΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

CRP (C-Reactive Protein) C-Αντιδρώσα Πρωτεΐνη έχει καθιερωθεί σαν ένας δείκτης ύπαρξης φλεγμονώδους κατάστασης στους ιστούς του σώματος. Ο προσδιορισμός της CRP χρησιμεύει στη διάγνωση μολυσματικών και φλεγμονωδών καταστάσεων.

Η CRP συντίθεται στο ήπαρ κατά την εξέλιξη οξέων επεισοδίων, όπως λοιμώξεις, κακοήθειες, αρθρίτιδα και άλλες φλεγμονώδεις καταστάσεις και τα επίπεδά της αντανακλούν τον βαθμό της ιστικής βλάβης ή το μέγεθος της φλεγμονώδους κατάστασης. Η CRP απελευθερώνεται συνήθως μέσα σε 6 ώρες από το ερέθισμα, το οποίο αν σταματήσει να επιδρά τότε οι τιμές της επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα εντός περίπου 4 ημερών.

Τ.Κ.Ε. (ΤΑΧΥΤΗΤΑ ΚΑΘΙΣΗΣΗΣ ΕΡΥΘΡΩΝ) Είναι ένας γενικός δείκτης φλεγμονής ασχέτως αιτίας. Είναι ένας έμμεσος δείκτης και αυτό διότι εξαρτάται από την συγκέντρωση στο αίμα διαφόρων παραγόντων, όπως είναι το ινωδογόνο, οι β-σφαιρίνες, οι α-σφαιρίνες, οι λευκωματίνες και άλλους παράγοντες (πχ ο αιματοκρίτης) που πολλές φορές δεν έχουν σχέση με την οξεία φλεγμονή. Η ΤΚΕ αργεί να ανέλθει σε μια φλεγμονή και συνήθως χρειάζεται μια-δυο ημέρες για να γίνει παθολογική, επίσης αργεί και να επανέλθει στο φυσιολογικό μετά από την πάροδο της φλεγμονής. Είναι λιγότερο αξιόπιστο. Η φλεγμονή και η πήξη είναι συχνά συνέταιροι στο έγκλημα κατά τη σοβαρή σήψη.⁶⁷

3.2 ΣΗΨΗΣ

3.2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Σήψη καλείται το σύνολο των μεταβολών στον μεταβολισμό και την αιμοδυναμική που είναι αποτέλεσμα γενικευμένης φλεγμονώδεις αντίδρασης του ανθρώπινου οργανισμού σε λοιμώδη παράγοντα (βακτήριο, ιό, μύκητα ή παράσιτο). Έχει συχνή κατάληξη το θάνατο μέσω ανεπάρκειας πολλών οργάνων (Σύνδρομο πολυοργανικής ανεπάρκειας) και μη αναστρέψιμη πτώσης της αρτηριακής πίεσης σηπτικό σοκ.^{68,69} Στη σήψη, παθογόνοι μικροοργανισμοί ή οι τοξίνες τους βρίσκονται στο αίμα ή τους ιστούς. Είναι ευρύτερος όρος από τη **σηψαιμία** που συνδέεται με την παρουσία των μικροβίων και των τοξινών τους μόνο στο αίμα.

Τα συχνότερα παθογόνα μικρόβια που ευθύνονται για τη σηπτική κατάσταση είναι η Εσχεριχία (Escherichia coli), η κλεμπσιέλλα (klebsiella) και η ψευδομονάδα (Pseudomonas aeruginosa).

Ο όρος "Σήψη" χρησιμοποιείται για να περιγράψει την δυναμική και συχνά θανατηφόρα συστηματική απόκριση του ξενιστή στη λοίμωξη. Σήψη είναι ένα κλινικό σύνδρομο που ορίζεται ως μία συστηματική απόκριση στη μόλυνση. Συχνά παρουσιάζει επιπλοκές λόγω διαταραχής της πήκτικότητας,³⁶ και σε περίπου 35% των σοβαρών περιπτώσεων, λόγω διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (DIC)^{70,71}. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση και στις ΗΠΑ, οι κατευθυντήριες γραμμές του 2012 της Εκστρατείας **"Ελπίζω από Σήψη"** δεν συνιστούν θεραπεία για τη σηπτική DIC.^{72,73} Αντίθετα, στην Ιαπωνία, επιθετική θεραπεία του σηπτικού DIC ενθαρρύνεται^{74,75}. Δεν είναι υπερβολή η δήλωση ότι η Ιαπωνία είναι μια από τις χώρες που αντιμετωπίζει πιο αποτελεσματικά ασθενείς με σηπτική DIC.⁷⁵

Μελέτες από τη δεκαετία του 1990 μέχρι σήμερα στις Ηνωμένες Πολιτείες έδειξαν ότι η σήψη είναι η κύρια αιτία θνησιμότητας για περισσότερους από 200.000 θανάτους κάθε χρόνο. Η συνολική θνησιμότητα υπολογίζεται ότι είναι περίπου 28,6% για όλες τις ηλικίες με αύξηση της θνησιμότητας στους ηλικιωμένους⁷⁶. Επιπλέον, η συχνότητα εμφάνισης της σήψης αυξάνεται, δευτερεύουσα της αυξημένης χρήσης ανοσοκατασταλτικής θεραπείας, των επεμβατικών διαδικασιών, της μεταμόσχευση, και της χημειοθεραπείας. Η θνησιμότητα κατά τη σήψη οφείλεται συχνά σε οργανική ανεπάρκεια και ο κίνδυνος θνησιμότητας αυξάνεται με τον αριθμό των δυσλειτουργικών οργάνων. Τα άτομα με σήψη και τρία ή περισσότερα δυσλειτουργικά όργανα έχουν ποσοστό θνησιμότητας 70% σε σύγκριση με ένα ποσοστό θνησιμότητας 15% χωρίς οργανική ανεπάρκεια.⁷⁶

Σήμερα, η σήψη παραμένει η κύρια αιτία θανάτου σε παγκόσμιο επίπεδο με συχνότητα μεταξύ 75-300 ανά 100.000.^{77,78} Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η οικονομική

επιβάρυνση της σήψης είναι εκπληκτική. Σχεδόν \$ 24 δισεκατομμύρια δολάρια δαπανώνται ετησίως για σηπτικούς ασθενείς, με αυξανόμενο ρυθμό.⁷⁹ Η σήψη και μόνο φέρει ποσοστό θνησιμότητας 25%, αλλά όταν συνδυάζεται με ανεπάρκεια οργάνων, αυτό το ποσοστό θνησιμότητας διπλασιάζεται.⁷⁸ Μεγάλο μέρος της οργανικής ανεπάρκειας κατά τη σήψη ότι προκαλείται από μικροαγγειακή θρόμβωση. Ο σχηματισμός θρόμβων, κατά την μικροαγγείωση δρα αντιπαραγωγικά και αυξάνει τη βλάβη των οργάνων που μπορεί να οδηγήσει σε οργανική ανεπάρκεια. Οι σημαντικές διαταραχές της πήξης οδηγούν σε επιπλοκές σε περίπου 35% όλων των σοβαρών περιστατικών σήψης.⁷⁸

Αυτή τη στιγμή, μεγάλη προσοχή έχει εστιαστεί επί της φλεγμονώδους απόκρισης ξενιστή σε σήψη. Πράγματι, οι σηπτικοί ασθενείς εμφανίζουν αρκετούς βιολογικούς δείκτες για τη φλεγμονή που συχνά προηγούνται της ανεπάρκειας οργάνων παρέχοντας μια "χαλαρή" σχέση μεταξύ των δύο.⁸⁰ Η φλεγμονώδης απόκριση σε λοίμωξη μπορεί τελικά να χρησιμεύσει ως ένας προστατευτικός μηχανισμός κατά της μικροβιακής εισβολής, ωστόσο όταν γίνεται υπερβολική λόγω της σοβαρότητας της νόσου μπορεί τελικά να οδηγήσει σε πολυσυστηματική δυσλειτουργία οργάνων (MODS).

Φλεγμονή και διαταραχές στην πήξη είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με το καθένα να ενεργεί ως θετική ανάδραση για την ενεργοποίηση του άλλου.⁸⁰ Διαταραχές της πήξης είναι σχεδόν γενικές σε σηπτικούς ασθενείς και είναι πιθανό να διαδραματίσουν βασικό ρόλο στο MODS. Διαταραχή της ηηκτικότητας της Οξεία Σήψης (CAS) κυμαίνεται από έκδηλη θρομβοεμβολική νόσο σε μικροαγγειακή εναπόθεση ινώδους. Σε σοβαρές περιπτώσεις, ξαφνική DIC παρουσιάζεται τόσο με θρόμβωση όσο και με διάχυτη αιμορραγία.⁵¹

3.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗΣ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΣΗΨΗ

Η μέτρηση των διαταραχών πήξης κατά την οξεία σήψη είναι μια πολύπλοκη και χρονικά ευαίσθητη προσπάθεια που καλύτερα ερμηνεύεται μέσα από διαδοχικές μετρήσεις. Κλασσικές εργαστηριακές εξετάσεις πήξης (ΚΔ), όπως ο χρόνος προθρομβίνης, ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης, και το ινωδογόνο έχουν αρκετούς περιορισμούς.

Δοκιμές πήξης που βασίζονται στο πλάσμα, εξαλείφουν την συμβολή των αιμοπεταλίων στην θρόμβωση. Τα αιμοπετάλια συμβάλλουν ενεργά στην θρόμβωση, παρέχοντας μια επιφάνεια για την παραγωγή θρομβίνης και συλλέγοντας τους παράγοντες πήξης που διαδίδουν το ηηκτικό σύστημα.⁵¹

Θεωρητικά, ιξωδοελαστικές μετρήσεις του ολικού αίματος θα πρέπει να παρέχουν πληροφορίες για την *in-vivo* πήξη. Χρησιμοποιώντας με σειριακό τρόπο, θα μπορούσε να ανιχνευθεί η εξέλιξη της διαταραχής της πήξης σε σηπτικούς ασθενείς και να χρησιμοποιηθεί

για την καθοδήγηση της θεραπείας. Ιδανικά, θα μπορούσαν να παράσχουν εκτιμήσεις για τους ασθενείς με σήψη που βρίσκονται σε κίνδυνο για την ανάπτυξη MODS.⁵⁷

Η χρήση συνδυαστικών σημείων δεδομένων για την πρόβλεψη ασθενών σε κίνδυνο για ανάπτυξη MODS από διαταραχή της πηκτικότητας προκαλούμενης από σήψη είναι μια περιοχή ενδιαφέροντος στον τομέα της έρευνας. Διαγνωστικοί αλγόριθμοι όπως σκορ ISTH DIC, SAPS II, SOFA, και APACHE II σε συνδυασμό με κλασικές και ιξωδοελαστικές μετρήσεις μπορούν να παρέχουν τις ακριβέστερες προγνωστικές τιμές.⁸¹

Η φλεγμονή και η πήξη είναι τόσο στενά συνδεδεμένες ώστε η πληθώρα κυτοκίνης η οποία συνοδεύει την ανάπτυξη της σήψης εκκινεί την ενεργοποίηση της θρομβίνης και την ανάπτυξη μιας ενδοαγγειακής πήξης.⁸²

Η αλληλεπίδραση μεταξύ πήξης και φλεγμονώδους αλληλουχίας συμβάλλει στη συνολική παθοφυσιολογία της σοβαρής σήψης. Αυτές οι διεργασίες γίνονται ανεξέλεγκτες και έτσι μπορεί να οδηγήσουν σε σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα.⁸²

3.4 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΗ ΣΗΠΤΙΚΗ/DIC

Θεραπείες που αποσκοπούν στην πηκτικότητα της Οξείας Σήψης πρέπει ιδανικά να αποκαθιστούν την ισορροπία της φλεγμονής και της πήξης χωρίς να επηρεάζουν αρνητικά την απόκριση του ξενιστή στη μόλυνση. Αρκετές μελέτες έχουν αποτύχει να αναγνωρίσουν τη φλεγμονή ως ένα σημαντικό προστατευτικό μηχανισμό ή έκαναν χρήση ομοιόμορφης θεραπείας για ασθενείς σε διαφορετικά στάδια σήψης. Αντισώματα κατευθυνόμενα προς TNFα, υποδοχείς IL-1, και ενδοτοξίνη απέτυχαν να επιτύχουν μείωση της θνησιμότητας.^{83,84}

Η αποτυχία των αντιπηκτικών δοκιμών να δείξουν αποτελεσματικότητα μπορεί να οφείλεται στο ότι συμπεριλαμβάνονται ασθενείς χωρίς DIC, μία αβεβαιότητα όταν ξεκινάει η θεραπεία, και στην τάση να υποτιμούμε τη σημασία της αιμορραγίας.⁸⁴ Αυτό εξηγεί τη σημασία της ανάπτυξης ειδικών διαγνωστικών κριτηρίων για την DIC που να χρησιμοποιούν σύνθετα συστήματα βαθμολόγησης, προηγμένους δείκτες για DIC, και θρομβοελαστομετρία.

Θεραπεία των βασικών συνθηκών συνίσταται σε τρεις τύπους DIC, με την εξαίρεση της μαζικής αιμορραγίας.

- 1)** Οι μεταγγίσεις αίματος συνίστανται σε ασθενείς με τους τύπους αιμορραγία και μαζική αιμορραγία της DIC.
- 2)** Θεραπεία με ηπαρίνη συνίσταται σε εκείνους με μη-συμπτωματικό τύπο του DIC.

3) Η χορήγηση των συνθετικών αναστολέων πρωτεάσης και αντινωδολυτικής θεραπείας συνίσταται σε ασθενείς με τους τύπους αιμορραγίας και μαζικής αιμορραγίας της DIC. Επιπλέον, η χορήγηση των φυσικών αναστολέων πρωτεάσης συνίσταται σε ασθενείς με τον τύπο ανεπάρκειας οργάνων της DIC, ενώ αντινωδολυτικές θεραπείες δεν συνιστανται.⁸⁴

Η διάγνωση και η θεραπεία του DIC θα πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τον τύπο του DIC.

Η εκτίμηση των κοινών εξετάσεων χρησιμοποιώντας παραμέτρους βαθμολόγησης, όπως ο χρόνος προθρομβίνης, το επίπεδο του ινωδογόνου, ο αριθμός των αιμοπεταλίων και τα επίπεδα των δεικτών που σχετίζονται με ινώδες, παρέχουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με το βαθμό ενεργοποίησης και κατανάλωσης του παράγοντα πήξης.

Η κοινή λογική υπαγορεύει ότι η χορήγηση ενός αντιβιοτικού που στοχεύει συγκεκριμένα τη μόλυνση είναι η πιο σημαντική θεραπεία στην σηπτική DIC. Μετά την χορήγηση αντιβιοτικών, χειρουργική παροχέτευση στο σημείο της λοίμωξης θα πρέπει να εκτελείται όσο το δυνατόν συντομότερα. Οι γιατροί θα πρέπει πρώτα να χορηγήσουν θεραπεία για την υποκείμενη νόσο, όταν η σήψη έχει διαγνωστεί.^{85,86} **Πολλά αντιπηκτικά** έχουν μελετηθεί σε κλινικές δοκιμές ως μέσα για τη ρύθμιση της φλεγμονώδους και της πηκτικής αλληλουχίας, με στόχο τη βελτίωση των αποτελεσμάτων για τους σηπτικούς ασθενείς μέσω της διαμόρφωσης αυτών των αλληλουχιών.

3.4.1 ANTIΘΡΟΜΒΙΝΗ (AT)

AT είναι μια μονόκλωνη γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος περίπου 59.000. Συντίθεται στο ήπαρ και αναστέλλει τη δράση της θρομβίνης και των ενεργοποιημένων παραγόντων X, IX, VII, XI, και XII.⁸⁷ Πρόσφατα, το συμπύκνωμα αντιθρομβίνης έχει γίνει ένα από τις αντιπηκτικές παράγοντες συχνότερης επιλογής.

3.4.2 ΗΠΑΡΙΝΗ

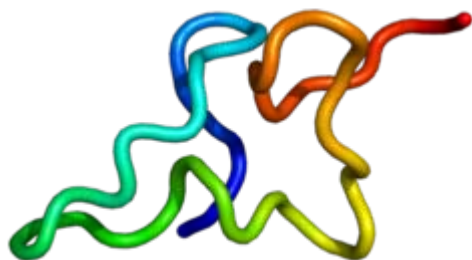
Οι Βρετανικές οδηγίες συνιστούν τη χρήση των μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης (UFH), λόγω του μικρού χρόνου ημίσειας ζωής και της διαθεσιμότητας των ανταγωνιστών της, ειδικά σε ασθενείς που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας. Οι Ιαπωνικές κατευθυντήριες γραμμές υποδεικνύουν μια προτίμηση για την ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους, διότι αποδείχθηκε ανώτερη στη βελτίωση διαταραχές της πήξης και προκάλεσε λιγότερες αιμορραγικές ανεπιθύμητες ενέργειες σε μια τυχαίοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη (RCT) που πραγματοποιήθηκε στη DIC.⁸⁸

3.4.3 ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗ (TM)

Η θρομβομοντουλίνη (TM), CD141 ή BDCA-3 είναι μια ενσωματωμένη μεμβρανική πρωτεΐνη που εμφανίζεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και χρησιμεύει ως ένας συμπαράγοντας της θρομβίνης. Μειώνει την πήξη του αίματος μέσω της μετατροπής της θρομβίνης, από ένα προπηκτική ένζυμο σε ένα αντιπηκτικό ένζυμο.⁸⁹ Η θρομβομοντουλίνη εμφανίζεται επίσης στα ανθρώπινα μεσοθηλιακά κύτταρα,⁹⁰ καθώς και σε υποσύνολο μονοκυττάρων και δεντρικών κυττάρων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

4. ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗ



THBD, AHUS6, BDCA3, CD141, THRH12, THRM, TM, θρομβομοντουλίνη

Εικόνα 5

4.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Η θρομβομοντουλίνη (TM) είναι μεμβρανικός, γλυκοπρωτεϊνικός υποδοχέας που βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, ειδικά στην μικροκυκλοφορία, όπου δρα ως αντυπηκτικό. Κατά τη διάρκεια της σήψης, η έκφραση της TM στην επιφάνεια του ενεργοποιημένου ενδοθηλίου μειώνεται λόγω απόρριψης του μορίου και η συγκέντρωσή της στον ορό αυξάνει. Η αύξηση αυτή θεωρείται δείκτης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ενώ παράλληλα η TM θεωρείται ότι ασκεί προστατευτική δράση στο ενδοθήλιο κατά την σήψη.⁹¹ Επιπλέον:

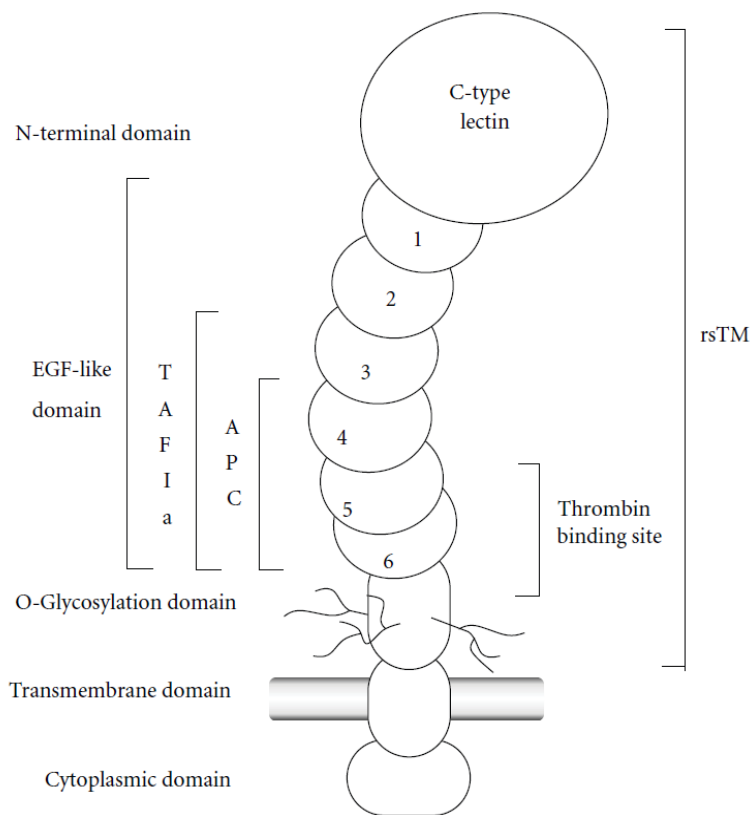
- ονομάζεται και CD141
- είναι 75kD διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη και συμπράγοντας για τη διαμεσολαβούμενη από τη θρομβίνη ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C
- θεωρείται μετρητής του μεσοθηλιώματος, των ενδοθηλιακών κυττάρων και του παράγοντα πήξεως
- είναι σημαντικός ινωδολυτικός αναστολέας, δεδομένου ότι μειώνει την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου σε πλασμίνη
- είναι κρίσιμη για την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C και την έναρξη της αντιθρομβωτικής οδού της πρωτεΐνης C
- τα επίπεδα CD141 πλάσματος σχετίζονται με ενδοθηλιακή βλάβη

Στους ανθρώπους, η θρομβομοντουλίνη κωδικοποιείται από το γονίδιο **THSD⁹¹**. Η πρωτεΐνη έχει μοριακό βάρος 74kDa και αποτελείται από μία μονή αλυσίδα με έξι διαδοχικά επαναλαμβανόμενες περιοχές τύπου EGF, έναν διαχωριστή πλούσιο σε σερίνη/ θρεονίνη και μια διαμεμβρανική περιοχή.⁹²

4.2 ΔΟΜΗ

Δομή της θρομβομοντουλίνης

Η ανθρώπινη TM είναι μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη τύπου μονής αλυσίδας με 557 υπολείμματα αμινοξέων και περιέχει πέντε εξωκυτταρικές περιοχές (Εικόνα 7)^{92,93}. Η N-τελική περιοχή της TM περιλαμβάνει περίπου το ήμισυ του εξωκυτταρικού τμήματος του μορίου και περιέχει μία μονάδα με ομολογία προς άλλες λεκτίνες τύπου C. Αν και αυτός ο τομέας στερείται αντιπηκτικής δραστηριότητας, παίζει σημαντικό ρόλο στη διαμεσολάβηση αντιφλεγμονωδών ενεργειών.^{94,95}



Εικόνα 6: Δομή και τομείς της TM. Η TM περιέχει μια N-τελική περιοχή τύπου λεκτίνης τύπου C, έναν εκτεταμένο μίσχο έξι μονάδων EGF, μια πλούσια σε σερίνη / θρεονίνη περιοχή με θέσεις στόχους για μετά-μεταφραστική γλυκοζυλίωση, μια διαμεμβρανική περιοχή και μία μικρή κυτοπλασμική περιοχή. Οι περιοχές EGF 5-6 συνδέονται με θρομβίνη. Η EGF4-6 απαιτείται για ενεργοποίηση πρωτεΐνης C και η EGF3-6 για ενεργοποίηση TAFI.

Η επόμενη περιοχή της TM περιέχει έξι επαναλήψεις τύπου Επιδερμικού-Αυξητικού-Παράγοντα (EGF) που σχηματίζουν ένα εκτεταμένο μίσχο στο

εξωκυτταρικό τμήμα του μορίου. Αυτή η περιοχή έδειξε μιτογόνες δράσεις σε καλλιεργημένους ινοβλάστες και κύτταρα αγγειακού λείου μυός. Οι δραστηριότητες αυτές διαμεσολαβούνται μέσω ενεργοποίησης πρωτεϊνικής κινάσης C και ενεργοποιημένης από την μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση (MAPK).^{96,97} Η αλληλεπίδραση των επαναλήψεων EGF5-6 με τη θρομβίνη έχει αποδειχθεί ότι εμποδίζει τη δέσμευση προπηκτικών υποστρωμάτων (π.χ., όπως FV, ινωδογόνο) στη θρομβίνη.^{98,99} Αυτές οι επαναλήψεις EGF4-6 απαιτούνται για την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C, ενώ οι επαναλήψεις EGF3-6 χρειάζονται για την ενεργοποίηση του TAFI.^{99,100}

Η τρίτη περιοχή είναι μία πλούσια σε σερίνη / θρεονίνη περιοχή που φέρει πιθανές θέσεις για O-συνδεδεμένη γλυκοζυλίωση. Αυτή η περιοχή υποστηρίζει την προσάρτηση της θειικής χονδροϊτίνης. Βιοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι η θειική χονδροϊτίνη, όταν συνδέεται με την TM, ενίσχυσε την ισχύ της τελευταίας να ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C.^{101,102} Επιπρόσθετα, επιταχύνει την εξουδετέρωση της θρομβίνης και διευκολύνει τη δέσμευση του παράγοντα 4 αιμοπεταλίων (PF4) στην πρωτεΐνη C.¹⁰³ Η χαρακτηριστική ομάδα θειικής χονδροϊτίνης μπορεί να ενισχύσει τη δέσμευση θρομβίνης-TM μέσω αλληλεπίδρασης με τον εξωσίτη δέσμευσης ανιόντων της θρομβίνης, στην οποία δεσμεύεται η ηπαρίνη. Αξιοσημείωτα, η ηπαρίνη αποδείχθηκε ότι αναστέλλει τη δέσμευση θρομβίνης-TM πιθανώς ανταγωνιζόμενη με τη μονάδα θειικής χονδροϊτίνης TM για τον εξωσίτη θρομβίνης.¹⁰⁴

Η ρεκομοδουλίνη, μια ανασυνδυασμένη μορφή ανθρώπινης διαλυτής TM, περιλαμβάνει μόνο την εξωκυτταρική περιοχή της TM που περιλαμβάνει την περιοχή N-τερματικού λεκτίνης τύπου C, την περιοχή τύπου EGF και την περιοχή O-γλυκοζυλίωσης.¹⁰⁵ Παρόμοια με τη φυσική μεμβράνη που δεσμεύεται με TM, η rhsTM δεσμεύεται με τη θρομβίνη για την αδρανοποίηση της πήξης και το σύμπλοκο θρομβίνης-rhsTM ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C για να παράγει APC.¹⁰⁵

Η δομή του EGF τομέα 4 έχει προσδιοριστεί με φασματοσκοπία NMR, και η δομή ενός συμπλόκου μεταξύ θρομβίνης και ενός πεπτιδίου από θρομβομοντουλίνη EGF τομέα 5 προσδιορίστηκε με κρυσταλλογραφία ακτινών-X. Αυτές οι δομές είναι μικρά βήματα προς την κατανόηση του πώς η θρομβομοντουλίνη ρυθμίζει τη θρομβίνη.

Δομικά, το εξωκυτταρικό τμήμα της TM αποτελείται από τρεις περιοχές: μία N-τερματική, τύπου λεκτίνης, περιοχή (TM-D1), ακολουθούμενη από έναν επιδερμικό αυξητικό παράγοντα, τύπου EGF, τομέα (TM-D2) και ένα τομέα (TM-D3), πλούσιο σε O-γλυκοζυλίωση. Η TM-D2 και η TM-D3 είναι σημαντικές για τις αντιπηκτικές δραστηριότητες της πρωτεΐνης ως συμπαράγοντα, δηλαδή την αναστολή της θρομβίνης και την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C.

Η TM-D1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εξασθένηση των φλεγμονωδών αποκρίσεων, μέσω της αναστολής της προσκόλλησης λευκοκυττάρων σε ενδοθηλιακά κύτταρα, της αναστολής των συμπληρωματικών οδών, της εξουδετέρωσης του λιποπολυσακχαρίτη (LPS), και της παγίδευσης και της υποβάθμισης της προφλεγμονώδους, υψηλής κινητικότητας πρωτεΐνης (HMGB1) (group box 1). Έτσι, η TM στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων αποτρέπει τη διάδοση προπηκτικών και προφλεγμονωδών μορίων, και με τον τρόπο αυτό, επιτρέπει σε αυτά τα μόρια να δράσουν τοπικά στο σημείο του τραυματισμού. Σε ασθενείς με σήψη και DIC, η παραγωγή TM ελαττώνεται, πράγμα που μπορεί να οδηγήσει σε διάδοση των προ-πηκτικών και προ-φλεγμονωδών μορίων σε όλη την συστηματική κυκλοφορία. Η αντικατάσταση της με την rhsTM μπορεί να προσφέρει θεραπευτική αξία σε τέτοιες συνθήκες.¹⁰⁶ © 2011 International Society on Thrombosis and Haemostasis.(ISTH)

4.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Η θρομβομοντουλίνη λειτουργεί ως συμπάροντας στην ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C, που προκαλείται από τη θρομβίνη, στην αντιθρομβωτική οδό σχηματίζοντας ένα 1: 1 στοιχειομετρικό σύμπλοκο με τη θρομβίνη.. Αυτό αυξάνει την ταχύτητα της ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C κατά χίλιες φορές. Η θρομβίνη που είναι δεσμευμένη από τη θρομβομοντουλίνη έχει ταυτόχρονα προπηκτική δράση με την αναστολή της ινωδόλυσης, με διάσπαση του ινωδολυτικού αναστολέα που ενεργοποιείται με τη θρομβίνη (TAFI, γνωστός και ως καρβοξυπεπτιδάση B2) στην ενεργή του μορφή.¹⁰⁷

Η θρομβομοντουλίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων που, εκτός από το να δεσμεύει τη θρομβίνη, ρυθμίζει την C3b αδρανοποίηση από τον παράγοντα I. Μεταλλάξεις στο γονίδιο της θρομβομοντουλίνης (THBD) έχουν επίσης αναφερθεί ότι σχετίζονται με το άτυπο αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο-(aHUS).

Το αντιγόνο που χαρακτηρίζεται ως BDCA-3¹⁰⁸ έχει αποδειχθεί ότι είναι ταυτόσημο με τη θρομβομοντουλίνη. Έτσι, αποκαλύφθηκε ότι αυτό το μόριο παρουσιάζεται επίσης σε ένα πολύ σπάνιο (0,02%) υποσύνολο των ανθρώπινων δεντρικών κυττάρων που ονομάζονται MDC2. Η λειτουργία του σε αυτά τα κύτταρα είναι άγνωστη.

Η ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗ (TM) είναι ένας ενδοθηλιακός αντιπηκτικός συμπάροντας που παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της ενδαγγειακής πήξης¹⁰⁹. Επιταχύνει τη μετατροπή της πρωτεΐνης C σε ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C που καταλύεται από τη θρομβίνη, η οποία αναστέλλει την ενεργοποίηση μονοκυττάρων και

μακροφάγων^{110,111} και, κατά συνέπεια, καταστέλλει την παραγωγή των φλεγμονωδών κυτοκινών όπως TNF-α και IL-1β¹¹¹. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η TM συνδέεται με την HMGB1 για να αποτρέψει την αλληλεπίδρασή της με τους υποδοχείς για προχωρημένης γλυκοζυλίωσης τελικά προϊόντα¹¹². Η TM όχι μόνο δεσμεύει την HMGB1 αλλά βοηθά επίσης την πρωτεολυτική διάσπαση της HMGB1 από τη θρομβίνη¹¹³. Τα επιδεικνύουν τις νέες αντι-φλεγμονώδεις δράσεις της TM.

Η λειτουργία του συμπαράγοντα της μεμβράνης που σχετίζεται με θρομβομοντουλίνη απαιτεί τις τελευταίες τρεις από τις έξι διαδοχικές επαναλαμβανόμενες περιοχές τύπου EGF (αριθμοί 4, 5, και 6), καθώς και έναν διαχωριστή πλούσιο σε σερίνη/ θρεονίνη μεταξύ της 6 EGF περιοχής και της διαμεμβρανικής περιοχής. Η περιοχή πλούσια σε σερίνη/θρεονίνη είναι μεταβλητά τροποποιημένη με μια αλυσίδα θειικής χονδροϊτίνης που επηρεάζει τη συσχέτιση μεταξύ της ένωσης της θρομβίνης και της εξάρτησης της λειτουργίας του συμπαράγοντα από ιόντα ασβεστίου.^{96,97}

4.4 ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΗ ΙΔΙΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗΣ

Η TM ασκεί την αντιπηκτική της δράση όχι μόνο παρεμποδίζοντας τη θρομβίνη αλλά και επιταχύνοντας την παραγωγή APC. Μετά τη δέσμευση της TM, η θρομβίνη υφίσταται μείωση της συσχέτισής της σε προπηκτικά υποστρώματα.^{98,115-117} Η TM αναστέλλει άμεσα τις περισσότερες από τις προπηκτικές λειτουργίες της θρομβίνης, συμπεριλαμβανομένης της πήξης του ινωδογόνου, της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και της EC, και την ενεργοποίηση του FV.^{98,115} Επιπλέον, η TM επιταχύνει την αδρανοποίηση της θρομβίνης μέσω αμφότερων του αναστολέα της αντιθρομβίνης και της πρωτεΐνης C.^{118,119} Το TM μετατρέπει την εξειδίκευση των υποστρωμάτων θρομβίνης στην πρωτεΐνη C.¹²⁰ Η APC καταστέλλει περαιτέρω το σχηματισμό θρομβίνης με την πρωτεολυτική αποικοδόμηση των FVa και FVIIIa. Αυτή η δράση ενισχύεται από την πρωτεΐνη S, τον συμπαράγοντα για το APC (Εικόνα 8). Οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του TM εξηγούνται εν μέρει από την ιδέα ότι η έλξη της θρομβίνης για την TM είναι πιθανόν πολύ υψηλότερη από αυτή των άλλων παραγόντων σε δρόμους προ- και αντιπηκτικής δράσης,¹²⁰ καθιστώντας πιθανώς την TM έναν αναστολέα σαρώσεως της κυκλοφορούσας θρομβίνης.¹²⁰

Η φλεγμονή έχει αναφερθεί ότι μειώνει την έκφραση της TM. Ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF) επάγει την εσωτερικοποίηση της TM μέσω ενδοκυττάρωσης, μειώνοντας έτσι την επιφανειακή της έκφραση.¹²¹ Τέτοια μειωμένη έκφραση TM σε περιοχές φλεγμονώδους βλάβης μπορεί να επιδεινώσει την πήξη του αίματος. Πράγματι, η εξειδικευμένη στο ενδοθήλιο διαγραφή της TM σε ποντίκια προκάλεσε αυθόρμητη και

θανατηφόρα θρόμβωση στα αρτηριακά και φλεβικά αγγεία,¹²² υποδηλώνοντας ότι η ΤΜ μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στην πρόληψη του σχηματισμού ενδοαγγειακού θρόμβου.¹²²

4.5 ANTI-ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΜΔ1(KNOCK-OUT)

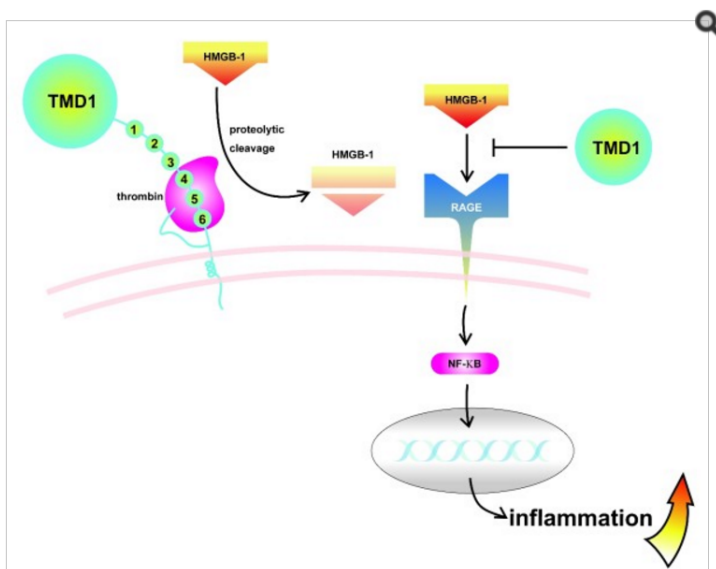
Η αντιφλεγμονώδης επίδραση του ΤΜΔ1 καταδείχθηκε αρχικά παρατηρώντας ότι τα διαγονιδιακά ποντίκια χωρίς έκφραση του ΤΜΔ1 της ΤΜ πρωτεΐνης (TMD1 / LeD) επεξεργάστηκαν περισσότερες φλεγμονώδεις κυτοκίνες, συμπεριλαμβανομένου του παράγοντα νέκρωσης όγκου και της ιντερλευκίνης-1, και παρουσίασαν ισχυρότερη φλεγμονώδη αντίδραση μετά από λιποπολυσακχαρική (LPS) διέγερση.¹¹¹ Τα διαγονιδιακά ποντίκια έχουν περισσότερη συσσώρευση λευκοκυττάρων στους πνεύμονες μετά από εισπνοή κατά Gram αρνητικών βακτηριδίων και αυξημένη θνησιμότητα στην επαγόμενη από ενδοτοξίνη σήψη. In vitro μελέτη έδειξε ότι στα ενδοθηλιακά κύτταρα που απομονώθηκαν από τους ποντικούς TMD1 / LeD, υπήρξε αυξημένη έκφραση ICAM-1 και VCAM-1 και αυξημένη προσκόλληση ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο.¹¹¹ Η ανασυνδυασμένη ΤΜΔ1 (rTMD1) μειώνει την προσκόλληση των ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο και καταστέλλει την ενεργοποίηση των πυρηνικών παραγόντων κάρπα Β και των ενεργοποιημένων με μιτογόνο οδών πρωτεϊνικής κινάσης.

Η διαγραφή της ΤΜΔ1 δεν παρεμβαίνει στην ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C, υποδεικνύοντας την άμεση αντιφλεγμονώδη δράση της ΤΜΔ1. Η άλλη ένδειξη που δείχνει ότι η ΤΜΔ1 μπορεί να εμπλέκεται στη φλεγμονή προέρχεται από την παρατήρηση ότι η ΤΜΔ1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της πρόσφυσης μεταξύ κυττάρων.¹¹² Τα κύτταρα μελανώματος A2058 διαμολυσμένα με τη φυσιολογική (wild type) ΤΜ συσσωματώθηκαν στενά με ισχυρή πρόσφυση μεταξύ κυττάρων. Εντούτοις, στα κύτταρα A2058 διαμολυσμένα με ΤΜ με διαγραμμένο ΤΜΔ1, τα κύτταρα διασκορπίστηκαν ως μεμονωμένα κύτταρα σε μη συγγενείς κυτταρικές πυκνότητες ως γονικά κύτταρα A2058. Το αντίσωμα κατά της ομοιάζουσας με λεκτίνη περιοχής της ΤΜ ήταν σε θέση να μπλοκάρουν τις επαφές μεταξύ κυττάρων και να αναστέλλει τη στενής μορφολογίας συσσωμάτωση στα κύτταρα μετεμβολιασμένα με άγριου τύπου ΤΜ.¹¹² Λαμβάνοντάς τα μαζί, αυτά τα αποτελέσματα παρέχουν τη δυνατότητα ότι η ΤΜ μπορεί να διατηρήσει την ακεραιότητα των ενδοθηλιακών συνδέσεων, διατηρώντας έτσι μια κατάσταση ηρεμίας των αιμοφόρων αγγείων.¹¹³

Οι οριστικοί μοριακοί μηχανισμοί που μεσολαβούν στην αντιφλεγμονώδη επίδραση του ΤΜΔ1 έχουν διασαφηνιστεί πρόσφατα και έχουν προσδιοριστεί τουλάχιστον 2 δεσμευτικοί στόχοι της ΤΜΔ1. Ο πρώτος είναι η πρωτεΐνη ομάδας 1 υψηλής κινητικότητας (HMGB1). Η HMGB1 απελευθερώνεται από νεκρωτικά κύτταρα¹¹⁴ ή εκκρίνεται από

φλεγμονώδη κύτταρα όπως ενεργοποιημένα μονοκύτταρα μετά από διέγερση κυτοκίνης. Είναι ένας ισχυρός προ-φλεγμονώδης μεσολαβητής και, πρόσφατα, γίνεται ένας στόχος θεραπείας για τη φλεγμονή.¹¹⁴

Η HMGB1 δεσμεύεται στον υποδοχέα της ενδοθηλιακής κυτταρικής επιφάνειας, τον υποδοχέα για τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (RAGE) ή τους υποδοχείς τύπου toll για να δώσει το έναυσμα για την ενεργοποίηση της προ-φλεγμονώδη οδού προς τα κάτω και βλάβης ιστού. Η TM συνδέεται με την πρωτεΐνη HMGB1 μέσω της περιοχής D1 και παρεμβαίνει στη σύνδεση της HMGB1 με την RAGE.¹¹⁷ Η παρά εμπόδιση της HMGB1 να δεσμεύει την RAGE μέσω της TMD1 ελαττώνει την προ-φλεγμονώδη δράση της HMGB1 και την επακόλουθη φλεγμονή (Εικόνα 8). Μεταγενέστερη μελέτη δείχνει ότι μετά τη σύνδεση με την TMD1, η HMGB1 μπορεί να αποικοδομηθεί αποτελεσματικά από το σύμπλοκο θρομβίνης-TM σε μια λιγότερο προ-φλεγμονώδη μορφή και η φλεγμονώδης αντίδραση είναι περαιτέρω ρυθμισμένη προς τα κάτω.¹¹⁸

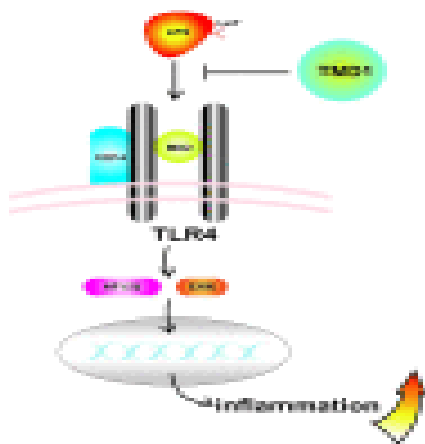


TM καταστέλλει HMGB1-διαμεσολαβούμενη φλεγμονή. Οι HMGB1 μεσολάβηση-προ-φλεγμονώδη μονοπάτια αναστέλλεται από TM μέσω δύο μηχανισμών. Πρώτον, Διαλυτό TMD1 φυλακίζει HMGB1, και οδηγεί σε μείωση της δέσμευσης της προς οργή, καταστέλλοντας έτσι την φλεγμονώδη απόκριση. Δεύτερον, η θρομβίνη-TM συγκρότημα διασπά HMGB1, με αποτέλεσμα την παραγωγή των ανενεργό θραύσμα HMGB1. HMGB1, υψηλής κινητικότητα ομάδα B1? RAGE, υποδοχέας για τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης? TMD1, TM τομέα 1.

Εικόνα 7: TM καταστέλλει HMGB1-διαμεσολαβούμενη φλεγμονή. Οι HMGB1 μεσολάβηση-προ-φλεγμονώδη μονοπάτια αναστέλλεται από TM μέσω δύο μηχανισμών. Πρώτον, Διαλυτό TMD1 φυλακίζει HMGB1, και οδηγεί σε μείωση της δέσμευσης της προς οργή, καταστέλλοντας έτσι την φλεγμονώδη απόκριση..

Ένας άλλος δεσμευτικός στόχος της TMD1 είναι ο υδατάνθρακας Lewis Y αντιγόνο σε LPS κατά Gram αρνητικά βακτήρια.¹³¹ Το LPS είναι ένα κύριο συστατικό κυτταρικού

τοιχώματος των gram αρνητικών βακτηρίων και δρα ως μείζων ενδοτοξίνη που προκαλεί ισχυρές φλεγμονώδεις αποκρίσεις κατά τη διάρκεια της μόλυνσης. Το LPS αλληλεπιδρά με τον CD14 και τον όμοιο με toll υποδοχέα στην κυτταρική επιφάνεια και μεταφέρει σήματα από την κυτταρική μεμβράνη στο κυτταρόπλασμα, ξεκινώντας την φλεγμονώδη οδό σηματοδότησης.¹³² Προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι το LPS του *Helicobacter pylori* περιέχει αλληλουχίες σχετιζόμενες με αντιγόνα Lewis X και Lewis Y και αλληλεπιδρά με σελεκτίνες.¹³³ Τα διαλυτά TMD1 ή rTMD1 θα μπορούσαν να συνδεθούν απευθείας με LPS, να μπλοκάρουν την αλληλεπίδραση του LPS με CD14 και να μειώσουν την επακόλουθη φλεγμονώδη αντίδραση που προκαλείται από LPS, καταστέλλοντας την ενεργοποίηση της ενεργοποιούμενης από μιτογόνο προτεΐνης κινάσης και τις σηματοδοτικές οδούς πυρηνικού παράγοντα καππα Β. Η απελευθέρωση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών και η έκφραση επαγωγίμης συνθάσης νιτρικού οξειδίου μειώθηκαν επίσης.¹³¹ Το Lewis Y αντιγόνο σε LPS είναι ο συγκεκριμένος μοριακός στόχος που δεσμεύεται από η TMD1 (Εικόνα 8).3). Με τη δέσμευση του στο αντιγόνο Lewis Y, η rTMD1 μπορεί να προκαλέσει συγκεκριμένα τη συγκόλληση της (*Klebsiella pneumoniae*) παρουσία του Ca⁺² και να ενισχύσει τη φαγοκυττάρωση των βακτηριδίων από τα μακροφάγα.¹³¹ Αυτά τα φαινόμενα έδειξαν ότι η TMD1 μπορεί να λειτουργήσει ως φυσική οψονίνη για εγγενή ανοσία έναντι αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.



Εικόνα 8: TMD1 παρεμβαίνει με LPS-προκαλούμενη φλεγμονή. Διαλυτό TMD1 συνδέεται με το αντιγόνο Lewis Y για τα LPS, εμποδίζοντας έτσι την εμπλοκή του LPS, CD14, και TLR4, με αποτέλεσμα τη μειωμένη δραστηριότητα του NPKB και μιτογόνο ενεργοποιημένη μονοπάτια κινάσης / ERK.LeY, Lewis.

Τέλος, η αντιφλεγμονώδης δραστηριότητα της TMD1 μπορεί επίσης να σχετίζεται με την ικανότητά της να καταστέλλει άμεσα την ενεργοποίηση του συμπληρωματικού

συστήματος. Αυξημένη ενεργοποίηση του συμπληρώματος βρέθηκε στα ποντίκια TM^{LeD/LeD} ¹³⁸
Η TM καθορίζει την εναλλακτική οδό ενεργοποίησης του συμπληρώματος με την άμεση
ενίσχυση των ενδογενών συμπληρωματικών αναστολέων, του συμπληρωματικού παράγοντα
I και H, για την αδρανοποίηση του C3b.¹³⁹ Αρκετές γενετικές μεταλλάξεις της TMD1 που
προκαλούν ελαττώματα στην σύνδεση TM του συμπληρωματικού παράγοντα H και C3b
παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με άτυπο αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο, μια ασθένεια με
συμπληρωματική υπερενεργοποίηση.¹³⁹ Ωστόσο, ο σαφής μηχανισμός της μοριακής
αλληλεπίδρασης της TM με το σύστημα συμπληρώματος χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

Άλλοι στόχοι της TM για την ανακούφιση της φλεγμονής περιλαμβάνουν
συμπληρωματικούς παράγοντες. Η θρομβίνη δεσμεύεται αποτελεσματικά με την TM και
ενεργοποιεί τον αναστολέα της ινωδόλυσης που ενεργοποιείται με τη θρομβίνη (TAFI), μια
προκαρβοξυπεπτιδάση που εμποδίζει την ινωδόλυση αφαιρώντας C-τερματικά υπολείμματα
λυσίνης σε ινώδες που είναι κατά τα άλλα σημαντικά για την σύνδεση του πλασμινογόνου και
του t-PA, δημιουργώντας έτσι αποτελεσματικά πλασμίνη ^{142,143} Οι επαναλήψεις E3456 του
τομέα τύπου EGF της TM είναι απαραίτητες για την ενεργοποίηση του TAFI. Ο
ενεργοποιημένος TAFI είναι ικανός να αδρανοποιήσει τα συμπληρώματα C3a και C5a ^{138,139}

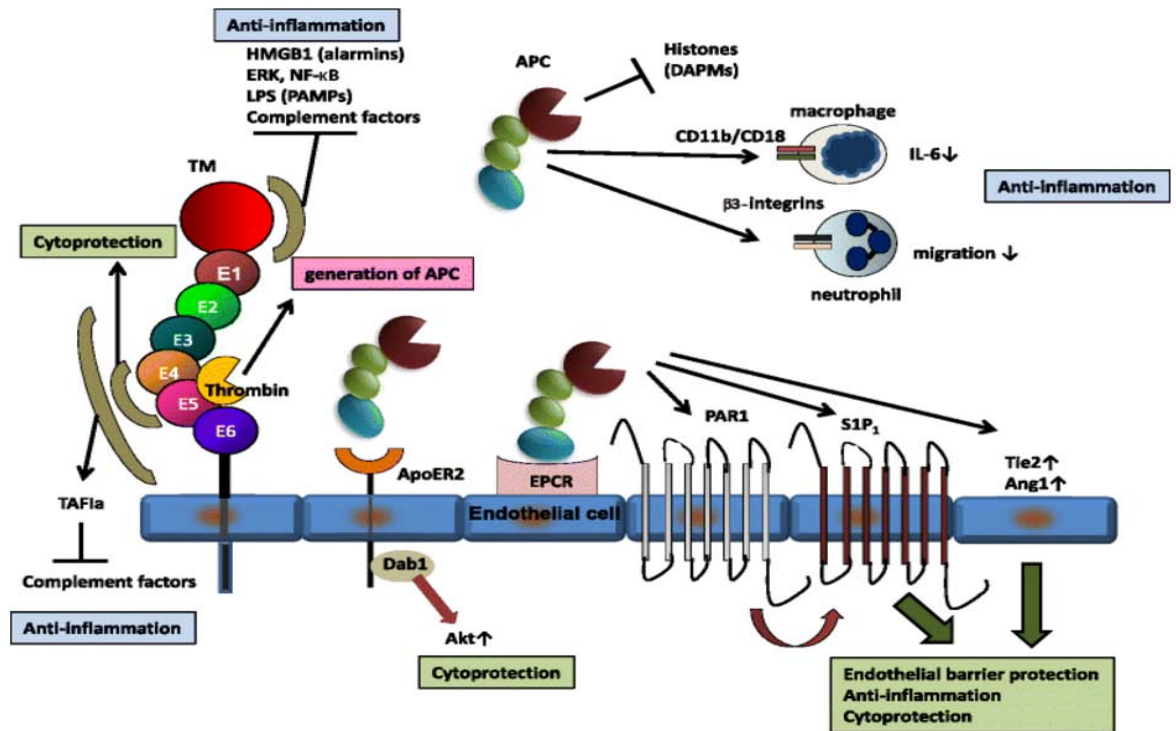
Η θρομβομοντουλίνη συμβάλλει επίσης σε άλλες βιολογικές διαδικασίες πέραν της
αντιπηκτικής. Είναι γνωστό ότι το σύστημα πρωτεΐνης C, καθώς και το σύστημα
ενεργοποιημένου υποδοχέα με θρομβίνη- πρωτεάση είναι σημαντικοί παράγοντες πήξης που
παίζουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή. Με ρύθμιση της δραστηριότητας αυτών των
μεσολαβητών, η θρομβομοντουλίνη εμφανίζει μια αντί-φλεγμονώδη δράση.^{138,139} Η
θρομβομοντουλίνη επίσης ρυθμίζει την κυτταρική προσκόλληση και πολλαπλασιασμό μέσω
του δεσμευτικού πεδίου λεκτίνης της.^{140,141}

4.6 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗΣ

Ο φυσιολογικός ρόλος της θρομβομοντουλίνης (TM) είναι για τη διατήρηση της αγγειακής
ομοιόστασης με έμφαση στις αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες της. Η TM είναι μία
διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται στην επιφάνεια όλων των αγγειακών
ενδοθηλιακών κυττάρων. Η έκφραση της TM ρυθμίζεται στενά για να διατηρήσει την
ομοιόσταση και να εξασφαλιστεί η ταχεία και εντοπισμένη αιμοστατική και φλεγμονώδη
απόκριση στον τραυματισμό. Λόγω της στρατηγικής της θέσης και πολλών τομέων δομής της,
οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις με θρομβίνη, η πρωτεΐνη C (PC), αναστολέας που
ενεργοποιείται με θρομβίνη ινωδόλυσης (TAFI), συστατικά συμπληρώματος, το αντιγόνο

Lewis Y, και η HMGB1 κυτοκίνη, TM εμφανίζει μια σειρά από φυσιολογικά σημαντικών αντιφλεγμονώδων, αντιπηκτικών, και αντι-ινωδολυτικών ιδιοτήτων. Η TM αποτελεί ουσιώδη συμπαράγοντα που έχει πολλαπλές επιπτώσεις στις βιολογικές διεργασίες. Μεταβολές στην έκφραση της TM και των πρωτεϊνών εταίρου του μπορεί να εκδηλωθεί από φλεγμονώδεις και θρομβωτικών διαταραχών. Η χορήγηση των διαλυτών μορφών των TM κρατά την υπόσχεση ως αποτελεσματικές θεραπείες για φλεγμονώδεις ασθένειες, και λοιμώξεις και κακοήθειες που περιπλέκονται από διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη.¹⁰⁵

Η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη TM, ιδιαίτερα η λεκτίνη πεδίο που ομοιάζει με TM μπορεί να παίζει ένα πολλά υποσχόμενο ρόλο στη διαχείριση της σήψης, σπειραματονεφρίτιδα και η αρθρίτιδα. Αυτά τα δεδομένα κατέδειξαν τον πιθανό θεραπευτικό ρόλο της TM στη θεραπεία των φλεγμονωδών νόσων.^{144,145}



Εικόνα 9: Anti-inflammatory and cytoprotective functions of TM/APC

Η θρομβομοντουλίνη (TM) / σύστημα ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C (APC) παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης της θρόμβωσης και της αιμόστασης και στη διατήρηση της αγγειακής ακεραιότητας in vivo. Η TM που εμφανίζεται επί του αγγειακού ενδοθηλίου δεσμεύεται με τη θρομβίνη, σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο 1: 1 και ενεργεί ως αντιπηκτικό. Επιπλέον, το σύμπλοκο θρομβίνης- TM ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C για την

παραγωγή APC, που αδρανοποιεί τους παράγοντες VIIIa και Va κατά την παρουσία πρωτεΐνης S, αναστέλλοντας έτσι τον περαιτέρω σχηματισμού θρομβίνης. Επίσης, η APC διαθέτει αντιφλεγμονώδη, καθώς και κυτταροπροστατευτική δράση. Ακόμα, η εξωκυτταρική περιοχή της TM έχει επίσης APO-ανεξάρτητες αντιφλεγμονώδεις και κυτταροπροστατευτικές δράσεις. Αξίζει να σημειωθεί ότι το σύστημα TM / APC διακυβεύεται σε διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC) που προκαλείται από σήψη, λόγω διαφόρων μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της διάσπασης της TM της κυτταρικής επιφάνειας από τις υπερβολικές κυτοκίνες και πρωτεάσες που παράγονται από ενεργοποιημένα φλεγμονώδη κύτταρα. Έτσι, είναι λογικό να υποθέσουμε ότι η ανασύσταση του συστήματος / APC TM με ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες θα ανακουφίσει την σήψη και τη DIC. Με βάση την επιτυχία της δοκιμής από την Παγκόσμια Αξιολόγηση Πρωτεΐνης C σε Σοβαρή Σήψη [Protein C worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS)], η FDA ενέκρινε τη χρήση της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης APC (rhAPC) για ασθενείς με σοβαρή σήψη, το 2002.¹⁰⁵

Η ανασυνδυασμένη θρομβομοντουλίνη (rTM) είναι μια θεραπευτική επιλογή για τη θεραπεία της DIC που σχετίζεται με σήψη στην Ιαπωνία. Η rTM δεσμεύει τη θρομβίνη, και αλλάζει την εξειδίκευση υποστρώματος της από τους παράγοντες πήξεως V, VIII και XIII στην αντιπηκτική πρωτεΐνη C. Επιπλέον στην (APC) -εξαρτώμενη αντιπηκτική δράση της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C, η rTM έχει APC-ανεξάρτητες αντιφλεγμονώδεις δράσεις, δηλαδή, την παγίδευση των PAMPs και DAMPs. Έτσι, η rTM είναι χρήσιμη για την επίλυση της PAMP-και της DIC που διαμεσολαβείτε από την DAMP, ωστόσο περεταίρω έρευνες είναι αναγκαίες για την επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας της rTM από άποψη κλινικών αποτελεσμάτων.

Εκτός από τα (PAMPs), μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με παθογόνα, alarmins όπως η υψηλής κινητικότητας group box 1 πρωτεΐνη (HMGB1) και μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με τραυματισμούς (DAMPs), και πυρηνικές αρχιτεκτονικές πρωτεΐνες (που συνδέουν τη χρωματίνη) συμπεριλαμβανομένων των ιστονών ενεργοποιούν επίσης τη φλεγμονή και την πήξη αφού απελευθερωθούν από νεκρωτικά/αποπτωτικά κύτταρα ή ενεργοποιηθούν από φλεγμονώδη κύτταρα.^{144,145}

Σε φυσιολογικές συνθήκες, το αντιπηκτικό σύστημα που περιλαμβάνει αντιθρομβίνη (AT), θρομβομοντουλίνη (TM) / ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC), and tissue factor pathway inhibitor (TFPI) ενεργοποιείται για να αντιμετωπίσει την υπερπηκτικότητα.^{146,147} Ωστόσο, αυτό το αντιπηκτικό σύστημα είναι σημαντικά ασθενές σε άτομα με σηπτικό DIC με διάφορους μηχανισμούς: για παράδειγμα, τα επίπεδα της AT μειώθηκαν σε σηπτικούς ασθενείς λόγω της ταχείας κάθαρσης της κυκλοφορίας μετά το σχηματισμό ενός συμπλόκου με την θρομβίνη ή την αλλοίωσή της από ελαστάσες που απελευθερώνονται από ενεργοποιημένα

ουδετερόφιλα.¹⁴⁸ Η TM στις επιφάνειες των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων διασπάται με ελαστάσες ουδετερόφιλων. Επιπλέον, η παραγωγή της TM στη ενδοθήλιο ελλατώνεται από φλεγμονώδεις κυτοκίνες συμπεριλαμβανομένης της TNFα.¹⁴⁹

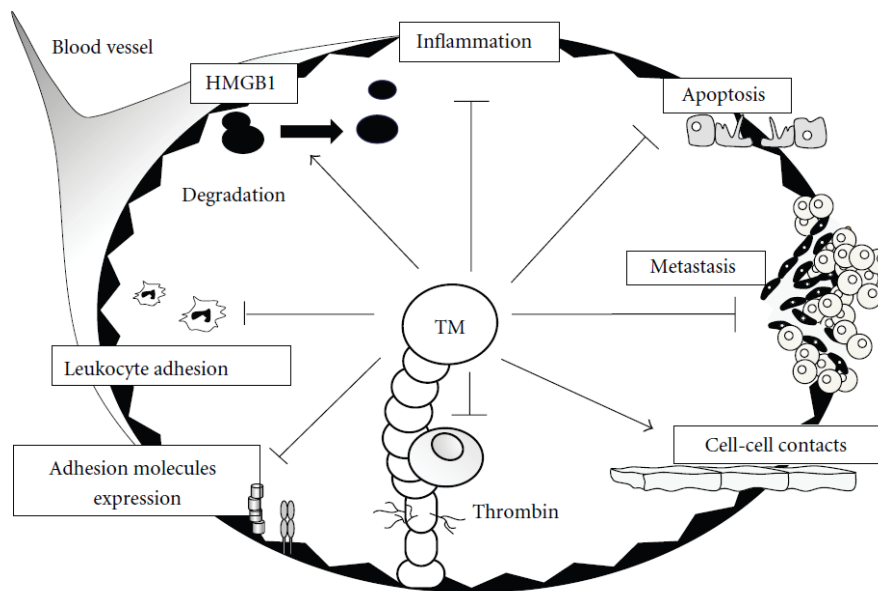
Η Δευτερογενής ινωδόλυσης επίσης αλλοιώνεται σε σηπτικούς ασθενείς DIC, κυρίως λόγω της αύξησης της παρουσίας του αναστολέα ενεργοποιητής πλασμινογόνου-1 (PAI-1) (plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα που διαμεσολαβεί από την ενδοτοξίνη και την TNFα.¹⁵⁰ Έτσι, υπερβολική πήξη παράλληλα με διαταραγμένο αντιπηκτικό και ινωδολυτικό σύστημα οδηγεί σε συνεχή σχηματισμό θρόμβων σε συστηματικές μικρές και μεσαίου μεγέθους φλέβες, που οδηγεί σε οργανική δυσλειτουργία, ένα κλινικό χαρακτηριστικό του σηπτικού DIC. Επιπλέον, η εξάντληση των παραγόντων πήξης και των αιμοπεταλίων οδηγεί σε αιμορραγία. Η ανασυνδυασμένη ανθρώπινη διαλυτή TM (rTM) περιλαμβάνει τον εξωκυτταρικό τομέα της TM και έχει χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της DIC από το 2008 στην Ιαπωνία.^{151,152}

Μια ακόμη έρευνα από τους Takayuki, Ikezoe στο σύστημα APC /TM, έδειξε ότι είναι ένας "προστάτης" της πήξης του αίματος και της αγγειακής ακεραιότητας, που αλλοιώνεται στη σήψη, καθώς περιπλέκεται λόγω της DIC. Θεραπευτικά μέτρα για την ανασύσταση του TM / APC συστήματος μπορεί να μετριάσουν τη φλεγμονή και τις οργανικές βλάβες που σχετίζονται με την αναστολή του σχηματισμού θρόμβων σε σηπτικούς ασθενείς DIC. Αυτές οι ευεργετικές επιδράσεις θα μπορούσαν να βελτιώσουν το ποσοστό επιβίωσης αυτής της πιθανούς θανατηφόρας ασθένειας.

Ωστόσο, ακόλουθες κλινικές δοκιμές απέτυχαν να δείξουν κλινικά οφέλη για την rhAPC, και σημειώθηκε αυξημένη συχνότητα εμφάνισης γεγονότων που σχετίζονται με αιμορραγία, το οποίο οδήγησε την βιομηχανία να αποσύρει την rhAPC από την αγορά. Αντίθετα, ανασυνδυασμένη ανθρώπινη διαλυτή TM (rTM) χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία των ατόμων με DIC το 2008 στην Ιαπωνία. Πραγματοποιήθηκε κλινική δοκιμή φάσης III που αξιολογούσε την αποτελεσματικότητα της rTM σε ασθενείς με σοβαρή σήψη με διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας και είναι τώρα σε εξέλιξη στις ΗΠΑ, τη Νότια Αμερική, την Ασία, την Αυστραλία, την Ευρωπαϊκή Ένωση και άλλες χώρες.¹⁰⁵

Ένας άλλος αντι-φλεγμονώδης στόχος της TM είναι υψηλής κινητικότητας κουτί ομάδα 1 High Mobility Group Box 1 (HMGB1), μία πανταχού εκφραζόμενη πυρηνική πρωτεΐνη που απελευθερώνεται από νεκρωτικά κύτταρα. Μετά την απελευθέρωση, η HMGB1 δεσμεύεται στον υποδοχέα για τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (RAGE).¹⁵² Η σηματοδότηση HMGB1-RAGE έχει ενοχοποιηθεί για την παθογένεση και / ή την εξέλιξη των διαφόρων κλινικών διαταραχών, όπως λοιμώξεις, σηψαιμία, αρθρίτιδα, και ο καρκίνος. Η λεκτίνη-ειδούς περιοχής του TM παρεμβαίνει στην σύνδεση του HMGB1 με το RAGE,

αλλοιώνοντας έτσι την σηματοδότηση HMGB1-RAGE.¹⁵³ Εναλλακτικά, η TM ενδέχεται να ανταγωνισθεί την HMGB1 ενισχύοντας τη θρομβίνη διαμεσολαβούμενη πρωτεολυτική αποικοδόμηση της HMGB1.¹⁵⁴



Εικόνα 10: Πολλαπλούς ρόλους της TM στην διατήρηση της αγγειακής ομοιοστασίας. TM αναστέλλει την φλεγμονή, απόπτωση, μετάσταση όγκου, η λειτουργία της θρομβίνης, έκφραση του μορίου προσφύσεως, και προσκόλληση λευκοκυττάρων. Προφλεγμονώδεις υψηλής κινητικότητας κουτί ομάδα 1 (HMGB1) εξουδετερώνεται και αποικοδομείται(degraded) από TM.

4.6.1 TM ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Αρχικά, η TM θεωρείται ότι έχει έμμεση αντιφλεγμονώδη δράση και δρα κυρίως μέσω της επίδρασής της στην παραγωγή ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C και καταστολής της δραστηριότητας της θρομβίνης.

Πρώτον, το σύμπλοκο θρομβίνης-TM παράγει μία μεγάλη ποσότητα ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C η οποία έχει πληθώρα αντιφλεγμονωδών δραστηριοτήτων. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C προλαμβάνει την προκαλούμενη από φλεγμονή αγγειακή διαπερατότητα,^{155,156} καταστέλλει την αύξηση της φλεγμονώδους κυτοκίνης στη σήψη,¹⁵⁷ αναστέλλει την πρόσφυση των λευκοκυττάρων και μειώνει τη χημειοταξία των λευκοκυττάρων.¹⁵⁸ Μετά την πρόσδεση στον υποδοχέα ενδοθηλιακής πρωτεΐνης C (EPCR), η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C

ενεργοποιεί τον ενεργοποιημένο με πρωτεάση υποδοχέα 1 (PAR-1) και καταλήγει στο υποδοχέα φωσφορικής μονοπατιού 1 σηματοδότησης της σφιγγοσίνης-1 για να εκτελέσει τις αντι-φλεγμονώδεις επιδράσεις.¹⁵⁵

Δεύτερον, η TM μειώνει τις προ-φλεγμονώδεις επιδράσεις της θρομβίνης όταν συνδέεται με τη θρομβίνη, διευκολύνει την πρόσληψη κυκλοφορούντων μονοκυττάρων αυξάνοντας την ενδοθηλιακή έκφραση της μονοκυτταρικής χημειοελκυστικής πρωτεΐνης-1 (MCP-1) του μορίου ενδοκυτταρικής προσκόλλησης-1(ICAM-1) και του μορίου προσκόλλησης των αγγειακών κυττάρων-1 (VCAM-1).^{159,160} Η οδός σηματοδότησης της θρομβίνης είναι επίσης μέσω ενεργοποίησης PAR-1, αλλά ο προς τα κάτω τελεστής συνδέεται με τον υποδοχέα3 της φωσφορικής σφιγγοσίνης-1. Η TM αναστέλλει την αλληλεπίδραση της θρομβίνης με την PAR-1 και μειώνει όλα τα προ-φλεγμονώδη αποτελέσματα της θρομβίνης. Συνεπώς, η TM διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της ισορροπίας μεταξύ ενεργοποιημένων υποδοχέων φωσφορικού υποδοχέα 1 ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C / EPCR / PAR1 / σφιγγοσίνης-1 και μονοπατιών υποδοχέα φωσφορικού υποδοχέα 3 θρομβίνης / PAR1 / σφιγγοσίνης-1 κατά τη διάρκεια της φλεγμονής.¹⁶¹ Μέσω του ανασταλτικού αποτελέσματος θρομβίνης, η έγχυση της ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης D2 συν D3 της TM (rTMD23) θα μπορούσε να μειώσει σημαντικά τη φλεγμονή και τον σχηματισμό της αθηροσκλήρωσης σε ποντικούς με ελλειμματική απολιποπρωτεΐνη E.¹⁶²

Τρίτον, το σύμπλοκο θρομβίνης-TM ενεργοποιεί τον ενεργοποιησιμο αναστολέα ινωδόλυσης (TAFI), επίσης γνωστό ως προκαρβοξυπεπτιδάση R, μια προκαρβοξυπεπτιδάση που εποικοδομεί αρκετούς προ-φλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως η βραδυκινίνη και οι παράγοντες συμπληρώματος C3a και C5a. Το σύστημα συμπληρώματος είναι ένας από τους σημαντικούς τελεστές στην ανθρώπινη ανοσία. Η υπερβολική ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος οδηγεί σε διάφορες φλεγμονώδεις ασθένειες. Παρόμοια με την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C, το TAFI ενεργοποιείται από το σύμπλοκο θρομβίνης-TM με καταλυτική απόδοση 1000 φορές καλύτερη από την ελεύθερη θρομβίνη μόνη της. Το TAFI διασπά τις καρβονυλικές τερματικές αργινίνες των παραγόντων συμπληρώματος και τη βραδυκινίνη, απενεργοποιώντας τις βιολογικές τους δραστηριότητες και καθοδηγώντας προς τα κάτω τη συναφή φλεγμονώδη αντίδραση.¹⁶³ Αν και η TMD1 δεν εμπλέκεται στη δέσμευση της θρομβίνης και δεν έχει επίδραση στην ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η ίδια η TMD1 έχει άμεση αντιφλεγμονώδη δράση.

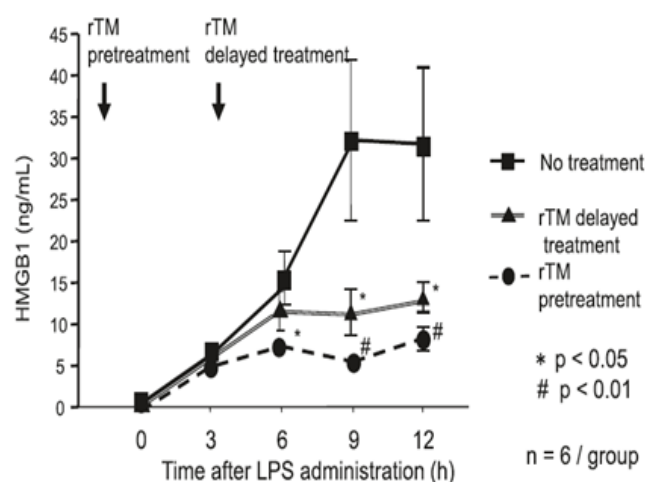
4.6.2 ΤΜ ΚΑΙ ΣΗΨΗ

Η σηψαιμία είναι ένα κλινικό σύνδρομο που προκαλείται από συστηματική φλεγμονώδη απόκριση που προκαλείται από βακτηριακή ή ιική μόλυνση.¹⁶⁴ Η ενδοτοξίνη ή η LPS του μολυσματικού παθογόνου είναι υπεύθυνη για παθοφυσιολογικά γεγονότα που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της σήψης και οδηγεί σε συστηματική φλεγμονή και πήξη. Η διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC), η οποία εκδηλώνεται ως ανωμαλίες της πήξης, δυσλειτουργία της πνευμονικής αγγειακής διαπερατότητας και σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) είναι συχνές επιπλοκές της σηψαιμίας και οδηγεί σε υψηλή θνησιμότητα.³⁶ Η ανασυνδυσασμένη ΤΜ έχει διερευνηθεί σε διάφορα ζωικά μοντέλα σηψαιμίας. Σε αρουραίους, η προεπεξεργασία της ανασυνδυσασμένης πρωτεΐνης ΤΜ που περιέχει όλες τις εξωκυτταρικές περιοχές (rTMD123) μείωσε σημαντικά τη θνησιμότητα της επαγόμενης από LPS σήψης.¹⁶⁵ Η θεραπεία με rTMD123 μείωσε τη διείσδυση των φλεγμονωδών κυττάρων στον πνεύμονα και στο ήπαρ. Μείωσε την αύξηση ανύψωση των παραγόντων νέκρωσης όγκου-άλφα, ιντερλευκίνης-6 και HMGB1. Επιπλέον, μελέτη in vitro έδειξε ότι η χορήγηση rTMD123 αναστέλλει την ενεργοποίηση του (ηF-KB) πυρηνικού παράγοντα-κάπα Β με αποκλεισμό της φωσφορυλίωσης Ι κάπα Β σε μακροφάγους.¹⁶⁵ Σε μοντέλο σηψίας ποντικού, οι ποντικοί που έλαβαν έγχυση rTMD1 έχουν σημαντικά μικρότερη ανύψωση άλφα παράγοντα νέκρωσης όγκου και διείσδυση φλεγμονωδών κυττάρων στον πνευμονικό ιστό. Η θεραπεία με rTMD1 μείωσε τη θνησιμότητα από τη σήψη που προκαλείται από LPS και αρνητικά κατά Gram αρνητικά βακτήρια.¹³¹ Όλα τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η ανασυνδυσασμένη πρωτεΐνη ΤΜ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της φλεγμονής σε σηψαιμία. Saito et al. χρησιμοποίησε rTMD123 για να εκτελέσει μια κλινική δοκιμή φάσης III σε ασθενείς με DIC που προκαλούνται από αιματολογική κακοήθεια ή μόλυνση.¹⁶⁶ Συγκρίθηκαν το ποσοστό επίλυσης DIC μεταξύ των ασθενών που έλαβαν rTMD123 και της ηπαρίνης. Η θεραπεία με rTMD123 είχε ως αποτέλεσμα καλύτερη ανάλυση DIC από την ηπαρίνη. Η μείωση των επιπέδων πλάσματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης και D-διμερούς ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα rTMD123. Ωστόσο, η συνολική θνησιμότητα ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων.¹⁶⁶ Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα για τη χορήγηση του rTMD1 σε ασθενείς με σήψη. Επειδή το rTMD1 δεν έχει καμία επίδραση στη σύνδεση της θρομβίνης και της ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C, ο κίνδυνος αιμορραγίας μετά την ένεση του rTMD1 θα πρέπει να είναι μικρότερος από τον rTMD123. Περαιτέρω κλινικές δοκιμές είναι απαραίτητες για την αξιολόγηση της επίδρασης rTMD1 σε ασθενείς με σήψη.

Η θρομβομοντουλίνη έχει έναν κεντρικό ρόλο στο σύστημα πρωτεΐνης C η οποία είναι σημαντική στην παθογένεση της σήψεως. Σε σήψη, η έκφραση των ενδοθηλιακών κυττάρων της θρομβομοντουλίνης είναι έντονα προς τα κάτω, προκαλώντας μια εξασθενημένη

ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C η οποία είναι κεντρική η ρύθμιση της ενεργοποίησης της πήξης και φλεγμονώδεις διεργασίες. Επιπλέον, η θρομβομοντουλίνη η ίδια έχει ανοσορυθμιστικές επιδράσεις, στόχευσης προσκόλληση ουδετερόφιλων, ενεργοποίηση συμπληρώματος και την παραγωγή κυτοκίνης. Αρκετές προκλινικές μελέτες σε πειραματικά μοντέλα σήψης έχουν δείξει ότι η χορήγηση της διαλυτής θρομβομοντουλίνης είναι ικανή βελτίωσης της διαταραχής της πήξης, βελτιώνει φλεγμονώδεις αποκρίσεις και μπορεί να αποκαταστήσει την δυσλειτουργία οργάνων. Αρχικές κλινικές μελέτες σε ασθενείς με διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη, εκ των οποίων ένα σημαντικό ποσοστό ήταν ασθενείς με σήψη, αποδεικνύουν την ευεργετική επίδραση της ανασυνδυασμένης διαλυτής θρομβομοντουλίνης για την αποκατάσταση της πήξης και τη βελτίωση της ανεπάρκειας του οργάνου.

Μια έρευνα ανέδειξε τις επιδράσεις της διαλυτής ανασυνδυασμένης ανθρώπινης TM στην παραγωγή των φλεγμονωδών κυτοκινών και το επίπεδο πλάσματος της HMGB1 σε ένα πειραματικό μοντέλο ενδοτοξαιμίας ^{113,114}. Η ενδοτοξαιμία προκλήθηκε σε αρουραίους μέσω μιας ενδοφλέβιας ένεσης 4 mg / kg λιποπολυσακχαρίτη (LPS). Η ανασυνδυασμένη TM (1 mg / kg) χορηγήθηκε ως μεγάλης ποσότητας ένεση 30 λεπτά πριν ή 4 ώρες μετά την LPS. Η LPS αύξησε τα επίπεδα πλάσματος του TNF-α και IL-1β, τα οποία κορυφώθηκαν σε 1 και 3 ώρες, αντίστοιχα, και σταδιακά, τα επίπεδα πλάσματος της HMGB1. Ακόμα και όταν η χορήγηση της καθυστέρησε, η ανασυνδυασμένη TM ανέστειλε σημαντικά την επαγόμενη από LPS αύξηση στα επίπεδα πλάσματος της HMGB1 (Εικ. 12) και το σύμπλοκο θρομβίνης-AT, καθώς και την αύξηση της ηπατικής δυσλειτουργίας και της θνησιμότητας. Η χρήση της ανασυνδυασμένης TM μπορεί συνεπώς να είναι ευεργετική για τη θεραπεία σηπτικών ασθενών. ^{113,114}



Εικόνα 11 (Treatment of tm)

Επιπλέον, κατά τη σήψη, το σύστημα πήξης συχνά ενεργοποιείται συστημικά σε συνδυασμό με την ταυτόχρονη ανεπάρκεια του αντιπηκτικού συστήματος και του

συστήματος ινωδόλυση. Δεδομένου ότι αυτή η κατάσταση υπερπηκτικότητας συχνά οδηγεί σε διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC), έναν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα θνησιμότητας σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς, η κατάλληλη διαχείριση της ίδιας της DIC είναι ένα κρίσιμο μέρος των στρατηγικών θεραπείας για σοβαρή σήψη. Σε αυτό το πλαίσιο, το σύστημα βαθμολόγησης της (JAAM) για της DIC έχει προταθεί ως έγκυρο τεστ για τη διάγνωση DIC. Το σύστημα αυτό αναμένεται επίσης μπορεί να βοηθήσει στην επινόηση ειδικά προσαρμοσμένων στρατηγικών διαχείρισης. Η αντιπηκτική θεραπεία συνήθως δίνεται σε σηπτικούς ασθενείς με DIC ως μέρος της τυπικής φροντίδας στην Ιαπωνία. Πιο πρόσφατα, το συμπύκνωμα αντιθρομβίνης και η ανασυνδυασμένη θρομβομοντουλίνη έχουν γίνει οι δύο αντιπηκτικοί παράγοντες συχνότερης επιλογής. Σε σχέση με τη χρήση της αντιθρομβίνης, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η ανάκτηση της δραστηριότητας της αντιθρομβίνης σε φυσιολογικά επίπεδα (> 70%) είναι απαραίτητη εάν η θεραπεία με συμπληρώματα είναι να παρέχει ένα ευνοϊκό αποτέλεσμα. Η ανασυνδυασμένη θρομβομοντουλίνη είναι ελαφρώς πιο αμφιλεγόμενη, με ευνοϊκά αποτελέσματα να είναι μεγαλύτερη μεταξύ των σοβαρών περιπτώσεων DIC.¹⁶⁷

Η Σοβαρή σήψη αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα στη μονάδα εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ), αν και υπάρχει πολύ λίγες επιδημιολογικές πληροφορίες σχετικά με σοβαρή σήψη. Μια μεγάλη μελέτη στοχεύει να αξιολογήσει εκ των υστέρων το μεγάλο πληθυσμό των ασθενών με σοβαρή σήψη σε μονάδες εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ) σε όλη την Ιαπωνία.

Η μελέτη αξιολόγησε 3195 ασθενείς με σοβαρή σήψη σε 42 ΜΕΘ σε όλη την Ιαπωνία. Οι ασθενείς με σοβαρή σήψη είχαν μέση ηλικία 70 ± 15 ετών και μια μέση (APACHE II) Acute Physiology και Χρόνια βαθμολογίας Υγείας Αξιολόγηση II 23 ± 9 . Τα εκτιμώμενα ποσοστά επιβίωσης σε 28 και 90 ημέρες μετά την εισαγωγή στη ΜΕΘ ήταν 73,6 και 56,3%, αντίστοιχα.¹⁶⁷

Τα αποτελέσματα αυτής της κλινικής μελέτης επιβεβαίωσαν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια αυτής της θεραπείας (Πίνακας 20) σε σηπτικούς ασθενείς της ΜΕΘ και γενικά στην Ιαπωνία.

Πίνακας 20: Οι συχνότητες των διαφόρων επιστημονικών και θεραπειές για σοβαρή σήψη κατά τη διάρκεια των πρώτων 7 ημερών μετά την εισαγωγή στη ΜΕΘ

συμπληρωματικές θεραπείες	
θεραπείες DIC	1498 (47%)
αντιθρομβίνης	990 (31%)
θρομβομοντουλίνη	856 (27%)
Η συγχορήγηση της αντιθρομβίνης και θρομβομοντουλίνης	496 (16%)
αναστολείς πρωτεάσης	392 (12%)
ληπαρινοειδή	167 (5%)
ανοσοσφαιρίνης	976 (31%)
χαμηλή δόση στεροειδών	777 (24%)
θεραπεία υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας	890 (28%)
θεραπεία υποκατάστασης της νεφρικής μη-νεφρική ένδειξη	266 (8%)
Πολυμυξίνης Β-άμεση αιμοπροσρόφηση	692 (22%)

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως αριθμός ασθενών (ποσοστό)

DIC διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη, μονάδα εντατικής θεραπείας ΜΕΘ

Συμπέρασμα αυτής της μελέτης σύμφωνα με τον Iba T. Και Thachil J. θεωρούν το παρόν και μέλλον της αντιπηκτικής θεραπείας με χρήση αντιθρομβίνης και θρομβομοντουλίνη για την σήψη είναι μεγάλη προοπτική για την Ιαπωνία.¹⁶

4.6.3 ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΟΞΕΙΑΣ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗΣ ΔΥΣΧΕΡΕΙΑΣ

A.R.D.S (Acute respiratory distress syndrome)

Το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) είναι ένα σύνδρομο αναπνευστικής ανεπάρκειας που χαρακτηρίζεται από οξύ πνευμονικό οίδημα και φλεγμονή του πνεύμονα.¹⁶⁸

Το ARDS έχει εκτιμώμενη εμφάνιση σε περίπου 200.000 ασθενείς ετησίως στις Ηνωμένες Πολιτείες και οι εκτιμήσεις θνησιμότητας κυμαίνονται από 18 έως 58% .^{169,170} Η πλειοψηφία των θανάτων σε ασθενείς με ARDS αποδίδεται σε πολλαπλή οργανική ανεπάρκεια, η οποία θεωρείται ότι οφείλεται σε εκτεταμένη ενδοθηλιακή βλάβη.¹⁶⁸⁻¹⁷¹

Η TM είναι άφθονη σε πνευμονικά τριχοειδή αγγεία και η εκτομή του πνεύμονα οδηγεί σε μείωση των επιπέδων ορού της sTM.¹⁷² Η χορήγηση της ανασυνδυασμένης TM έχει αποδειχθεί ότι παρατείνει τον χρόνο επιβίωσης και βελτιώνει την ανάπτυξη του ARDS σε ένα μοντέλο ποντικού ARDS που προκαλείται από LPS.¹⁷³ Σε προηγούμενες μικρές μελέτες σε ασθενείς με ARDS, αναφέρθηκε ότι τα επίπεδα sTM ήταν υψηλότερα μεταξύ των μη επιζώντων σε σύγκριση με τους επιζώντες.^{174,175} Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση δεν έχει εξεταστεί σε μεγάλες πολυκεντρικές μελέτες του ARDS. Επιπλέον, είναι άγνωστο αν οι διαφορές στα επίπεδα sTM του πλάσματος μεταξύ των ασθενών αντικατοπτρίζουν τη σοβαρότητα της ασθένειας, τις γενετικές διαφορές ή και τα δύο.

Υποθέσαμε ότι (1) τα επίπεδα sTM πλάσματος στην αρχή του ARDS θα σχετίζονταν με την κλινική έκβαση σε μια μεγάλη πολυκεντρική μελέτη του ARDS και (2) οι πολυμορφισμοί στα γονίδια TM θα συσχετίζονταν με τα επίπεδα πλάσματος sTM.

Συμπερασματικά, τα υψηλότερα επίπεδα sTM στο πλάσμα σχετίζονται με αυξημένη θνησιμότητα στο ARDS. Η έλλειψη συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων του sTM και των γενετικών παραλλαγών υποδηλώνει ότι τα αυξημένα επίπεδα sTM μπορεί να αντικατοπτρίζουν τη σοβαρότητα της ενδοθηλιακής βλάβης αντί της γενετικής ανομοιογένειας. Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν τη σημασία του ενδοθηλιακού τραυματισμού στην παθογένεση ARDS και προτείνουν ότι, σε συνδυασμό με κλινικούς δείκτες, το sTM θα μπορούσε να συμβάλει στη διαστρωμάτωση κινδύνου.¹⁷⁵

4.6.4 TM ΚΑΙ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΟΝΕΦΡΙΤΙΔΑ

Η σπειραματονεφρίτιδα είναι μία από τις κύριες αιτίες της νεφρικής ανεπάρκειας. Η ασθένεια είναι αποτέλεσμα τραυματισμού από σπειραματοζώα που προκαλείται από μια μεταβλητή προσβολών, όπως λοίμωξη, ανοσολογικές διαταραχές και αγγειίτιδα, και η προκύπτουσα φλεγμονή και πήξη οδηγεί σε βλάβη από σπειράματα και νεφρική ανεπάρκεια. Σε μοντέλο αρουραίου σπειραματονεφρίτιδας που επάγεται με ταυτόχρονη χορήγηση LPS και αντισώματος αντι-σπειραματικής βασικής μεμβράνης, οι Ikeguchi et al. βρήκαν ότι η έγχυση rTMD123 θα μπορούσε να μειώσει την απόθεση θρόμβων και τη διείσδυση των φλεγμονωδών κυττάρων στα σπειραματοζώα, μπορεί να διασώσει την οξεία νεφρική δυσλειτουργία και να μειώσει τη θνησιμότητα των ζώων.¹⁹⁶ Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος και η απόθεση σπειραματικού C3 είναι μείζονες εκδηλώσεις σε αυτό το μοντέλο ζωικής σπειραματονεφρίτιδας. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι το επίπεδο πλάσματος

του TAFI αυξήθηκε σημαντικά μετά την ένεση TM και ο αναστολέας TAFI μείωσε σημαντικά την ανασταλτική επίδραση της TM στη διήθηση των λευκοκυττάρων.¹⁷⁶

Η οξεία βλάβη των νεφρών που προκύπτει από νεφρική ισχαιμία είναι μια άλλη σημαντική αιτία νεφρικής ανεπάρκειας. Η φλεγμονή, η νεφρική σωληναριακή δυσλειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων και η απόπτωση παίζουν σημαντικούς ρόλους στην παθογένεση της ισχαιμικής νεφρικής βλάβης. Οι Ozaki et. al. δημιούργησε ένα μοντέλο νεφρικής βλάβης ισχαιμίας / επαναιμάτωσης σε αρουραίους με εκτέλεση δεξιάς νεφρεκτομής και αφαίρεσης της σύσφιξης της νεφρικής αρτηρίας. Η ενδονεφρική ένεση του rTMD123 θα μπορούσε να διατηρήσει μια καλύτερη νεφρική λειτουργία μετά από νεφρική βλάβη ισχαιμίας / επαναδιάχυσης.¹⁷⁷ Η σοβαρότητα της βλάβης των νεφρικών σωληναρίων αξιολογήθηκε από την έκταση της σωληναριακής διαστολής, του εκφυλισμού και του σχηματισμού χυτού. Σε σύγκριση με την ένεση φυσιολογικού ορού, το rTMD123 θα μπορούσε να μειώσει τη βλάβη των νεφρικών σωληναρίων και τη διείσδυση των φλεγμονωδών κυττάρων. Επιπλέον, in vivo μελέτη έδειξε ότι η θεραπεία με rTMD123 μείωσε την απόπτωση των νεφρικών σωληναριακών επιθηλιακών κυττάρων μετά από νεφρική βλάβη ισχαιμίας / επαναδιάχυσης. Ενώ η in vitro μελέτη έδειξε ότι η θεραπεία με rTMD123 θα μπορούσε να μειώσει την απόπτωση ενδοθηλιακών κυττάρων που προκαλείται από υπεροξειδίο του υδρογόνου.¹⁷⁷ Η προστατευτική επίδραση του TM σε ισχαιμική νεφρική βλάβη επαναβεβαιώθηκε σε άλλο ζωικό μοντέλο. Sharfuddin et αι. Διενήργησε σύσφιξη της αορτής των επινεφριδίων για τη μείωση της ροής της αορτής κατά 90% για 60 λεπτά και την πρόκληση νεφρικής βλάβης ισχαιμίας / επαναδιάχυσης.¹⁷⁸ Σε αυτό το μοντέλο, η προεπεξεργασία της ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης TM που περιέχει D1 και D2 (rTMD12) μείωσε σημαντικά τη σοβαρότητα της νεφρικής σωληναριακής βλάβης, τη διήθηση των φλεγμονωδών κυττάρων και τη θνησιμότητα σε αρουραίους. Είναι ενδιαφέρον ότι σε αυτή τη μελέτη δημιουργήθηκε μια σημειακή μετάλλαξη στην περιοχή TMD2 η οποία είναι υπεύθυνη για την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C. Διαπίστωσαν ότι το μεταλλαγμένο rTMD12 δεν έχει ικανότητα να ενεργοποιήσει την πρωτεΐνη C, αλλά εξακολουθεί να έχει την ίδια νεοπροστατευτική επίδραση με το άγριου τύπου TM που δείχνει τη σημασία του αντιφλεγμονώδους αποτελέσματος της TMD1.¹⁷⁸ Η μελέτη μας κατέδειξε ότι η ένεση LPS από μόνη της θα μπορούσε να προκαλέσει σοβαρή σπειραματονεφρίτιδα σε ποντίκια. Οι ποντικοί που έλαβαν μόνο ένεση rTMD1 είχαν μικρότερη έκταση σπειραματονεφρίτιδας και καλύτερη νεφρική λειτουργία από ότι τα ποντίκια ελέγχου.¹³¹ Αυτά τα δεδομένα επιβεβαίωσαν ότι η TMD1 έχει άμεση αντιφλεγμονώδη λειτουργία ανεξάρτητη από την ενεργοποιημένη δράση της πρωτεΐνης C. Επιπλέον, η ενεργοποίηση του υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) καταδείχθηκε σε πειραματική νόσος, ιδιαίτερα ταχέως προοδευτική σπειραματονεφρίτιδα.^{179,180} Η πρόσφατη μελέτη μας έδειξε ότι το rTMD1 παρεμβαίνει στην

σηματοδότηση του EGFR μέσω της αλληλεπίδρασης με LeY, καταστέλλοντας έτσι την αγγειογένεση και την ανάπτυξη του όγκου με τη μεσολάβηση του EGF.¹⁸¹ Λαμβανόμενα μαζί, το rTMD1 είναι πολλά υποσχόμενο για τη θεραπεία φλεγμονής που προκαλείται από EGFR, συμπεριλαμβανομένης της σπειραματονεφρίτιδας.¹⁸¹

4.6.5 ΤΜ ΚΑΙ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι μια χρόνια φλεγμονώδης αυτοάνοση ασθένεια των αρθρώσεων. Η παθολογική εξέταση αποκάλυψε χρόνιες αρθρικές φλεγμονές και προοδευτική καταστροφή των προσβεβλημένων αρθρώσεων. Ο κύριος τύπος φλεγμονώδους κυττάρου στον αρθρικό ιστό ο οποίος είναι υπεύθυνος για την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών είναι ο μακροφάγος. Ο παράγοντας νέκρωσης όγκου-άλφα και η ιντερλευκίνη-1 από μακροφάγα παίζουν βασικό ρόλο στην παθογένεση και την φλεγμονώδη εξέλιξη της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι το επίπεδο της διαλυτής ΤΜ αυξάνεται στα ούρα και το υγρό των αρθρώσεων από τους ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα^{144,145} και η ΤΜ συντίθεται και εκφράζεται από τα αρθρικά κύτταρα επένδυσης.¹⁴⁵ Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι η ΤΜ μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Τα TMLeD / LeD ποντίκια ανέπτυξαν πιο σοβαρή φλεγμονώδη αρθρίτιδα σε μοντέλο αρθρίτιδας που προκαλείται από αντίσωμα κατά του κολλαγόνου.¹³² Τα ποντίκια εμφάνισαν σημαντικότερο οίδημα στα πόδια και μεγαλύτερη διείσδυση φλεγμονωδών κυττάρων στους αρθρικούς ιστούς από τους αντίστοιχους φυσικού τύπου. Η θεραπεία των ποντικών με rTMD1 βελτίωσε σημαντικά την σοβαρότητα της αρθρίτιδας, μείωσε το πάχος της αρθρικής επένδυσης, κατέστειλε τη διείσδυση μακροφάγων στον αρθρικό ιστό και μείωσε την έκφραση HMGB1 σε αυτούς τους μακροφάγους.¹³² Υπήρχε αυξημένη εναπόθεση συμπληρώματος στην άρθρωση. Περαιτέρω μελέτες in vitro έδειξαν ότι το rTMD1 θα μπορούσε να καταστείλει την ενεργοποίηση των μονοπατιών συμπληρώματος.¹³² Επιπλέον, η τρέχουσα μελέτη μας πρότεινε ότι το rTMD1 μπορεί να προστατεύσει από την εξέλιξη της αρθρίτιδας μέσω της απομόνωσης του LeY, η οποία αυξήθηκε στο αρθρικό υγρό από ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα.¹⁸² Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι το rTMD1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτικός παράγοντας στην φλεγμονώδη αρθρίτιδα.¹⁸²

4.6.6 Η ΤΜ ΣΤΙΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΕΣ

Η θρομβομοντουλίνη είναι ένα φυσικώς εμφανιζόμενο αντιπηκτικό, που εκφράζεται από πολυάριθμα επιθηλιακά και λεμφογαγγειακά καρκινικά κύτταρα. Μπορεί να έχει κάποιο ρόλο στη μετάσταση του όγκου.¹⁸³ Η ΤΜ αρχικά περιγραφόμενη ως ενδοθηλιακό αντιπηκτικό, διαδραματίζει βασικό ρόλο στη βιολογία και στα προγνωστικά των όγκων και παρέχει έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο για την πρόληψη της εξάπλωσης του καρκίνου.¹⁸³

Η ΤΜ εκφράζεται τόσο στο ενδοθήλιο όσο και στα καρκινικά κύτταρα σε αρκετούς καρκίνους. Η απώλεια έκφρασης υποδηλώνει ένα πιο κακοήθες προφίλ με φτωχότερη πρόγνωση. Η απώλεια της ΤΜ προκαλείται από υποξία, ενδοτοξίνη και διάφορες κυτοκίνες, ενώ η αύξηση της μπορεί να επιτευχθεί με φαρμακολογικό χειρισμό (π.χ. πεντοξυφυλλίνη και στατίνες).¹⁸⁴

Υπάρχουν αυξανόμενα στοιχεία ότι η ΤΜ παίζει ρόλο στη συμπεριφορά του όγκου.¹⁹⁰ Συσσωρευμένα πειραματικά στοιχεία έχουν δείξει ότι η θρομβομοντουλίνη μπορεί να είναι σε θέση να καταστείλει την μεταστατική ικανότητα των κυττάρων του όγκου ώστε να διαδραματίσει προστατευτικό ρόλο σε πολλούς τύπους κακοηθειών.¹⁸⁴

4.6.7 ΤΜ ΣΤΗ ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΦΛΕΓΜΟΝΟΔΩΝ ΚΑΙ ΑΘΗΡΟΘΡΟΜΒΟΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

Από την ανακάλυψή της στη δεκαετία του 1980 ως αντιπηκτική πρωτεΐνη, πρόσφατα στοιχεία υποδηλώνουν ότι η ΤΜ παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της προσκόλλησης και της φλεγμονής καθώς και της πήξης εντός αιμοφόρων αγγείων. Ένα διαλυτό στοιχείο ΤΜ έχει παραχθεί με τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA που μπορεί να δεσμεύσει θρομβίνη και να ενεργοποιήσει την πρωτεΐνη C. Η διαλυτή ΤΜ έχει λάβει μεγάλη προσοχή λόγω των πιθανών κλινικών εφαρμογών της. Πρόσφατες εξελίξεις στην κατανόηση της νέας φυσιολογικής λειτουργίας της ΤΜ θα επανεξετάσει τους μοριακούς μηχανισμούς του αντιφλεγμονώδους αποτελέσματος της. Αυτή η επισκόπηση θα συνοψίσει επίσης τα δεδομένα ΤΜ που προκύπτουν από μελέτες σε ζώα και κλινικές δοκιμές μέχρι σήμερα και θα επικεντρωθεί στον ρόλο της ΤΜ στη θεραπεία θρομβωτικών, αθηροσκληρωτικών και άλλων ασθενειών που σχετίζονται με τη φλεγμονή. Τα καινούργια δεδομένα δείχνουν ότι η διαλυτή ΤΜ είναι ένας πολλά υποσχόμενος παράγοντας που μπορεί να προσφέρει πιθανές θεραπείες για τη

ρύθμιση της παθοφυσιολογικής διαδικασίας αθηροθρομβωτικών και άλλων φλεγμονωδών ασθενειών στο εγγύς μέλλον.¹⁸⁵

4.6.8 ΤΜ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ (from bench to bedside.)

Η αθηροσκλήρωση παραμένει η κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκοσμίως. Εκτός από την εναπόθεση χοληστερόλης στο αρτηριακό τοίχωμα, η φλεγμονή, ο πολλαπλασιασμός και η μετανάστευση των κυττάρων παίζουν σημαντικούς ρόλους στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης. Η θρομβομοντουλίνη (TM) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη εκφραζόμενη σε κυτταρική επιφάνεια η οποία συντίθεται κυρίως από τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα και ένας κρίσιμος συμπαράγοντας για την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C με τη μεσολάβηση της θρομβίνης. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C είναι γνωστότερη για τις φυσικές αντιπηκτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της. Πρόσφατες αποδείξεις αποκάλυψαν ότι η TM έχει φυσιολογική λειτουργία ανεξάρτητη της πρωτεΐνης C και της θρομβίνης. Αυτή η ανασκόπηση συνοψίζει τις πρόσφατες έρευνες της TM, δίνοντας μια γενική εικόνα για τις μοναδικές επιδράσεις της TM στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την προσκόλληση και τη φλεγμονή, οι οποίες είναι σημαντικά βήματα στην αθηροσκλήρωση. Οι πρόσφατες ενδείξεις της TM στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης παρουσιάζουν συσχετισμούς των πολυμορφισμών γονιδίου TM με αθηροσκλήρωση. Τα νεοεμφανιζόμενα δεδομένα της TM σε πειράματα αθηροσκλήρωσης σε ποντίκια παρουσιάζουν ότι η TM ενδεχομένως μπορεί να έχει θεραπευτικό ρόλο στην αθηροσκλήρωση.¹⁸⁶

4.6.9 ΤΜ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ

Η προεκλαμψία είναι ένα σύνδρομο εμφανιζόμενο κατά την εγκυμοσύνη που χαρακτηρίζεται από δυσλειτουργία του πλακούντα και αγγειογενετική ανισορροπία. Συστηματικά, αυξάνονται τα επίπεδα θρομβομοντουλίνης, μιας πρωτεΐνης δεσμευμένης στο ενδοθήλιο και τον συνκυτταροφωβλάστη, που ρυθμίζει την πήξη, τη φλεγμονή, την απόπτωση και την αναδιαμόρφωση του ιστού. Σκοπός ήταν να διερευνηθεί την δυσλειτουργία του πλακούντα, της θρομβομοντουλίνης και τα συνακόλουθα αποτελέσματα στην παθογένεση της προεκλαμψίας.¹⁸⁷

Η μειωμένη έκφραση της θρομβομοντουλίνης στην προεκλαμψία μπορεί να διαδραματίσει κάποιο ρόλο στην δυσλειτουργία του πλακούντα στην προεκλαμψία και πιθανόν να προκληθεί από αγγειογενετική ανισορροπία. Η υπέρταση και η παχυσαρκία

σχετίζονται με τη μείωση της ρύθμισης της θρομβομοντουλίνης. Αυτά τα αποτελέσματα θέτουν τα θεμέλια για περαιτέρω βασική και κλινική έρευνα πάνω στη θρομβομοντουλίνη στην παθογένεση της προεκλαμψίας και άλλων συνδρόμων που χαρακτηρίζονται από ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.¹⁸⁷

© 2016 American Heart Association, Inc.

Η ενδοθηλιακή διαταραχή (ενεργοποίηση, δυσλειτουργία ή βλάβη) είναι ένας πιθανός παθογόνος μηχανισμός στην προεκλαμψία και στην υπέρταση που προκαλείται από εγκυμοσύνη (PIH). Έχουμε ως στόχο να προσδιορίσουμε ποιοι από τους τρεις δείκτες πλάσματος ενδοθηλιακής διαταραχής, που υποδηλώνουν ενδοθηλιακή ενεργοποίηση (E-σελεκτίνη) ή βλάβη / δυσλειτουργία (παράγοντας von Willebrand (vWf), διαλυτή θρομβομοντουλίνη), θα παρέχουν τον καλύτερο διακριτικό του PIH σε σύγκριση με την κανονική εγκυμοσύνη. Σχεδιασμός μελέτης: Διασταυρούμενη μελέτη 36 διαδοχικών γυναικών με PIH (ηλικίας 31 ± 6 ετών) και 36 διαδοχικών γυναικών με κανονική εγκυμοσύνη (ηλικία 29 ± 5 ετών) παρόμοιας ισοτιμίας. Τα επίπεδα πλάσματος του vWf, E-σελεκτίνης και θρομβομοντουλίνης μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας ELISA. Αποτελέσματα: Όπως αναμενόταν, οι γυναίκες με PIH είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα vWf πλάσματος (κατά 19%, $p = 0,003$), E-σελεκτίνης (κατά 40%, $p < 0,001$) και θρομβομοντουλίνης (κατά 61%, $p = 0,01$) από ότι οι νορμοτασικές γυναίκες. Ωστόσο, σε ανάλυση σταδιακής πολλαπλής παλινδρόμησης, μόνο η θρομβομοντουλίνη ήταν ένας ανεξάρτητος σημαντικός παράγοντας πρόβλεψης της παρουσίας PIH ($p = 0,023$).

Συμπεραίνουμε, ότι αν και το vWf, η E-σελεκτίνη και η θρομβομοντουλίνη είναι όλα αυξημένα σε PIH, μόνο η θρομβομοντουλίνη ήταν ανεξάρτητα συνδεδεμένη με PIH. Αυτό το μόριο θα μπορούσε ενδεχομένως να είναι χρήσιμο στην παρακολούθηση και στην παροχή ενδείξεων στην αιτιολογία και την παθοφυσιολογία και μπορεί να έχει επιπτώσεις στις κλινικές επιπλοκές που σχετίζονται με την PIH¹⁸⁸ Η TM είναι επίσης απαραίτητη για τη διατήρηση του τοκετού, καθώς επίσης και για την αποφυγή διαταραχής της πήξης κατά τη διάρκεια της ζωής ενός ανθρώπου.¹¹⁹

Συμπερασματικά

Η φλεγμονή είναι μια πολύπλοκη παθολογική διαδικασία που προκαλείται από διάφορους μεσολαβητές που εκκρίνονται από φλεγμονώδη κύτταρα. Ο καταρράκτης πήξης είναι ένα από τα συστήματα που εμπλέκονται στη φλεγμονώδη διαδικασία. Αν και παραδοσιακά είναι γνωστή ως αντιπηκτική πρωτεΐνη, η TM έχει αναγνωριστεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη

ρύθμιση της φλεγμονής μέσω διαφόρων έμμεσων και άμεσων μονοπατιών¹⁸⁹. Ο μοριακός μετασχηματισμός της TM από την αντιπηκτική αγωγή προς τη ρύθμιση της φλεγμονής μπορεί να ενεργοποιηθεί με φλεγμονώδη διέγερση, εκθέτοντας έτσι την περιοχή που μοιάζει με λεκτίνη για περαιτέρω αλληλεπίδραση και μεταγωγή¹⁹⁰. Η άμεση αντιφλεγμονώδης δράση του TMD1 έχει βρεθεί πρόσφατα και οι μοριακοί στόχοι του έχουν επίσης διευκρινιστεί. Η χρήση ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης TM για τη θεραπεία φλεγμονωδών ασθενειών σε μελέτες σε ανθρώπους και ζώα έχει δείξει ότι η TM είναι μια νέα πιθανή θεραπεία για ασθενείς με σηψαιμία, σπειραματονεφρίτιδα και αρθρίτιδα. Επειδή η TMD1 δεν συμμετέχει στην αντιπηκτική αγωγή, το rTMD1 δεν πρέπει να έχει την παρενέργεια αιμορραγίας. Είναι πολλά υποσχόμενο για τη θεραπεία φλεγμονωδών ασθενειών. Θα απαιτηθούν περαιτέρω κλινικές δοκιμές για την αποσαφήνιση της ασφάλειας και της κλινικής χρησιμότητάς του.¹⁹⁰

4.7 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗΣ

Η διπλή ικανότητα της TM να καταστέλλει τόσο την πήξη όσο και τη φλεγμονή καθιστά αυτό το μόριο ένα πολλά υποσχόμενο υποψήφιο φάρμακο για τη θεραπεία του DIC και / ή του σηπτικού σοκ. Προκειμένου να χορηγηθεί ενδοφλεβίως, αναπτύχθηκε μια διαλυτή μορφή ανασυνδυασμένης TM (rhsTM), που περιέχει μόνο τις εξωκυτταρικές περιοχές.¹⁹¹ Όπως και η φυσική TM που δεσμεύεται με μεμβράνη, η rhsTM διατηρεί την ικανότητα να δεσμεύεται στη θρομβίνη και το APC. Η χορήγηση της rhsTM έχει αποδειχθεί ότι προστατεύει τους αρουραίους από την TF και την προκαλούμενη από ενδοτοξίνη DIC ή τραυματισμό των πνευμόνων.¹⁹²⁻¹⁹⁴ Επιπροσθέτως, η rhsTM όχι μόνο μείωσε τη βλάβη του νωτιαίου μυελού που προκλήθηκε από τραύμα της συμπίεσης, αναστέλλοντας τη συσσώρευση των λευκοκυττάρων και την έκφραση του TNF¹⁹⁵ αλλά επίσης παρείχε προστασία έναντι τραυματισμού ισχαιμίας-επαναιμάτωσης στο συκώτι¹⁹⁶ και στον νεφρό αρουραίων.^{197,198}

Μετά τη λήψη πολλά υποσχόμενων αποτελεσμάτων σε πειράματα σε ζώα, η rhsTM (ART-123, Recomodulin) προχώρησε σε κλινικές δοκιμές. Η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια της rhsTM για τη θεραπεία της DIC έχει διερευνηθεί σε μια πολυκεντρική, τυχαίοποιημένη, διπλά τυφλή κλινική δοκιμή φάσης III.¹⁶⁶ Αυτή η κλινική δοκιμή σχεδιάστηκε για να συγκρίνει την rhsTM (0,06 mg kg⁻¹ για 30 λεπτά μια φορά την ημέρα) με την ηπαρίνη (8 U kg⁻¹ h⁻¹ για 24 ώρες) σε 234 ασθενείς με DIC. Οι υποκείμενες ασθένειες τους αποτελούνταν από λοίμωξη και / ή αιματολογική κακοήθεια. Κατά τη διάρκεια μιας θεραπείας 6 ημερών, οι μισοί ασθενείς έλαβαν rhsTM, ενώ οι υπόλοιποι έλαβαν ηπαρίνη. Ο ρυθμός ανάλυσης DIC την 7η ημέρα ήταν σημαντικά καλύτερος στους ασθενείς που έλαβαν rhsTM (66,1%) από ότι στους ασθενείς που έλαβαν ηπαρίνη (49,9%). Ο ρυθμός εξαφάνισης των συμπτωμάτων αιμορραγίας την 7η ημέρα ήταν επίσης καλύτερος στους ασθενείς που

έλαβαν rhsTM (35,2%) από ό, τι στους ασθενείς που έλαβαν ηπαρίνη (20,9%). Αξιοσημείωτα, στην DIC που προέκυψε από μόλυνση, η θεραπεία με rhsTM βελτίωσε τα ποσοστά θνησιμότητας την 28η ημέρα σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι η θεραπεία με ηπαρίνη (rhsTM 28,0%, ηπαρίνη 34,6). Στην περίπτωση της DIC που προέκυψε από αιματολογική κακοήθεια, τα ποσοστά θνησιμότητας ήταν 17,2% για την ομάδα rhsTM και 18,0% για την ομάδα ηπαρίνης. Μεγαλύτερες μειώσεις στα επίπεδα συμπλέγματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης πλάσματος και τα επίπεδα D-διμερούς παρατηρήθηκαν σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με rhsTM. Σημαντικότερα, η θεραπεία με rhsTM έδειξε ένα καλύτερο προφίλ ασφάλειας με χαμηλότερη συχνότητα ανεπιθύμητων συμβάντων σχετιζόμενων με την αιμορραγία. Το 2008, η rhsTM εγκρίθηκε στην Ιαπωνία για τη θεραπεία της DIC. Από τον Μάιο του 2011, 4.260 ασθενείς με DIC (2.588 λοιμώξεις, 1.121 αιματολογικές κακοήθειες, 93 συμπαγείς όγκοι και 458 διάφορες υποκείμενες παθήσεις) υποβλήθηκαν σε θεραπεία με rhsTM, σύμφωνα με το Asahi Kasei Pharma που κυκλοφόρησε το φάρμακο αυτό στην Ιαπωνία.¹⁹⁸

4.8 ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι αλληλοπαρεμβολές και αλληλεπίδρασης που συμβαίνουν μεταξύ φλεγμονής και πήξης, αποτελούν μια κρίσιμη συστατική οδήγηση τόσο την παθογένεση και την εξέλιξη της σήψης. Θεραπευτικές προσεγγίσεις με στόχο τόσο την φλεγμονή και την πήξη υπόσχονται πολλά για τη θεραπεία των ασθενών που πάσχουν σηπτικό σοκ. Ενώ APC είναι η πρώτη που πρέπει να χορηγηθεί επιτυχώς υπό ένα κλινικό περιβάλλον. Η TM αναμένεται να είναι αντιπροσωπευτική, 2ης γενιάς αποτελεσματικών βιολογικών φαρμάκων που στοχεύουν, τόσο στην φλεγμονή όσο και στην πήξη σε σηπτικούς ασθενείς.^{197,198}

ποημένου ενδοθηλίου μειώνεται λόγω απόρριψης του μορίου και η συγκέντρωσή της στον ορό αυξάνει. Η αύξηση αυτή θεωρείται δείκτης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ενώ παράλληλα η TM θεωρείται ότι ασκεί προστατευτική δράση στο ενδοθήλιο κατά την σήψη. Τα επίπεδα της TM στην εξέλιξη της σήψης δεν έχουν επαρκώς μελετηθεί.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ V

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

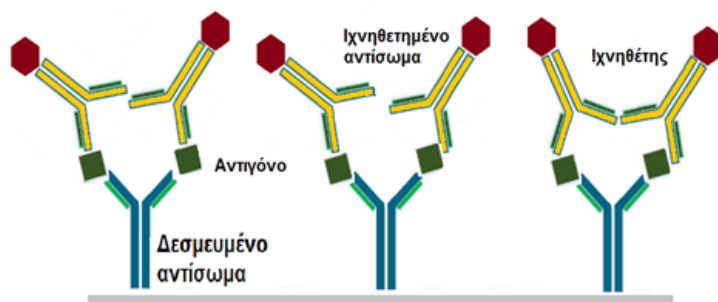
5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο έλεγχος της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, με τη μέτρηση των επιπέδων θρομβομοντουλίνης (TM) σε ασθενείς της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) με εικόνα σοβαρής σήψης/σηπτικού shock, κατά την εισαγωγή και επί σημαντικής επιδείνωσης τους εντός 24 ωρών στο νοσοκομείο.

Η **θρομβομοντουλίνη (TM)** είναι μεμβρανικός, γλυκοπρωτεϊνικός υποδοχέας που βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, ειδικά στην μικροκυκλοφορία, όπου δρα ως αντιπηκτικό. Κατά τη διάρκεια της σήψης, η έκφραση της TM στην επιφάνεια του ενεργοποιημένου ενδοθηλίου μειώνεται λόγω απόρριψης του μορίου και η συγκέντρωσή της στον ορό αυξάνει. Η αύξηση αυτή θεωρείται δείκτης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ενώ παράλληλα η TM θεωρείται ότι ασκεί προστατευτική δράση στο ενδοθήλιο κατά την σήψη. Τα επίπεδα της TM στην εξέλιξη της σήψης δεν έχουν επαρκώς μελετηθεί.

5.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΥΛΙΚΑ

Η συγκεκριμένη μελέτη πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο **ELISA** (*Enzyme Linked Immunoassay Antibody*) και είναι αυτή που χρησιμοποιείται πολύ στις δια χειρός μεθόδους (manual). Αυτή η εξέταση χρησιμοποιεί την τεχνική ποσοτικής ένζυμικής δοκιμασίας τύπου sandwich ¹⁹⁹

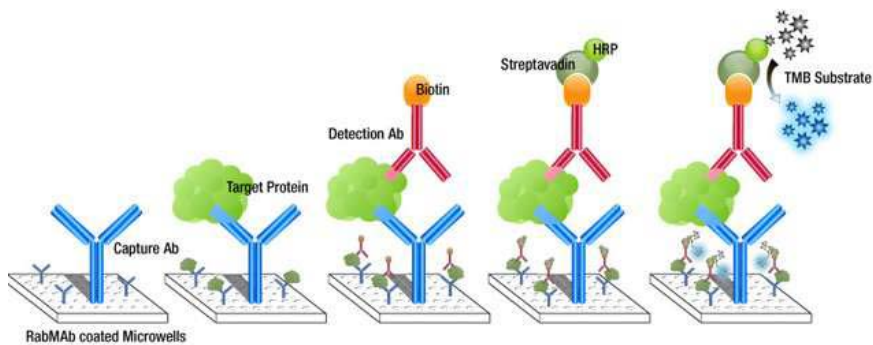


Εικόνα 12: Μη ανταγωνιστική μέθοδος ELISA.

ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ELISA ΣΤΗΝ ΤΜ

Οι ανοσοενζυμικοί προσδιορισμοί (enzyme immunoassays ή EIA) χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης πρωτεϊνών αντισωμάτων ή αντιγόνων οι οποίες γενικά καλούνται «**αντιγόνα**». Αρχικά το αντιγόνο ενώνεται με ένα αντίσωμα που βρίσκεται προσκολλημένο στο πυθμένα πλαστικής πλάκας μικροτιτλοδότησης. Για τον λόγο αυτό η μέθοδος καλείται **ELISA** (Enzyme Linked Immuno Assay). Στη συνέχεια μέσα στη πλάκα μικροτιτλοδότησης προστίθεται αντίσωμα ενωμένο με ένζυμο. Το ένζυμο αυτό ονομάζεται **ιχνηθέτης** και είναι αυτό που θα αντιδράσει στη συνέχεια με το **υπόστρωμα** που θα βάλουμε μέσα σε κάθε πηγαδάκι. Η αντίδραση ενζύμου και υποστρώματος παράγει έγχρωμο προϊόν το οποίο αφού αναπτυχθεί για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (**επώαση**) μετράται σε φωτόμετρο. Η διακοπή της κατάλυσης του υποστρώματος γίνεται με τη προσθήκη ειδικού **διαλύματος τερματισμού** της αντίδρασης. Το διάλυμα τερματισμού δίνει το τελικό χρώμα που θα μετρηθεί στο φωτόμετρο μικροτιτλοδότησης. Το φωτόμετρο μετρά την απορρόφηση σύμφωνα με το νόμο του **Lambert-Beer**.

Υπάρχουν **ανταγωνιστικές** και **μη ανταγωνιστικές** μέθοδοι ανάλογα με το αν το αντιγόνο έχει αντίστοιχα μικρό ή μεγάλο μοριακό βάρος. Τα μικρού μοριακού βάρους αντιγόνα ενώνονται με ένα αντίσωμα και τα μεγάλου μοριακού βάρους με δύο αντισώματα. Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, συγκεκριμένο για την ανθρώπινη θρομβομοντουλίνη έχει προεπικαλυφθεί πάνω σε μια μικροπλάκα. Τα πρότυπα και τα δείγματα τοποθετούνται εντός των φρεατίων (πηγαδιών) και η παρούσα θρομβομοντουλίνη δεσμεύεται από το ακινητοποιημένο αντίσωμα. Αφού απομακρυνθούν τυχούσες μη συνδεδεμένες ουσίες, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, συνδεδεμένο με ένζυμο, αποκλειστικό στην ανθρώπινη θρομβομοντουλίνη προστίθεται στα φρεάτια (πηγάδια). Μετά από μία πλύση για την απομάκρυνση τυχόν μη δεσμευμένου αντισώματος-ενζύμου στοιχείου που μπορεί να προκαλέσει αντίδραση, ένα διάλυμα υποστρώματος προστίθεται στα φρεάτια και το χρώμα αναπτύσσεται σε αναλογία με την ποσότητα της θρομβομοντουλίνης που δεσμεύτηκε στο αρχικό στάδιο. Η ανάπτυξη του χρώματος διακόπτεται και η ένταση του χρώματος μετράται.¹⁹⁹

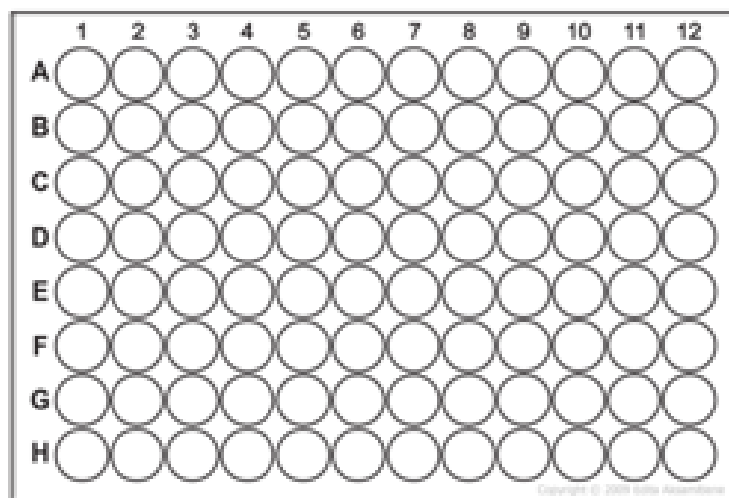


Εικόνα 13: Τα στάδια της μη ανταγωνιστικής ELISA με ένζυμο HRP και υπόστρωμα TMB

ΒΑΣΙΚΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ (KIT ELISA)

- Πηγαδάκια μικροτιτλοδότησης: Πρόκειται για πλαστική πλάκα που περιέχει 96 μικροπηγαδάκια (**microwells**) και είναι επικαλυμμένα με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης που θέλουμε να μετρήσουμε. Ο όγκος των αντιδραστηρίων που μπορούν να χωρέσουν, είναι περίπου 300 μL (Εικόνα 14). Διατηρούνται στο ψυγείο και σε κάποιες περιπτώσεις και σε θερμοκρασία δωματίου. Σε κάθε όμως περίπτωση είναι απαραίτητο να παραμείνουν σε στεγνό περιβάλλον, αφού η αυξημένη θερμοκρασία θα αλλοιώσει τα προσκολλημένα σε αυτά αντισώματα.
- Βαθμονομητές (**standards** ή **calibrators**). Για τους ποσοτικούς προσδιορισμούς χρησιμοποιούνται πολλά standards, συνήθως 1 έως 6. Πρόκειται για μικρά φιαλίδια του 1 mL έτοιμα προς χρήση με γνωστή συγκέντρωση. Χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία της καμπύλης αναφοράς (**calibration**).
- Διαλύματα ελέγχου (**control samples**). Πρόκειται για μικρά φιαλίδια συνήθως των 0,5 ml γνωστής συγκέντρωσης με διαφορετικού χρώματος καπάκια για να ξεχωρίζουν.
- Σύζευγμα ενζύμου (**conjugate**). Περιέχει αντίσωμα ενωμένο με ένζυμο. Είναι έτοιμο προς χρήση.
- Υπόστρωμα (**substrate**). Είναι η ουσία που θα αντιδράσει με το ένζυμο του conjugate. Αυτή η χημική αντίδραση θα παράγει χρώμα του οποίου η ένταση θα μετρηθεί στο φωτόμετρο.
- Διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης (**stop solution**). Πρόκειται για ένα ισχυρό οξύ (H_2), που χρησιμεύει για τη διακοπή της αντίδρασης ενζύμου και υποστρώματος. Αμέσως μετά μπορεί να γίνει η φωτομέτρηση.
- Διάλυμα πλύσης (**wash solution**). Πρόκειται για ένα συμπυκνωμένο διάλυμα (π.χ. 40X), το οποίο πρέπει να αραιωθεί πριν τη χρήση του με απεσταγμένο νερό. Παρόλα

αυτά διατηρείται στο ψυγείο για περιορισμένο χρονικό διάστημα. Συνηθισμένα απορρυπαντικά είναι τα BND (5-βρωμο-5-νιτρο-1,3-διοξάνιο) και το MIT (2-μεθυλ-4-ισοθειαζολ-3-όνη).SO4



Εικόνα 14: Πλάκα μικροτιτλοδότησης της ELISA. Όλες οι πλάκες έχουν από 96 πηγαδάκια.

ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ELISA

- **Προετοιμασία αντιδραστηρίων** (Εικόνα 16). Δείγματα, υλικά αναφοράς, υλικά ελέγχου, αντιδραστήρια και πλάκες μικροτιτλοδότησης πρέπει να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου, πριν τη χρήση τους.



Εικόνα 15: Ένα τυπικό kit ELISA (της εταιρείας ReQuest). Φαίνεται η πλάκα μικροτιτλοδότησης ή πλάκα ELISA, τα διαλύματα των conjugate, stop, wash, enzyme και substrate, καθώς και τα μικρά σωληνάρια των controls και των calibrators.

- **Τοποθέτηση βαθμονομητών** . Κατά κανόνα εισάγονται 100 μL ή και 50 μL σε κάθε πηγαδάκι. Η απόρριψη από την αυτόματη πιπέττα γίνεται προσεκτικά στα τοιχώματα του πηγαδιού, χωρίς να σχηματίζονται φυσαλίδες. Οι βαθμονομητές μπαίνουν πάντα εις διπλούν, ξεκινώντας από τον βαθμονομητή με τη μεγαλύτερη ή μικρότερη συγκέντρωση και προχωρώντας στη συνέχεια κατά αύξουσα ή φθίνουσα σειρά αντίστοιχα.
- **Τοποθέτηση δειγμάτων ελέγχου** . Τοποθετούνται 100 μL ή 50 μL σε κάθε πηγαδάκι και σε κάθε περίπτωση σε ίση ποσότητα με τα δείγματα. Υπάρχει θετικό και αρνητικό δείγμα ελέγχου καθένα από τα οποία έχει όρια ελέγχου, τα οποία δεν πρέπει να παραβιαστούν από τη συγκέντρωση των δειγμάτων ελέγχου που θα υπολογιστούν στην πορεία. Προτείνεται τα δείγματα ελέγχου και τα δείγματα των ασθενών να τοποθετούνται εις διπλούν.
- **Τοποθέτηση δειγμάτων**. Τοποθετούνται 100 μL ή 50 μL δειγματος ασθενών σε κάθε πηγαδάκι. Αν και είναι ασφαλέστερο να τοποθετούνται επίσης εις διπλούν συνηθίζεται να μπαίνουν και μονά δείγματα. Σε πολλές περιπτώσεις τα δείγματα πρέπει να αραιωθούν πρώτα με κατάλληλο διαλύτη. Αυτό όμως δεν είναι απαραίτητο για τους βαθμονομητές και τα δείγματα ελέγχου.
- **Επώαση για 2 ώρες**. Σε αυτό το στάδιο, η επώαση απαιτείται για την πρόσδεση των αντιγόνων (βαθμονομητών, δειγμάτων ελέγχου, δειγμάτων ασθενών) στα αντισώματα που είναι ακινητοποιημένα στον πυθμένα. Γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου και ο χρόνος ποικίλει ανάλογα με το kit.
- **Έκπλυση**. Αποσκοπεί στην απομάκρυνση των αντιγόνων που δεν προσδέθηκαν και γενικά όλων των συστατικών των δειγμάτων, που δεν χρειάζονται για τις περαιτέρω αντιδράσεις. Γίνεται με ειδικό απορρυπαντικό που έχει παρασκευαστεί σε κατάλληλη ποσότητα, πριν τη χρήση. Κατά την πλύση τοποθετούνται 100 μL wash σε κάθε πηγαδάκι. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται τουλάχιστον 3 φορές. Το πλύσιμο μπορεί να γίνει με αυτόματο μηχάνημα εκπλύσεως για ELISA (Εικόνα 17) ή χειρονακτικά χρησιμοποιώντας απλή πιπέττα . Στο τέλος των πλυσιμάτων τα πηγαδάκια αποστραγγίζονται για να μην έχουν υλικό ή φυσαλίδες.



Εικόνα 16: Αυτόματα πλυστικά ELISA διαφόρων εταιρειών (Biotek, Thermo). Αν και η έκπλυση των πλακών ELISA μπορεί να γίνει και χειρονακτικά με τη βοήθεια πιπέττας, το αυτόματο πλύσιμο είναι γρήγορο και αποτελεσματικό.

- **Τοποθέτηση συνδέτη (TM conjugate).** Τοποθετείται σε όλα τα πηγαδάκια ίση ποσότητα. Συνήθως τοποθετούνται 100 μL αλλά κάθε kit έχει δικές του οδηγίες. Σε πολλά kits ο σύνδεσης ενώνεται απευθείας με τα αντιγόνα, χωρίς να προηγείται αραίωση ή πλύση.
- **1^ο Επώαση για 2 ώρες.** Γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου και ο χρόνος ποικίλει ανάλογα με το kit. Συνήθως η επώαση αυτή καταναλώνει το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, περίπου μία ώρα με ανοχή ± 5 λεπτά.
- **Έκπλυση.** Γίνεται με ειδικό απορροπαντικό, που έχει παρασκευαστεί σε κατάλληλη ποσότητα πριν τη χρήση. (Επανάληψη στο στάδιο #6)
- **Τοποθέτηση υποστρώματος (Substrate solution).** Τοποθετούμε σε όλα τα πηγαδάκια ίση ποσότητα 200 μL . Μόλις τοποθετηθεί το υπόστρωμα αρχίζουν τα δείγματα βαθμονομητών, ελέγχου και ασθενών να αλλάζουν χρώμα. Η ύπαρξη χρώματος είναι ενδεικτική θετικής αντίδρασης.
- **2^ο Επώαση για 30 min. σε σκοτάδι.** Σε θερμοκρασία δωματίου και ο χρόνος ποικίλει ανάλογα με το kit. Συνήθως είναι ο μικρότερος χρόνος σε διάρκεια. Αν το υπόστρωμα είναι το **TMB** (Τρι-μεθυλο-βενζιδίνη), τότε η επώαση θα πρέπει να γίνει στο σκοτάδι.
- **Τοποθέτηση διαλύματος τερματισμού (Stop solution).** Τοποθετείται αμέσως μετά το υπόστρωμα χωρίς ενδιάμεσο πλύσιμο. Τοποθετείται σε όλα τα πηγαδάκια ίση ποσότητα (50 μL). Μόλις τοποθετηθεί το διάλυμα τερματισμού στα πηγαδάκια, αυτά παίρνουν το τελικό τους χρώμα, από μπλε μεταβάλλονται σε κίτρινο.
- **Υπολογισμός των απορροφήσεων (μέσα σε 30 min.).** Ο προσδιορισμός γίνεται σε ειδικό φωτόμετρο για πλάκες ELISA (Εικόνα 17). Συνιστάται να γίνεται σε δύο μήκη κύματος (540nm ή 570nm), για να εξαλειφονται τυχόν παρεμβολές στο χρώμα από αιμοσφαιρίνη, χολερυθρίνη κ.α. Το τελικό χρώμα παραμένει σταθερό συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, που συνήθως παρατείνεται εάν διατηρηθούν στο ψυγείο.



Εικόνα 17: Φωτόμετρα για πλάκες ELISA. Διαδοχικά μοντέλα της ίδιας εταιρείας (Stat Fax), που δείχνουν και την εξέλιξη του αυτοματισμού (διαδοχικά τα μοντέλα 303+, 2100, 4300, 4400).

- Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων των δειγμάτων και των controls γίνεται υπολογιστικά μετά την κατασκευή πρότυπης καμπύλης. Η καμπύλη είναι σιγμοειδής ή γραμμική και οι υπολογισμοί των συγκεντρώσεων των δειγμάτων και των controls μπορούν να γίνουν είτε με γραφικό, είτε με μαθηματικό τρόπο.¹⁹⁹

Αλγόριθμος που χρησιμοποιήσαμε: 4 –parameter logistic.

$$y = d + \frac{a-d}{1+(x/c)^b}$$

Τύπος:

$$x = c \left(\frac{a-d}{y-d} - 1 \right)^{\frac{1}{b}}$$

Ανάστροφος τύπος:

Y= τιμή απόκρισης π.χ OD (απορρόφηση)

X= τιμή δόσης π.χ συγκέντρωση και οι παράμετροι που ακολουθούν:

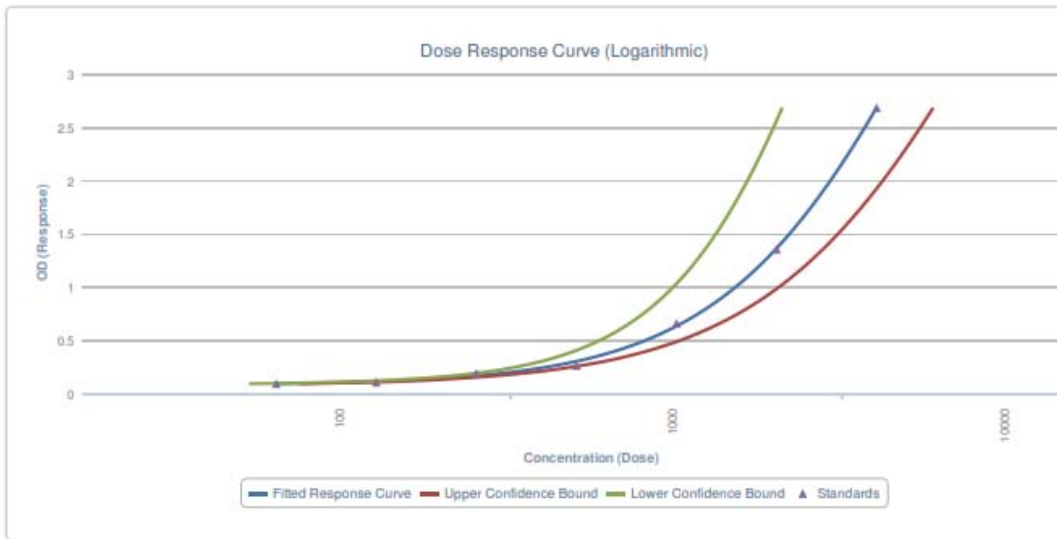
a=7.37308451

b=-1.37754856

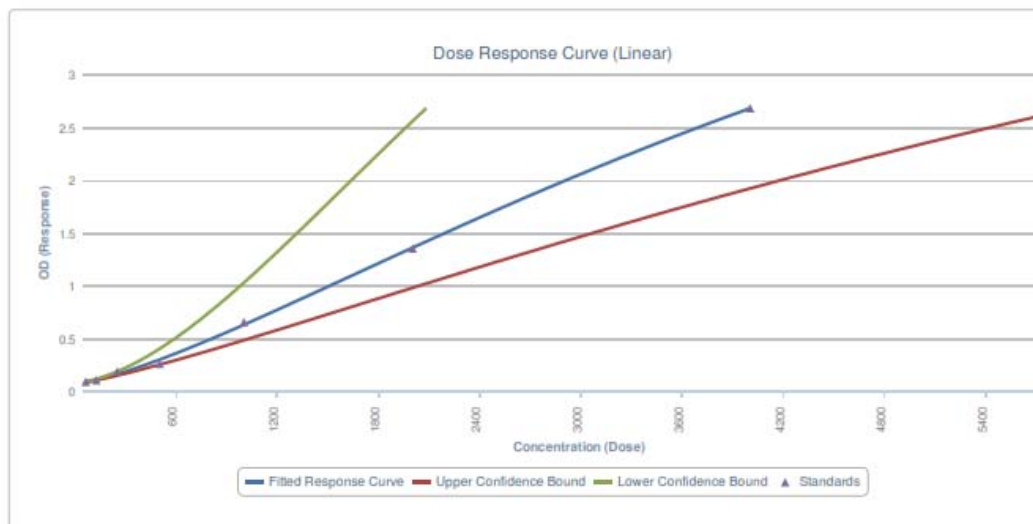
c=6135.41000012

d=0.07678683

R²=0.9994781



Εικόνα 18: Σιγμοειδής καμπύλη



Εικόνα 19: Μετατροπή σε γραμμική συνάρτηση, για υπολογισμό συγκεντρώσεων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ELISA: THROMBOMODULIN

Sample range serum: 2866-5318 pg/ml

Πίνακας 21: Αποτελέσματα

Α/Α	ΔΕΙΓΜΑΤΑ	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (pg/ml)	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (pg/ml) *10
1	03 ΦΟ Ε	0.729	1137.826	11378.26
2	03 ΦΟ Λ	0.881	1347.157	13471.57
3	04 ΦΟ Ε	0.319	530.774	5307.74
4	04 ΦΟ Σ	0.092	69.563	695.63
5	05 ΦΟ Ε	0.207	334.407	3344.07
6	05 ΦΟ Σ	0.314	522.529	5225.29
7	08 ΦΟ Ε	0.156	231.922	2319.22
8	08 ΦΟ Λ	0.331	550.416	5504.16
9	10 ΦΟ Ε	0.368	609.805	6098.05
10	10 ΦΟ Λ	0.419	689.242	6892.42
11	12 ΦΟ Ε	0.415	683.099	6830.99
12	12 ΦΟ Λ	0.962	1457.574	14575.74
13	13 ΦΟ Ε	0.251	414.947	4149.47
14	13 ΦΟ Λ	0.186	293.702	2937.02
15	14 ΦΟ Ε	0.164	248.9	2489
16	14 ΑΟ Σ	0.149	216.705	2167.05
17	15 ΦΟ Ε	0.202	324.871	3248.71
18	15 ΦΟ Λ	0.249	411.4	4114
19	16 ΦΟ Ε	0.191	303.556	3035.56
20	16 ΦΟ Σ	0.102	100.481	1004.81
21	19 ΦΟ Ε	0.429	704.541	7045.41

22	19 ΦΟΛ	0.59	941.858	9418.58
23	20 ΦΟΕ	0.344	571.475	5714.75
24	20 ΦΟΣ	0.567	908.788	9087.88
25	21 ΦΟΕ	0.222	362.501	3625.01
26	21 ΦΟΛ	0.326	542.257	5422.57
27	30 ΦΟΕ	0.325	540.621	5406.21
28	30 ΦΟΛ	0.56	898.679	8986.79
29	32 ΦΟΕ	0.476	775.42	7754.2
30	32 ΦΟΛ	0.412	678.483	6784.83
31	34 ΦΟΕ	0.269	446.467	4464.67
32	34 ΦΟΣ	0.607	966.162	9661.62
33	35 ΦΟΕ	0.985	1488.848	14888.48
34	35 ΦΟΣ	0.976	1476.614	14766.14
35	36 ΦΟΕ	0.152	223.271	2232.71
36	36 ΦΟΛ	0.19	301.594	3015.94
37	37 ΦΟΕ	0.739	1151.722	11517.22
38	37 ΦΟΣ	1.324	1950.023	19500.23
39	39 ΦΟΕ	0.143	203.357	2033.57
40	39 ΦΟΛ	0.219	356.94	3569.4
41	40 ΦΟΣ	0.246	406.061	4060.61
42	40 ΦΟΛ	0.412	678.483	6784.83
43	41 ΑΟΕ	0.603	960.454	9604.54
44	41 ΦΟΛ	0.572	915.996	9159.96
45	42 ΦΟΕ	0.451	737.918	7379.18
46	42 ΦΟΛ	0.676	1063.778	10637.78
47	43 ΦΟΕ	0.235	386.29	3862.9

48	43 ΦΟ Σ	0.368	609.805	6098.05
49	44 ΦΟ Ε	0.413	680.023	6800.23
50	44 ΦΟ Λ	0.557	894.339	8943.39
51	46 ΦΟ Ε	0.349	579.517	5795.17
52	46 ΦΟ Σ	0.985	1488.848	14888.48
53	47 ΦΟ Ε	0.499	809.561	8095.61
54	47 ΦΟ Σ	0.557	894.339	8943.39
55	53 ΦΟ Ε	0.761	1182.221	11822.21
56	53 ΦΟ Σ	0.583	931.816	9318.16
57	56 ΦΟ Ε	0.481	782.87	7828.7
58	56 ΦΟ Σ	1.307	1926.763	19267.63
59	61 ΦΟ Ε	0.578	924.632	9246.32
60	61 ΦΟ Σ	0.726	1133.653	11336.53
61	62 ΦΟ Ε	0.589	940.424	9404.24
62	62 ΦΟ Λ	0.265	439.523	4395.23
63	63 ΦΟ Ε	0.597	951.879	9518.79
64	63 ΦΟ Λ	0.206	332.507	3325.07
65	64 ΦΟ Λ	0.319	530.774	5307.74
66	64 ΦΟ Σ	0.096	82.441	824.41
67	65 ΦΟ Ε	0.257	425.533	4255.33
68	65 ΦΟ Σ	0.505	818.415	8184.15
69	67 ΦΟ Ε	0.121	151.349	1513.49
70	67 ΦΟ Σ	0.347	576.304	5763.04
71	68 ΦΟ Ε	0.126	163.672	1636.72
72	68 ΦΟ Λ	0.253	418.485	4184.85
73	69 ΦΟ Ε	0.111	125.518	1255.18

74	69 ΦΟ Λ	0.123	156.32	1563,2
75	70 ΦΟ Ε	0.437	716.721	7167.21
76	70 ΦΟ Λ	0.432	709.114	7091.14
77	71 ΦΟ Λ	0.381	630.297	6302.97
78	71 ΦΟ Σ	0.437	716.721	7167.21
79	72 ΦΟ Ε	0.25	413.175	4131.75
80	72 ΦΟ Λ	0.265	439.523	4395.23
81	09 ΦΟ Ε	0.103	103.369	1033.69
82	25 ΦΟ Ε	0.235	386.29	3862.9
83	27 ΦΟ Ε	0.3	499.238	4992.38
84	50 ΑΟ Ε	0.56	898.679	8986.79
85	51 ΦΟ Ε	0.46	751.469	7514.69
86	52 ΦΟ Ε	0.139	194.285	1942.85
87	60 ΦΟ Ε	0.273	453.378	4533.78
88	66 ΦΟ Ε	0.192	305.514	3055.14
89	Standard 1	1.748	4000	40000
90	Standard 2	0.876	2000	20000
91	Standard 3	2.681	1000	10000
92	Standard 4	1.353	500	5000
93	Standard 5	0.656	250	2500
94	Standard 6	0.261	125	1250
95	Standard 7	0.189	62.5	625
96	Blank	0.106	0	0

5.3 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Μελετήθηκαν 11 ασθενείς που εισήχθησαν στη ΜΕΘ από το Φεβρουάριο έως τον Μάρτιο του 2015. Ήταν 6 άνδρες και 5 γυναίκες, ηλικίας 70.55 ± 8.94 ετών με BMI 28.17 ± 6.46 Kg/m². Το APACHE εισαγωγής ήταν 22.45 ± 4.72 και το SOFA εισαγωγής ήταν 10.09 ± 3.42 . Οι ασθενείς είχαν εικόνα σοβαρής σήψης/σηπτικού shock και, παρά την εφαρμοζόμενη θεραπευτική αγωγή και την υποστήριξη των ζωτικών τους λειτουργιών, στη συνέχεια παρουσίαζαν σημαντική επιδείνωση. Ως επιδείνωση οριζόταν η αύξηση των αναγκών αγγειοδραστικά, κατά τον ορισμό των διαβαθμίσεων στο SOFA score, ή η αύξηση των επιπέδων του γαλακτικού και η συνολική αύξηση του SOFA score. Οι 8 από τους ασθενείς είχαν λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού (με ταυτοποίηση του λοιμώδους αίτιου σε 2 από αυτούς: *Rhinovirus* και *Klebsiella pneumoniae*) ενώ οι υπόλοιποι παρουσίαζαν: λοιμώδη περικαρδίτιδα σε έδαφος καρκινωματώδους διασποράς, περιτονίτιδα μετά από διάτρηση στομάχου (από το περιτοναϊκό υγρό απομονώθηκαν *Staphylococcus aureus* και *Streptococcus anginosus*) και μεσοθωρακίτιδα (*Streptococcus constellatus*). Έγινε καταγραφή των βασικών κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων (PT, APTT, Ινωδογόνο, PLTs) κατά την εισαγωγή και στο 24ωρο της επιδείνωσης μετρήθηκαν τα επίπεδα TM στον ορό των ασθενών τις ίδιες χρονικές στιγμές.

The APACHE II Score

Physiologic Variable	High Abnormal Range					Low Abnormal Range			
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Rectal Temp (°C)	≥11	39-40.9		38.5-38.9	36-38.4	34-35.9	32-33.9	30-31.9	≤29.9
Mean Arterial Pressure (mmHg)	≥160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤49
Heart Rate	≥100	140-179	110-139		70-109		50-69	40-54	≤39
Respiratory Rate	≥50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤5
Oxygenation a) $FI_{O_2} \geq 0.5$ record A-a DO_2 b) $FI_{O_2} < 0.5$ record PaO_2	≥500	350-499	200-349		<200 $PO_2 > 70$	PO_2 61-70		PO_2 55-60	$PO_2 < 55$
Arterial pH	≥7.7	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7.25-7.32	7.15-7.24	<7.15
HCO₃ (mEq/l)	≥52	41-51.9		32-40.9	22-31.9		18-21.9	15-17.9	<15
K (mEq/l)	≥7	6-6.9		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9		<2.5
Na (mEq/l)	≥100	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤110
S. Creat (mg/dl)	≥3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		
Hematocrit (%)	≥60		50-59.9	46-49.9	30-45.9		20-29.9		<20
TLC (10³/cc)	≥40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		<1
GCS									

Age -score

<44 → 0
45-54 → 2
55-64 → 3
65-74 → 5
≥75 → 6

GCS:

15 → 0	14 → 1	13 → 2
12 → 3	11 → 4	10 → 5
9 → 6	8 → 7	7 → 8
6 → 9	5 → 10	4 → 11
3 → 12		

JAMA 1993;270(24):2957-2963

Πίνακας 22: APACHE SCORE

SOFA Score

Variables/Points:	1	2	3	4
Neurological Coma Score: Glasgow	13-14	10-12	6-9	< 6
Pulmonary PaO_2 (mmHg) / FI_{O_2}	< 400	< 300	< 200 with respiratory support	< 100 with respiratory support
Cardiological Mean Systolic Arterial Pressure (mmHg)	< 70	Dopamine ≤ 5 or Dobutamine (whatever dose)	Dopamine > 5 or Adrenaline = 0.1 or Noradrenaline = 0.1	Dopamine > 15 or Adrenaline > 0.1 or Noradrenaline > 0.1
Renal Blood creatinine μ mol/L (mg/L) or Diuresis mL/day	110-170 (1.2-1.9)	171-299 (2.0-3.4)	300-440 (3.5-4.9) or < 500	> 440 (> 5.0) or < 200
Haematological Platelets 10 ⁹ /L	< 150	< 100	< 50	< 20
Hepatic Blood bilirubin μ mol/L (mg/dL)	20-32 (1.2-1.9)	33-101 (2.0-5.9)	102-204 (6.0-11.9)	> 204 (> 12.0)

Crit Care Med 1998;26:1793-1800

fjpl.com

Πίνακας 23: SOFA SCORE

	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	ΕΠΙΔΕΙΝΩΣΗ	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ
SOFA	10.09±3.42	12.18±4.07	p=0.006
Νοραδρεναλίνη mcg/kg/min	0.185±0.136	0.424±0.236	p=0.004
WBC/μl	18271±9269	24797±13465	p=0.02
Hb g/dl	11.56±1.85	9.90±1.45	p=0.004
PLTs /μl	254955±119552	161518±127506	p=0.064
Γαλακτικού οξέος mmol/l	1.98±0.96	3.77±3.20	p=0.076
Ελλείμματος βάσης mmol/l	-4.12±7.50	1.69±4.13	p=0.075
Αλβουμίνης g/dl	2.11±0.96	1.60±0.46	p=0.011
Θρομβομοδουλίνης (pg/ml)·10	7123.76±3872.74	10100.32±6537.79	p=0.087
APACHE			

Πίνακας 24: Συσχέτιση (Κατά την εισαγωγή vs επιδείνωση)

	Επίπεδα θρομβομοδουλίνης -Στατιστική συσχέτιση			
	Εισαγωγή	Εισαγωγή	Επιδείνωση	Επιδείνωση
SOFA	r=0.932	p<0.0001	r=0.853	p=0.001
APACHE	r=0.696	p=0.017		
Αλβουμίνη	r= -0.547	p=0.08		
Έλλειμα βάσης			r= -0.709	p=0.022

Πίνακας 25: Στατιστική συσχέτιση (Επίπεδα TM)

5.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όλοι οι ασθενείς πλην του ενός απεβίωσαν. Στον έλεγχο των ασθενών κατά τη φάση της επιδείνωσης παρατηρήθηκε, σε σχέση με την εισαγωγή.

A) αύξηση του SOFA (12.18 ± 4.07 vs 10.09 ± 3.42 , $p=0.006$)

B) αύξηση της μέσης δόσης νοραδρεναλίνης κατά τη διάρκεια του 24ώρου (0.424 ± 0.236 vs 0.185 ± 0.136 mcg/kg/min, $p=0.004$)

Γ) αύξηση του αριθμού των λευκοκυττάρων (24797 ± 13465 vs 18271 ± 9269 /μl, $p=0.02$)

Δ) μείωση της αιμοσφαιρίνης (9.90 ± 1.45 vs 11.56 ± 1.85 g/dl, $p=0.004$)

E) μείωση του αριθμού των αιμοπεταλίων (161518 ± 127506 vs 254955 ± 119552 /μl, $p=0.064$).

Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων του γαλακτικού οξέος (3.77 ± 3.20 vs 1.98 ± 0.96 mmol/l, $p=0.076$) και του ελλείμματος βάσης (1.69 ± 4.13 vs -4.12 ± 7.50 mmol/l, $p=0.075$), ενώ η συγκέντρωση της αλβουμίνης μειώθηκε σημαντικά (1.60 ± 0.46 vs 2.11 ± 0.96 g/dl, $p=0.011$). Τα επίπεδα θρομβομοντουλίνης στον ορό παρουσίασαν αύξηση, στα όρια της στατιστικής σημαντικότητας (10100.32 ± 6537.79 vs 7123.76 ± 3872.74 (pg/ml)·10, $p=0.087$) ενώ διαπιστώθηκαν ισχυρές, σημαντικές συσχετίσεις των επιπέδων αυτής κατά την εισαγωγή με το APACHE εισαγωγής ($r=0.696$, $p=0.017$), το SOFA στην εισαγωγή ($r=0.932$, $p<0.0001$) και τα επίπεδα αλβουμίνης (αρνητική συσχέτιση, $r= -0.547$, $p=0.08$). Στην επιδείνωση τα επίπεδα θρομβομοντουλίνης είχαν ισχυρή συσχέτιση με το αντίστοιχο SOFA ($r=0.853$, $p=0.001$) και το έλλειμμα βάσης (αρνητική συσχέτιση, $r=-0.709$, $p=0.022$).

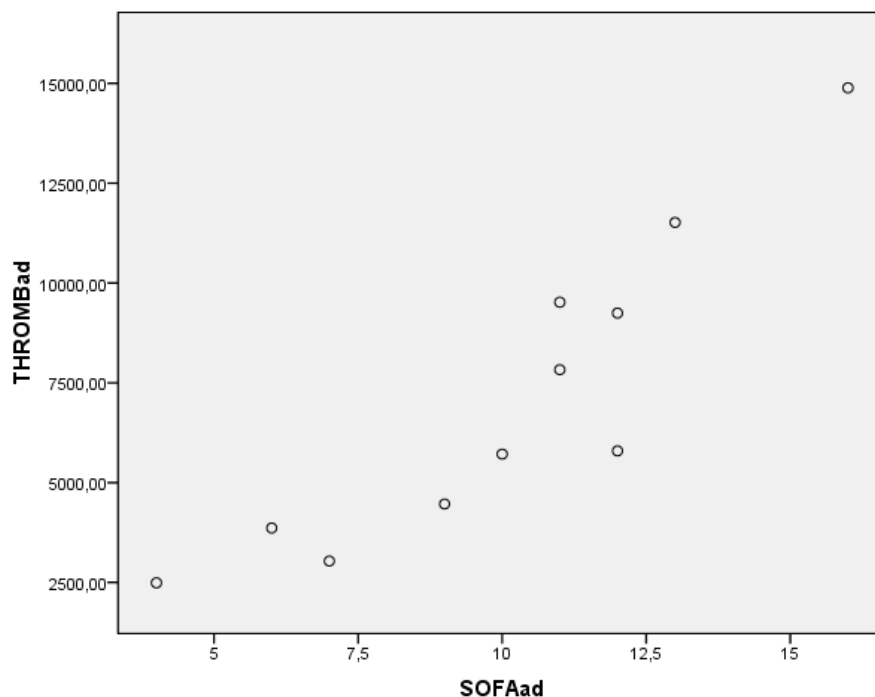
5.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα επίπεδα θρομβομοντουλίνης αυξάνουν επί επιδείνωσης της αιμοδυναμικής αστάθειας και της ανεπάρκειας οργάνων και συστημάτων σε βαρέως πάσχοντες σηπτικούς ασθενείς ενώ παρουσιάζουν ισχυρή συσχέτιση με τα score βαρύτητας.

- Αυξανόντων επι επιδείνωσης της αιμοδυναμικής αστάθειας και της ανεπάρκειας οργάνων και συστημάτων σε βαρέως πάσχοντες σηπτικούς ασθενείς.
- Παρουσιάζουν ισχυρή συσχέτιση με τα score βαρύτητας.(SOFA, APACHE)
- Η ανασυνδυασμένη θρομβομοδουλίνη έχει χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία της ΔΕΠ που σχετίζεται με τη σήψη.
- Η θρομβομοδουλίνη ασκεί αντιπηκτική και αντι-φλεγμονώδη δράση

*Μπορεί να έχει μικρότερο κίνδυνο αιμορραγικών επιπλοκών (rTM χρειάζεται θρομβίνη για την αντιπηκτική της δράση και έτσι ισχύς της ρυθμίζεται από ποσότητα υπάρχουσας θρομβίνης).

*Οι APC-ανεξάρτητες δράσεις της rTM θα μπορούσαν να προσδώσουν οφέλη, συμπεριλαμβανομένης της καταστολής του συμπληρώματος και PAMS



Εικόνα 20: Επίπεδα TM κατά την επιδείνωση της αιμοδυναμικής αστάθειας με συσχέτιση του score βαρύτητας (SOFA)

Από: Levi M, Van Der Poll T. Thrombomodulin in sepsis. *Minerva Anesthesiol* 2013; 79(3):294-8.

5.6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι διαταραχές του πηκτικού μηχανισμού εμφανίζονται πολύ συχνά στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς, οι οποίες μπορεί να οφείλονται σε κληρονομικά ή επίκτητα αίτια. Ένα ποσοστό περίπου 13 % των ασθενών που νοσηλεύονται σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας θα εμφανίσει κάποιο κλινικό συμβάν σχετιζόμενο με διαταραχή του πηκτικού μηχανισμού, ενώ 60 % των ασθενών θα παρουσιάσει εργαστηριακά ευρήματα συμβατά με τέτοιες διαταραχές (π.χ., παράταση του χρόνου προθρομβίνης)¹. Η εμφάνιση διαταραχών της ομοιοστασίας του πηκτικού μηχανισμού συσχετίζεται με αυξημένη θνητότητα και νοσηρότητα, κάτι που χρειάζεται την έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπισή τους, είτε με χρήση αντιθρομβωτικών είτε αντιπηκτικών φαρμάκων .

Σήμερα οι διαταραχές αυτές έχουν οδηγήσει στην αύξηση της επίπτωσης των σοβαρών αιμορραγιών, που είναι η πιο συχνή τους επιπλοκή, καθιστώντας αναγκαία

πολλές φορές την άμεση παρέμβαση για την αντιστροφή της δράσης τους.²⁻³ Η ενεργοποίηση του συστήματος πήξης παρατηρείται συχνά στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς μετά από σήψη, τραύμα, έγκαυμα. Οι διαταραχές στην ισορροπία των προπηκτικών και ινωδολυτικών παραγόντων οδηγούν στην κατάσταση η οποία κλινικά εμφανίζεται ως διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC). "Η διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC) είναι ένα επίκτητο σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από την γενικευμένη ενδοαγγειακή ενεργοποίηση της πήξης η οποία προκύπτει από τις διαφορετικές αιτίες. Μπορεί να προέλθει από ή/και να προκαλέσει βλάβη του ενδοθηλίου της μικροκυκλοφορίας και η βλάβη αυτή, αν είναι αρκετά βαριά, μπορεί να οδηγήσει σε δυσλειτουργία οργάνων".¹⁴

Σχετικές διαταραχές της πήξης υπάρχουν στο 50 έως 70% των ασθενών με σοβαρή λοίμωξη, ενώ περίπου το 35% των ασθενών ανταποκρίνεται πράγματι στα κριτήρια για DIC.¹⁴ Η Διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC) κατηγοριοποιείται σε : **1)** αιμορραγία **2)** ανεπάρκεια οργάνων **3)** μαζική αιμορραγία και **4)** μη-συμπτωματικούς τύπους ανάλογα με το άθροισμα των φορέων υπερπηκτικότητας και υπερिनωδύλωσης.

Διαφορετικά διαγνωστικά κριτήρια της σηπτικής DIC έχουν καθιερωθεί από την (ISTH) Διεθνή Κοινότητα για τη Θρόμβωση και την Αιμόσταση¹⁵, το Ιαπωνικό Υπουργείο Υγείας, Εργασίας και Πρόνοιας (JMHLW)¹⁶, και την Ιαπωνική Ένωση Οξείας Ιατρικής (JAAM)¹⁷. Από τα παραπάνω κριτήρια αυτά του JAAM είναι τα πιο συγκεκριμένα για τη σηπτική DIC¹⁷⁻¹⁸. Μία προσδοκώμενη μελέτη στην Ιαπωνία δεν διαπίστωσε σημαντικές διαφορές στις αναλογίες πιθανοτήτων για την πρόβλεψη των αποτελεσμάτων DIC υπολογιζόμενες βάσει των τριών αυτών διαγνωστικών κριτηρίων¹⁹. Δεδομένου ότι το ποσοστό θνησιμότητας της DIC εξακολουθεί να είναι υψηλό, η έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία είναι απαιτούμενες σύμφωνα με τους παραπάνω φορείς. Το πρώτο και το δεύτερο κριτήριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της αιμορραγίας ή μαζικής αιμορραγίας τύπου DIC, ενώ το τρίτο κριτήριο καλύπτει την ανεπάρκεια οργάνων και τη μαζική αιμορραγία της DIC.

Ένα πρότυπο σύστημα μη εμφανής-DIC βαθμολόγησης, συμπεριλαμβανομένων των παγκόσμιων δοκιμών πήξης, αλλαγών στις παγκόσμιες εξετάσεις πήξης καθώς και αιμοστατικής μοριακών δεικτών, έχει προταθεί.²³⁻³¹ Το σύστημα αυτό περιλαμβάνει:

- Χαρακτηριστικό ιστορικό (είναι σημαντικό, γιατί δύναται να εμφανιστούν ίδια εργαστηριακά ευρήματα σε σοβαρή ηπατική νόσο, αλλά και στη DIC)
- Παράταση χρόνου προθρομβίνης (PT) και χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT).

- Το επίπεδο ινωδογόνου (FDP_s), θα είναι αυξημένο λόγω της υποκείμενης φλεγμονώδους κατάστασης. Ως εκ τούτου, ένα κανονικό ή ακόμη και αυξημένο επίπεδο μπορεί να συμβεί σε άνω από το 57% των περιπτώσεων, ενώ ένα χαμηλό επίπεδο, είναι πιο συνεπές με την καταναλωτική διαδικασία DIC.
- Μια ραγδαία πτώση του αριθμού των αιμοπεταλίων(PLT).
- Τα υψηλά επίπεδα των προϊόντων αποικοδόμησης ινώδους (D-dimers), οφείλονται στην έντονη ινωδολυτική δραστικότητα που διεγείρεται από την παρουσία του ινώδους στην κυκλοφορία.
- Το επίχρισμα περιφερικού αίματος (Γενική αίματος- πλακάκι), μπορεί να δείξει κατακερματισμένα ερυθρά αιμοσφαίρια (γνωστά ως σχιστοκύτταρα).
- Ένας διαγνωστικός αλγόριθμος έχει προταθεί από τη Διεθνή Εταιρεία Θρόμβωσης και Αιμόστασης (ISTH). Αυτός ο αλγόριθμος φαίνεται να είναι 91% ευαίσθητος και 97% ειδικός για τη διάγνωση της εμφανούς DIC. Ένα σκορ 5 ή νεότερη έκδοση είναι συμβατή με DIC και συνιστάται ότι το σκορ επαναλαμβάνεται καθημερινά, ενώ μια βαθμολογία κάτω του 5 είναι ενδεικτική αλλά όχι καταφατική για DIC και συνιστάται να επαναλαμβάνεται μόνο περιστασιακά ^{32,33} Έχει προταθεί ότι ένα σύστημα βαθμολόγησης μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη διάγνωση και τη διαχείριση του DIC για την βελτίωση της έκβασης.³⁴
- Παρουσία μιας υποκείμενης διαταραχής είναι γνωστό ότι σχετίζονται με DIC (χωρίς = 0, ναι = 2)
- Παγκόσμια αποτελέσματα της πήξης αριθμός αιμοπεταλίων (> 100k = 0, <100 = 1, <50 = 2)
- Προϊόντα αποικοδόμησης ινώδους όπως D-Dimer (χωρίς αύξηση = 0, μέτρια αύξηση = 2, ισχυρή αύξηση = 3)
- Παρατεταμένος χρόνος προθρομβίνης (<3 sec = 0, > 3 sec = 1(> 6 sec = 2)
- Επίπεδα ινωδογόνου (>1.0g/L = 0 , <1.0g/L = 1)

Η θεραπεία της DIC είναι επικεντρωμένη γύρω από τη θεραπεία της υποκείμενης πάθησης και συνοψίζεται στα παρακάτω: ³⁵⁻³⁹

- Μεταγγίσεις αιμοπεταλίων (PLT) ή (FFP) φρέσκου κατεψυγμένου πλάσματος μπορεί να θεωρηθούν σημαντικά σε περιπτώσεις αιμορραγίας ή σε μια προγραμματισμένη επεμβατική διαδικασία. Ο στόχος της μετάγγισης εξαρτάται από την κλινική

κατάσταση. Κρυσταλλοποίηση μπορεί να χορηγηθεί σε άτομα με χαμηλό επίπεδο ινωδογονού .

- Θεραπεία με αντιπηκτικά όπως η ηπαρίνη, όπου στις θρόμβωσης χρησιμοποιείται σπάνια λόγω του κινδύνου αιμορραγίας.
- Ανασυνδυσασμένη ανθρώπινη ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (PrC) συνιστάται σε άτομα με σοβαρή σήψη και DIC αλλά αποδειχθεί, ότι δεν παρέχει όφελος και αποσύρθηκε από την αγορά το 2011.
- Ανασυνδυσασμένος παράγοντας VII έχει προταθεί ως «ύστατη λύση» σε άτομα με σοβαρή αιμορραγία οφειλόμενη σε μαιευτικές ή άλλες αιτίες, αλλά τα συμπεράσματα σχετικά με τη χρήση του εξακολουθούν να είναι ανεπαρκή.⁴⁰

Η επιδημιολογία της *διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης* (DIC) παρατηρείται στο 1% περίπου των ακαδημαϊκών εισαγωγών σε νοσοκομείο.⁴¹ Η DIC εμφανίζεται σε υψηλότερα ποσοστά σε ασθενείς με βακτηριακή σήψη (83%),⁴² σοβαρό τραύμα (31%),⁴³ και καρκίνο (6,8%).⁴⁴

Μοντέλα έκβασης ασθενών στη σήψη μετράμε με σκορ *Αξιολόγησης Διαδοχικής Ανεπάρκειας Οργάνων (SOFA)* και με σκορ *Οξείας Φυσιολογίας και Χρόνιας Αξιολόγησης Υγείας (APACHE II)* όπου είχαν την υψηλότερη αξιολόγηση στη μέτρηση διαταραχών της πηκτικότητας στη σήψη.

Η βαθμολογία SOFA, χρησιμοποιείται για να παρακολουθείτε η κατάσταση ενός ατόμου κατά τη διάρκεια της παραμονής σε μια μονάδα εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ). Είναι ένα από τα πολλά ΜΕΘ σύστημα βαθμολόγησης. Η βαθμολογία SOFA είναι για να καθοριστεί η έκταση της λειτουργίας των οργάνων ενός ατόμου ή το ποσοστό αποτυχίας, με βάση τα αποτελέσματα που δίνονται από τα έξι διαφορετικά συστήματα: αναπνευστικό, καρδιαγγειακό, ηπατικό, πήξη, νεφρικό και νευρολογικό. Τόσο η μέση τιμή όσο και οι υψηλότερες βαθμολογίες SOFA είναι προάγγελοι του αποτελέσματος.

Μια αύξηση στη βαθμολογία **SOFA** κατά τη διάρκεια των πρώτων 24 έως 48 ωρών στη ΜΕΘ προβλέπει ένα ποσοστό θνησιμότητας τουλάχιστον 50% μέχρι 95%. Βαθμολογία λιγότερο από 9 δίνει πρόβλεψη θνησιμότητας κατά 33%, ενώ πάνω από 11 μπορεί να είναι κοντά ή πάνω από το 95%. Η βαθμολογία SOFA είναι κατασκευασμένη από 6 μεταβλητές, η κάθε μία αντιπροσωπεύει ένα σύστημα οργάνων. Κάθε σύστημα οργάνου αποδίδει τιμές από 0 (κανονικό) έως 4 (υψηλός

βαθμός δυσλειτουργίας / αποτυχίας). Οι χειρότερες φυσιολογικές μεταβλητές συλλέχθηκαν σειριακά κάθε 24 ώρες από την εισαγωγή στη ΜΕΘ του ασθενούς. Η χειρότερη μέτρηση ορίστηκε ως το μέτρο που συσχετίζεται με τον υψηλότερο αριθμό πόντων. Η βαθμολογία SOFA κυμαίνεται από 0 έως 24.⁵⁹⁻⁶³

Η **APACHE II** είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη βαθμολογία πρόβλεψης θνησιμότητας στη ΜΕΘ. Η βαθμολογία προήλθε από ένα γενικό πληθυσμό ΜΕΘ και μπορεί να είναι λιγότερο ακριβής, όταν εφαρμόζεται σε συγκεκριμένους πληθυσμούς, όπως η ηπατική ανεπάρκεια ή σε ασθενείς με HIV. Οι βαθμολογίες πρόβλεψης θνησιμότητας, όπως η APACHE II, συχνά χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση των ομάδων βασικού κινδύνου που συγκρίνονται σε κλινικές δοκιμές. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για να καθορίσουν την πρόγνωση και να βοηθήσουν τα μέλη της οικογένειας να κάνουν συνειδητές αποφάσεις σχετικά με την επιτακτικότητα της φροντίδας.

Σήμερα, η σήψη παραμένει η κύρια αιτία θανάτου σε παγκόσμιο επίπεδο με συχνότητα μεταξύ 75-300 ανά 100.000.^{77,78} Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η οικονομική επιβάρυνση της σήψης είναι εκπληκτική. Σχεδόν \$ 24 δισεκατομμύρια δολάρια δαπανώνται ετησίως για σηπτικούς ασθενείς, με αυξανόμενο ρυθμό.⁷⁹ Η σήψη και μόνο φέρει ποσοστό θνησιμότητας 25%, αλλά όταν συνδυάζεται με ανεπάρκεια οργάνων, αυτό το ποσοστό θνησιμότητας διπλασιάζεται.⁷⁸

Μεγάλο μέρος της οργανικής ανεπάρκειας κατά τη σήψη προκαλείται από μικροαγγειακή θρόμβωση. Ο σχηματισμός θρόμβων, κατά την μικροαγγείωση δρα αντιπαραγωγικά και αυξάνει τη βλάβη των οργάνων που μπορεί να οδηγήσει σε οργανική ανεπάρκεια. Οι σημαντικές διαταραχές της πήξης οδηγούν σε επιπλοκές σε περίπου 35% όλων των σοβαρών περιστατικών σήψης. Η κοινή λογική υπαγορεύει ότι η χορήγηση ενός αντιβιοτικού που στοχεύει συγκεκριμένα στη μόλυνση είναι η πιο σημαντική θεραπεία στην σηπτική DIC. Μετά την χορήγηση αντιβιοτικών, χειρουργική παροχέτευση στο σημείο της λοίμωξης, θα πρέπει να εκτελείται όσο το δυνατόν συντομότερα. Οι γιατροί θα πρέπει πρώτα να χορηγήσουν θεραπεία για την υποκείμενη νόσο, όταν η σήψη έχει διαγνωστεί.^{85,86}

Σε φυσιολογικές συνθήκες, το αντιπηκτικό σύστημα που περιλαμβάνει αντιθρομβίνη (AT), θρομβομοντουλίνη (TM) / ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC), και αναστολέας ιστικού παράγοντα (TFPI) ενεργοποιείται για να αντιμετωπίσει την

υπερπηκτικότητα.^{99,100} Ωστόσο, αυτό το αντιπηκτικό σύστημα είναι σημαντικά ασθενές σε άτομα με σηπτικό DIC με διάφορους μηχανισμούς: για παράδειγμα, τα επίπεδα της AT μειώθηκαν σε σηπτικούς ασθενείς λόγω της ταχείας κάθαρσης της κυκλοφορίας μετά το σχηματισμό ενός συμπλόκου με την θρομβίνη ή την αλλοίωσή της από ελασάσες που απελευθερώνονται από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα.¹⁰¹ Πολλά αντιπηκτικά έχουν μελετηθεί σε κλινικές δοκιμές ως μέσα για τη ρύθμιση της φλεγμονώδους και της πηκτικής αλληλουχίας, με στόχο τη βελτίωση των αποτελεσμάτων για τους σηπτικούς ασθενείς μέσω της διαμόρφωσης αυτών των αλληλουχιών, όπως είναι η ηπαρίνη, η αντιθρομβίνη και η θρομβομοντουλίνη.

Οι Βρετανικές οδηγίες συνιστούν τη χρήση της μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης (UFH), λόγω του μικρού χρόνου ημίσειας ζωής και της διαθεσιμότητας των ανταγωνιστών της, ειδικά σε ασθενείς που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας. Οι Ιαπωνικές κατευθυντήριες γραμμές υποδεικνύουν μια προτίμηση για την ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους, διότι αποδείχθηκε ανώτερη στη βελτίωση των διαταραχών της πήξης και προκάλεσε λιγότερες αιμορραγικές ανεπιθύμητες ενέργειες σε μια τυχαίοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη (RCT) που πραγματοποιήθηκε στη DIC.⁸⁸ Πρόσφατα, πραγματοποιήθηκε μια πολυκεντρική, διπλή-τυφλή, τυχαίοποιημένη μελέτη από τους Ito T. και Maugyama I. για να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια της ανασυνδυασμένης ανθρωποδιαλυτής θρομβομοντουλίνης (rhsTM, επίσης γνωστή ως ART-123), για τη θεραπεία της διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (DIC), και βρέθηκε ότι η rhsTM είναι πιο αποτελεσματική και ασφαλέστερη από ότι η θεραπεία με ηπαρίνη χαμηλής δόσης.

Το σύστημα TM / APC διακυβεύεται σε διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC) που προκαλείται από σήψη, λόγω διαφόρων μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της διάσπασης της TM της κυτταρικής επιφάνειας από τις υπερβολικές κυτοκίνες και πρωτεάσες που παράγονται από ενεργοποιημένα φλεγμονώδη κύτταρα. Έτσι, είναι λογικό να υποθέσουμε ότι η ανασύσταση του συστήματος APC/TM με ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες θα ανακουφίσει την σήψη και τη DIC. Με βάση την επιτυχία της δοκιμής της Παγκόσμιας Αξιολόγησης Πρωτεΐνης C σε Σοβαρή Σήψη [Protein C worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS)], η FDA ενέκρινε τη χρήση της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης APC (rhAPC) για ασθενείς με σοβαρή σήψη, το 2002. Ωστόσο, ακόλουθες κλινικές δοκιμές απέτυχαν να δείξουν κλινικά οφέλη για την rhAPC, και σημειώθηκε αυξημένη συχνότητα

εμφάνισης γεγονότων που σχετίζονται με αιμορραγία, το οποίο οδήγησε την βιομηχανία να αποσύρει την rhAPC από την αγορά.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η **ΘΡΟΜΒΟΜΟΝΤΟΥΛΙΝΗ (TM)** είναι ένας ενδοθηλιακός αντιπηκτικός συμπαράγοντας που παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της ενδοαγγειακή πήξης.¹⁰⁵ Είναι μεμβρανικός, γλυκοπρωτεϊνικός υποδοχέας που βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, ειδικά στην μικροκυκλοφορία, όπου δρα ως αντιπηκτικό. Κατά τη διάρκεια της σήψης, η έκφραση της TM στην επιφάνεια του ενεργοποιημένου ενδοθηλίου μειώνεται λόγω απόρριψης του μορίου και η συγκέντρωσή της στον ορό αυξάνει. Η αύξηση αυτή θεωρείται δείκτης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ενώ παράλληλα η TM θεωρείται ότι ασκεί προστατευτική δράση στο ενδοθήλιο κατά την σήψη.¹⁰⁵ Η TM παρουσιάζει πολλαπλούς ρόλους στην διατήρηση της αγγειακής ομοιοστασίας. Αυτοί είναι: αναστολή της φλεγμονή, απόπτωση, μετάσταση όγκου, λειτουργία της θρομβίνης, έκφραση του μορίου προσφύσεως, και προσκόλληση λευκοκυττάρων. Προφλεγμονώδεις υψηλής κινητικότητας κουτί ομάδα 1 (HMGB1) εξουδετερώνεται και αποικοδομείται (degraded) από TM.¹⁸⁹

Τώρα, η ανασυνδυασμένη ανθρωπινοδιαλυτή TM (RTM) χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία των ατόμων με DIC από το 2008 στην Ιαπωνία, και μια κλινική δοκιμή φάσης III που αξιολογεί την αποτελεσματικότητα της rTM σε ασθενείς με σοβαρή σήψη με διαταραχή της πήκτικότητας είναι τώρα σε εξέλιξη στις ΗΠΑ, τη Νότια Αμερική, την Ασία, την Αυστραλία, την Ευρωπαϊκή Ένωση και άλλες χώρες.¹⁹⁸

Οι αλληλοπαρεμβολές και αλληλεπίδρασεις που συμβαίνουν μεταξύ της φλεγμονής και της πήξης, αποτελούν μια κρίσιμη συστατική οδήγηση τόσο για την παθογένεση και την εξέλιξη της σήψης. Θεραπευτικές προσεγγίσεις με στόχο τόσο την φλεγμονή όσο και την πήξη υπόσχονται πολλά για τη θεραπεία των ασθενών που πάσχουν σηπτικό σοκ. Ενώ APC είναι η πρώτη που πρέπει να χορηγηθεί επιτυχώς υπό ένα κλινικό περιβάλλον, τώρα η TM αναμένεται να είναι αντιπροσωπευτική για την 2η γενιά αποτελεσματικών βιολογικών φαρμάκων που στοχεύουν τόσο στην φλεγμονή όσο και στην πήξη σε σηπτικούς ασθενείς.^{197,198}

Εν κατακλείδι, σύμφωνα με τους *Ito* και *Maruyama*, και τη δημοσίευση τους το 2011, η θρομβομοντουλίνη θεωρείται θεός της αγγείωσης στη θρόμβωση και τη φλεγμονή, ενώ οι *Iba* και *Thachil*, το 2016, πιστεύουν πως είναι το παρόν και το μέλλον για τη θεραπεία της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης.¹⁶⁷

ABBREVIATION

TM	Thrombomodulin (Θρομβομοντουλίνη)
rhTM	Recombinant Human Thrombomodulin (Ανασυνδυσασμένη Ανθρώπινο Θρομβομοντουλίνη)
rhsTM	Recombinant Human SolubleThrombomodulin (Ανασυνδυσασμένη Ανθρώπινοδιαλυτή Θρομβομοντουλίνη)
APC	Activated Protein C (Ενεργοποιημένη Πρωτεΐνη C)
rhAPC	Recombinant Human Activated Protein C (Ανασυνδυσασμένης Ανθρώπινης Πρωτεΐνη C)
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation (Διάχυτη Ενδοαγγειακή Πήξη)
PROWESS	Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (Παγκόσμια Αξιολόγηση Πρωτεΐνη C σε Σοβαρή Σήψη)
BCSH	British Committee for Standard in Haematology (Βρετανική Επιτροπή για Πρότυπο στην Αιματολογία)
ISTH	International Society on Thrombosis and Hemostasis (Διεθνής Κοινότητα Θρόμβωσης και Αιμόστασης)
JMHLW	Japanese Ministry of Health Labor and Welfare (Ιαπωνικό Υπουργείο Υγείας, Εργασίας και Πρόνοιας)
JAAM	Japanese Association of Acute Medicine (Ιαπωνική Ένωση Οξείας Ιατρικής)
EGF	Epidermal Growth Factor (Επιδερμικός Αυξητικός Παράγοντας)
TF	Tissue Factor (Ιστικός Παραγοντάς)
PT	Prothrombin Time (Χρόνου Προθρομβίνης)
aPTT	Activate Thromboplastin Time (Χρόνος Ενεργοποιημένης Μερικής θρομβοπλαστίνη)
TT	Thrombin Time (Χρόνος θρομβίνης)
INR	<i>International Normalized Ratio</i> (Διεθνούς Ομαλοποιημένης Αναλογίας)
FFP	Fresh Frozen Plasma (Φρέσκο Κατεψυγμένο Πλάσμα)

FDPs	Fibrin Degradation Products (Προϊόν Αποδόμησης Ινώδου)
PAF	Platelet Activating Factor (Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων)
HMGB1	High Mobility Group Box 1 (Υψηλού Κινητικότητα Ομάδα Κουτί 1)
TNF α	Tumor Necrosis Factor α (Ογκου Νεκρωτικής Παράγοντας α)
PAMPs	Pathogen Associated Molecular Patterns (Παθογόνα Συνδεδεμένα με Μοριακά πρότυπα)
DAMPs	Damage Associated Molecular Patterns (Τραυματισμούς που συνδέονται με Μοριακά Πρότυπα)
ALI	Acute Lungs Injure (Οξεία Πνευμονική Βλάβη)
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment (Αξιολόγηση Διαδοχικής Ανεπάρκειας Οργάνων)
APACHE	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Οξεία Φυσιολογία και Χρόνια Αξιολόγησης Υγείας)
SAPS	Simplified Acute Physiology Score (Απλοποιημένη Βαθμολογία Οξείας Φυσιολογίας)
GRADE	Grading Recommendation Assessment, Development and Evaluation (Ταξινόμησης Σύσταση Εκτίμηση, Ανάπτυξη και Αξιολόγηση)
JDPC	Japanese Diagnosis Procedure Combination (Ιαπωνική Διαδικασία Συνδυασμού Διάγνωση)
LPS	Lipopolysaccharide (Λυποπολυσακχαρίτες)
ICU	Intensive Care Unit (Μονάδας Εντατικής Θεραπείας)
POC	Point Of Care (Σημείο Παροχής Φροντίδας)
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (Ανοσο-απορροφητική μέθοδος ανίχνευσης ενζύμου)
FVIIa	Activated factor VII (Ενεργοποιημένη Παραγοντάς 7)
UHF	Unfractionated Heparin (Μη Κλασματοποιημένης Ηπαρίνης) (Ηπαρίνη Μεγάλου Μοριακού Βάρους)
HLMW	Heparin Low Molecular Weight (Ηπαρίνη Χαμηλού Μοριακού Βάρους)
RCT	Randomized Control Trial

	(Τυχαιοποιημένη Δοκιμαστική Ελέγχου)
IL-1	Interleukin-1 (Ιντερλευκίνης-1)
EC	Endothelial Cell (Ενδοθηλιακών Κυττάρων)
NETs	Neutrophil Extracellular Traps (Ουδετερόφιλες Εξωκυτταρικές Παγίδες)
CRP	C-Reactive Protein (Αντιδρώσα Πρωτεΐνη C)
TEG	Thromboelastography (Θρομβοελαστογραφία)
TEM	Thromboelastometry (Θρομβοελαστομετρία)
PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor-1 (Αναστολέα Ενεργοποιητή Πλασμινογόνου 1)
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor (Αναστολέα του Ιστικού Παράγοντα)
TAFI	Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor (Αναστολέας Ινωδόλυσης της ενεργοποιημένης θρομβίνης)
CAS	Coagulopathy of Acute Sepsis (Πηκτικότητα της Οξείας Σήψης)
CCT	Classical Coagulation Laboratory Test (Εργαστηριακή δοκιμασία κλασσικής πήξεως)
MODS	Multisystem Organ Dysfunction (Δυσλειτουργία Πολλαπλών Οργάνων)
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome (Συστηματικής Φλεγμονώδους Αντίδρασης)
SSC	Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation
EGF	Epidermal growth factor (Επιδερμικός Αυξητικός Παράγοντας)
EPCR	Endothelial cell protein C receptor (Υποδοχέα Ενδοθηλιακών κυττάρων Πρωτεΐνης C)
PAR1	Protease-activated receptor-1 (Πρωτεάσης Ενεργοποιημένου Υποδοχέα-1)
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome (Σύνδρομο Οξείας Αναπνευστικής Δυσχέρειας)
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1. (Μόριο προσκόλλησης αγγειακών κυττάρων-1)
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1 (Μόριο ενδοκυττάριας προσκόλλησης-1)
PIH	Pregnancy-induced hypertension

	(Υπέρταση που προκαλείται από εγκυμοσύνη)		
RAGE	Receptor for advanced glycation end products (Υποδοχέα για τελικά προϊόντα προηγμένης γλυκοζυλίωσης)		
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1 (Μονοκυτταρική χημειοελκυστική πρωτεΐνη-1)		
TMD1	Thrombomodulin domain 1 (Περιοχή	θρομβομοντουλίνης	1)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) R. Chakraverty, S. Davidson, K. Peggs, P. Stross, C. Garrard, and T. J. Littlewood, "The incidence and cause of coagulopathies in an intensive care population," *Br J Haematol*, May 1996 vol. 93, pp. 460-3.
- 2) H. Wada, T. Matsumoto, and Y. Yamashita, "Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation (DIC) according to four DIC guidelines," *J Intensive Care*, 2014 vol. 2, p. 15.
- 3) B. J. Hunt, "Bleeding and coagulopathies in critical care," *N Engl J Med*, Feb 27 2014.vol. 370, pp. 847-59.
- 4) D. R. Spahn, B. Bouillon, V. Cerny, T. J. Coats, J. Duranteau, E. Fernandez-Mondejar, et al., "Management of bleeding and coagulopathy following major trauma: an updated European guideline," *Crit Care*, 2013 vol. 17, p. R76.
- 5) Γεωργούλης Ι.Ε. Αιμόσταση, διαγνωστικές και θεραπευτικές.Θεσσαλονίκη2004
- 6) Schulze, H., Shivdasani, R.A. Mechanisms of thrombopoiesis.*J Thromb Haemost* (2005) 3:1717-1724.Furie, B., Furie, B.C. Mechanisms of Thrombus Formation. *N Engl J Med* (2008)359:938-949.
- 7) Gando s, Kameue T, Nanzaki S et al. Disseminated intravascular coagulation is a frequent complication of systematic inflammatory response syndrome. *Thromb Haemost* 1996: 76:224-28.
- 8) Demple CE Coagulopathy of sepsis. *Thromb Haemost* 2004, 91: 213-24.
- 9) Taylor FB Jr, Toh CH, Hoots WK , Wada H,Levi M Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) of International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). Toward definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 2001, 86(5): 1327-30.
- 10) Barret JP, Gomez PA Disseminated Intravascular Coagulation: a rare entity in burn injury *Burns* 2005, 31: 354-57.
- 11) Levi M Current understanding of disseminated intravascular coagulation *British Journal of Haematology*, 124: 567-76.
- 12) Levi M, van der Poll Coagulation in sepsis: all bag bite equally. *Crit Care* 2004, 8:99-100.
- 13) Levi M, vander Poll T, ten Cate H, et al. The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia. *Eur J. Clin Invest* 1997. 27: 3-9.
- 14) Taylor FB, Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*. 2001;86:1327–30.
- 15) Kobayashi N, Maegawa T, Takada M, Tanaka H, Gonmori H. Criteria for diagnosis of DIC based on the analysis of clinical and laboratory findings in 345 DIC patients collected by the Research Committee on DIC in Japan. *Bibl Haematol*. 1983;49:265–75.
- 16) Gando S, Iba T, Eguchi Y, Ohtomo Y, Okamoto K, Koseki K, Mayumi T, Murata A, Ikeda T, Ishikura H, Ueyama M, Ogura H, Kushimoto S, Saitoh D, Endo S, Shimazaki S, Japanese Association for Acute Medicine Disseminated Intravascular Coagulation (JAAM DIC) Study Group. A multicenter, prospective validation of disseminated intravascular coagulation diagnostic criteria for critically ill patients: comparing current criteria. *Crit Care Med*. 2006;34:625–31.

- 17) Ogura H, Gando S, Iba T, Eguchi Y, Ohtomo Y, Okamoto K, Koseki K, Mayumi T, Murata A, Ikeda T, Ishikura H, Ueyama M, Kushimoto S, Saitoh D, Endo S, Shimazaki S. Japanese Association for Acute Medicine Disseminated Intravascular Coagulation (JAAM DIC) Study Group. SIRS-associated coagulopathy and organ dysfunction in critically ill patients with thrombocytopenia. *Shock*. 2007;28:411–7.
- 18) Takemitsu T, Wada H, Hatada T, Ohmori Y, Ishikura K, Takeda T, Sugiyama T, Yamada N, Maruyama K, Katayama N, Isaji S, Shimpo H, Kusunoki M, Nobori T. Prospective evaluation of three different diagnostic criteria for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*. 2011;105:40–4.
- 19) Schouten M, van 't Veer C, van der Poll T, et al. Effect of the factor V Leiden mutation on the incidence and outcome of severe infection and sepsis. *The Netherlands journal of medicine*. 2012; 70(7):306–10.
- 20) Vervloet MG, Thijs LG, Hack CE et al. Derangements of coagulation and fibrinolysis in critically ill patients with sepsis and septic shock. *Semin Thromb Hemost* 1998, 24: 33-44
- 21) Levi M, Toh CH, Thachil J, Watson HG: Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol* 2009, 145: 24-33.
- 22) Wada H, Thachil J, Di Nisio M, Mathew P, Kurosawa S, Gando S, Kim HK, Nielsen JD, Dempfle CE, Levi M, Toh CH, The Scientific Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis Haemostasis: Guidance for diagnosis and treatment of DIC from harmonization of the recommendations from three guidelines. *J Thromb Haemost* 2013, 11: 761-767.
- 23) Kobayashi N, Maegawa T, Takada M, Tanaka H, Gonmori H: Criteria for diagnosis of DIC based on the analysis of clinical and laboratory findings in 345 DIC patients collected by the research committee on DIC in Japan. *Bibl Haematol* 1983, 49: 265-275.
- 24) Wada H, Wakita Y, Nakase T, Shimura M, Hiyoyama K, Nagaya S, Mori Y, Shiku H: Outcome of disseminated intravascular coagulation in relation to the score when treatment was begun. *Thromb Haemost* 1995, 74: 848-852.
- 25) Hatada T, Wada H, Nobori T, Okabayashi K, Maruyama K, Abe Y, Uemoto S, Yamada S, Maruyama I: Plasma concentrations and importance of high mobility group box protein in the prognosis of organ failure in patients with disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 2005, 94: 975-979.
- 26) Gando S, Wada H, Asakura H, Iba T, Eguchi Y, Okamoto K, Ohtomo Y, Kawasugi K, Koga S, Koseki K, Tsuji H, Mayumi T, Murata A, Nakagawa M, Endo S: Evaluation of new Japanese diagnostic criteria for disseminated intravascular coagulation in critically ill patients. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005, 11: 71-76.
- 27) Takemitsu T, Wada H, Hatada T, Ohmori Y, Ishikura K, Takeda T, Sugiyama T, Yamada N, Maruyama K, Katayama N, Isaji S, Shimpo H, Kusunoki M, Nobori T: Prospective evaluation of three different diagnostic criteria for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 2011, 105: 40-44.
- 28) Bick R: Disseminated intravascular coagulation: objective clinical and laboratory diagnosis, treatment, and assessment of therapeutic response. *Semin Thromb Hemost* 1996, 22: 69-88.
- 29) Toh CH, Dennis M: Disseminated intravascular coagulation, old disease, new hope. *BMJ* 2003, 327: 974-977.
- 30) Toh CH, Hoots WK: The scoring system of the Scientific and Standardisation

- Committee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: a 5-year overview. *J Thromb Haemost* 2007, 5: 604-606.
- 31) Wada H, Hatada T, Okamoto K, Uchiyama T, Kawasugi K, Mayumi T, Gando S, Kushimoto S, Seki Y, Madoiwa S, Okamura T, Toh CH, Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC subcommittee: Modified non-overt DIC diagnostic criteria predict the early phase of overt-DIC. *Am J Hematol* 2010, 85: 691-699.
 - 32) Levi, M; Toh, C-H; et al. (2009). "Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation". *British Journal of Haematology*.(2009) 145 (5): 24–3.
 - 33) Taylor, F; Toh, C-h; et al. (2001). "Towards Definition, Clinical and Laboratory Criteria, and a Scoring System for Disseminated Intravascular Coagulation". *Thrombosis and Haemostasis*.(2001) 86 (5): 1327–30.
 - 34) Gando, S (2012). "The Utility of a Diagnostic Scoring System for Disseminated Intravascular Coagulation". *Critical care clinics* (2012) 28 (3): 378–88.
 - 35) Levi, M (2007). "Disseminated Intravascular Coagulation". *Critical Care Medicine*.(2007) 35 (9): 2191–2195.
 - 36) Levi, M; ten Cate, H (1999). "Disseminated Intravascular Coagulation". *New England Journal of Medicine*.(1999) 341 (8): 586–592.
 - 37) Davidson's Principles and Practice of Medicine (19 ed.). Churchill Livingstone. 2002.
 - 38) Haematology: Basic Principles and Practice (6 ed.). Elsevier Saunders. 2012.
 - 39) Robbins, Stanley L.; Cotran, Ramzi S.; Kumar, Vinay; Collins, Tucker . Robbins' Pathologic Basis of Disease (6 ed.). Philadelphia: Saunders. (1999).
 - 40) Franchini, M; Manzato, F; Salvagno GL; et al. (2007). "Potential role of recombinant activated factor VII for the treatment of severe bleeding associated with disseminated intravascular coagulation: a systematic review". *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2007 18 (7): 589–93.
 - 41) Matsuda, T . "Clinical aspects of DIC--disseminated intravascular coagulation". *Pol J Pharmacol*.(Jan–Feb 1996) 48 (1): 73–5.
 - 42) Smith, OP (1997). "Use of protein-C concentrate, heparin, and haemodiafiltration in meningococcus-induced purpura fulminans.". *Lancet*. (1997)350 (9091): 1590.
 - 43) Gando, S . "Disseminated intravascular coagulation and sustained systemic inflammatory response syndrome predict organ dysfunctions after trauma: application of clinical decision analysis.". *Ann Surg*.(1999) 229 (1): 121.
 - 44) Sallah, S (2001). "Disseminated intravascular coagulation in solid tumors: clinical and pathologic study.". *Thromb Haemost*.(2001) 86 (3): 828.
 - 45) Sunden-Cullberg J, Norrby-Teglund A, Treutiger CJ. The role of high mobility group box-1 protein in severe sepsis. *Current opinion in infectious diseases*. 2006; 19(3):231–6.
 - 46) Semeraro F, Ammollo CT, Morrissey JH, et al. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood*. 2011; 118(7):1952–61.
 - 47) Ammollo CT, Semeraro F, Xu J, et al. Extracellular histones increase plasma thrombin generation by impairing thrombomodulin-dependent protein C activation. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2011; 9(9):1795–803.
 - 48) Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107(36):15880–5.

- 49) Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, et al. Sepsis, thrombosis and organ dysfunction. *Thrombosis research*. 2012; 129(3):290.
- 50) Daudel F, Kessler U, Folly H, et al. Thromboelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. *Critical care*. 2009; 13(2):R42.–5.
- 51) Muller MC, Meijers JC, Vroom MB, et al. Utility of thromboelastography and/or thromboelastometry in adults with sepsis: a systematic review. *Critical care*. This article reviews the utility of thromboelastometry in sepsis monitoring and the dynamic evolution of coagulopathy in severe disease 2014; 18(1):R30.
- 52) Johansson PI, Stensballe J, Vindelov N, et al. Hypocoagulability, as evaluated by thromboelastography, at admission to the ICU is associated with increased 30-day mortality. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*. 2010; 21(2):168–74.
- 53) Hoffman M, Monroe DM 3rd. A cell-based model of hemostasis. *Thrombosis and haemostasis*. 2001; 85(6):958–65.
- 54) Brenner T, Schmidt K, Delang M, et al. Viscoelastic and aggregometric point-of-care testing in patients with septic shock - cross-links between inflammation and haemostasis. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*. 2012; 56(10):1277–90.
- 55) Knaus WA, Draper EA, Wagner DP. APACHE II: α. Τη σοβαρότητα του συστήματος ταξινόμησης της νόσου *Crit Care Med* . 1985 13 (10): 818-29. COPY RIGTH 2016 CLIN CALC LLC
- 56) ROTEM Rdelta manual 2.1.0.00 US 2012 C Tem Innovatios GmbH EVIATION PMID 2012
- 57) Angstwurm MW, Dempfle CE, Spannagl M. New disseminated intravascular coagulation score: A useful tool to predict mortality in comparison with Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II and Logistic Organ Dysfunction scores. *Critical care medicine*. 2006; 34(2):314–20.
- 58) Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL, et al. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: relationship with mortality and organ failure. *Critical care medicine*. 2005; 33(2):341–8.
- 59) Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996 Jul;22(7):707-10.
- 60) Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, Sprung CL, Colardyn F, Blecher S. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med* 1998 Nov;26(11):1793-800.
- 61) Moreno R, Vincent JL, Matos R, Mendonça A, Cantraine F, Thijs L, Takala J, Sprung C, Antonelli M, Bruining H, Willatts S. The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction/failure in intensive care. Results of a prospective, multicentre study. Working Group on Sepsis related Problems of the ESICM. *Intensive Care Med* 1999 Jul;25(7):686-96
- 62) de Mendonça A, Vincent JL, Suter PM, Moreno R, Dearden NM, Antonelli M, Takala J, Sprung C, Cantraine F. Acute renal failure in the ICU: risk factors and outcome evaluated by the SOFA score. *Intensive Care Med* 2000 Jul;26(7):915-21
- 63) Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA

- score to predict outcome in critically ill patients. JAMA 2001 Oct 10;286(14):1754-8.
- 64) www.qsofa.org. Retrieved 2016-05-29.
- 65) Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG, Sirio CA, Murphy DJ, Lotring T, Damiano A, et al. (1991). "The APACHE III prognostic system. Risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized adults". Chest.(1991) 100 (6): 1619–3.
- 66) Medlabgr.blogspot.com/2015/06/imflammation.html.
- 67) Danidson's "Παθολογία", ιατρικές εκδόσεις Π.Χ.Πασχαλίδης, 19η έκδοση, 2005.
- 68) Antonelli M. "Sepsis and septic shock", J Chemother. Review Dec 1999; 11(6).
- 69) Kinasewitz GT, Yan SB, Basson B, Comp P, Russell JA, Cariou A, Um SL, Utterback B, Laterre PF, Dhainaut JF, PROWESS Sepsis Study Group. Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro-organism . Crit Care. 2004;8:R82–90.
- 70) Dhainaut JF, Yan SB, Joyce DE, Pettilä V, Basson B, Brandt JT, Sundin DP, Levi M. Treatment effects of drotrecogin alfa (activated) in patients with severe sepsis with or without overt disseminated intravascular coagulation. J Thromb Haemost. 2004;2:1924–33.
- 71) Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb S, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R. Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including The Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. Intensive Care Med. 2013;39(2):165–228.
- 72) Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb SA, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R, Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. Crit Care Med. 2013;41(2):580–637.
- 73) Oda S, Aibiki M, Ikeda T, Imaizumi H, Endo S, Ochiai R, Kotani J, Shime N, Nishida O, Noguchi T, Matsuda N, Hirasawa H. Sepsis Registry Committee of The Japanese Society of Intensive Care Medicine. The Japanese guidelines for the management of sepsis. J Intensive Care. 2014;2(1):55.
- 74) Wada H, Okamoto K, Iba T, Kushimoto S, Kawasugi K, Gando S, Madoiwa S, Uchiyama T, Mayumi T, Seki Y, Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/ DIC subcommittee. Addition of recommendations for the use of recombinant human thrombomodulin to the "Expert consensus for the treatment of disseminated intravascular coagulation in Japan". Thromb Res. 2014;134(4):924–5.
- 75) Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. Critical care clinics. 2009; 25(1):83–101.
- 76) Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P, et al. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units.

- Intensive care medicine. 2004; 30(4):580–8.
- 77) Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence*. 2014; 5(1):4–11.
- 78) Iskander KN, Osuchowski MF, Stearns-Kurosawa DJ, et al. Sepsis: multiple abnormalities, heterogeneous responses, and evolving understanding. *Physiological reviews*. 2013; 93(3):1247–88.
- 79) Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL, et al. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: relationship with mortality and organ failure. *Critical care medicine*. 2005; 33(2):341–8.
- 80) Levi M, Opal SM. Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Critical care*. 2006; 10(4):222.
- 81) Kidokoro A, Iba T, Fukunaga M, Yagi Y. Alterations in coagulation and fibrinolysis during sepsis. *Shock* 1996; 5: 223-228
- 82) Ziegler EJ, Fisher CJ Jr, Sprung CL, et al. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The HA-1A Sepsis Study Group. *The New England journal of medicine*. 1991; 324(7):429–36.
- 83) Fisher CJ Jr, Agosti JM, Opal SM, et al. Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *The New England journal of medicine*. 1996; 334(26):1697–702.
- 84) Iba T, Nagaoka I, Boulat M. The anticoagulant therapy for sepsis-associated disseminated intravascular coagulation. *Thrombosis research*. 2013; 131(5):383–9.
- 85) Dhainaut JF, Yan SB, Joyce DE, Pettilä V, Basson B, Brandt JT, Sundin DP, Levi M. Treatment effects of drotrecogin alfa (activated) in patients with severe sepsis with or without overt disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost*. 2004;2:1924–33.
- 86) Wada H, Asakura H, Okamoto K, Iba T, Uchiyama T, Kawasugi K, Koga S, Mayumi T, Koike K, Gando S, Kushimoto S, Seki Y, Madoiwa S, Maruyama I, Yoshioka A. Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC subcommittee: expert consensus for the treatment of disseminated intravascular coagulation in Japan. *Thromb Res*. 2010;125:6–11.
- 87) Warren BL, Eid A, Singer P, Pillay SS, Carl P, Novak I, Chalupa P, Atherstone A, Péntzes I, Kübler A, Knaub S, Keinecke HO, Heinrichs H, Schindel F, Juers M, Bone RC, Opal SM; KyberSept Trial Study Group. High-dose antithrombin in severe sepsis. A randomized controlled trial. *JAMA*. 2001;286:1869–78.
- 88) Sakuragawa N, Hasegawa H, Maki M, Nakagawa M, Nakashima M. Clinical evaluation of low-molecular-weight heparin (FR-860) on disseminated intravascular coagulation (DIC)—a multicenter co-operative double-blind trial in comparison with heparin. *Thromb Res*. 1993;72:475–500.
- 89) TMIPR001491 THROMBOMODULIN Accessed January 19, 2012.
- 90) Verhagen HJ, Heijnen-Snyder GJ, Pronk A, Vroom TM, van Vroonhoven TJ, Eikelboom BC, Sixma JJ, de Groot PG (Dec 1996). "Thrombomodulin activity on mesothelial cells: perspectives for mesothelial cells as an alternative for endothelial cells for cell seeding on vascular grafts". *British Journal of Haematology*.(Dec 1996) 95 (3): 542–9.
- 91) Wen DZ, Dittman WA, Ye RD, Deaven LL, Majerus PW, Sadler JE . "Human thrombomodulin: complete cDNA sequence and chromosome localization of the gene". *Biochemistry*.(Jul 1987) 26 (14): 4350–7.

- 92) K. Suzuki, H. Kusumoto, Y. Deyashiki et al., "Structure and expression of human thrombomodulin, a thrombin receptor on endothelium acting as a cofactor for protein C activation," *EMBO Journal*, 1987 vol. 6, no. 7, pp. 1891–1897
- 93) Sadler JE "Thrombomodulin structure and function". *Thrombosis and haemostasis*. (Jul 1997). 78 (1): 392–5.
- 94) E. M. Conway, S. Pollefeyt, D. Collen, and M. Steiner-Mosonyi, "The amino terminal lectin-like domain of thrombomodulin is required for constitutive endocytosis," *Blood*, 1997 vol. 89, no. 2, pp. 652–661.
- 95) E. M. Conway, M. Van de Wouwer, S. Pollefeyt et al., "The lectin-like domain of thrombomodulin confers protection from neutrophil-mediated tissue damage by suppressing adhesion molecule expression via nuclear factor κ B and mitogen-activated protein kinase pathways," *Journal of Experimental Medicine*, 2002.vol. 196, no. 5, pp. 565–577.
- 96) H. Hamada, H. Ishii, K. Sakyo, S. Horie, K. Nishiki, and M. Kazama, "The epidermal growth factor-like domain of recombinant human thrombomodulin exhibits mitogenic activity for Swiss 3T3 cells," *Blood*, 1995 vol. 86, no. 1, pp. 225–233.
- 97) G. Tohda, K. Oida, Y. Okada et al., "Expression of thrombomodulin in atherosclerotic lesions and mitogenic activity of recombinant thrombomodulin in vascular smooth muscle cells," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 1998 vol. 18, no. 12, pp. 1861–1869.
- 98) C. T. Esmon, N. L. Esmon, and K. W. Harris, "Complex formation between thrombin and thrombomodulin inhibits both thrombin-catalyzed fibrin formation and factor V activation," *Journal of Biological Chemistry*, 1982 vol. 257, no. 14, pp. 7944–7947.
- 99) M. Tsiang, S. R. Lentz, and J. E. Sadler, "Functional domains of membrane-bound human thrombomodulin. EGF-like domains four to six and the serine/threonine-rich domain are required for cofactor activity," *Journal of Biological Chemistry*, 1992 vol. 267, no. 9, pp. 6164–6170
- 100) C. Wu, P. Y. Kim, R. Manuel et al., "The roles of selected arginine and lysine residues of TAFI (Pro-CPU) in its activation to TAFIa by the thrombin-thrombomodulin complex," *Journal of Biological Chemistry*, 2009 vol. 284, no. 11, pp. 7059–7067.
- 101) T. Koyama, J. F. Parkinson, P. Sie, N. U. Bang, G. Muller-Berghaus, and K. T. Preissner, "Different glycoforms of human thrombomodulin. Their glycosaminoglycan-dependent modulatory effects on thrombin inactivation by heparin cofactor II and antithrombin III," *European Journal of Biochemistry*, 1991 vol. 198, no. 3, pp. 563–570.
- 102) M. G. Elisen, P. A. Von Dem Borne, B. N. Bouma, and J. C. Meijers, "Protein C inhibitor acts as a procoagulant by inhibiting the thrombomodulin-induced activation of protein C in human plasma," *Blood*, 1998 vol. 91, no. 5, pp. 1542–1547.
- 103) L. O. Mosnier, "Platelet factor 4 inhibits thrombomodulin-dependent activation of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) by thrombin," *Journal of Biological Chemistry*, 2011 vol. 286, no. 1, pp. 502–510.
- 104) R. De Cristofaro, E. De Candia, and R. Landolfi, "Effect of high- and low-molecular-weight heparins on thrombin- thrombomodulin interaction and protein C activation," *Circulation*, 1998 vol. 98, no. 13, pp. 1297–1301.
- 105) K. Suzuki, T. Hayashi, J. Nishioka et al., "A domain composed of epidermal growth factor-like structures of human thrombomodulin is essential for thrombin binding

- and for protein C activation," *Journal of Biological Chemistry*, 1989 vol. 264, no. 9, pp. 4872–4876.
- 106) *JThromb Haemost.* 2011 Jul;9 Suppl 1:168-73.
- 107) Ruf W, Edgington TS: Structural biology of tissue factor, the initiator of thrombogenesis in vivo. *FASEB J* 1994, 8:385–390.
- 108) Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, Cremer S, Zysk M, Miltenyi S, Buck DW, Schmitz J). "BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood". *Journal of Immunology* (Dec 2000)165 (11): 6037–46.
- 109) Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol.* 2005;131:417–30.
- 110) Esmon CT. The regulation of natural anticoagulant pathways. *Science.* 1987;235:1348–52.
- 111) Grey ST, Tsuchida A, Hau H, Orthner CL, Salem HH, Hancock WW. Selective inhibitory effects of the anticoagulant activated protein C on the responses of human mononuclear phagocytes to LPS, IFN gamma, or phorbol ester. *J Immunol.* 1994;153:3664–72.
- 112) Abeyama K, Stern DM, Ito Y, Kawahara K, Yoshimoto Y, Tanaka M, Uchimura T, Ida N, Yamazaki Y, Yamada S, Yamamoto Y, Yamamoto H, Iino S, Taniguchi N, Maruyama I. The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel antiinflammatory mechanism. *J Clin Invest.* 2005;115:1267–74.
- 113) Ito T, Kawahara K, Okamoto K, Yamada S, Yasuda M, Imaizumi H, Nawa Y, Meug X, Shrestha B, Hashiguchi T, Maruyama I. Proteolytic cleavage of high mobility group box 1 protein by thrombin-thrombomodulin complexes. *Arterioscler Thromb Biol.* 2008;28:1825–30.
- 114) Nagato M, Okamoto K, Abe Y, Higure A, Yamaguchi K. Recombinant human soluble thrombomodulin (ART-123) decreases the plasma HMGB1 levels, while improving the acute liver injury and survival rates in experimental endotoxemia. *Crit Care Med.* 2009;37:2181–6.
- 115) N. L. Esmon, R. C. Carroll, and C. T. Esmon, "Thrombomodulin blocks the ability of thrombin to activate platelets," *Journal of Biological Chemistry*, 1983 vol. 258, no. 20, pp. 12238–12242.
- 116) C. T. Esmon, "Molecular events that control the protein C anticoagulant pathway," *Thrombosis and Haemostasis*, 1993 vol. 70, no. 1, pp. 29–35.
- 117) F. J. Castellino, "Human protein C and activated protein C: components of the human anticoagulation system," *Trends in Cardiovascular Medicine*, 1995 vol. 5, no. 2, pp. 55–62.
- 118) L. Yang, C. Manithody, T. D. Walston, S. T. Cooper, and A. R. Rezaie, "Thrombomodulin enhances the reactivity of thrombin with protein C inhibitor by providing both a binding site for the serpin and allosterically modulating the activity of thrombin," *Journal of Biological Chemistry*, 2003 vol. 278, no. 39, pp. 37465–37470.
- 119) K. T. Preissner, U. Delvos, and G. Muller-Bergbaus, "Binding of thrombin to thrombomodulin accelerates inhibition of the enzyme by antithrombin III. Evidence for a heparin-independent mechanism," *Biochemistry* 1987, vol. 26, no. 9, pp. 2521–2528.
- 120) T. E. Adams and J. A. Huntington, "Thrombin-cofactor interactions: structural insights into regulatory mechanisms," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2006 vol. 26, no. 8, pp. 1738–1745.

- 121)K. L. Moore, C. T. Esmon, and N. L. Esmon, "Tumor necrosis factor leads to the internalization and degradation of thrombomodulin from the surface of bovine aortic endothelium cells in culture," *Blood*, 1989 vol. 73, no. 1, pp. 159–165B.
- 122)Isermann, S. B. Hendrickson, M. Zogg et al., "Endothelium-specific loss of murine thrombomodulin disrupts the protein C anticoagulant pathway and causes juvenile-onset thrombosis," *Journal of Clinical Investigation*, vol. 108, no. 4, pp. 537–546, 2001. View at Publisher · View at Google Scholar · View at Scopus.
- 123)Conway EM, Van de Wouwer M, Pollefeyt S, Jurk K, Van Aken H, De Vriese A, Weitz JI, Weiler H, Hellings PW, Schaeffer P, Herbert JM, Collen D, Theilmeier G. The lectin-like domain of thrombomodulin confers protection from neutrophil-mediated tissue damage by suppressing adhesion molecule expression via nuclear factor kB and mitogen-activated protein kinase pathways. *J Exp Med*. 2002;196:565–577.
- 124)Huang HC, Shi GY, Jiang SJ, Shi CS, Wu CM, Yang HY, Wu HL. Thrombomodulin-mediated cell adhesion: involvement of its lectin-like domain. *J Biol Chem*. 2003;278:46750–46759.
- 125)Li YH, Shi GY, Wu HL. The role of thrombomodulin in atherosclerosis: from bench to bedside. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2006;4:183–187.
- 126)Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature*. 2002;418:191–195.
- 127)Gardella S, Andrei C, Ferrera D, Lotti LV, Torrisi MR, Bianchi ME, Rubartelli A. The nuclear protein HMGB1 is secreted by monocytes via a non-classical, vesicle-mediated secretory pathway. *EMBO Rep*. 2002;3:995–1001.
- 128)Czura CJ, Tracey KJ. Targeting high mobility group box 1 as a late-acting mediator of inflammation. *Crit Care Med*. 2003;31:S46–S50.
- 129)Abeyama K, Stern DM, Ito Y, Kawahara K, Yoshimoto Y, Tanaka M, Uchimura T, Ida N, Yamazaki Y, Yamada S, Yamamoto Y, Yamamoto H, Iino S, Taniguchi N, Maruyama I. The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel antiinflammatory mechanism. *J Clin Invest*. 2005;115:1267–1274.
- 130)Ito T, Kawahara K, Okamoto K, Yamada S, Yasuda M, Imaizumi H, Nawa Y, Meng X, Shrestha B, Hashiguchi T, Maruyama I. Proteolytic cleavage of high mobility group box 1 protein by thrombin-thrombomodulin complexes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:1825–1830
- 131)Shi CS, Shi GY, Hsiao SM, Kao YC, Kuo KL, Ma CY, Kuo CH, Chang BI, Chang CF, Lin CH, Wong CH, Wu HL. Lectin-like domain of thrombomodulin binds to its specific ligand Lewis Y antigen and neutralizes lipopolysaccharide-induced inflammatory response. *Blood*. 2008;112:3661–3670.
- 132)Dauphinee SM, Karsan A. Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells. *Lab Invest*. 2006;86:9–22.
- 133)Altman E, Harrison BA, Hiramata T, Chandan V, To R, MacKenzie R. Characterization of murine monoclonal antibodies against *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide specific for Lex and Ley blood group determinants. *Biochem Cell Biol*. 2005;83:589–596.
- 134)Van de Wouwer M, Plaisance S, De Vriese A, Waelkens E, Collen D, Persson J, Daha MR, Conway EM. The lectin-like domain of thrombomodulin interferes with complement activation and protects against arthritis. *J Thromb Haemost*. 2006;4:1813–1824.

- 135) Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, Esmon CT, Esmon NL, Ferrell G, Del-Favero J, Plaisance S, Claes B, Lambrechts D, Zoja C, Remuzzi G, Conway EM. Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*. 2009;361:345–357.
- 136) Bajzar L, Manuel R, Nesheim ME: Purification and characterization of TAFI, a thrombin-activable fibrinolysis inhibitor. *J Biol Chem* 1995, 270:14477–14484.
- 137) Wang W, Boffa MB, Bajzar L, Walker JB, Nesheim ME: A study of the mechanism of inhibition of fibrinolysis by activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor. *J Biol Chem* 1998, 273:27176–27181.
- 138) Campbell WD, Lazoura E, Okada N, Okada H: Inactivation of C3a and C5a octapeptides by carboxypeptidase R and carboxypeptidase N. *Microbiol Immunol* 2002, 46:131–134.
- 139) Leung LL, Myles T, Nishimura T, Song JJ, Robinson WH: Regulation of tissue inflammation by thrombin-activatable carboxypeptidase B (or TAFI). *Mol Immunol* 2008, 45:4080–4083.
- 140) Bernard, G. R. et al (2001) *N. Engl. J. Med* 344:699
- 141) Ossovskaya, V.S. And N.W. Bunnett (2004) *Physiol. Rev.* 84:579.
- 142) Huang, H.C. et al. (2003) *J. Biol. Chem.* 278:46750.
- 143) Zhang, Y. ET AL. (1998) *J. CLIN. INVEST.* 101:1301
- 144) Gando S, Saitoh D, Ogura H, Mayumi T, Koseki K, Ikeda T, Ishikura H, Iba T, Ueyama M, Eguchi Y, Ohtomo Y, Okamoto K, Kushimoto S, Endo S, Shimazaki S, Japanese Association for Acute Medicine Disseminated Intravascular Coagulation (JAAM DIC) Study Group: Natural history of disseminated intravascular coagulation diagnosed based on the newly established diagnostic criteria for critically ill patients: results of a multicenter, prospective survey. *Crit Care Med* 2008, 36:145–150.
- 145) Harris HE, Raucci A: Alarmin(g) news about danger: workshop on innate danger signals and HMGB1. *EMBO Rep* 2006, 8:774–778.
- 146) Levi M, Keller TT, van Gorp E, ten Cate H: Infection and inflammation and the coagulation system. *Cardiovasc Res* 2003, 60:26–39.
- 147) Zeerleder S, Hack CE, Wuillemin WA: Disseminated intravascular coagulation in sepsis. *Chest* 2005, 128:2864–2875.
- 148) Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ: Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature* 2010, 464:104–107.
- 149) Jochum M, Lander S, Heimbürger N, Fritz H: Effect of human granulocytic elastase on isolated human antithrombin III. *Hoppe Seyler's Z Physiol Chem* 1981, 362:103–112
- 150) Lin FY, Tsai YT, Lee CY, Lin CY, Lin YW, Li CY, Shih CM, Huang CY, Chang NC, Tsai JC, Chen TL, Tsai CS: TNF- α -decreased thrombomodulin expression in monocytes is inhibited by propofol through regulation of tristetraprolin and human antigen R activities. *Shock* 2011, 36:279–288.
- 151) Hack CE: Fibrinolysis in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Haemost* 2001, 27:633–638.
- 152) M. T. Lotze and K. J. Tracey, “High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal,” *Nature Reviews Immunology*, 2005 vol. 5, no. 4, pp. 331–342,.
- 153) K. Abeyama, D. M. Stern, Y. Ito et al., “The N-terminal domain of thrombomodulin

- sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel antiinflammatory mechanism," *Journal of Clinical Investigation*, 2005 vol. 115, no. 5, pp. 1267–1274.
- 154) T. Ito, K. Kawahara, K. Okamoto et al., "Proteolytic cleavage of high mobility group box 1 protein by thrombin-thrombomodulin complexes," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2008 vol. 28, no. 10, pp. 1825–1830.
- 155) Feistritzer C, Riewald M. Endothelial barrier protection by activated protein C through PAR1-dependent sphingosine 1-phosphate receptor-1 crossactivation. *Blood*. 2005;105:3178–3184.
- 156) Schuepbach RA, Feistritzer C, Fernández JA, Griffin JH, Riewald M. Protection of vascular barrier integrity by activated protein C in murine models depends on protease-activated receptor-1. *Thromb Haemost*. 2009;101:724–733.
- 157) Murakami K, Okajima K, Uchiba M, Johnno M, Nakagaki T, Okabe H, Takatsuki K. Activated protein C prevents LPS-induced pulmonary vascular injury by inhibiting cytokine production. *Am J Physiol*. 1997;272:L197–L202.
- 158) Hirose K, Okajima K, Taoka Y, Uchiba M, Tagami H, Nakano K, Utoh J, Okabe H, Kitamura N. Activated protein C reduces the ischemia/reperfusion-induced spinal cord injury in rats by inhibiting neutrophil activation. *Ann Surg*. 2000;232:272–280.
- 159) Colotta F, Sciacca FL, Sironi M, Luini W, Rabiet MJ, Mantovani A. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 by monocytes and endothelial cells exposed to thrombin. *Am J Pathol*. 1994;144:975–985.
- 160) Kaplanski G, Marin V, Fabrigoule M, Boulay V, Benoliel AM, Bongrand P, Kaplanski S, Farnarier C. Thrombin-activated human endothelial cells support monocyte adhesion in vitro following expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1; CD54) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1; CD106) *Blood*. 1998;92:1259–1267.
- 161) Ruf W, Furlan-Freguia C, Niessen F. Vascular and dendritic cell coagulation signaling in sepsis progression. *J Thromb Haemost*. 2009;7:118–121.
- 162) Wei HJ, Li YH, Shi GY, Liu SL, Chang PC, Kuo CH, Wu HL. Thrombomodulin domains attenuate atherosclerosis by inhibiting thrombin-induced endothelial cell activation. *Cardiovasc Res*. 2011;92:317–327.
- 163) Leung LL, Myles T, Nishimura T, Song JJ, Robinson WH. Regulation of tissue inflammation by thrombin-activatable carboxypeptidase B (or TAFI) *Mol Immunol*. 2008;45:4080–4083.
- 164) Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:776–787.
- 165) Nagato M, Okamoto K, Abe Y, Higure A, Yamaguchi K. Recombinant human soluble thrombomodulin decreases the plasma high-mobility group box-1 protein levels, whereas improving the acute liver injury and survival rates in experimental endotoxemia. *Crit Care Med*. 2009;37:2181–2186.
- 166) Saito H, Maruyama I, Shimazaki S, Yamamoto Y, Aikawa N, Ohno R, Hirayama A, Matsuda T, Asakura H, Nakashima M, Aoki N. Efficacy and safety of recombinant human soluble thrombomodulin (ART-123) in disseminated intravascular coagulation: results of a phase III, randomized, double-blind clinical trial. *J Thromb Haemost*. 2007;5:31–41.
- 167) Gando S, Iba T, Eguchi Y, Ohtomo Y, Okamoto K, Koseki K, et al. A multicenter, prospective validation of disseminated intravascular coagulation diagnostic criteria

- for critically ill patients: comparing current criteria. *Crit Care Med.* 2006;34:625–31.
- 168) Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000; 342:1334–1349.
- 169) Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, Stern EJ, Hudson LD. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med.* 2005; 353:1685–1693.
- 170) Zimmerman JJ, Akhtar SR, Caldwell E, Rubenfeld GD. Incidence and outcomes of pediatric acute lung injury. *Pediatrics.* 2009; 124:87–95.
- 171) Khadaroo RG, Marshall JC. ARDS and the multiple organ dysfunction syndrome. Common mechanisms of a common systemic process. *Crit Care Clin.* 2002; 18:127–141.
- 172) Maeda S, Takahashi S, Sato M. Serum thrombomodulin as a newly identified biomarker for postoperative lung injury: a prospective observational study. *Tohoku J Exp Med.* 2012; 228:135–141.
- 173) Kudo D, Toyama M, Aoyagi T, Akahori Y, Yamamoto H, Ishii K, Kanno E, Maruyama R, Kaku M, Kushimoto S, Kawakami K. Involvement of high mobility group box 1 and the therapeutic effect of recombinant thrombomodulin in a mouse model of severe acute respiratory distress syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2013; 173:276–287.
- 174) Agrawal A, Zhuo H, Brady S, Levitt J, Steingrub J, Siegel MD, Soto G, Peterson MW, Chesnutt MS, Matthay MA, Liu KD. Pathogenetic and predictive value of biomarkers in patients with ALI and lower severity of illness: results from two clinical trials. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2012; 303:L634–L639.
- 175) Ware LB, Fang X, Matthay MA. Protein C and thrombomodulin in human acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003; 285:L514–L521.
- 176) Ikeguchi H, Maruyama S, Morita Y, Fujita Y, Kato, Natori Y, Akatsu H, Campbell W, Okada N, Okada H, Yuzawa Y, Matsuo S. Effects of human soluble thrombomodulin on experimental glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2002;61:490–501.
- 177) Ozaki T, Anas C, Maruyama S, Yamamoto T, Yasuda K, Morita Y, Ito Y, Gotoh M, Yuzawa Y, Matsuo S. Intrarenal administration of recombinant human soluble thrombomodulin ameliorates ischaemic acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23:110–119.
- 178) Sharfuddin AA, Sandoval RM, Berg DT, McDougal GE, Campos SB, Phillips CL, Jones BE, Gupta A, Grinnell BW, Molitoris BA. Soluble thrombomodulin protects ischemic kidneys. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20:524–534.
- 179) Bollee G, Flamant M, Schordan S, Fligny C, Rumpel E, Milon M, Schordan E, Sabaa N, Vandermeersch S, Galaup A, Rodenas A, Casal I, Sunnarborg SW, Salant DJ, Kopp JB, Threadgill DW, Quaggin SE, Dussaule JC, Germain S, Mesnard L, Endlich K, Boucheix C, Belenfant X, Callard P, Endlich N, Tharaux PL. Epidermal growth factor receptor promotes glomerular injury and renal failure in rapidly progressive crescentic glomerulonephritis. *Nat Med.* 2011;17:1242–1250.
- 180) Harris R. EGFR signaling in podocytes at the root of glomerular disease. *Nat Med.* 2011;17:1188–1189.
- 181) Kuo CH, Chen PK, Chang BI, Sung MC, Shi CS, Lee JS, Chang CF, Shi GY, Wu HL. The recombinant Lectin-like domain of thrombomodulin inhibits angiogenesis through interaction with Lewis Y antigen. *Blood.* 2012;119:1302–1313.
- 182) Halloran MM, Carley WW, Polverini PJ, Haskell CJ, Phan S, Anderson BJ, Woods JM,

- Campbell PL, Volin MV, Backer AE, Koch AE. Ley/H: an endothelial-selective, cytokine-inducible, angiogenic mediator. *J Immunol.* 2000;164:4868–4877.
- 183) *Eur J Oncol.* 2005 Apr;31(3):217-20. *The Breast*, Vol. 6, Issue 6; Oct.2000 pages 264-266.
- 184) Hanly AM¹Hayanga A, Winter DC, Bouchier-Hayew DJ. Thrombomodulin: tumour biology and prognostic implications. 2004.11.017. *Eur J Surg Oncol.*2005 Apr;31(3):217-20.
- 185) Li YH, Shi GY, Wu HL Thrombomodulin in the treatment of atherothrombotic diseases. *Front Biosci (Schol Ed.)*2009 Jun 1;1:33-8.
- 186) Li YH, Shi GY, Wu HL The role of thrombomodulin in atherosclerosis: from bench to bedside. *Cadiovasc Hematol Agents Med Chem.*2006 Apr;4(2):183-7.
- 187) Turner RJ, Bloemenkamp KM Bruijn JA, Baelde HJ Loss of Thrombomodulin in Placental Dysfunction in Preeclampsia.2016 Apr;36(4):728-35.
- 188) Sunil K Nadar, Eman Al Yemeni, Andrew D Blann, Gregory Y.H Lip Thrombomodulin, von Willebrand factor and E-selectin as plasma markers of endothelial damage/dysfunction and activation in pregnancy induced hypertension.2004 Vol.113, Issue 2, pages 123-128.
- 189) Conway EM. Thrombomodulin and its role in inflammation. *Semin Immunopathol.* 2012;34:107–125.
- 190) Wu KK. TM hidden treasure: lectin-like domain. *Blood.* 2012;119:1103–1104.
- 191) Gomi K, Zushi M, Honda G, et al. Antithrombotic effect of recombinant human thrombomodulin on thrombin-induced thromboembolism in mice. *Blood.* 1990;75(7):1396–1399.
- 192) Mohri M, Oka M, Aoki Y, et al. Intravenous extended infusion of recombinant human soluble thrombomodulin prevented tissue factor-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *American Journal of Hematology.* 1994;45(4):298–303.
- 193) Gonda Y, Hirata S, Saitoh K, et al. Antithrombotic effect of recombinant human soluble thrombomodulin on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Thrombosis Research.* 1993;71(4):325–335.
- 194) Uchiba M, Okajima K, Murakami K, Nawa K, Okabe H, Takatsuki K. Recombinant human soluble thrombomodulin reduces endotoxin-induced pulmonary vascular injury via protein C activation in rats. *Thrombosis and Haemostasis.* 1995;74(5):1265–1270.
- 195) Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Johno M. Neuroprotection by recombinant thrombomodulin. *Thrombosis and Haemostasis.* 2000;83(3):462–468
- 196) Kaneko H, Joubara N, Yoshino M, et al. Protective effect of human urinary thrombomodulin on ischemia-reperfusion injury in the canine liver. *European Surgical Research.* 2000;32(2):87–93.
- 197) Ozaki T, Anas C, Maruyama S, et al. Intrarenal administration of recombinant human soluble thrombomodulin ameliorates ischaemic acute renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2008;23(1):110–119.
- 198) Sharfuddin AA, Sandoval RM, Berg DT, et al. Soluble thrombomodulin protects ischemic kidneys. *Journal of the American Society of Nephrology.* 2009;20(3):524–534.
- 199) Human Thrombomodulin/BDCA-3 QUANTIKINE elisa manual.